

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

**Avaliação da atividade fotoprotetora de formulação contendo extrato de
Camomila (*Matricaria chamomilla*)**

Giovanni Cavalcante

Trabalho de Conclusão do Curso
de Farmácia-Bioquímica da
Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade
de São Paulo.

Orientador:
Prof. Dr Tércio Elyan Azevedo
Martins

São Paulo
2022

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1. RADIAÇÃO SOLAR E SUA RELAÇÃO COM A PELE	11
2.2. PROTETOR SOLAR E FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR	18
2.3. EXTRATO GLICÓLICO E SEU USO EM COSMÉTICOS	23
2.4. CAMOMILA (<i>Matricaria chamomilla</i>), FLAVONÓIDES E APIGENINA	24
3. OBJETIVOS	27
3.1. OBJETIVO GERAL	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1. EQUIPAMENTOS	27
4.2. MATÉRIAS-PRIMAS	28
4.3. PREPARO DO EXTRATO GLICÓLICO DE CAMOMILA (<i>Matricaria chamomilla</i>)	29
4.5. INCORPORAÇÃO DO EXTRATO NAS FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS	38
4.6. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO GLICÓLICO DE CAMOMILA (<i>Matricaria chamomilla</i>)	38
4.6.1. DENSIDADE RELATIVA	38
4.6.2. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)	38
4.6.3. ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA UV-VIS	38
4.6.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) DO EXTRATO GLICÓLICO E APIGENINA ISOLADA	39
4.7. EFICÁCIA FOTOPROTETORA IN VITRO	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. TESTE DE ESTABILIDADE PRELIMINAR	41
5.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO GLICÓLICO DE CAMOMILA (<i>Matricaria chamomilla</i>)	44
5.2.1. DENSIDADE RELATIVA	44
5.2.2. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)	45
5.2.3. ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA UV-VIS	45
5.2.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) DO EXTRATO GLICÓLICO E APIGENINA ISOLADA	45
5.3. EFICÁCIA FOTOPROTETORA IN VITRO	47
6. CONCLUSÕES	52
7. REFERÊNCIAS	54

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPS	Fator de Proteção Solar
UV	Ultravioleta
IV	Infravermelha

RESUMO

CAVALCANTE, G. **Avaliação da atividade fotoprotetora de formulação contendo extrato de Camomila (*Matricaria chamomilla*)**. São Paulo. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Palavras-chave: Proteção solar, Camomila, Extrato glicólico.

Extratos glicólicos vegetais possuem diversas atividades biológicas devido aos diferentes componentes que os constituem como taninos, alcalóides, flavonóides e quinonas, por exemplo. O uso destes extratos em cosméticos é amplo e pode estar relacionado ao seu poder fotoprotetor, antioxidante, anti-inflamatório, calmante, estimulante, entre outros. O presente trabalho teve por objetivo elucidar a atividade do extrato glicólico de camomila (*Matricaria chamomilla*) no aumento do Fator de Proteção Solar (FPS) de uma formulação fotoprotetora, bem como possíveis alterações nas suas características físico-químicas por meio do Teste de Estabilidade Preliminar. O extrato glicólico foi obtido através do método de percolação, com uma relação de planta:extrato (p/p) igual a 1:5. O perfil de absorbância foi feito em espectrofotômetro UV-Vis, em uma diluição de vinte vezes (1:20), em comprimentos de onda que variaram de 190 nm a 1100 nm em cubeta de quartzo (não absorvente na região ultravioleta). A identificação e quantificação da apigenina foi feita através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando coluna cromatográfica C18 com fase móvel gradiente de 60% metanol e 40% água, onde foi possível ter boa resolução do pico referente ao analito. As formulações fotoprotetoras desenvolvidas apresentaram variações na composição e concentração dos filtros utilizados. F1 era composta por 5% de Butil Metoxidibenzoilmelano e 10% de *p*-Metoxicinamato de Octila, enquanto FII era composta por 7,5% de *p*-Metoxicinamato de Octila e 6% Benzofenona-3. Ambas foram desenvolvidas e submetidas ao Teste de Estabilidade Preliminar durante 12 dias (6 ciclos), com e sem a adição de extrato glicólico de camomila, onde alterações de suas características organolépticas (cor e odor) e físico-químicas (pH) foram anotadas. A avaliação do FPS das formulações com 0%, 1% e 3% de extrato glicólico foi realizada através da espectrofotometria de reflectância difusa com esfera de integração. O resultado do Teste de Estabilidade Preliminar demonstrou instabilidade da formulação F1 através da alteração da sua cor e homogeneidade. A formulação FII se manteve estável durante e após o período avaliado, mantendo sua homogeneidade e cor inicial. Diante disso, FII foi utilizada na determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*. Observou-se que o FPS não sofreu alteração com a incorporação do extrato entre 1% e 3%. Considerando o perfil de composição de filtros e agentes reológicos e sensoriais da formulação, não houve interação do extrato na estabilidade do protetor solar, podendo ser um

produto natural adicionado para conferir outros benefícios a serem estudados. Estudos mais profundos sobre a ação anti inflamatória, comum da *Matricaria chamomilla*, em fotoprotetores precisariam ser realizados para serem utilizados como apelos neste tipo de formulação.

ABSTRACT

Keywords: sun protection, chamomile glycolic extract.

Glycolic plant extracts have different biological activities due to its composition. The use of these extracts in cosmetics applications is wide and may be related to its photoprotection, antioxidant, anti-inflammatory, calming and stimulating properties. The present work aims to elucidate the effects of chamomile glycolic extract (*Matricaria chamomilla*) in increasing the Sun Protection Factor (SPF) of a photoprotective formulation, as well as the possible changes in physical-chemical characteristics through the Stability Testing. The glycolic extract was developed by percolation method, with a plant:extract (w/w) ratio equal to 1:5. The absorbance profile was performed in a UV-vis spectrophotometer in a twenty-fold dilution (1:20), at wavelength ranging from 190 nm to 1100 nm in quartz cuvette (non-absorbent in the UV specter). The identification and quantification of apigenin was performed by High Performance Liquid Chromatography, using a C18 chromatography column, with a gradient mobile phase of 60% methanol and 40% water, which was possible to have a good resolution of the peak referring to apigenin. The photoprotective formulations developed showed variations in the composition and concentration of the filters used. F1 was composed by 5% of Butyl methoxydibenzoylmethane and 10% of Ethylhexyl methoxycinnamate, while FII was composed by 7,5% Butyl methoxydibenzoylmethane and 6% of Benzophenone-3. Both were submitted to the Stability Testing during 12 days (6 cycles), with and without chamomile glycolic extracts, where changes in their organoleptics (color and odor) and physical-chemical (pH) characteristics were noted. The Sun Protection Factor evaluation with 0%, 1% and 3% was performed by diffuse reflectance spectrophotometer with integrating sphere. The result of the preliminary stability test showed instability of F1 formulation by changing its color and homogeneity. The FII formulation remained stable during and after the evaluated period, maintaining its initial color and homogeneity. Therefore, FII was used to determine the solar protection factor (SPF) *in vitro*. It was noted that the incorporation of the glycolic extract between 1% and 3% did not change the SPF value. Considering the composition profile of filters and rheological and sensorial agents, there was no interaction of the glycolic extract on the stability of the sun protector, and it may be a natural product added to provide other benefits to be studied. Further studies on the anti-inflammatory action, common of *Matricaria chamomilla*, in sunscreens would need to be carried out to be used as appeals in this type of formulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do espectro eletromagnético e seus diferentes comprimentos de onda.

Figura 2 - Diferentes comprimentos de onda e suas percepções sensoriais.

Figura 3 - Formação de ciclobutano de pirimidina (CPD) e (6-4)-pirimidina-pirimidona (6-4PP) a partir de duas pirimidinas adjacentes.

Figura 4 - Diagrama de penetração da radiação eletromagnética na pele humana.

Figura 5 - Estrutura molecular do Ethylhexyl Methoxycinnamate (p-metoxicinamato de octila).

Figura 6 - Figura 6 - Estrutura do equilíbrio tautomérico ceto-enol do Butyl Methoxydibenzoylmethane (Butil Metoxidibenzoinmetano/Avobenzona).

Figura 7 - Estrutura molecular da Benzophenone-3 (benzofenona-3).

Figura 8 - Anatomia da *Matricaria chamomilla*.

Figura 10 - Planta pulverizada antes da tamisação.

Figura 11 - Estrutura molecular da apigenina.

Figura 12 - Planta pulverizada após tamisação.

Figura 13 - Planta pulverizada umedecida com líquido extrator.

Figura 14 - Funil de separação preparado como percolador.

Figura 15 - Espectro de absorbância do extrato glicólico de camomila (190 nm a 800 nm).

Figura 16 - Incompatibilidade entre extrato e formulação fotoprotetora (FI + 3%).

Figura 17 - Espectro de absorbância do extrato glicólico de camomila (190 nm a 800 nm).

Figura 18 - Gráfico de dispersão com linha de tendência da concentração de apigenina.

Figura 19 - Valores de FPS médio das formulações FII antes do Teste de Estabilidade Preliminar e seus coeficientes de variação.

Figura 20 - Valores de FPS médio das formulações FII após do Teste de Estabilidade Preliminar e seus coeficientes de variação.

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Equação de Plank.

Equação 2 - Cálculo do FPS.

Equação 3 - Cálculo do FPUVA.

Equação 4 - Equação da reta para determinação de concentração de apigenina no extrato glicólico de camomila ($R^2 = 0,91$).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das formulações F1 e FII.

Tabela 2 - Relação entre temperatura e tempo de exposição do teste de estabilidade preliminar.

Tabela 3 - Parâmetros utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para o extrato glicólico de camomila.

Tabela 4 - Concentrações de apigenina utilizada para construção de curva de calibração para o extrato glicólico.

Tabela 5 - Avaliação do aspecto de cor, odor e pH das formulações contendo F1 e FII após o Teste de Estabilidade Preliminar.

Tabela 6 - Determinação da densidade relativa do extrato glicólico de (Camomila matricaria).

Tabela 7 - Dados obtidos através da CLAE de apigenina padrão.

Tabela 8 - Valores obtidos de FPS para FII e suas variações antes do estudo de estabilidade (T0).

Tabela 9 - Valores obtidos de FPS para FII e suas variações após o estudo de estabilidade.

LISTA DE FLUXOGRAMA

Fluxograma 1 - Método de obtenção do extrato glicólico de camomila através da percolação.

1. INTRODUÇÃO

A radiação solar à qual estamos constantemente expostos são ondas eletromagnéticas de alta frequência, de comprimentos que variam entre 100nm e 400nm (UV), 400nm e 800nm (visível) e acima de 800nm (infravermelho). A radiação UV pode ser dividida em UVA (320nm - 400nm), UVB (290nm - 340nm) e UVC (100nm - 290nm). Dentre os malefícios causados pela exposição à radiação UV estão a inibição de resposta imune da pele e também danos ao DNA (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Uma forma importante de proteção contra todos os danos causados pela radiação UV é transformar a alta energia prejudicial em outra forma de energia não prejudicial, como o calor, propriedade característica dos filtros químicos (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Protetor solar é um produto cosmético disponível em diferentes apresentações como emulsões, sprays ou bastões, destinado a bloquear, refletir e absorver os raios solares por diferentes mecanismos, sendo a reflexão através dos filtros físicos (dióxido de titânio e óxido de zinco) e a absorção pelos filtros químicos (homosalate, avobenzone, ethylhexyl methoxycinnamate, entre outros), protegendo as células da pele contra os efeitos danosos provocados pela radiação UV, como as queimaduras e até o câncer. Estão disponíveis comercialmente desde 1928, mas foi somente a partir da década de 1980 que o seu uso deixou de estar relacionado somente à prevenção de queimaduras e passou também à prevenção de neoplasias cutâneas, queratoses actínicas, carcinoma espinocelular e photocarcinogênese - por isso a importância do seu uso (SCHALKA; REIS, 2011).

