



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

CLÁUDIA CECILIO DAHER

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES O/A CONTENDO EXTRATO GLICÓLICO
DE AÇAÍ E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA**

NATAL-RN

2014

Cláudia Cecilio Daher

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES O/A CONTENDO EXTRATO GLICÓLICO
DE AÇAÍ E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRN como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Ferrari

Coorientador: Prof^a. Dra. Ana Paula Barreto Gomes

NATAL-RN

2014

Catálogo da Publicação na Fonte
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Daher, Claudia Cecilio.

Desenvolvimento de emulsões o/a contendo extrato glicólico de açaí e avaliação da atividade fotoprotetora / Claudia Cecilio Daher. - Natal, 2014.

113f: il.

Coorientadora: Prof^a. Dra. Ana Paula Barreto Gomes.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Ferrari.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRN como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

1. Estabilidade Física - Dissertação. 2. Euterpe oleracea - Dissertação. 3. Fator de Proteção Solar - Dissertação. 4. Fator de Proteção Solar UVA - Dissertação. 5. Fotoprotetor - Dissertação. I. Ferrari, Marcio. II. Gomes, Ana Paula Barreto. III. Título.

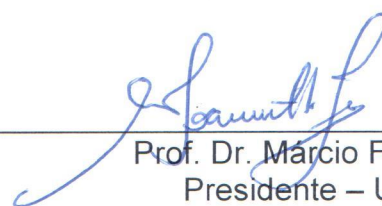
RN/UF/BSA01

CDU 615.5-001.15

CLÁUDIA CECILIO DAHER

DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES O/A CONTENDO EXTRATO
GLICÓLICO DE AÇAÍ E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA

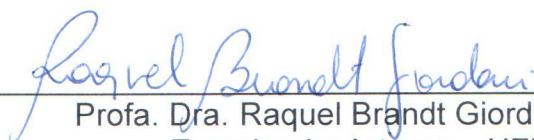
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Márcio Ferrari
Presidente – UFRN



Profa. Dra. Vânia Rodrigues Leite e Silva
Examinador Externo – UNIFESP



Profa. Dra. Raquel Brandt Giordani
Examinador Interno – UFRN

Natal, 27 de março de 2014

NATAL / RN

2014

Dedico esse trabalho ao meu marido Youssef e
aos meus filhos, Elias e Helena que tornaram
minha vida infinitamente melhor e mais bela!

Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pai pelo dom da vida e pela graça da fé.

Aos meus pais Esio Daher e Maria Heleni, que sempre acreditaram e apostaram em mim. Pelas palavras de estímulo, apoio, conforto e orações. À minha pequena família: Youssef, Elias e Helena, pelo incentivo e pela compreensão das longas horas em que passei ausente.

À professora Fátima Pedrosa, por ter insistido e me encaminhado a este Programa de Pós-graduação, e permitido que dedicasse meu tempo à realização do mestrado.

Ao professor Arnóbio Antônio da Silva Júnior pelo acolhimento, pelas palavras de estímulo e pela indicação do orientador. À Aureliana e Fábiana, secretárias do programa, pela gentileza dispensada.

Ao professor Márcio Ferrari, por ter me recebido como sua orientanda, ter investido, acreditado e estimulado o meu aprendizado. Pela dedicação de horas, dias, meses e anos. Por dividir seu vasto conhecimento, ampliando os meus. Por cobrar, exigir, questionar, contribuindo para o meu crescimento e maturidade acadêmica e, sobretudo por ter me permitido criar laços de amizade que vão além das fronteiras do laboratório.

Aos meus queridos colegas Ipojucan e Rayllan por terem iniciado comigo essa pesquisa. Pelas valiosas contribuições e ensinamentos.

À minha amiga Daiane, pela paciência, disponibilidade e generosidade.

Ao meu colega Gabriel, por ter dividido comigo o seu amplo conhecimento, por estar sempre disponível independente do dia e da hora.

Ao meu querido colega Renato, pelas informações, atualizações e pela companhia durante as aulas.

Aos amigos e colegas do Laboratório de cosmetologia: Stella, Rebeca, Hudson e Emanuelle, por terem tornado essa jornada infinitamente mais leve e prazerosa. Pelos momentos de alegria e descontração.

As empresas Ashland Inc., BASF do Brasil, Croda do Brasil, Chemyunion Química, Lubrizol do Brasil e Mapric pela doação das matérias primas.

As empresas Triskin e Allergisa eficácia pela colaboração na realização dos testes de segurança e eficácia respectivamente.

Ao CNPq pelo aporte financeiro (Edital MCT/CNPq 14/2010 - processo 473.883/2010-4).

“Ensina-nos a contar os nossos dias de tal maneira que alcançaremos corações sábios.”

Salmo 90, 12.

RESUMO

O uso de protetor solar é uma das medidas de fotoproteção mais utilizada pela população, assim esses produtos devem oferecer proteção de amplo espectro contra as radiações UVA e UVB. Substâncias vegetais têm sido recentemente consideradas um recurso para ser utilizadas em formulações fotoprotetoras devido a sua absorção no espectro UV e propriedades antioxidantes. A *Euterpe oleraceae* Mart., conhecida popularmente como açaí, contém em sua composição química, compostos polifenólicos como as antocianinas e flavonoides, aos quais é atribuída a propriedade antioxidante. Esta pesquisa teve como objetivos desenvolver e avaliar a estabilidade de emulsões O/A contendo extrato glicólico de açaí e avaliar a segurança e eficácia fotoprotetora. A segurança do extrato foi determinada por meio de testes *in vitro* de citotoxicidade e fototoxicidade. Emulsões contendo extrato glicólico de açaí foram formuladas utilizando diferentes tipos e concentrações de emulsionantes poliméricos (*Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* e *Sodium Polyacrylate*). A influência de dois modificadores reológicos (*Carbomer* e *Polyacrylamide (and) C 13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*) foram estudados com o objetivo de melhorar a estabilidade. A estabilidade física foi avaliada por meio de testes preliminares e acelerados. A análise macroscópica, determinação dos valores de pH e condutividade elétrica e o comportamento reológico foram determinados em diferentes tempos. A determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vivo* foi realizado pelo método COLIPA 2006, e o Fator de Proteção UVA (FPUVA), comprimento de onda crítico e razão FPS/FPUVA, foram realizados de acordo com o método *in vitro* COLIPA 2011. O extrato em estudo não apresentou-se citotóxico e fototóxico. A emulsão estável contendo 5% de extrato glicólico de açaí e 1,0% de *Sodium Polyacrylate* apresentou características pseudoplástica e tixotrópica. A emulsão contendo o extrato de açaí obteve FPS 25,3 e FPUVA 14,97. A adição do extrato glicólico de açaí não proporcionou aumento significativo no FPS e o FPUVA. Esta emulsão apresentou 1,69 de razão FPS/FPUVA e comprimento de onda crítico em 378 nm, podendo então ser considerada um fotoprotetor de amplo espectro, com proteção contra UVA e UVB.

Palavras chave: Estabilidade Física; *Euterpe oleracea*; Fator de Proteção Solar; Fator de Proteção Solar UVA; Fotoprotetor.

ABSTRACT

Sunscreen use is the most common photoprotection alternative used by the population, and so these products should offer improved protection with broad-spectrum, UVA and UVB protection. Vegetal substances have recently been considered as resources for sunscreen formulations due to their UV spectrum absorption and antioxidant properties. The *Euterpe oleracea* Mart., popularly known as açai, in its chemical composition contain polyphenols compounds, such as anthocyanins and flavonoids, to which antioxidant properties have been attributed. The aim of this work was to develop O/W sunscreens emulsions containing açai glycolic extract (AGE) and to evaluate both their physical stability, safety and photoprotective efficacy. The safety of the extract was evaluated by *in vitro* phototoxicity and cytotoxicity tests. Emulsions containing AGE and sunscreens were formulated using different types and concentrations of polymeric surfactant (Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer and Sodium Polyacrylate). The influence of two rheology modifiers (Polyacrylamide (and) C13-14/Isoparaffin (and) Laureth-7 and Carbomer) on the stability was also investigated. Physical stability was evaluated by preliminary and accelerated studies. The macroscopic analyses, pH value and electrical conductivity determinations and rheological behavior were evaluated at different time intervals. The *in vivo* Sun Protection Factor (SPF) was determined according to the International Sun Protection Factor Test Method – 2006 and UVA Protection Factor (FPUVA), wavelength critical and reason SPF/FPUVA were performed according to the method Colipa 2011. The extract did not present cytotoxicity and phototoxicity. The stable emulsion containing 5% glycolic extract of açai and 1.0% of sodium poliyacrylate showed pseudoplastic and thixotropic behavior. The sunscreen emulsion containing açai glycolic extract showed a SPF 25.3 and PF-UVA = 14.97. When açai glycolic extract was added in the emulsion sunscreen, no significant increase in the *in vivo* SPF and FPUVA values were observed. This emulsion showed 1.69 of the SPF/PF-UVA ratio and a critical wavelength value of 378 nm, so may therefore be considered a sunscreen with UVA and UVB protection.

Key words: Physical Stability; *Euterpe oleracea*; Sun Protection Factor; Sunscreens; UVA Protection Factor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química da antocianina cianidina 3- glucosídeo.	44
Figura 2 - Estrutura molecular do filtro solar <i>Benzophenone3</i> .	47
Figura 3 - Estrutura molecular do filtro solar <i>Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine</i> .	48
Figura 4 - Estrutura molecular do filtro solar <i>Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate</i> .	49
Figura 5 - Estrutura molecular do filtro solar <i>Ethylhexyl Methoxycinnamate</i> .	49
Figura 6 - Estrutura molecular do filtro solar <i>Ethylhexyl Triazone</i> .	50
Figura 7 - Estrutura molecular do filtro solar <i>Octocrylene</i> .	51
Figura 8 - Curva de viabilidade celular (%) das culturas de células fibroblásticas em contato com solução do extrato glicólico de açaí (azul) e com o padrão SDS (vermelho) por 24 horas, utilizando como indicador da viabilidade celular o corante vermelho neutro.	70
Figura 9 - Curva de viabilidade celular (%) das culturas de fibroblastos em contato com a solução de extrato glicólico de açaí por 48 horas, na presença (vermelho) e ausência (azul) de UV, utilizando como indicador da viabilidade celular o corante vermelho neutro. Viabilidade do padrão tetraciclina na presença de UV (lilás) e na ausência de luz (verde).	71
Figura 10 - Reograma da emulsão R2 no tempo inicial e após 90 dias em diferentes temperaturas.	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das emulsões O/A com extrato glicólico de açaí (% p/p).	58
Tabela 2 - Resultados dos testes de estabilidade preliminar das emulsões contendo extrato de açaí no tempo inicial e após o estresse térmico e ciclo gela-degela.	77
Tabela 3 – Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão PC3.	81
Tabela 4 – Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão PS2.	82
Tabela 5 – Valores de pH, viscosidade aparente mínima, índice de fluxo e de histerese das emulsões R2 durante os estudos de estabilidade acelerada diferentes temperaturas.	83
Tabela 6 - Valores de FPS <i>in vivo</i> das formulações R2 desenvolvidas com o extrato de açaí e sem o extrato de açaí e o controle.	86
Tabela 7 – Fator de proteção UVA (FP-UVA), determinação FPS/FP-UVA e comprimento de onda crítico (λ_c) das emulsões O/A com e sem extrato glicólico de açaí.	88