Dentro da área cosmética, a sustentabilidade tem sido o principal agente de mudança nos hábitos dos consumidores, incentivando, com isso, o desenvolvimento de novas formulações com matérias-primas naturais, de fontes renováveis, que otimizem recursos energéticos, biodegradáveis, sem efeito acumulativo e bioacumulativo, que gerem menor quantidade de resíduos e tenham incremento na segurança de uso. Cosméticos que utilizam produtos naturais são produtos regidos por uma filosofia de produção sustentável e respeito à vida e ao meio ambiente durante toda sua cadeia de produção, contribuindo para

conservação e renovação de recursos naturais (WEISS et al., 2011). A redução do uso de substâncias fotoprotetoras como os filtros químicos e o aumento de substâncias naturais, em comparação aos já utilizados atualmente, poderia também reduzir os riscos de permeação cutânea e o aparecimento de eventos adversos causados por esses agentes químicos (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Para que uma formulação fotoprotetora funcione de maneira adequada ao ser aplicada, é importante que esta seja considerada estável, levando em consideração a legislação vigente onde será comercializada (BRASIL, 2012). A estabilidade do produto é uma condição importante, uma vez que este será exposto a diferentes condições ambientais, como temperatura, umidade e luminosidade desde sua fabricação e envase até o término de sua validade. Diferentes componentes adicionados à formulação, sejam compostos ativos ou não, naturais ou não, e até mesmo diferentes materiais de acondicionamento podem afetar a estabilidade do produto (ANVISA, 2004).

Portanto, a escolha de um produto natural para utilização em uma formulação cosmética como “booster” de FPS auxilia o desenvolvimento de cosméticos cada vez mais sustentáveis, físico-quimicamente estáveis, vegetalizados e orgânicos, aumentando a confiança de consumidores e guiando novos lançamentos para apelos como “blue beauty”, “green beauty”, promoção de saúde e bem-estar, entre outros. Neste cenário, o Brasil tem grande potencial de desenvolvimento tecnológico, por possuir uma vasta extensão fitoecológica, com biomas variados e matéria-prima abundante (ISAAC, 2016).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. RADIAÇÃO SOLAR E SUA RELAÇÃO COM A PELE

A radiação solar incidente sobre a Terra que genericamente chamamos de luz solar pode ser denominada radiação eletromagnética (CORRÊA, 2013). As ondas de comprimentos variados que atingem a superfície terrestre possuem altas

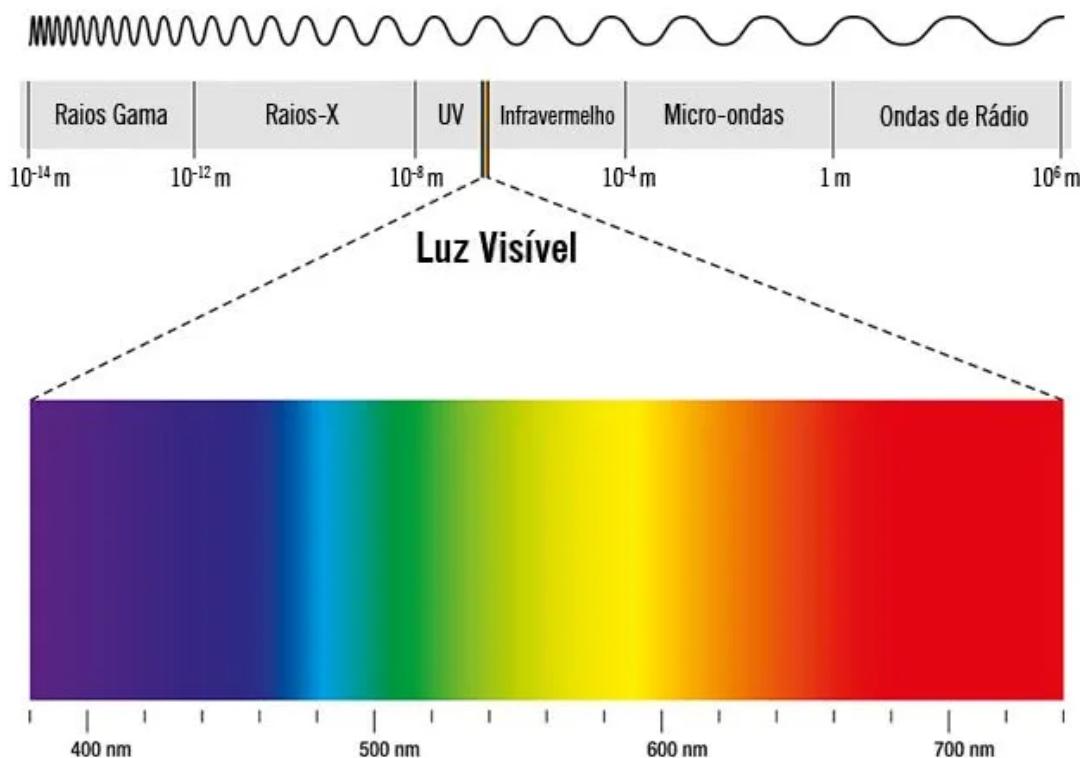
frequências e podem ser divididas entre radiação ultravioleta (200nm a 400nm), radiação de luz visível (400nm a 800nm) e radiação infravermelha (acima de 800nm). Destas, apenas a radiação de luz visível está em comprimentos que podemos enxergar em formas de cores. Quanto menor o comprimento de onda, maior é a frequência e, consequentemente, a energia carregada - motivo pelo qual existe maior preocupação no bloqueio da radiação UV através de filtros solares, pois seu alto valor energético induz reações fotoquímicas ao permear mais profundamente a estrutura da pele, até atingir a derme. A relação entre a energia (E) de uma onda eletromagnética e sua frequência (f) (ou comprimento) está descrita na equação de Plank (**Equação 1**), onde h é a constante de Plank:

Equação 1 - Equação de Plank.

$$E = h \cdot f \quad (1)$$

Os comprimentos de onda da radiação ultravioleta podem ser divididos didaticamente em três porções: UVA (320nm - 400nm), UVB (290 nm - 320 nm) e UVC (200nm - 290nm) (ANVISA, 2012). Estes diferentes comprimentos de onda incidem em diferentes proporções na superfície terrestre: 56% de infravermelho, 39% de luz visível e 5% de ultravioleta. Destes 5% de luz UV, 95% corresponde à radiação UVA, 5% à UVB enquanto a radiação UVC, que possui alta energia e é extremamente prejudicial aos seres humanos, é filtrada pela camada de ozônio e praticamente não atinge a superfície terrestre (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Figura 1 - Representação do espectro eletromagnético e seus diferentes comprimentos de onda.



Fonte: Adaptado de Andrade (2022, p. 23)

Os diferentes níveis energéticos dos raios solares que atingem a camada mais superficial da Terra podem ser percebidos de diferentes formas pelo nosso organismo, desde a forma de calor pela radiação infravermelha (IV), até as cores (luz visível) e reações fotoquímicas pela radiação UV (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

A pele é o maior órgão do corpo humano, que faz fronteira entre o organismo interno e o meio ambiente. Ela é responsável por fornecer barreira física e bioquímica através de diversos mecanismos de defesa, além de evitar a invasão de microrganismos patogênicos, agressões químicas, desidratação e perda de solutos (CORRÊA, 2013).

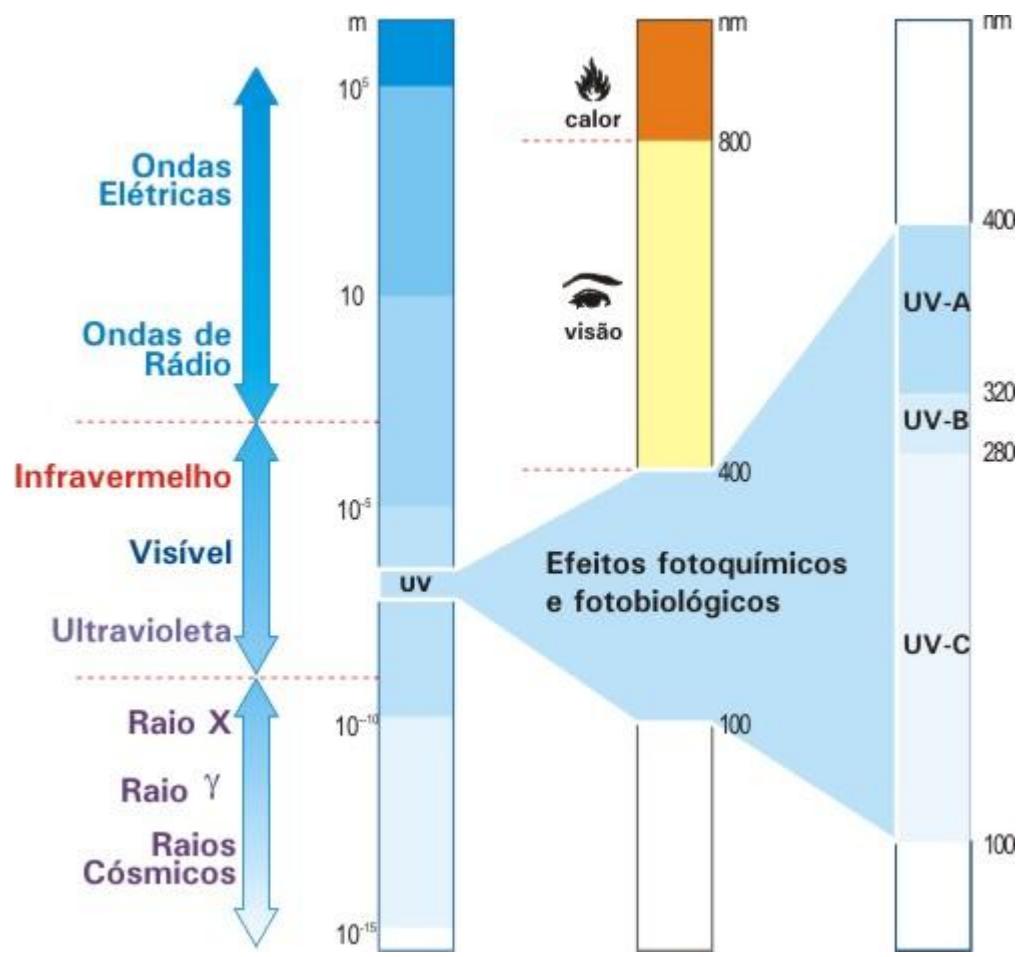
Superficialmente, a pele é dividida em duas partes fundamentais: a derme e a epiderme. A epiderme é a camada mais superficial que faz contato direto com o meio externo através do estrato córneo, células anucleadas e achatadas, ricas em filamentos de queratina que garantem boa proteção física e química. Na camada

mais interna da epiderme se localizam as células geradas através da divisão celular (mitose), que se diferenciam até completa queratinização, se deslocando para a superfície da epiderme. Nesta porção também estão localizados os melanócitos, que são responsáveis pela produção da melanina que confere a cor visível da pele, cabelo e olhos (CORRÊA, 2013).