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Determinação do FPS individual do produto e controle para cada voluntário.	65
Equação 2 – Cálculo do FPS <i>in vitro</i> inicial.	66
Equação 3 – Cálculo do FPS <i>in vitro</i> ajustado.	67
Equação 4 – Determinação do FPUVA antes da radiação.	67
Equação 5 – Obtenção da dose de radiação na faixa de radiação UVA.	67
Equação 6 – Determinação do FPUVA final.	68
Equação 7 – Cálculo do comprimento de onda crítico.	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A/O	Água em óleo
A/O/A	Água em óleo em água
C	Coeficiente de ajuste
CGD	Ciclo gela-degela
CIR	<i>Cosmetic Ingredient Review</i>
cm ²	Centímetro quadrado
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
COLIPA	<i>Cosmetics Europe - The Personal Care Association</i>
cPLA2	Fosfolipase citosólica
cP	Viscosidade aparente mínima
COSING	<i>Cosmetics Ingredients & Substances</i>
DME	Dose Mínima Eritematógena
DMP	Dose Mínima Pigmentária
DMPp	Dose mínima pigmentária aplicada na pele protegida
DMPnp	Dose mínima pigmentária aplicada na pele desprotegida
DMSO	Dimetilssulfóxido
EBSS	Solução salina equilibrada
2-EHCDP	<i>2-ethylhexyl-2-cyano-3,3-diphenyl-2-propanoate</i>
EHL	Equilíbrio hidrófilo-lipófilo
E(λ)	Espectro de Ação Eritematosa
ET	Estresse térmico
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPS	Fator de proteção solar
FPSi	Fator de proteção solar individual
FPUVA	Fotoproteção contra a radiação ultravioleta A
IC50	Concentração de um composto necessária para reduzir o crescimento de organismos em 50 por cento, <i>in vitro</i>
INCI	<i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredient</i>

IPD	<i>Immediate Pigment Darkening</i>
IV	Radiação infravermelha
IVA	Radiação infravermelha A
IVB	Radiação infravermelha B
IVC	Radiação infravermelha C
I (λ)	Irradiância espectral simulada na faixa ultra violeta
J	Joule
MED	Dose mínima de eritema
MEDp	Dose mínima de eritema da pele protegida pelo produto
MEDu	Dose mínima de eritema da pele não protegida pelo produto
MM-1	Metaloproteinase-1
MMPs	Metaloproteinases
Nm	Nanomômetro
O/A	Óleo em água
O/A/O	Óleo em água em óleo
OECD	<i>Organization for Economic Co-operation and Development</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORAC	Oxidação do radical peróxido
PABA	Ácido para-aminobenzoico
PBS	Tampão fosfato-salino ou Phosphate buffered saline
pH	Potencial hidrogeniônico
PIF	Fator de fotoirritação
p/p	Peso/peso
PPD	<i>Persistent Pigment Darkening</i>
PS	Protetor solar
RDC	Resolução da diretoria colegiada
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RPM	Rotações por minuto
RV	Radiação ultravioleta
SDS	Sodium dodecyl sulfate ou Dodecil sulfato de sódio
3T3 NRU	Teste de captação do vermelho neutro para ensaio de fototoxicidade
UR	Umidade relativa do ar
UVA	Radiação ultravioleta A

UVB	Radiação ultravioleta B
UVA I	Radiação ultravioleta A longa
UVAII	Radiação ultravioleta A curta
Vis	Radiação visível

LISTA DE SÍMBOLOS

π	Orbital molecular preenchido
π^*	Orbital molecular vazio
Λ	Comprimento de onda
λ Max.	Comprimento de onda de absorvância máxima
Λ_c	Comprimento de onda crítico
®	Marca registrada
$A_0(\lambda)$	Absorbância monocromática média do produto, antes da exposição à radiação ultra violeta
N	Índice de fluxo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
2.1	RADIAÇÃO SOLAR	20
2.2	PROTETORES SOLARES	23
2.2.1	Filtros solares inorgânicos	25
2.2.2	Filtros solares orgânicos	26
2.2.3	Determinação da atividade fotoprotetora	27
2.2.3.1	Fator de Proteção Solar	27
2.2.3.2	Determinação do Fator de Proteção UVA	29
2.3	EMULSÕES E ESTUDO DE ESTABILIDADE	31
2.3.1	Reologia de sistemas emulsionados	35
2.4	AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS	37
2.5	PLANTAS COM ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA	39
2.6	AÇAÍ (<i>Euterpe oleraceae</i>)	41
3	OBJETIVOS	46
3.1	OBJETIVO GERAL	46
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
4	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1	MATÉRIAS-PRIMAS	47
4.1.1	Filtros solares	47
4.1.2	Agentes de consistência, emulsionantes e co-tensoativos	51
4.1.3	Emolientes	52
4.1.4	Coadjuvantes técnicos	54
4.1.5	Extrato vegetal	55
4.2	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E FOTOTOXICIDADE DO EXTRATO GLICÓLICO DE AÇAÍ	55
4.2.1	Linhagem celular – Fibroblastos	55
4.2.2	Concentrações do extrato glicólico de açaí	56
4.2.3	Avaliação da Fototoxicidade e Citotoxicidade através da metodologia <i>in vitro</i> Neutral Red Uptake (NRU)	56

4.3	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR <i>IN SILICO</i>	57
4.4	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	57
4.4.1	Métodos de preparo	57
4.4.2	Avaliação das formulações	60
4.4.2.1	Análise macroscópica das formulações	60
4.4.2.2	Determinação do tipo de emulsão	61
4.4.2.3	Testes de estabilidade das formulações	61
4.4.2.3.1	<i>Testes preliminares de estabilidade</i>	61
4.4.2.3.2	<i>Testes de estabilidade acelerada</i>	63
4.5	DETERMINAÇÃO DO FPS <i>IN VIVO</i>	64
4.6	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO UVA <i>IN VITRO</i>	65
4.6.1	Preparo das amostras	65
4.6.2	Determinação da absorbância da placa em branco	66
4.6.3	Determinação da absorbância antes da exposição ao UV	66
4.6.4	Irradiação das amostras	67
4.6.5	Determinação da absorbância após a exposição ao UV	67
4.6.6	Amostra referência	68
4.6.7	Cálculo da Razão FPS/FPUVA	68
4.6.8	Análise estatística	68
4.7	DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA CRÍTICO	68
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5.1	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E FOTOTOXICIDADE	69
5.2	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	73
5.3	ESTUDO DO POTENCIAL FOTOPROTETOR	85
6	CONCLUSÕES	92
	REFERÊNCIAS	
	ANEXO A	

1 INTRODUÇÃO

Emulsões são sistemas muito utilizados nas áreas alimentícias, farmacêutica química e cosmética. Constituem a forma física mais utilizada na área cosmética, por vários fatores: aspecto estético da formulação, boa espalhabilidade, possibilita veicular ingredientes hidrossolúveis e lipossolúveis, e apresentam compatibilidade com a pele uma vez que o manto hidrolipídico também é uma emulsão (SANTOS, 2010a). São sistemas termodinamicamente instáveis que tendem a se desestabilizar ao longo do tempo, devido a uma variedade de mecanismos físico-químicos (COMAS; WAGNER; TOMAS, 2006; RÓŻAŃSKA et al., 2012).