A segunda camada da pele é a derme, possuindo a capacidade de garantir nutrição à epiderme através da sua vascularização. É nesta camada que estão localizadas glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículo piloso, além dos vasos linfáticos, sendo responsável pela sustentação da epiderme e também pela elasticidade e firmeza da pele pela produção de colágeno e elastina (CORRÊA, 2013).

Os efeitos da radiação solar são danosos, causados pela luz UV sobre nosso organismo, com destaque para a radiação UVB, que é altamente absorvida pelo DNA. Segundo Balogh *et al.* (2011), existem diversos cromóforos na pele capazes de absorver radiação UV, como: melanina, DNA, RNA, proteínas e aminoácidos aromáticos (tirosina e triptofano). A absorção desta radiação gera reações fotoquímicas que resultam em efeitos mutagênicos, carcinogênicos e letais aos organismos vivos. Os efeitos mais superficiais são o surgimento acelerado de rugas, ressecamento e pigmentação irregular (BALOGH *et al.*, 2011).

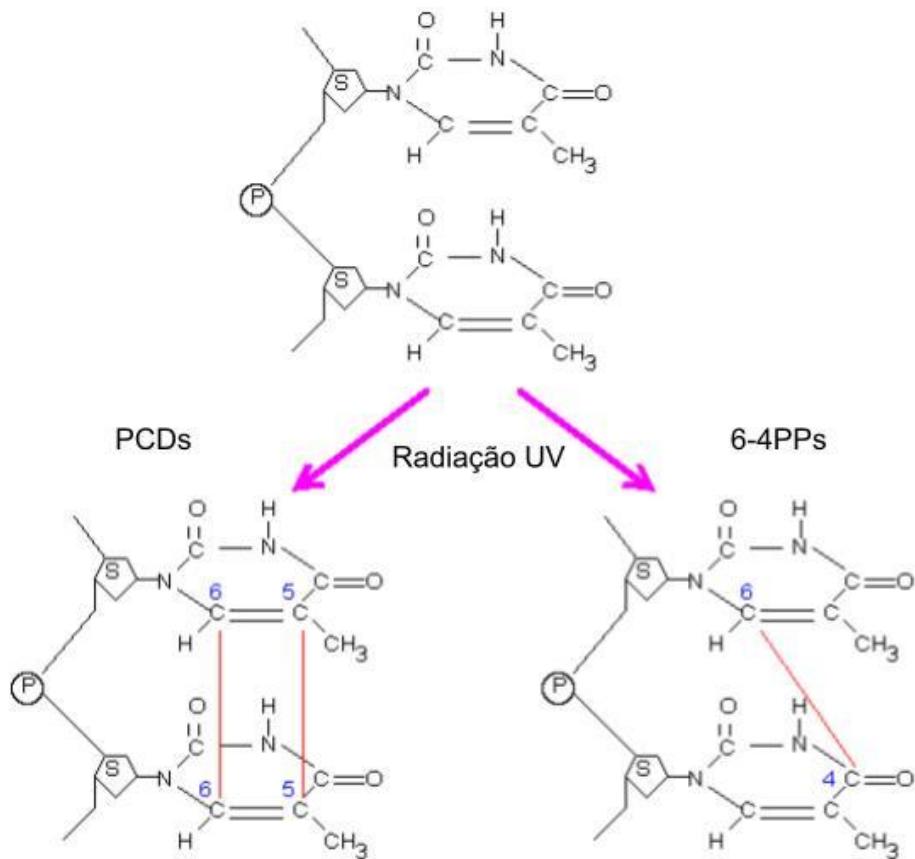
Figura 2 - Diferentes comprimentos de onda e suas percepções sensoriais.



Fonte: Finocchio, 2021.

As lesões da radiação UVB no DNA podem ser divididas, majoritariamente, em duas: formação de ciclobutanos de pirimidina (CPDs) e os fotoproductos (6-4)-pirimidina-pirimidona (6-4PPs). As CPDs são formadas quando bases pirimidínicas adjacentes formam um anel ciclobutano pela ligação covalente entre os átomos C5 e C6 das duas bases nitrogenadas. Já as 6-4PPs são formadas pela ligação covalente entre pirimidinas da mesma fita, envolvendo carbonos C6 e C4 das pirimidinas 5' e 3', respectivamente. A **Figura 3** ilustra as reações citadas acima a partir de duas timinas adjacentes (SANTOS, 2010).

Figura 3 - Formação de ciclobutano de pirimidina (CPD) e (6-4)-pirimidina-pirimidona (6-4PP) a partir de duas pirimidinas adjacentes.



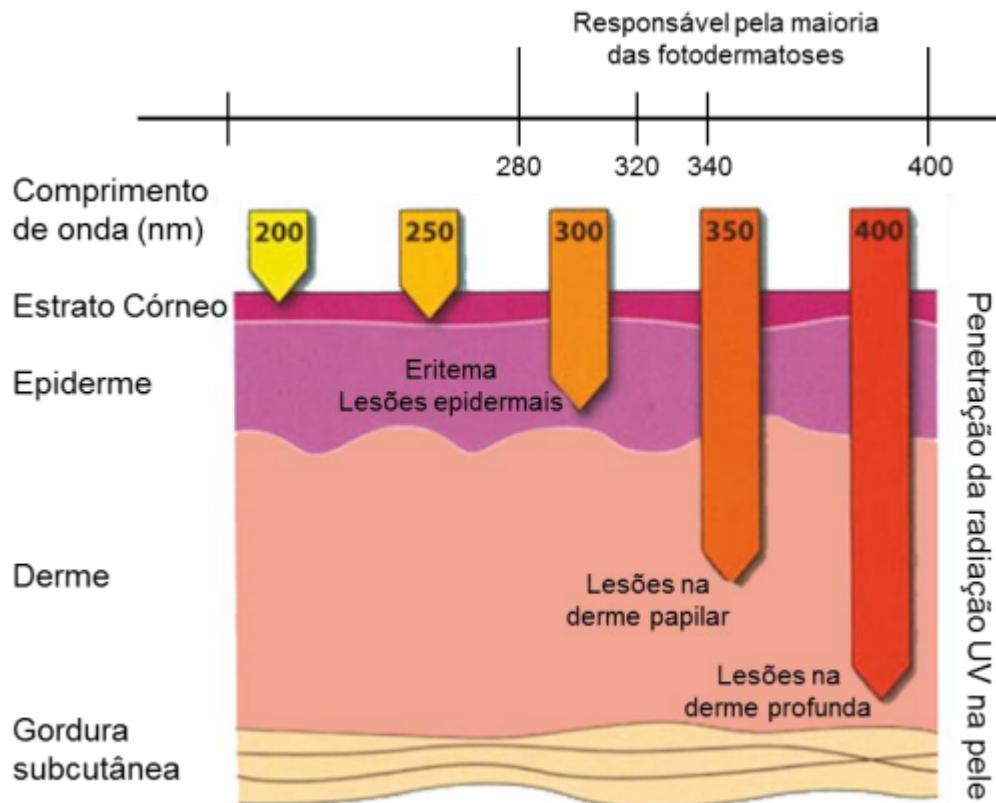
Fonte: Santos, 2010.

As alterações químicas em bases nitrogenadas do DNA levam a desordens e distorções estruturais na dupla hélice, prejudicando mecanismos celulares constitutivos como transcrição e replicação que contribuem para processos mutagênicos e carcinogênicos (SANTOS, 2010).

Considerando as ondas UVA, de menor energia e maior comprimento de onda, estudos mostram seus efeitos nos processos de carcinogênese e de envelhecimento. Esta frequência de onda é capaz de excitar cromóforos que atuam como fotossensibilizadores endógenos, formando espécies reativas de oxigênio (EROs), que podem causar danos à estruturas da pele como membranas, aminoácidos e lipídeos, como a peroxidação lipídica (SANTOS, 2010).

A **Figura 4** relaciona o comprimento de onda com a capacidade de penetração na pele humana. Quanto maior o comprimento de onda, maior a penetração. Ao atingir as camadas mais basais da pele, onde estão localizadas as suas células progenitoras, acredita-se que a radiação UVA exerce seu papel carcinogênico sobre células em divisão, estando assim, associada ao desenvolvimento de cânceres de pele (SANTOS, 2010).

Figura 4 - Diagrama de penetração da radiação eletromagnética na pele humana.



Fonte: Santos, 2010.

O fotoenvelhecimento é um processo causado pela radiação UV, onde há o envelhecimento acelerado da pele, causando alterações características de uma pele envelhecida. Este processo é causado pela exposição crônica à radiação, e suas alterações bioquímicas podem ser observadas especialmente no tecido conectivo da derme - estresse oxidativo, lipoperoxidação, foto-oxidação de proteínas, desequilíbrio na produção de enzimas antioxidantes e a indução de

metaloproteinases de matriz (CORRÊA, 2013). Em termos visíveis, o fotoenvelhecimento causa manchas, descamações, aspereza, ressecamento, rugas profundas, flacidez e dilatação anormal dos vasos sanguíneos (CORRÊA, 2013). O uso de protetores solares de amplo espectro se faz necessário pois os prejuízos à pele não são causados exclusivamente pela radiação UVB, mas também pela UVA.

Diante de processos danosos ao DNA e à estrutura celular, o organismo humano possui mecanismos de reparo capazes de evitar processos de morte celular, instabilidade genômica, mutações e outros processos degenerativos. Entre estes mecanismos, o mais eficiente em humanos é o reparo por excisão de nucleotídeos (NER), processo que envolve múltiplos passos intermediários e a ação coordenada de diversas proteínas. Destaca-se também o fotoreparo, realizado pela enzima fotoliase que é capaz de remover lesões do tipo CPD e (6-4)PP. Porém, este último mecanismo está ausente em humanos (SANTOS, 2010). Apesar de presentes, os mecanismos de reparo podem ser prejudicados pelo excesso de exposição solar (BALOGH *et al*, 2011).

2.2. PROTETOR SOLAR E FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

Protetor solar é uma preparação cosmética que tem o objetivo principal ou exclusivo de proteger a pele ou lábios contra a radiação UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação (ANVISA, 2012). Estas formulações estão disponíveis em diferentes apresentações como emulsões óleo em água (O/A), emulsões água em óleo (A/O), aerossóis, sprays, bastões, óleos, géis oleosos, loções hidroalcoólicas, entre outras (BALOGH *et al*, 2011). A proteção solar destas formulações acontece através de filtros que são moléculas que podem absorver, refletir ou dispersar a radiação UV.

Filtros inorgânicos agem refletindo e dispersando as radiações UV e visível através da formação de um filme de partículas sobre a pele. Entre os mais utilizados estão: óxido de zinco e dióxido de titânio. Estes filtros são bastante inertes, sendo recomendados para peles sensíveis de pacientes com histórico

alérgico, são atóxicos e estáveis. Porém, ao formarem uma barreira opaca sobre a pele, podem facilmente transferir sua cor para a vestimenta comprometendo a eficácia da fotoproteção, além de deixar aspecto branco sobre a pele. Com a posterior micronização das partículas destes filtros inorgânicos durante o avanço tecnológico no desenvolvimento de cosméticos, algumas características indesejáveis de branqueamento da pele foram diminuídas, mantendo a boa qualidade na fotoproteção (BALOGH *et al.*, 2011). O recobrimento das partículas micronizadas com agentes como dimeticone, sílica e também cera de carnaúba mostraram melhorias na estabilidade fotoquímica destas matérias-primas, além de aumentar o FPS e FPUVA.