Agentes emulsionantes são utilizados com o objetivo de diminuir a tensão interfacial e aumentar a estabilidade das emulsões. A utilização de polímeros como agentes emulsionantes tem contribuído para melhor estabilidade de emulsões, pois podem aumentar a elasticidade interfacial óleo em água (KANG et al., 2011a; WANG et al., 2014).

De acordo com as tendências globais alguns aspectos são relevantes no desenvolvimento de produtos cosméticos: produtos com características estéticas, utilização de matérias-primas naturais e produtos com eficácia comprovada e que mimetizem as características cutâneas. Mundialmente, o destaque está para os cosméticos que utilizam matérias-primas de origem natural (RODRIGUES; OLIVEIRA; ANGELIS, 2012).

O mercado brasileiro de produtos cosméticos contendo ativos vegetais está em franca expansão, motivado principalmente pela aceitação da população (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011). A biodiversidade brasileira apresenta mais de 40.000 espécies de plantas diferentes, representando 20% da flora mundial (OLIVEIRA et al., 2012).

A *Euterpe oleracea* Mart. é uma palmeira encontrada especialmente na região norte do Brasil (COLE; EWEL, 2006; KAHN, 1991; POULOSE et al., 2012) conhecida popularmente como açaí. Seus frutos apresentam grande interesse econômico nacional e internacionalmente (NOGUEIRA; SANTANA; GARCIA, 2013; PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007). Estes, apresentam em sua composição química compostos como ácidos graxos essenciais, ômega 3, 6 e 9, fitoesteróis, vitamina C, E e polifenóis (DARNET et al., 2011; HOGAN et al., 2010;

KANG et al., 2011b; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009; PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007; TONON et al., 2010).

Pesquisas demonstraram a utilização do açaí como antiinflamatório, antioxidante, anticarcinogênico e neuroprotetor (KANG et al., 2010, 2011b; LASLO et al., 2013; PACHECO-PALENCIA; HAWKEN; TALCOTT, 2007; POULOSE et al., 2012). Ribeiro e colaboradores (2010) demonstraram que a administração da polpa de açaí em ratos não é genotóxico.

Pesquisas realizadas com outras plantas como *Camellia sinensis*, *Ginkgo biloba*, *Glycyrrhizia glabra*, *Plassiflora incarnata* L, *Plantago lanceolata*, *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* e *Allium sativum* L. demonstraram que espécies vegetais com concentrações de polifenóis, apresentaram atividades fotoprotetora e antioxidante (CRETU; MORLOCK, 2014; DI MAMBRO; FONSECA; 2006; ELMETS et al., 2001; HONG et al., 2012; JARZYCKA et al., 2013; KANG et al., 2010; KIM et al., 2012 ; MORLEY et al., 2005; VELASCO et al., 2008a). Esses constituintes secundários são particularmente promissores como protetores solares porque podem absorver um amplo espectro de radiação UV incluindo a UVB e regiões UVA, diminuem a inflamação, o estresse oxidativo e efeitos prejudiciais causados ao DNA (GIAMPIERI et al., 2012; GREGORIS et al., 2011; et al., 2013a).

Diante do exposto e somado a presença de polifenóis na composição química do açaí e sabendo que: estes têm ação antioxidante - benéfico para o tecido cutâneo, pois diminui a produção de radicais livres provocados pela ultravioleta; ação antiinflamatória - previne a ação inflamatória ocasionada pela radiação UV; e que estes metabólitos especiais podem absorver a radiação ultravioleta (VIOLANTE et al., 2008; 2009) e apresentarem atividade fotoprotetora (GALVEZ, 2010), foi realizada essa pesquisa, com o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras contendo o extrato glicólico de açaí e a avaliação da eficácia fotoprotetora *in vivo* do extrato, dados ainda não descritos na literatura científica acerca dessa espécie vegetal.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 RADIAÇÃO SOLAR

A energia do sol é emitida na forma de ondas eletromagnéticas de distintos comprimentos. Cada comprimento de onda tem uma frequência e um nível de energia associado (NEVES, 2008).

O espectro solar é formado predominantemente por radiações ultravioletas (100–400 nm), visíveis (400–800 nm) e infravermelhas (acima de 800 nm). O organismo humano percebe a presença destas radiações de diferentes formas. A radiação infravermelha (IV) na forma de calor, a visível (Vis) através das cores detectadas pelo sistema óptico e a radiação ultravioleta (UV) através de reações fotoquímicas (BALOGH et al., 2011; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Os raios infravermelhos representam a metade da radiação solar que atingem a superfície da Terra. Penetram profundamente na pele e podem ser subdivididos em IVA, de 760 a 1.440 nm; IVB de 1.440 a 3.000 nm; e IVC, de 3.000 nm a 1 mm (BÉRARD, 2006; KHURY; SOUSA, 2010). Estudos demonstraram que, a radiação visível e o infravermelho produzem espécies reativas de oxigênio (ROS) e atuam sinergicamente na desnaturação do DNA, podendo contribuir para o fotoenvelhecimento e a fotocarcinogênese (DARVIN et al., 2011; KHURY; SOUSA, 2010; MEINKE et al., 2012).

A radiação visível é composta por sete cores que são fragmentadas ao atravessarem um prisma. Causa poucos efeitos sobre a pele, mas esse comprimento de onda que estimula algumas reações fisiológicas (NEVES, 2008).

A energia da radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda, assim a radiação UV é a de menor comprimento e, conseqüentemente, a mais energética, e também, a mais propensa a induzir reações fotoquímicas. Outra consideração importante diz respeito à capacidade desta radiação penetrar nas estruturas da pele. A radiação UV de menor energia penetra mais profundamente na pele (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Os raios ultravioletas são responsáveis pela maioria das mudanças fotocutâneas provocadas na pele. A radiação UV é dividida em três espectros: UVC (100 – 290nm), UVB (290 – 320nm) e UVA (320 – 400nm). Esse último espectro ainda pode ser dividido em UVA II, também denominado de UVA curto,

compreendendo o comprimento de onda de 320 a 340 nm, e UVA I ou UVA longo, entre 340 a 400 nm (BALOGH et al., 2011; SCHUELLER; ROMANOWSKI, 1999).