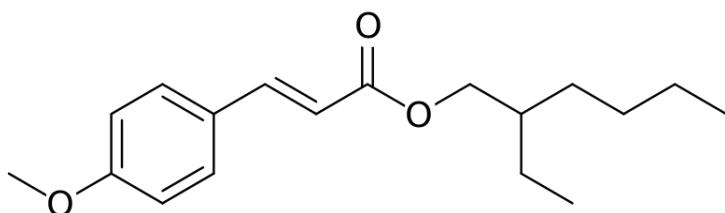
Filtros orgânicos são moléculas que agem pela absorção da radiação UV, transformando-a em radiação não maléfica ao organismo humano. Em relação à sua estrutura molecular, filtros orgânicos são compostos aromáticos com um grupo doador de elétrons na posição *ortho* ou *para* do anel aromático, geralmente uma amina ou metoxila. Eles podem ser tanto hidrossolúveis (Disodium Phenyl Dibenzimidazole Tetrasulfonate) quanto lipossolúveis (Butil Metoxidibenzoilmelano). Ao serem irradiados com a luz solar, os elétrons do orbital HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital - orbital molecular de maior energia ocupado por elétrons) são excitados e transferidos para camadas mais energéticas - orbital LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital - orbital molecular de menor energia não ocupado por elétrons). Parte da energia absorvida é utilizada para esta transição eletrônica, e, ao voltarem ao estado fundamental, a energia absorvida é liberada em forma de calor - mecanismo de absorção (ARAUJO e SOUZA, 2008; BALOGH *et al.*, 2011).

Os filtros químicos, ou orgânicos, são moléculas que podem absorver radiação UV e transformá-la em comprimentos de onda inofensivos ao organismo humano (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Eles podem ser divididos em duas categorias de acordo com sua faixa de absorção: filtro UVA e filtro UVB. A radiação UVB corresponde aos comprimentos de onda de 290 a 320 nm, e aproximadamente 90% desta radiação é filtrada pelos filtros desta categoria. Seus principais representantes são os cinamatos e os salicilatos (Ethylhexyl

Methoxycinnamate e Ethylhexyl Salicylate) (BALOGH *et al.*, 2011). Os filtros UVA são representados pela avobenzona (Butil Metoxidibenzoilmelano) e pelas benzofenonas (Benzophenone-3).

Ethylhexyl Methoxycinnamate (*p*-Metoxicinamato de Octila ou MCO) é um filtro químico que absorve radiação solar na faixa de UVB, com faixa de absorção entre 270nm e 328 nm. Foi desenvolvido em meados da década de 50, sendo ainda muito utilizado atualmente pela sua baixa capacidade de causar irritabilidade, fotossensibilização e fotoalergias. Pode apresentar diminuição na fotoproteção, uma vez que a radiação UV incidida pode causar isomerização. Este filtro é insolúvel em água e pode apresentar isomerização ao ser exposto à radiação UV (SILVA, 2013, PINTO, 2014, FREIRE, 2022).

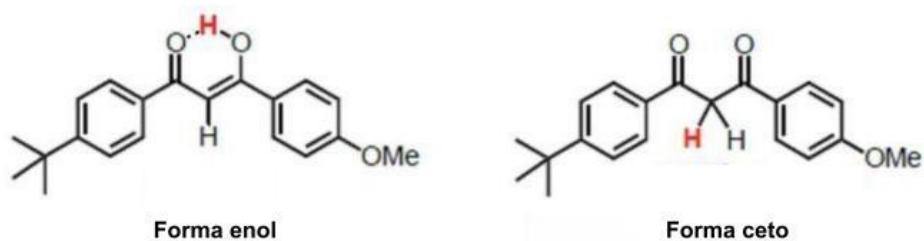
Figura 5 - Estrutura molecular do Ethylhexyl Methoxycinnamate (*p*-metoxicinamato de octila).



Fonte: Adaptado de Pinto (2014, p. 14).

Butil Metoxidibenzoilmelano é um filtro UVA introduzido no mercado na década de 80, quando a preocupação com proteção solar deixou de ser restrita às ondas UVB e também passou às ondas UVA. O pico de absorção da forma enólica se dá na faixa de 350 nm a 365 nm. A fototautomerização para a forma cetônica leva a perda de capacidade de absorver raios UVA - passando para absorção na faixa de 260nm a 280nm (UVC). Conhecido como avobenzona ou BMBM, este é um filtro insolúvel em água, e, na presença desta e de radiação UV, apresenta degradação fotoquímica da molécula. A avobenzona é um filtro orgânico que está em equilíbrio tautomérico na forma enol-ceto (PINTO, 2014, FREIRE, 2022).

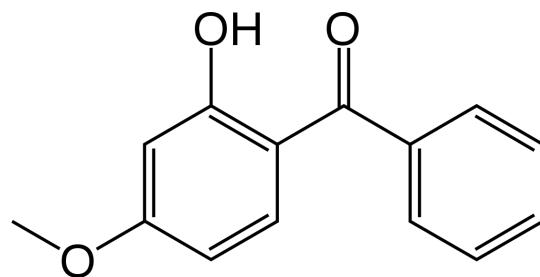
Figura 6 - Estrutura do equilíbrio tautomérico ceto-enol do Butyl Methoxydibenzoylmethane (Butil Metoxidibenzoilmetano/Avobenzona).



Fonte: Adaptado de Pinto (2014, p. 13).

A benzofenona-3 é um filtro que absorve faixas de radiação UVA e UVB e apresenta grande fotoestabilidade frente às radiações solares (SILVA, 2013).

Figura 7 - Estrutura molecular da Benzophenone-3 (benzofenona-3).



Fonte: Adaptado de Baby et al. (2007).

A perda de efetividade na fotoproteção de um filtro solar, seja ele UVA ou UVA, está relacionada à capacidade de absorver a energia recebida e manter sua configuração original após a dissipação desta energia, principalmente em forma de calor. Se a energia absorvida não for dissipada, processos fotoquímicos, quebras ou rearranjos que levam a fragmentação e cicloadição podem ocorrer. Não só a capacidade fotoprotetora pode diminuir, como também os novos compostos formados podem interagir com os componentes da formulação e também com o organismo humano, aumentando o potencial toxicológico do protetor solar (PINTO, 2014).

Comercialmente, protetores solares estão disponíveis desde 1928, mas foi somente em 1980 que seu uso deixou de estar relacionado à prevenção de queimaduras e passou também à prevenção de neoplasias cutâneas, queratoses actínicas, carcinoma espinocelular e photocarcinogênese - por isso a importância do seu uso (SCHALKA; REIS, 2011).

Em ensaios *in vivo*, o Fator de Proteção Solar (FPS) indica o grau de proteção que a formulação oferece contra os raios UVB, mostrando o tempo que podemos ficar expostos ao sol sem formar eritemas na pele (Dose eritematosa mínima - DEM). Ou seja, se uma exposição de 5 minutos ao sol em determinada incidência solar foi suficiente para causar eritemas na pele, um protetor solar com FPS 15 aumentaria este tempo para 75 minutos, enquanto um protetor com FPS 30 protegeria a pele por 150 minutos (CABRAL; PEREIRA; PARTATA, 2011). Os eritemas devem ser observados entre 16 e 24 horas após a exposição à radiação UV (BRASIL, 2012). A razão entre os diferentes tempos citados anteriormente é o valor numérico do FPS da formulação cosmética, não podendo ser menor do que 6 (**Equação 2**):

Equação 2 - Cálculo do FPS.

$$FPS = DEM \text{ pele com proteção} / DEM \text{ pele sem proteção} \quad (2)$$

Em relação ao Fator de Proteção UVA (FPUVA), o cálculo é feito considerando a pigmentação da pele, e não a formação de eritemas. Assim, considera-se o tempo necessário para pigmentação observada entre 2 e 4 horas após a exposição aos raios UV entre uma pele protegida por um protetor solar e outra desprotegida (Dose Pigmentária Mínima). Os valores encontrados devem ser, no mínimo, $\frac{1}{3}$ do FPS, com comprimento de onda crítico igual a 370 nm (BRASIL, /2012), seguindo a **Equação 3**:

Equação 3 - Cálculo do FPUVA.

$$.FPUVA = DMP \text{ pele com proteção} / DMP \text{ pele sem proteção} \quad (3)$$

Considerando métodos *in vitro* para determinação do FPS de uma formulação, existe o método espectrofotométrico, que leva em consideração o espectro de absorção ou transmissão da radiação UV em soluções diluídas do protetor solar (utilizando-se como solvente o etanol). Existe também a determinação do espectro de transmissão ou reflexão obtido em espectrofotômetro de reflectância, que não exige diluição da amostra e serve também para análise de filtros inorgânicos, além dos orgânicos (BALOGH *et al.*, 2011).

Para que uma formulação fotoprotetora funcione de maneira adequada ao ser aplicada, é importante que esta seja considerada estável, levando em consideração a legislação vigente onde será comercializada. A estabilidade do produto é uma condição importante, uma vez que este será exposto a diferentes condições ambientais, como temperatura, umidade e luminosidade desde sua fabricação e envase até o término de sua validade. Diferentes componentes adicionados à formulação, sejam compostos ativos ou não, naturais ou sintéticos, e até mesmo diferentes materiais de acondicionamento podem afetar a estabilidade do produto (ANVISA, 2004).

2.3. EXTRATO GLICÓLICO E SEU USO EM COSMÉTICOS

Por ter variada composição química, extratos glicólicos vegetais apresentam diferentes atividades clínicas como ação antioxidante, anti-inflamatória, envelhecimento, fotoproteção, entre outros, de acordo com a espécie utilizada para sua elaboração (BALOGH, 2011). Diante da complexidade química, há certa dificuldade em denominar e quantificar as substâncias específicas responsáveis pela ação fotoprotetora (RUSCINC, 2018).

Antes que se pudesse sintetizar moléculas artificialmente com as mesmas propriedades daquelas encontradas na natureza, a única forma de obtê-las era retirando-as de plantas através de extratos, infusões ou outros processos. Não é de hoje que produtos naturais têm feito parte do nosso dia-a-dia. Registros arqueológicos revelam o uso medicinal de plantas há aproximadamente 60.000 anos a.C. Outros achados indicam o uso de uma espécie de pomada feita com

óleo de oliva fresco, cera e casca de cipreste trituradas para reduzir as rugas faciais. Produtos naturais têm sido amplamente valorizados pelo mercado e por grandes companhias, sendo necessária a incorporação cada vez maior de extratos vegetais, matérias-primas e princípios ativos naturais em formulações cosméticas (BALOGH, 2011).

Extratos são preparações obtidas a partir de drogas vegetais com aspecto líquido, semissólido ou sólido. A matéria-prima utilizada pode sofrer processos preliminares à preparação do extrato como inativação de enzimas, moagem ou desengorduramento, de acordo com o resultado que se deseja obter (ANVISA, 2019).

Extratos glicólicos e hidroglicólicos apresentam boa compatibilidade com diversas bases cosméticas. São preparados com glicóis, sendo o principal o propilenoglicol (propano-1,2-diol), que é amplamente utilizado na obtenção desses extratos por ser incolor, inodoro, límpido e higroscópico (BALOGH, 2011).

2.4. CAMOMILA (*Matricaria chamomilla*), FLAVONÓIDES E APIGENINA

A camomila é uma planta herbácea, anual, com cerca de 20 a 50 cm de altura, com caule desprovido de pêlos e folhas verdes e lisas na parte superior, recortadas em segmentos estreitos e pontiagudos. Suas flores são organizadas em inflorescências (flores sem pedúnculos), brancas, amarelas no centro, sobre o receptáculos cônico e oco; flores centrais hermafroditas; frutos do tipo simples, secos, com única semente. É originária da Europa central e Norte da África (Bruneton, 1991).