Cromóforos presentes na pele como melanina, ácido urocânico, proteínas, aminoácidos aromáticos, DNA, RNA, entre outros, podem absorver a radiação UV e sofrer alterações químicas (BALOGH et al., 2011). O DNA é uma das principais moléculas que absorvem a radiação UV e, portanto, pode sofrer mutações que, posteriormente, podem resultar em transformações malignas da célula (BALOGH et al., 2011). As bases pirimídicas do DNA são as mais sensíveis às radiações ultravioletas e estão sujeitas a uma série de modificações por absorção dos fótons e geração de radicais livres (GREGORIS et al., 2011).

A radiação UV pode ativar componentes do sistema imune cutâneo, gerando resposta inflamatória por distintos mecanismos, tais como: ativação direta de queratinócitos e outras células que liberam mediadores inflamatórios e redistribuição e liberação de autoantígenos sequestrados de células danificadas pela radiação UV (BALOGH, 2011). Esses danos estão geralmente associados ao aumento de citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), síntese da fosfolipase citosólica A2 (cPLA2) e ciclo-oxigenase- 2 (COX – 2) (WEN LEE et al., 2013).

Os comprimentos de onda mais curtos são os raios UVC que não atingem a superfície da Terra, devido à filtração que é realizada pela camada de ozônio (KHURY; SOUSA, 2010; SOUZA et al., 2005).

A radiação UVB representa 5% da radiação UV total e é responsável por uma série de doenças provocadas na pele. A depleção da camada de ozônio tem levado ao aumento da radiação UVB na superfície da Terra (LIU et al., 2012).

As radiações UVB desencadeiam a curto prazo reações agudas como o eritema, edema, queimadura solar e espessamento da epiderme e derme. São responsáveis pelo bronzeamento indireto e tardio. Apresentam poder bactericida e transformam o ergosterol epidérmico em vitamina D (CORRÊA; ISAAC, 2012).

Os efeitos crônicos dessa radiação incluem o fotoenvelhecimento, imunossupressão e fotocarcinogênese (GREGORIS et al., 2011; KULLAVANIJAYA; LIM, 2005; WEN LEE et al., 2013). Essa radiação inicia uma reação foto-oxidativa que prejudica os agentes antioxidantes naturais e aumenta o nível de ROS. Uma super produção de ROS resulta em estresse oxidativo, processo que pode servir como um importante mediador de dano da estrutura celular, incluindo lipídeos de

membranas, proteínas e DNA, desencadeando processos patológicos responsáveis pelo aparecimento de doenças como o câncer de pele (LIU et al., 2012; LOHÉZIC-LE-DÉVÉHAT et al., 2013; STAHL; SIES, 2001).

Esse espectro de ultravioleta é necessário para a síntese da vitamina D ativa. A radiação UVB lisa a pró-vitamina D (7-deidrocolesterol) em pré-vitamina D na pele (25 hidroxí-vitamina D), e, então, em vitamina D3 (colecalfiferol), envolvida no metabolismo ósseo e no funcionamento do sistema imunológico (CRIADO; MELO; OLIVEIRA, 2012; SAMBANDAN; RATNER, 2011).

A radiação UVA é mais abundante que a radiação UVB na superfície terrestre (95%) e frequentemente não causa eritema. Dependendo da pele e da intensidade da radiação recebida, o eritema causado é mínimo. Quando comparada à radiação UVB, sua capacidade em induzir eritema na pele humana é aproximadamente mil vezes menor, porém penetra mais profundamente na derme (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Induz pigmentação da pele promovendo o bronzeamento por meio do escurecimento da melanina pela fotooxidação da leucomelanina, localizada na epiderme. Histologicamente causa danos ao sistema vascular periférico e induz o câncer de pele, dependendo do tipo de pele e do tempo, frequência e intensidade de exposição (ARAÚJO; SOUZA, 2008; JASZEWSKA et al., 2013). Por penetrar profundamente na pele, é a principal responsável pelo fotoenvelhecimento. Tem importante participação nas fotoalergias e também predispõe a pele ao surgimento do câncer (NEVES, 2008).

O interesse na proteção UVA se deve ao impacto biológico desta porção do espectro UV. Em contraste com a radiação UVB que provoca queimaduras solares, a UVA, é a principal responsável pelo fotoenvelhecimento além de interagir com fotossensibilizadores endógenos e exógenos e gerando espécies reativas de oxigênio - ROS (WANG; OSTERWALDER; JUNG, 2011).

O processo de fotoenvelhecimento ocorre principalmente devido a alterações do tecido conjuntivo envolvendo diferentes mecanismos incluindo a alta produção de espécies reativas de oxigênio que leva à formação de peróxidos lipídicos, a alteração do conteúdo celular e enzimático e desorganização da matriz dérmica. Também pode causar mudanças genéticas permanentes em algum momento. As ROS podem ativar vias de transdução de sinal citoplasmático em fibroblastos que estão relacionadas com o crescimento, diferenciação, senescência e degradação de

tecido conjuntivo. As ROS desempenham um importante papel no metabolismo das proteínas da matriz extracelular, destruindo o colágeno intersticial, inativando inibidores teciduais de metaloproteases de matriz induzindo a síntese e a ativação das mesmas (BAE et al., 2012; SILVA et al., 2013).

Estudos tem demonstrado que compostos naturais isolados a partir de plantas podem prevenir o fotoenvelhecimento, por diminuir a expressão das metaloproteinases, aumentar a síntese de procolágeno, reduzir a formação de rugas e o espessamento da epiderme, melhorar a hidratação e diminuir perda de água transepidérmica (AFAQ, 2011; KIM; OH; HWANG, 2012).

Uma das medidas que deve ser adotadas para minimizar os efeitos prejudiciais da radiação ultravioleta é a fotoproteção, que em um sentido mais amplo, são medidas adotadas para prevenção dos danos da radiação ultravioleta (natural e artificial) no organismo humano.

A pele possui três mecanismos de auto defesa: produção de melanina e de ácido urocânico (considerados filtros solares naturais) e espessamento da camada córnea (LACOUR; BÉANI, 2007; OLIVEIRA, 2004), no entanto, não são suficientes para proteger o organismo das frequentes exposições a radiação.