Sua composição química é variada contendo camazuleno (confere cor azulada ao óleo essencial), α-bisabolol, apigenina (flavonóide) e herniarina (cumarina). Por causa de suas diferentes atividades farmacológicas, a camomila é utilizada desde a antiguidade como antiinflamatório e espasmolítico através de preparações feitas por infusão, tinturas e extratos. Seus extratos e seu óleo essencial são utilizados em pomadas e loções anti inflamatórias e cicatrizantes. Em cosmetologia, a camomila é muito utilizada em shampoo para clareamento dos fios

de cabelo e sua essência é utilizada em perfumaria e saboaria (BRUNETON, 1991).

Figura 8 - Anatomia da *Matricaria chamomilla*.

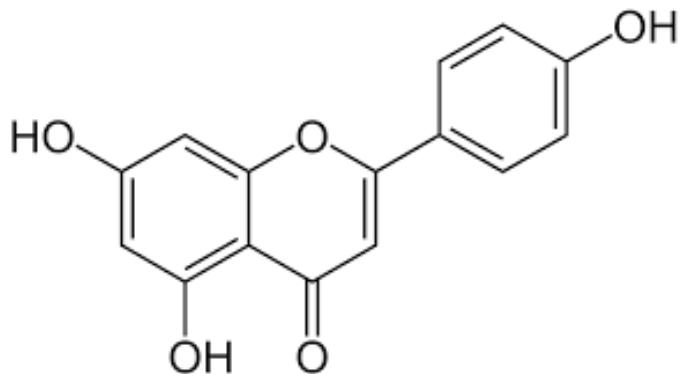


Fonte: adaptado da ANVISA (2015).

Extratos aquosos e hidroalcoólicos produzidos através de infusão ou decocção das inflorescências e ápices floridos reportaram concentrações de flavonoides e flavonoides glicosídeos como a rutina ou quercetina presentes na camomila. Apesar da diversidade da composição desta espécie, estudos toxicológicos realizados (toxicidade aguda) por administração via oral não resultaram em morte de roedores ou qualquer outra alteração fisiológica quando utilizados extratos aquosos, hidroalcoólicos, metanólicos ou óleo essencial. O poder cicatrizante do extrato aquoso de camomila também foi estudado através da

administração via oral, onde se obteve maior redução na área da ferida, epitelização mais rápida e uma força de quebra da ferida mais elevada. Em estudos de ação anti inflamatória, a apigenina isolada foi extraída do extrato aquoso de flores e mostrou redução significativa da IL-6 e TNF- α , além do efeito protetor contra danos oxidativos. A apigenina é um flavonóide da classe das geninas ($C_{15}H_{10}O_5$) (ANVISA, 2015).

Figura 9 - Estrutura molecular da apigenina.



Fonte: Adaptado de Bruneton (1991).

Os flavonóides são metabólitos secundários e fazem parte da composição de diversas plantas. São compostos que possuem 15 átomos de carbono (dois núcleos benzênicos unidos por 3 átomos de carbono ($Ar-Cr_3-Ar$)). São diferenciados em flavonóides, isoflavonóides e neoflavonóides. Estes são encontrados em abundância no reino vegetal, presentes em grande abundância em angiospermas (com máxima diversidade estrutural) (BRUNETON, 1991).

A função dos flavonóides em plantas não é bem definida, mas podem atuar como antioxidantes (quelando metais), inibidores enzimáticos ou como protetores da radiação solar nociva. Sua função ecológica, porém, é evidente: conferem cores às flores, o que guia a polinização feita pelos insetos (BRUNETON, 1991).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito do extrato glicólico de camomila quanto ao aumento do fator de proteção solar em formulações fotoprotetoras contendo os filtros orgânicos butil metoxidibenzoilmetano e *p*-metoxicinamato de octila (FI) e benzofenona-3 e *p*-metoxicinamato de octila (FII).

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a interferência de diferentes concentrações do extrato glicólico de camomila (*Matricaria chamomilla*) no Teste de Estabilidade Preliminar de uma formulação fotoprotetora com estabilidade previamente comprovada (FI);
- Conduzir Teste de Estabilidade Preliminar de formulação fotoprotetora (FII) e a interferência de diferentes concentrações do extrato glicólico de camomila (*Matricaria chamomilla*) na sua estabilidade;
- Mensurar o aumento do fator de proteção solar (FPS) através da espectrofotometria de reflectância difusa com esfera de integração das formulações fotoprotetoras acrescidas do extrato camomila (*Matricaria chamomilla*);
- Produzir extrato glicólico de camomila (*Matricaria chamomilla*), identificá-lo e quantificá-lo através de técnicas analíticas como Espectrofotometria Molecular e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. EQUIPAMENTOS

- Cromatógrafo (SHIMADZU Prominence-i LC-2030)
- Coluna cromatográfica C18

- Vial transparente com tampa de rosca (SHIMADZU)
- Filtro 0,2um PVDF (WHATMAN)
- Micropipeta monocanal H1000 (OLEN)
- Micropipeta monocanal H200 (OLEN)
- Espectrofotômetro (AGILENT 8453 UV-visible)
- Cubeta Quartz (SHIMADZU)
- Tamiz série Tyler 35 (0,42mm)
- Béquer de vidro transparente 250 mL (LABORGLAS)
- Placa aquecedora em cerâmica (IKA C-MAG HS 7)
- Balança semi-analítica (MARTE AS 2000C)
- Balança analítica ATY 224 com capela de calibração (SHIMADZU)
- Agitador mecânico com hélice centrífuga (FISATOM 713D)
- Tira Universal de pH K36-014 (KASVI)

4.2. MATERIAS-PRIMAS

No desenvolvimento e identificação (CLAE) do extrato glicólico de Camomila foram utilizadas as seguintes matérias-primas:

- Água destilada
- Propilenoglicol (MAPRIC)
- Planta *Matricaria chamomilla* desidratada
- Metanol grau HPLC (MERCK)
- Ácido clorídrico (pH = 2,5)

No desenvolvimento das formulações fotoprotetoras F1 e FII foram utilizadas as seguintes matérias-primas:

- Água destilada
- Co-polímero de ácido sulfônico acriloildimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado (PHARMA SPECIAL)
- Propilenoglicol (MAPRIC)
- Triglicérides de ácido cáprico e caprílico (HENRIFARMA P.Q.F.)

- Álcool cetearílico (e) fosfato de dicetila (e) fosfato de álcool cetílico etoxilado (10 OE) (CHEMISTRY DO BRASIL)
- Fenoxietanol (e) metilparabeno (e) etilparabeno (e) butilparabeno (Croda do Brasil)
- Avobenzona (PHARMA SPECIAL)
- p-Metoxicinamato de Octila (VOLP)
- Benzofenona-3 (MAPRIC)
- Extrato glicólico de Camomila

4.3. PREPARO DO EXTRATO GLICÓLICO DE CAMOMILA (*Matricaria chamomilla*)

O extrato glicólico de Camomila foi preparado através da técnica de percolação, baseado no Processo A de produção de extrato fluido da Farmacopéia Brasileira 6° edição, volume 1, tendo como líquido extrator uma mistura de água (50%) e propilenoglicol (50%) (ANVISA, 2019). As preparações líquidas extrativas são obtidas utilizando como solventes de extração álcool etílico, água, glicerol, propilenoglicol e óleos fixos, sendo o extrato fluido um produto desta categoria. O Processo A é empregado na preparação dos extratos fluidos por percolação, no qual o líquido extrator é o álcool etílico ou uma mistura hidroetílica. A planta seca foi pulverizada e teve sua granulometria definida por um tamis da série Tyler (nº 35) de abertura de malha de 0,42 mm.

Figura 10 - Planta pulverizada antes da tamisação.



Figura 11 - Planta pulverizada após tamisação.



Posteriormente, cinquenta gramas do pó foi precisamente pesado e umedecido com solvente extrator e colocado de forma levemente compactada em funil de separação (preparado como um percolador).

Figura 13 - Planta pulverizada umedecida com líquido extrator.

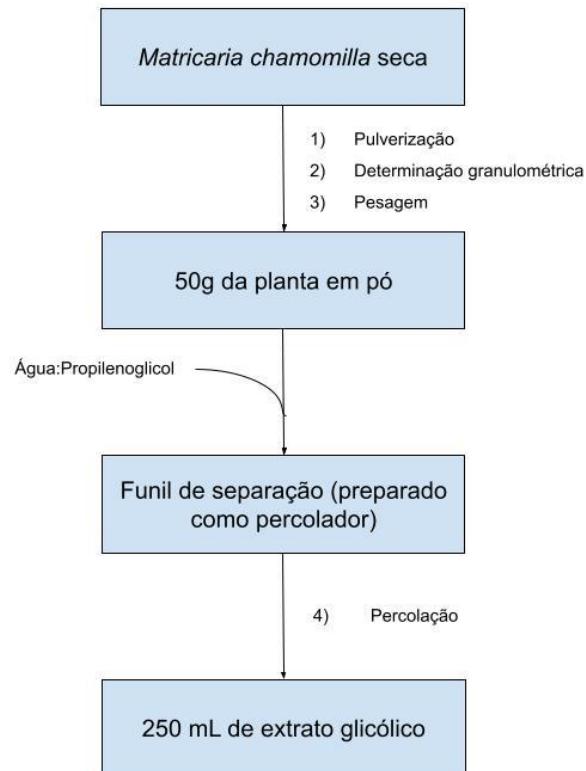


O funil de separação foi preenchido com líquido extrator até que este estivesse em nível mais alto do que o pó. Dessa forma, iniciou-se a percolação até que o extrato possuísse o volume de 250 mL, cumprindo uma relação de planta:extrato (p/p) igual a 1:5.

Figura 14 - Funil de separação preparado como percolador.



Fluxograma 1 - Método de obtenção do extrato glicólico de camomila através da percolação.



4.4. PREPARO DAS FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS E ESTABILIDADE PRELIMINAR

As formulações fotoprotetoras desenvolvidas para posterior adição do extrato glicólico de camomila foram feitas em formato de emulsão óleo em água. A composição das formulações F1 e FII está descrita na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Composição das formulações F1 e F2.

Componentes (INCI)	Formulações					
	F1	F1 + 1%	F1 + 3%	F2	F2 + 1%	F2 + 3%
Fase aquosa						
Água destilada (aqua)	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%
Co-polímero de ácido sulfônico acriloildimetailtaurato e vinilpirrolidona neutralizado (Ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilenoglicol (Propylene Glycol)	5	5	5	5	5	5
Fase oleosa						
Triglicérides de ácido cáprico e caprílico (Caprylic/Capric Triglyceride)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Álcool cetearílico (e) fosfato de dicetila (e) fosfato de álcool cetílico etoxilado (10 OE) (Cetearyl alcohol (and) dicetyl phosphate (and) ceteth-10 phosphate)	6	6	6	6	6	6
Fenoxietanol (e) metilparabeno (e) etilparabeno (e) butilparabeno (Phenoxyethanol (and) methylparaben (and) ethylparaben (and) butylparaben)	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Avobenzona (Butil Metoxidibenzoinmetano)	5	5	5	0	0	0
p-Metoxicinamato de Octila (Ethylhexyl methoxycinnamate)	10	10	10	7,5	7,5	7,5
Benzofenona-3 (Benzophenone-3)	0	0	0	6	6	6
Extrato glicólico de Camomila	0	1	3	0	1	3

A formulação FI desenvolvida sem o extrato glicólico de camomila foi anteriormente testada em relação à sua estabilidade (PINTO, 2014), onde foram realizados teste de centrifugação durante trinta minutos, a 3000 rpm (ANVISA, 2004), teste de estabilidade preliminar (ANVISA, 2004) e teste de estresse térmico (ANVISA, 2004). A formulação FII seguiu a mesma base de emulsionantes e agentes de consistência utilizados em FI, no entanto, com diferentes filtros e quantidades, conforme estudo realizado anteriormente (COELHO, 2005), onde foi avaliado o potencial fotoprotetor do extrato glicólico de camomila e calêndula, isolados ou associados, e em concentrações de 2% e 4% nesta configuração de filtros solares.

Foram preparados 200g de cada formulação (FI e FII), e cada uma destas foi submetida ao Teste de Estabilidade Preliminar em três duas condições de temperatura diferentes, em triplicata. Os procedimentos no preparo das formulações são descritos à seguir:

Fase Aquosa - O agente emulsionante (co-polímero de ácido sulfônico acriloildimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado) foi hidratado na mistura de água e propilenoglicol, conforme quantidades indicadas na **Tabela 1**, sob agitação de 1000 rpm com agitador mecânico, com hélice do tipo centrífuga, durante 10 min. A fase aquosa foi aquecida a 75,0°C (PINTO, 2014).

Fase Oleosa - Os agentes de consistência (álcool cetearílico (e) fosfato de dicetila (e) fosfato de álcool cetílico etoxilado (10 OE)); os emolientes (triglicérides de ácido cáprico (e) caprílico) e os filtros (avobenzona e *p*-metoxicinamato de octila) foram todos pesados conforme quantidade indicada na **Tabela 1**. A fase oleosa foi aquecida a 75,0°C (PINTO, 2014).

Emulsificação - A fase oleosa foi adicionada a fase aquosa de forma lenta e constante, com agitação de 1000 rpm no agitador mecânico de hélice do tipo centrífuga. Após o término da adição, a velocidade foi elevada gradualmente até

5000 rpm e mantida por 2 minutos. O conservante foi adicionado durante a agitação (PINTO, 2014).

Após 48 horas em repouso, as formulações acrescidas de 0%, 1% e 3% de extrato glicólico de camomila foram submetidas ao Teste de Estabilidade Preliminar. A variação busca das condições de armazenamento e o elevado estresse ao qual as formulações são submetidas acelera o surgimento de possíveis sinais de instabilidade (ANVISA, 2004).

As amostras foram armazenadas em frasco de vidro neutro transparente de 30 mL, com tampa de boa vedação para evitar perda de vapor para o meio. A quantidade de produto em cada frasco foi suficiente para as avaliações necessárias (20 mL, mantendo headspace de 10 mL, ou um terço do volume total), (ANVISA, 2004). De modo geral, aspectos organolépticos (aspecto e cor) e físico-químico (pH) foram observados. As temperaturas de armazenamento em estufa e refrigerador e o tempo de exposição da formulação a cada uma delas seguiram recomendações da literatura disponível (ANVISA, 2004), conforme descrito na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Relação entre temperatura e tempo de exposição do teste de estabilidade preliminar.

Formulação	Temperatura (°C)	Tempo (horas)
FI (triplicata = 3 frascos com 20g cada um)	45,0 ± 2,0	24
	- 5,0 ± 2,0	24
FI + 1% (triplicata = 3 frascos com 20g cada um)	45,0 ± 2,0	24
	- 5,0 ± 2,0	24
FI + 3% (triplicata = 3 frascos com 20g cada um)	45,0 ± 2,0	24
	- 5,0 ± 2,0	24

FII (triplicata = 3 frascos com 20g cada um)	45,0 ± 2,0	24
	- 5,0 ± 2,0	24
FII + 1% (triplicata = 3 frascos com 20g cada um)	45,0	24
	- 5,0 ± 2,0	24
FII + 3% (triplicata = 3 frascos com 20g cada um)	45,0 ± 2,0	24
	- 5,0 ± 2,0	24

A avaliação das características do produto e os critérios para aprovação destes em estabilidade basearam-se na literatura disponível. As avaliações visuais de homogeneidade, odor e cor receberam as seguintes classificações:

HOMOGENEIDADE

- N** - normal, sem alteração;
- LM** - levemente modificada;
- M** - modificada;
- IM** - intensamente modificada.

ODOR

- N** - normal, sem alteração;
- LM** - levemente modificada;
- M** - modificada;
- IM** - intensamente modificada.

COR

- N** - normal, sem alteração;
- LM** - levemente modificada;
- M** - modificada;
- IM** - intensamente modificada.

4.5. INCORPORAÇÃO DO EXTRATO NAS FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS

O extrato glicólico de camomila foi adicionado às formulações, de acordo com as quantidades de 1% e 3%, como descrito na **Tabela 1**. A adição foi realizada durante a agitação com agitador mecânico com hélice do tipo centrífuga logo após a incorporação do conservante.

4.6. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO GLICÓLICO DE CAMOMILA (*Matricaria chamomilla*)

4.6.1. DENSIDADE RELATIVA

Para a determinação da densidade relativa do extrato glicólico de Camomila (*Matricaria chamomilla*) foram pesadas em triplicata alíquotas de 50 mL em um mesmo balão volumétrico de 50 mL e pesadas. A vidraria utilizada possuía massa de 38,82g e volume de 50mL. As pesagens foram realizadas em balança analítica em temperatura ambiente (25°C).

4.6.2. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

A determinação de pH foi feita através de tira universal de pH, realizada em triplicata.

4.6.3. ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA UV-VIS

O espectro de absorção do extrato glicólico de Camomila foi realizado utilizando-se o Agilent 8453 UV-visible com cubeta de quartzo (Agilent Technologies - Made in DE - Germany) com caminho óptico de 10 mm e volume de 3mL. O extrato inserido na cubeta foi previamente filtrado utilizando-se um Filtro Seringa 0,2um PVDF WHATMAN e diluído 20 vezes. As lâmpadas utilizadas para

emissão de luz foram: lâmpada de tungstênio para radiação visível (VIS) e lâmpada de deutério para radiação ultravioleta (UV). Para a análise do “branco” foi utilizado a mesma cubeta de quartzo preenchida com o líquido extrator utilizado durante o processo de percolação do extrato glicólico de Camomila (1:1- Água destilada: Propilenoglicol).

4.6.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) DO EXTRATO GLICÓLICO E APIGENINA ISOLADA

A cromatografia líquida do extrato glicólico de Camomila (diluído 20 vezes) e analito padrão de Apigenina foi realizada utilizando-se o cromatógrafo Shimadzu Prominence-i LC-2030 com coluna cromatográfica C18. O extrato inserido no vial transparente (Shimadzu) foi previamente filtrado utilizando-se um Filtro Seringa 0,2um PVDF WHATMAN. A apigenina correu pela coluna cromatográfica em cinco concentrações diferentes para se construir uma curva de calibração. Os parâmetros para realização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e as concentrações de Apigenina utilizadas para construção da curva padrão estão descritos nas **Tabela 3** e **Tabela 4**, respectivamente.

Tabela 3 - Parâmetros utilizados na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para o extrato glicólico de camomila.

Fluxo	1,00 mL/min
Concentração fase móvel A (Água)	40,00%
Concentração fase móvel B (Metanol)	60,00%
Pressão	18,0 MPa
Temperatura	40°C
Comprimento de onda de leitura	273 nm

Injeção	25uL do extrato diluído (1:20)
----------------	--------------------------------

Tabela 4 - Concentrações de apigenina utilizada para construção de curva de calibração para o extrato glicólico.

Apigenina	Concentrações
1	0,01 mg/mL
2	0,02 mg/mL
3	0,05 mg/mL
4	0,075 mg/mL

4.7. EFICÁCIA FOTOPROTETORA *IN VITRO*

As formulações aprovadas pelo Teste de Estabilidade Preliminar foram caracterizadas quanto à eficácia fotoprotetora *in vitro* através da espectrofotometria de refletância difusa com esferas de integração. O método pode ser utilizado em formulações com filtros orgânicos e/ou inorgânicos, onde a luz incidida é proveniente de uma lâmpada de xenônio capaz de gerar ondas no intervalo de 290 nm a 400 nm com taxa de progressão de 1,0 nm. (VELASCO, 2011).

O preparo da amostra para posterior avaliação consiste na sua aplicação em substrato (placa de polimetilmetacrilato - PMMA) com dimensões de 5cm por 5cm, sob forma de fina camada de 1,3 mg/cm². Deixou-se secar por 3 horas antes de se obter o espectro de absorção em 5 diferentes pontos de cada placa. Os cálculos de FPS *in vitro*, comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB são feitos diretamente pelo UV-2000s Ultraviolet Transmittance Analyzer através de seu software.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. TESTE DE ESTABILIDADE PRELIMINAR

Foram desenvolvidas 2 formulações (FI e FII) com variações da composição dos filtros orgânicos utilizados. Na formulação FI foram utilizados os filtros *p*-metoxicinamato de octila 10,0% e butil metoxidibenzoilmelano 5,0%, enquanto na formulação FII foram utilizados *p*-metoxicinamato de octila 7,5% e benzofenona-3 6,0%, conforme descrito na **Tabela 1**. A composição de emolientes, agentes de consistência e emulsionantes foram mantidas sem variações entre as duas formulações.

As duas formulações foram submetidas ao Teste de Estabilidade Preliminar, onde foram testadas sob variação de temperatura em ciclos de 24 horas, todas em triplicata, conforme descrito na **Tabela 2**.

O Teste de Estabilidade Preliminar forneceu resultados quanto às variação de pH, cor e odor das formulações após 6 ciclos (24 horas em 45°C e 24 horas em -5°C), detalhados a seguir na **Tabela 5**.

As avaliações visuais de homogeneidade, odor e cor receberam as seguintes classificações:

N - normal, sem alteração;

LM - levemente modificada;

M - modificada;

IM - intensamente modificada.

Tabela 5 - Avaliação do aspecto de cor, odor e pH das formulações contendo F1 e FII após o Teste de Estabilidade Preliminar.

Formulação	Homogeneidade	Odor	Cor	pH
F1 + 0% de extrato glicólico de camomila	M	N	N	N (6,00)
F1 + 1% de extrato glicólico de camomila	M	N	LM	N (6,00)
F1 + 3% de extrato glicólico de camomila	M	N	LM	N (6,00)
FII + 0% de extrato glicólico de camomila	N	N	N	N (6,00)
FII + 1% de extrato glicólico de camomila	N	N	N	N (6,00)
FII + 3% de extrato glicólico de camomila	N	N	N	N (6,00)

N = Normal; LM = Levemente modificada; M = Modificada; IM = Intensamente modificada.

A formulação FI sofreu modificação em sua homogeneidade, em todas as suas variações (com e sem extrato) e em suas três amostras disponíveis (triplicata) notou-se a presença de gotículas de água sobrenadante e condensação de água nas paredes e tampa dos frascos onde estava acondicionada. Apesar disso, não havia separação clara de fases que a classificasse como IM (intensamente modificada). A cor também apresentou modificação por conter pontos laranjas dispersos por toda sua extensão e nas variações, com extrato glicólico de camomila, em suas três amostras disponíveis. Em relação ao odor, não ocorreram modificações perceptíveis do tempo inicial ao final - o cheiro característico de camomila não se alterou durante o Teste de Estabilidade Preliminar. Quanto ao pH, não houve alteração após 6 ciclos de estudo.

Figura 16 - Incompatibilidade entre extrato e formulação fotoprotetora (FI + 3%).



A formulação FII não apresentou modificações em sua homogeneidade em nenhuma de suas variações, permaneceu com viscosidade aparente semelhante à inicial e não apresentou perda de água. A cor também não apresentou mudanças, e os pontos laranjas observados em FI não foram observados em FII. Em relação ao odor, não ocorreram modificações perceptíveis do tempo inicial ao final - o cheiro característico de camomila não se alterou durante o Teste de Estabilidade Preliminar. Quanto ao pH, não houve alteração após 6 ciclos de estudo.