Medidas de fotoproteção incluem intervenções junto a população; uso de roupas, chapéus e óculos específicos para proteção solar; e o uso correto de fotoprotetores (BALAKRISHNAN; NARAYANASWAMY, 2011; FERRARI; RAMOS; BARRETO, 2012; FERREIRA; FERNANDES; FERRARI, 2011; LOHÉZIC-LE DÉVÉHAT et al., 2013; SILVA et al., 2009). O uso de protetores solares é a alternativa mais comum utilizada pela população, assim, deve ser um produto tecnicamente bem formulado, com proteção contra a radiação UVB e UVA (LOHÉZIC-LE DÉVÉHAT et al., 2013).

2.2 PROTETORES SOLARES

Protetores solares são produtos formulados em diferentes formas cosméticas, para uso corporal, facial e no tratamento dos cabelos, destinados a diminuir a incidência de radiação UV que atinge a pele e cabelos e consequentemente os danos causados ao organismo (KHURY; SOUSA, 2010; SCOTTI; VELASCO, 2003).

De acordo com a RDC 30 de 1 de junho de 2012 (BRASIL, 2012a):

Protetor Solar: 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 solar UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação.

As formulações cosméticas desenvolvidas com o objetivo de promoverem fotoproteção apresentam em sua composição, substâncias categorizadas como filtros solares.

De acordo com Resolução RDC nº 47, de 16 de março de 2006 (BRASIL, 2006) que aprova a "LISTA DE FILTROS ULTRAVIOLETAS PERMITIDOS PARA PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, COSMÉTICOS E PERFUME", define os filtros solares como:

Filtros ultravioletas são substâncias que, quando adicionadas aos produtos para proteção solar, tem a finalidade de filtrar certos raios ultravioletas visando proteger a pele de certos efeitos danosos causados por estes raios.

É a partir dessa RDC que os formuladores devem observar os filtros solares que podem ser utilizados quali e quantitativamente em formulações fotoprotetoras. Os filtros solares constantes nessa lista são considerados seguros para uso na composição de um produto fotoprotetor (BRASIL, 2006).

Reações adversas atribuídas a filtros solares como reações alérgicas, dermatite de contato irritante, reações fototóxicas e fotoalérgicas, urticária e até mesmo choque anafilático, já foram descritos na literatura (SHAUDDER; IPPEN, 1997).

O filtro solar deve permanecer na superfície da pele (estrato córneo) para ser efetivo, devendo formar um filme uniforme sobre a mesma, pois caso o mesmo seja absorvido a fotoproteção é alterada (CASWELL, 2001; MARTI-MESTRES et al., 1997). A taxa de permeação depende das propriedades dos componentes da formulação, da integridade da pele e das características físico-químicas do veículo e dos filtros solares (MILESI; GUTERRES, 2002).

Diferentes fatores podem alterar a eficácia de um produto protetor solar: filtros solares utilizados na composição (tipo e concentração); capacidade de absorção de

energia solar, intervalo de absorção e comprimento de onda onde ocorre absorção máxima do filtro solar; fotoestabilidade dos filtros solares sob a luz solar; composição do veículo; aditivos como antioxidantes e fragrâncias; viscosidade da formulação; valor do pH da formulação; embalagem; forma de aplicação do produto (quantidade aplicada, espessura do filme formado, reaplicação), resistência a água, etc. (COUTEAU et al., 2012; FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011; KHURY; SOUSA, 2010; MATHEUS; KUREBAYASHI, 2002; OU-YANG, 2012; VELASCO et al., 2008a). Os filtros solares, ainda, não devem ser irritantes, sensibilizantes, tóxicos ou fototóxicos (ARAÚJO; SOUZA, 2008).

Os filtros solares são classificados em inorgânicos (físicos) e orgânicos (químicos). Comumente, nas formulações cosméticas existe a associação de filtros inorgânicos e orgânicos, que através de mecanismos de ação diferentes, asseguram fotoproteção eficaz (LATHA et al., 2013).

2.2.1 Filtros solares inorgânicos

Os agentes inorgânicos atuam refletindo ou dispersando a radiação visível, ultravioleta e infravermelho atuando como uma barreira física. Dependendo do tamanho da partícula pode ocorrer também a absorção (BALOGH et al., 2011).

Os principais agentes inorgânicos utilizados são o óxido de zinco e dióxido de titânio. O primeiro, oferece melhor proteção contra UVA, e o dióxido de titânio para o UVB. A tonalidade avermelhada de óxido de ferro, outro filtro solar físico, tem sido utilizado para mascarar a opacidade de dióxido de titânio e óxido de zinco e aproximar a tonalidade da formulação após a aplicação à cor natural da pele (SAMBANDAN; RATNER, 2011).

Devido a preocupações estéticas em minimizar o aspecto esbranquiçado que uma formulação com dióxido de titânio e óxido de zinco podem deixar sobre a superfície da pele, os agentes inorgânicos tem sido micronizados e revestidos. Nessas versões o tamanho de partículas está na faixa de 70 a 200 nm. O espalhamento máximo da luz ocorre na presença de partículas com diâmetro aproximadamente igual ao comprimento de onda da luz incidente. Para não ocorrer a formação da película branca sobre a pele, o tamanho de partículas não pode ser da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da faixa da radiação visível, assim as partículas devem ser menores que 400 nm (FLOR; DAVOLOS; CORREA,

2007). Apesar destes filtros não apresentarem relevantes propriedades irritantes a pele e potencial de sensibilização, suas formas micronizadas podem sofrer reações fotoquímicas que comprometem sua eficácia (BALOGH et al., 2011).

Esses filtros solares são recomendados para o preparo de protetores solares para o uso infantil e para pessoas com pele sensível, gestantes e também para obtenção de FPS mais elevados. São mais seguros e fotoestáveis do que os filtros solares orgânicos (NEVES, 2008).

2.2.2 Filtros solares orgânicos

Os filtros solares orgânicos, representam a maior parte das moléculas utilizadas como filtros solares. São compostos aromáticos conjugados a um grupo carbonila e a um radical nas posições “orto” ou “para”. Frequentemente um grupo doador de elétrons é substituído nessas posições do anel aromático. Essas moléculas absorvem as radiações em um comprimento de onda e as convertem em outros, menos prejudiciais ao organismo. Isto se deve às propriedades específicas decorrentes de sua conformação espacial, que permite compartilhar elétrons ressonantes por quase toda a extensão da molécula (WOLF et al., 2001).