As formulações com modificações de homogeneidade, cor e/ou odor (**FI + 0%**; **FI + 1%** e **FI + 3%**) foram excluídas da avaliação de eficácia fotoprotetora *in vitro*. As formulações que não apresentaram modificações foram submetidas a avaliação da eficácia fotoprotetora *in vitro* (**FII + 0%**; **FII + 1%** e **FII + 3%**).

5.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO GLICÓLICO DE CAMOMILA (*Matricaria chamomilla*)

5.2.1. DENSIDADE RELATIVA

Os valores de densidade relativa foram obtidos em triplicata, utilizando-se balão volumétrico de 50 mL e balança analítica, em temperatura ambiente (25°C). O resultado de densidade relativa obtido está descrito na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Determinação da densidade relativa do extrato glicólico de (*Camomila matricaria*).

Medição (triplicata)	Massa total (g)	Massa balão volumétrico (g)	Densidade relativa (mg/mL)
1°	90,89	38,82	1,0414
2°	90,96	38,82	1,0428
3°	90,94	38,82	1,0424
Média	90,93	38,82	1,0422

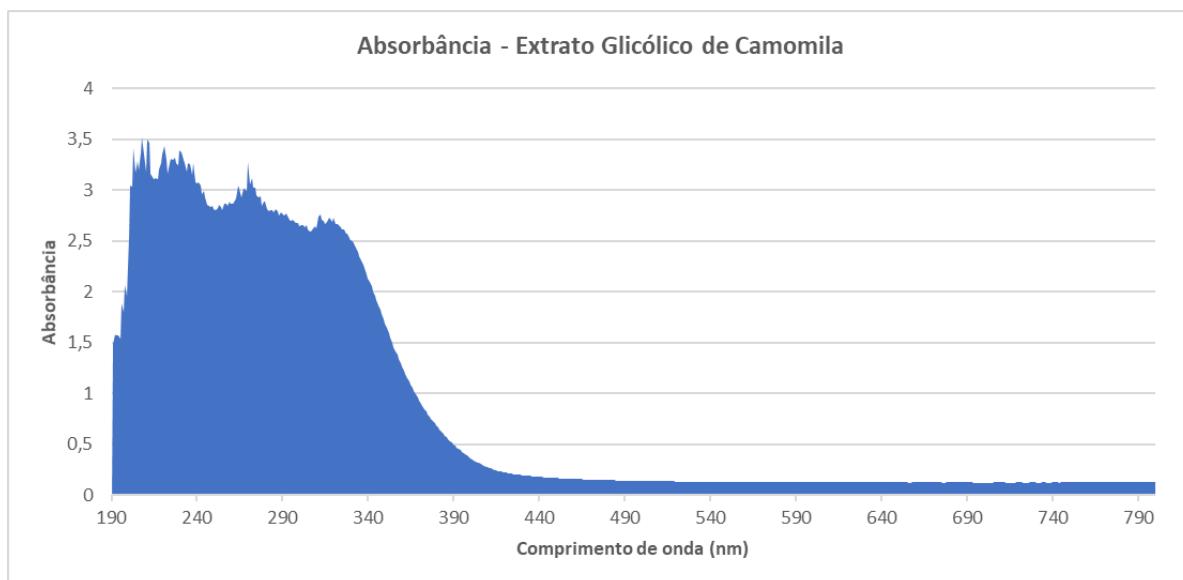
5.2.2. POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

O potencial hidrogeniônico do extrato glicólico de camomila foi medido logo após o seu preparo. Os valores foram obtidos através do uso da tira universal de pH (KASVI), em triplicata e temperatura ambiente (25°C). Todas as três medições resultaram em um valor de **pH = 6**.

5.2.3. ESPECTRO DE ABSORBÂNCIA UV-VIS

O espectro de absorbância do extrato glicólico de camomila foi realizado em comprimentos de onda que abrangem desde a radiação UVC, passando pela luz visível e indo até infravermelho. O perfil de absorção obtido se concentrou na região do ultravioleta, com valores mínimos em comprimentos de onda maiores que 440 nm. A **Figura 17** nos mostra o perfil de absorção do extrato glicólico de camomila.

Figura 17 - Espectro de absorbância do extrato glicólico de camomila (190 nm a 800 nm).



5.2.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) DO EXTRATO GLICÓLICO E APIGENINA ISOLADA

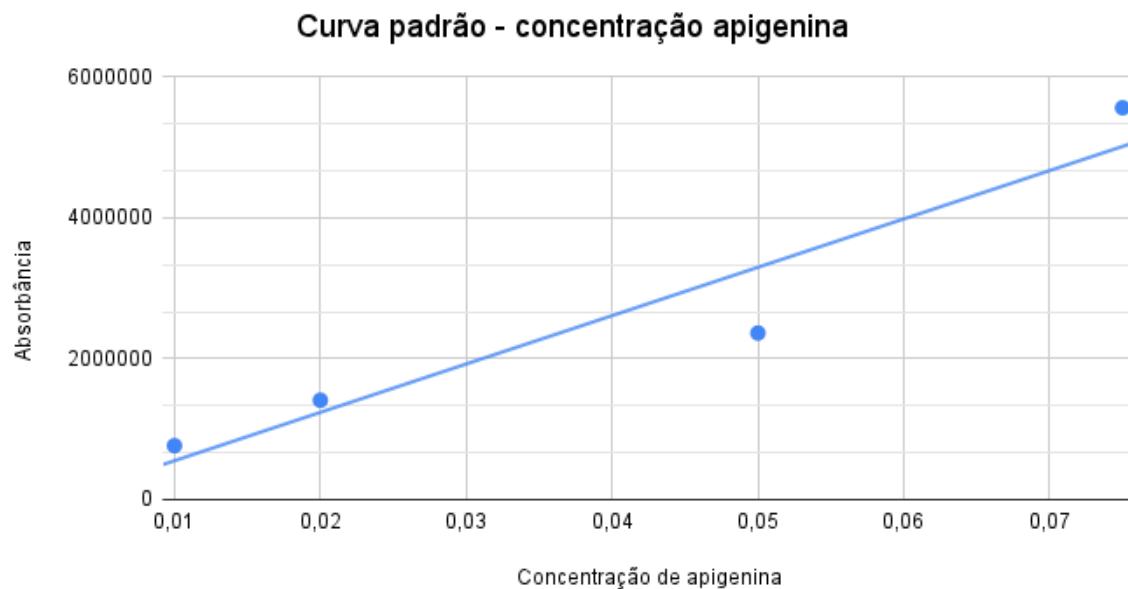
Os cromatogramas obtidos pela utilização de diferentes concentrações de apigenina padrão resultaram em uma curva padrão de apigenina isolada, com a seguinte equação da reta (**Equação 4**):

Equação 4 - Equação da reta para determinação de concentração de apigenina no extrato glicólico de camomila ($R^2 = 0,91$).

$$y = 68.669.391,41x - 134.885,17 \quad (4)$$

Onde: y = absorbância; x = concentração de apigenina

Figura 18 - Gráfico de dispersão com linha de tendência da concentração de apigenina.



Quatro diferentes concentrações do padrão foram utilizadas para a construção da curva de calibração.

Tabela 7 - Dados obtidos através da CLAE de apigenina padrão.

Concentração de apigenina	Área sob o pico	Tempo de retenção
0,01 mg/mL	765233	12,834 min
0,02 mg/mL	1410741	12,836 min
0,05 mg/mL	2364757	12,857 min
0,075 mg/mL	5563484	12,859 min

O cromatograma do extrato glicólico de camomila também foi obtido através da técnica CLAE e um pico com tempo de retenção de **12,836 min** e área de **1652335** foi detectado, o qual se refere à apigenina presente naturalmente na *Matricaria chamomilla*. Com isso, podemos definir que a concentração de apigenina no extrato glicólico utilizando a equação da reta obtida anteriormente é de **0,026 mg/mL**.

5.3. EFICÁCIA FOTOPROTETORA *IN VITRO*

Trabalhos realizados por Coelho (2005) e Freitas (2011) demonstram resultados positivos quanto ao aumento do FPS de formulações fotoprotetoras contendo extrato glicólico de camomila e os filtros butil metoxidibenzoilmetano e *p*-metoxicinamato de octila. Mais especificamente, testes foram realizados para avaliar o aumento de FPS da formulação quando acrescida de componentes isolados da camomila (α -bisabolol e apigenina), mostrando que o componente responsável pelo aumento do Fator de Proteção Solar foi a apigenina (FREITAS, 2011).

Além do aumento de FPS da formulação, extratos glicólicos podem beneficiar a fotoestabilidade de filtros orgânicos (PINTO, 2014). A incapacidade de dissipar a energia absorvida faz com que moléculas absorvedoras sofram reações de degradação com consequente perda de atividade fotoprotetora. Os produtos

formados por essa degradação podem interagir com componentes da fórmula e da pele, aumentando as chances de reações alérgicas ou ineficácia do produto. Estudos feitos com adição de rutina às formulações fotoprotetoras mostraram o aumento da fotoestabilidade quando utilizados avobenzona e do *p*-metoxicinamato de octila como filtros orgânicos (PINTO, 2014).

Os estudos da eficácia fotoprotetora *in vitro* resultaram em valores de FPS com coeficientes de variação, tanto entre os pontos de leitura da placa quanto entre as triplicatas, com valores menores que 20%. O tempo de espera entre a aplicação do protetor solar na placa de PMMA e a sua completa secagem foi de 3 horas. Após este tempo de espera, 5 pontos em cada placa foram lidos para obtenção do FPS médio de cada placa. Os valores de FPS obtidos em FII + 0%, FII + 1% e FII + 3%, antes e após o estudo de estabilidade, bem como seus coeficientes de variação, estão descritos nas **Tabela 8** e **Tabela 9** e ilustrados nas **Figura 19** e **Figura 20** abaixo:

Tabela 8 - Valores obtidos de FPS para FII e suas variações antes do estudo de estabilidade (T0).

Placa	FPS médio	Desvio padrão (%)	Coeficiente de variação (%)	Comprimento de onda crítico (nm)	Relação UVA/UVB
FII + 0% (triplicata)	33	2,3	7,1	353	0,348
	37	1,9	5,2	354	0,349
	35	1,3	3,8	354	0,349
FII + 0% (média)	35	2,3	6,5	354	0,349
FII + 1% (triplicata)	47	1,2	2,5	351	0,317
	36	6,7	19,0	351	0,325
	34	2,8	8,3	353	0,345
FII + 1% (média)	39	6,9	17,7	352	0,329
FII + 3% (triplicata)	35	2,6	7,4	354	0,315
	36	5,8	16,0	351	0,352
	34	7,2	20,0	352	0,322
FII + 3% (média)	35	0,9	2,6	352	0,330

Tabela 9 - Valores obtidos de FPS para FII e suas variações após o estudo de estabilidade.

Placa	FPS médio	Desvio padrão (%)	Coeficiente de variação (%)	Comprimento de onda crítico (nm)	Relação UVA/UVB
FII + 0% (triplicata)	29	2,1	7,0	355	0,371
	26	4,5	17,2	356	0,377
	26	3,5	13,4	354	0,354
FII + 0% (média)	27	2,1	7,6	355	0,368
FII + 1% (triplicata)	27	3,8	2,35	354	0,359
	33	2,7	8,1	354	0,362
	28	1,5	5,5	354	0,363
FII + 1% (média)	29	3,5	11,8	354	0,361
FII + 3% (triplicata)	27	3,1	11,7	353	0,347
	34	4,2	12,3	353	0,346
	31	0,7	2,3	353	0,340
FII + 3% (média)	30	3,4	11,2	353	0,345

Figura 19 - Valores de FPS médio das formulações FII antes do Teste de Estabilidade Preliminar e seus coeficientes de variação.