Ao absorver a radiação UV, os elétrons situados no orbital π HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) são excitados para orbital π^* LUMO (orbital molecular vazio de mais baixa energia) e, ao retornarem para o estado inicial, o excesso de energia é liberado em forma de calor. As transições eletrônicas que estão envolvidas durante a absorção da luz UV ocorrem entre a diferença de energia HOMO – LUMO (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Cada filtro solar utilizado como ingrediente em uma formulação cosmética tem um pico de absorção máxima em determinada faixa de comprimento de onda: UVA, UVB ou ambas. Para que se obtenha uma proteção eficaz deve-se fazer uma combinação de diferentes tipos de filtros solares (KHURY; SOUSA, 2010; SAMBANDAN; RATNER, 2011).

Os filtros solares orgânicos podem ser classificados, segundo a sua estrutura química em: ácido p-aminobenzóico e derivados, derivados do ácido cinâmico, salicilatos, benzofenonas, derivados da cânfora, derivados do dibenzoilmetano, antranilatos, derivados triazina (CORRÊA; ISAAC, 2012; KULLAVANIJAYA; LIM,

2005; LAUTENSCHLAGER; WULF; PITTELKOW, 2007; RIBEIRO, 2010). Quanto à solubilidade, classificam-se em hidro ou lipossolúveis (BALOGH et al., 2011).

2.2.3 Determinação da atividade fotoprotetora

2.2.3.1 Fator de Proteção Solar

O fator de proteção solar é um índice numérico grafado na rotulagem de protetores solares e representa a relação entre a quantidade mínima de radiação ultravioleta necessária para produzir um eritema na pele protegida pelo filtro solar e a quantidade necessária para produzir o mesmo eritema na pele desprotegida (DIFFEY, 2001).

De acordo com a legislação brasileira vigente, Resolução – RDC 30 de 1 de junho de 2012 (BRASIL, 2012a) o FPS é definido como “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 (DME_{np})”. Essa mesma Resolução define Dose Mínima Eritematosa (DME):

dose mínima de radiação ultravioleta requerida para produzir a primeira reação eritematosa perceptível com bordas claramente definidas, observadas entre 16 a 24 horas após a exposição à radiação ultravioleta, de acordo com a metodologia adotada.

O FPS é predominantemente influenciado pela transmissão UVB através do produto (SAMBANDAN; RATNER, 2011). No entanto, como já descrito, a radiação UVA desempenha um papel na fotocarcinogênese, fotoenvelhecimento e danos fotossensíveis, logo, é de importância primordial para assegurar uma proteção eficaz, equilibrar a proteção nas duas faixas de UV utilizando na composição do produto filtros solares com proteção para UVA e UVB.

A determinação do FPS de um produto pode ser realizada por meio de metodologias *in silico*, *in vitro* e *in vivo*.

O método *in silico*, resultante de modelo matemático computacional, tem sido utilizado como ponto de partida para o desenvolvimento de protetores solares. Permite ao formulador testar quali e quantitativamente combinações de filtros

solares, predizendo o provável FPS da formulação. Na área de fotoproteção o programa computacional é fornecido pela BASF, denominado *Sunscreen Simulator* (BASF, 2011).

As metodologias *in vitro* consistem na avaliação da transmitância espectral do filtro solar incorporado em uma formulação, aplicada sobre um substrato sintético que simula a pele humana ou em análises espectrofotométricas de soluções diluídas de produtos de proteção solar. A estimativa do FPS por espectrofotometria é realizada pela avaliação da altura, largura e localização da curva de absorção dentro do espectro do ultravioleta. O FPS é determinado por equações matemáticas depois de executar os espectros UV da película de proteção solar absorvente ou uma solução dentro dos limites espectrais convencionalmente aceitos 290-400 nm (HUPEL; POUPART; AR GALL, 2011). Esses métodos, apesar de serem precisos e terem uma boa correlação com os testes *in vivo*, sofrem certas limitações, uma vez que desconsideram fatores que envolvem interação da pele humana com o produto (NEVES, 2008).

Os métodos *in vitro* também são utilizados no controle da produção, por serem mais rápidos, apresentarem menor custo e, acima de tudo, porque não há envolvimento de voluntários humanos com os respectivos problemas éticos (VELASCO et al., 2011).

No Brasil, os produtos com filtros solares em suas formulações com atributos de proteção contra a radiação UV e com FPS são considerados de acordo com o risco pela Resolução RDC 4/2014, como grau 2 (BRASIL, 2014). Por pertencerem a essa categoria, deve ser comprovado a segurança, a eficácia e registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) previamente ao seu lançamento no mercado.

A Resolução RDC 30/2012 (BRASIL, 2012a) preconiza que esses produtos devem apresentar os testes de eficácia de FPS por meio de metodologias *in vivo*. Ainda determina que os testes devem seguir uma das duas metodologias padronizadas e validadas internacionalmente e suas atualizações: a *Final Monograph: Proposed Rule, 21 CFR Part 352* et al., 1999, seguindo a metodologia da *Food and Drug Administration- FDA, Department of Health and Human Services, Sunscreen drug products for over-the-counter human use*. Caso a opção seja pela metodologia da *Cosmetics Europe - The Personal Care Association* (COLIPA) a

referência dever ser o método determinado pelo *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006* (COLIPA, 2006).

Outras mudanças realizadas pela Anvisa, por meio da resolução RDC 30 (BRASIL, 2012a) é o valor mínimo do FPS que aumentou de 2 para 6. Pela norma, alegações, como resistência à água, terão que ser comprovadas por metodologias específicas definidas no novo regulamento. O rótulo dos protetores solares teve mudança ainda em suas informações obrigatórias. A orientação sobre a necessidade de reaplicação será obrigatória para todos os produtos, mesmo aqueles mais resistentes à água. Além disso, fica vedada qualquer alegação de 100% de proteção contra as radiações solares, a indicação de que o produto não precisa ser reaplicado e que o produto é bloqueador solar.