Fator de Proteção Solar (FPS)

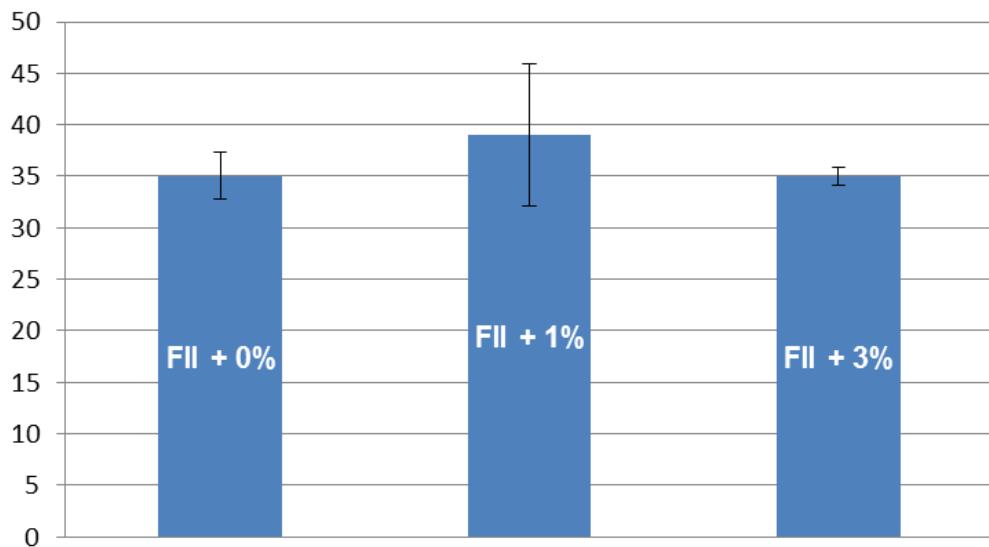
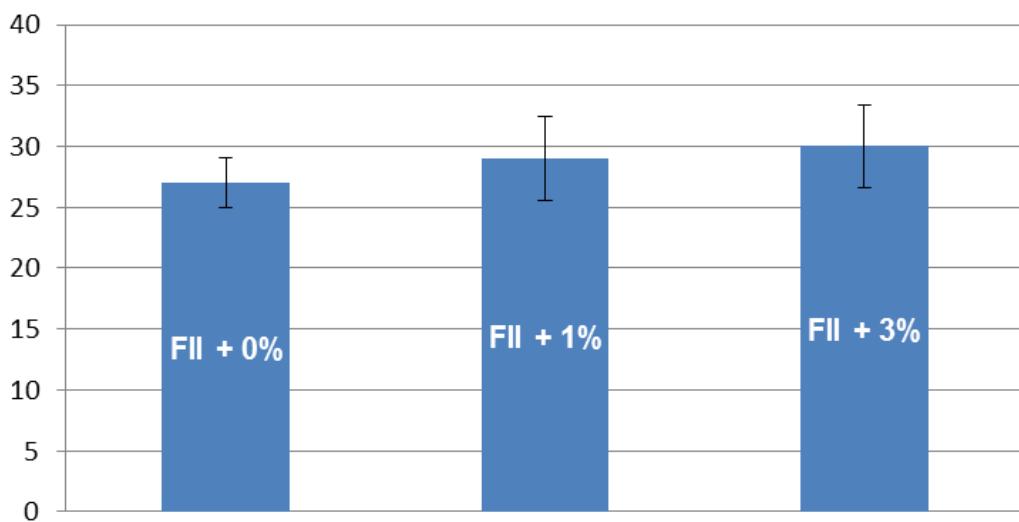


Figura 20 - Valores de FPS médio das formulações FII após do Teste de Estabilidade Preliminar e seus coeficientes de variação.

Fator de Proteção Solar (FPS)



Diferentes técnicas utilizadas para a produção de extratos vegetais produzem extratos com diferentes concentrações e composições, de acordo com o

líquido extrator utilizado, temperatura e tempo de produção, por exemplo.

Os resultados da avaliação do Fator de Proteção Solar *in vitro* mostram que não existe diferença significativa entre as formulações que receberam extrato glicólico de camomila, tanto em 1% como em 3%. Também é possível notar que existe queda semelhante destes valores após exposição ao ciclo de temperatura durante o Teste de Estabilidade Preliminar, ainda sem existência de diferença significativa entre as formulações com extrato em diferentes concentrações.

6. CONCLUSÕES

A formulação FI não foi aprovada no teste de estabilidade, uma vez que apresentou aparente incompatibilidade entre o extrato glicólico de camomila e sua composição de filtros solares, uma vez que os outros componentes são iguais ao da FI.

O desenvolvimento e a avaliação da eficácia fotoprotetora *in vitro* da formulação selecionada (FII), adicionada ou não de extrato glicólico de camomila, considerando seus valores de coeficiente de variação, demonstrou que a presença do estrato não interferiu no Fator de Proteção Solar (FPS), independente da concentração adicionada (1% e 3%), bem como em sua estabilidade.

Ao final do Teste de Estabilidade Preliminar, as formulações FII, FII + 1% e FII + 3% sofreram queda uniforme dos seus valores de FPS, o que demonstra aparente falta de interação entre o extrato glicólico de camomila e os filtros que utilizados no desenvolvimento do protetor solar.

Estudos adicionais são necessários para entender o tipo de interação entre o extrato glicólico de camomila e os componentes da formulação fotoprotetora, pois, apesar do extrato vegetal estudado possuir boa absorbância na faixa UV, este não foi capaz de aumentar o valor de FPS do protetor solar estudado. Com isso, estudos mais aprofundados e o uso de diferentes técnicas se faz necessário para identificar a divergência nos valores encontrados entre o presente trabalho e dados disponíveis na literatura.

7. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 6^a Ed. Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/6a-edicao-volume-2>>. Acesso em: 19 de out. de 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: Anvisa, 2004. v. 1 (Séries temáticas da Anvisa. Qualidade em cosméticos, 1).

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA. Monografia da espécie *Matricaria chamomilla* L. (= *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, CAMOMILA), 2015. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/acesso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2017/arquivos/MonografiaCamomila.pdf>>. Acesso em: 19 de out. de 2022.

ANDRADE, Nathália Coelho. PROTETORES SOLARES: Uma proposta de experimentação e divulgação acerca do mecanismo de ação, 2022. Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/232710/TCC%202020-%20Nath%C3%A1lia%20Coelho%20Andrade.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

ARAUJO T. S.; SOUZA S. O. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta, 2008. Disponível em: <<https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/721/374>>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

BABY, Andre R.; VELASCO, Maria V.R.; BALOGH, Tatiana S.; PEDRIALI, Carla A.; SARRUF, Fernanda D.; PINTO, Claudinéia A.S.O.; KANEKO, Telma M. Associação

da Rutina com p-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: Avaliação In Vitro da Eficácia Fotoprotetora por Espectrofotometria de Refletância, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Andre-Baby/publication/289328317_Rutin_association_with_ethylhexyl_methoxycinnamate_and_benzophenone-3_In_vitro_evaluation_of_the_photoprotection_effectiveness_by_reflectance_spectrophotometry/links/57e19f5e08ae9e25307d41c3/Rutin-association-with-ethylhexyl-methoxycinnamate-and-benzophenone-3-In-vitro-evaluation-of-the-photoprotection-effectiveness-by-reflectance-spectrophotometry.pdf>. Acesso em: 19 de out. de 2022.

BALOGH, Tatiana Santana. Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo de estabilidade e potencial fotoprotetor., 2011. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-15072011-110304/publico/Tatiana_Santana_Balogh_Mestrado.pdf. Acesso em: 17 de out. de 2022.

BRASIL. Resolução RDC Nº 30, DE 1º DE JUNHO DE 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0030_01_06_2012.htm>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

BRUNETON, Jean. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia, Ed. Acribia, SA: Espanha, 1991.

CABRAL, Lorena Dias da Silva; PEREIRA, Samara de Oliveira; PARTATA, Anette Kelsei. Filtros Solares e Fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil. Revista Científica do ITPAC, Araguaína, v. 4, n. 3, 2011. Disponível em: <<https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1356276270FPS.pdf>>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

COELHO, Leilyane Conceição de Souza. Protetor solar: desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da eficácia e segurança, 2005. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/3485/1/arquivo6100_1.pdf. Acesso em 26 de ago. de 2022.

CORRÊA, Bianca Aloise Maneira. Planejamento racional, desenvolvimento tecnológico e avaliação do potencial fotoprotetor de novos ativos para a fotoproteção, 2013. Disponível em: <<http://objdig.ufrj.br/59/teses/799007.pdf>>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

FLOR, Juliana; DAVOLOS, Marian Rosaly; CORREA, Marcos Antonio. Protetores Solares. Química Nova, v. 30, n. 1, p. 153-158. 2007.

FREIRE, Thamires Batello. Influência de antioxidantes na fotoestabilização da avobenzona (filtro UVA) e do *p*-metoxicinamato de octila (filtro UVB) em fotoprotetores, 2022. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-19052022-110821/publico/Thamires_Batello_Freire_DO_Corrigida.pdf>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

FREITAS, Luciana da Silva. Desenvolvimento, estabilidade e eficácia de formulações fotoprotetoras contendo extrato de Matricaria chamomilla e seus componentes isolados, 2011. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-20042011-210250/publico/simplificada_LFreitas.pdf>. Acesso em: 19 de out. de 2022.

PINTO, Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira. Influência da rutina na fotoestabilização da avobenzona (filtro UVA) e *p*-metoxicinamato de octila (filtro UVB), 2014. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-29052015-121046/publico/>>.

[Claudineia Aparecida Sales de Oliveira Pinto DO original.pdf](#)>. Acesso em 26 de ago. de 2022.

RUSCINC, Nadia. Fotoprotetores bioativos contendo extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.): Caracterização físico-química e funcional, 2018. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/55e2/fc534309102f8d36c3eb227dc9aa92218619.pdf?_ga=2.225076242.94434717.1645669562-218786579.1645669562>. Acesso em: 19 de out. de 2022.

SANTOS, Barbara Helen Cortat. Papel biológico dos dímeros de pirimidina em células humanas irradiadas com radiação UVA, 2010. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-07122010-101150/publico/parcial_Barbara_Santos.pdf>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

SCHALKA, Sergio; REIS, Vitor Manuel Silva dos. Fator de proteção solar: significado e controvérsias. SciELO Brasil, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abd/a/8XDWfBdfgbXckLqgFg8SgXR/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 03 de mar. de 2022.

SILVA, Débora Granemann. Desenvolvimento e avaliação *in vitro* de eficácia fotoprotetora de nanoemulsões contendo *p*-metoxicinamato de octila e benzofenona-3, 2013. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-01102013-104356/publico/Disse_tacao_Debora_Granemann_Silva.pdf>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

VELASCO, M. V. R.; BALOGH, T. S.; PEDRIALI, C. A. et al. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro*), 2011. Disponível em: <<https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/374>>. Acesso em: 07 de set. de 2022.

24/10/2022

Giovanni Cavalcante

Data e assinatura do aluno(a)

24/10/2022

Tércio Elyan Azevedo Martins

Data e assinatura do orientador(a)