2.2.3.2 Determinação do Fator de Proteção UVA

De acordo com a Resolução – RDC 30/2012 (BRASIL, 2012a) o Fator de Proteção UVA (FPUVA) é definido como “valor obtido pela razão entre a dose mínima pigmentária em uma pele protegida por um protetor solar (DMPp) e a dose mínima pigmentária na mesma pele quando desprotegida (DMPnp)”. Essa mesma Resolução define Dose Mínima Pigmentária (DMP):

dose mínima de radiação UVA requerida para produzir um escurecimento pigmentário persistente da pele com bordas claramente definidas, observando entre 2 e 4 horas após a exposição à radiação UVA .

A Resolução RDC 30/2012 preconizou que para registro do produto junto a Anvisa, esse deve apresentar os testes de eficácia de FPUVA por meio de metodologias *in vivo* e/ou *in vitro*. Determina que os testes devem seguir uma das duas metodologias padronizadas e validadas internacionalmente e suas atualizações: Método *in vivo*: *European Commission - Standardization Mandate Assigned to CEN Concerning Methods for Testing Efficacy of Sunscreen Products - 2006 Annex 2 - Determination of the UVA protection factor based on the principles recommended by the Japanese Cosmetic Industry Association (PPD method published 15.11.1995)* e/ou *COLIPA Guideline. In Vitro Method for the Determination*

of the UVA Protection Factor and "Critical Wavelength" Values of Sunscreen Products, 2009. Esse último método foi revisado em 2011 (COLIPA, 2011).

Atualmente, existem diferentes métodos de avaliação da proteção UVA, *in silico*, *in vivo* e *in vitro*, conforme descritos a seguir:

O método *in silico Sunscreen Simulator* (BASF, 2011) descrito anteriormente também prediz o FPUVA norteando o formulador no início do desenvolvimento a respeito da proteção contra à radiação UVA.

Immediate Pigment Darkening (IPD): método *in vivo* que está fundamentado no desenvolvimento da pigmentação da pele logo após a irradiação com UVA, sendo a relação da dose UVA necessária para produzir a resposta em áreas com e sem proteção (BALOGH, 2011; NEVES, 2008).

Persistent Pigment Darkening (PPD *in vivo*): nessa metodologia aplica-se doses entre 6 e 25 J/cm² de UVA e após 2 horas faz-se as medidas. Está fundamentado na pigmentação persistente depois da irradiação com UVA e representa a relação da dose UVA requerida para produzir resposta nas áreas com e sem proteção. O resultado desse teste é representado por uma escala que varia de 2 a maior que 8, representando o grau de proteção: um produto que apresenta esse índice na faixa de 2 a 4 é considerado de baixa proteção contra a radiação UVA, de 4 a 8 moderada ou considerável proteção e acima de 8 alta proteção. Esse método foi padronizado pela *Japanese Cosmetic Industry Association* (KHURY; SOUSA, 2010; STANILAND; HEWITT, 2011).

O método de escurecimento persistente (PPD *in vivo*) é o método de referência para avaliar o FPUVA adotado na Europa, embora métodos *in vitro* também sejam utilizados.

Determinação de fator de proteção UVA *in vitro*: foi desenvolvido um método *in vitro*, na tentativa de se aproximar ao máximo às condições do teste *in vivo* pela metodologia PPD, de modo a tentar se obter um valor de FPUVA consistente com o obtido *in vivo* (COLIPA, 2011). O objetivo desta metodologia é determinar o FPUVA *in vitro*, antes e após a irradiação, correlacionando com o fator de proteção solar UVB obtido em avaliação *in vivo*. O teste é feito em um substrato que mimetiza a rugosidade da pele onde é aplicado o produto e irradiado com um simulador solar (COLIPA, 2011). Como resultado complementar tem-se a Razão FPS/FPUVA, a partir do valor de FPS *in vivo*.

De acordo com a legislação brasileira (RDC 30/2012) o valor do FPUVA deve ser no mínimo de 1/3 do valor do FPS.

Determinação do comprimento de onda crítico: a RDC 30/2012 define como comprimento de onda crítico: “o comprimento de onda para o qual a área sob a curva integrada de densidade ótica que começa em 290 nanômetros é igual a 90% da área integrada entre 290 a 400 nanômetros”. Determina ainda que o comprimento de onda crítico de um produto deve ser no mínimo 370nm (BRASIL, 2012a).

O valor desse comprimento pode ser obtido pelo método *in silico* (BASF, 2011) ou ainda como complemento do teste de determinação *in vitro* do FPUVA (COLIPA, 2011). Na prática, determina o ponto correspondente àquele a partir do qual o produto deixa de apresentar absorção necessária para promover uma proteção eficiente.

2.3 EMULSÕES E ESTUDO DE ESTABILIDADE

A composição do veículo é muito importante na determinação da eficácia de um protetor solar. As interações químicas entre os filtros solares e o veículo podem afetar a eficácia da formulação (VELASCO et al., 2008a, 2008b). A polaridade e pH dos solventes e compostos de proteção solar utilizados podem alterar a absorção do filtro solar. Por exemplo, um filtro solar não polar em um solvente polar é mais estável em seu estado excitado, como este estado é mais polar que o estado fundamental, resulta em menor energia necessária para alcançar o estado excitado, deslocando a absorção do filtro solar para uma maior faixa de frequência, alterando a eficácia (SCOTTI; VELASCO, 2003).

O veículo da formulação fotoprotetora define algumas características do produto, como tipo de filme que formará sobre a pele, a interação com outros componentes e o deslocamento espectral (SCOTTI; VELASCO, 2003).

Protetores solares podem ser formulados em diferentes formas cosméticas: loções hidroalcoólicas, óleos, géis oleosos e hidrofílicos, bastões e aerossóis, emulsões óleo em água (O/A) e emulsões água em óleo (A/O), sendo essas duas últimas as mais frequentes (BALOGH, 2011).

Emulsão é uma dispersão constituída de no mínimo dois líquidos, não miscíveis estabilizados por um emulsionante. Uma das fases é denominada de contínua, dispersante ou externa da emulsão, enquanto que a outra descontínua,

dispersa ou interna. As emulsões são classificadas de acordo com o tipo, em O/A, aquela em que a fase oleosa constitui a fase dispersa e os componentes aquosos, a fase contínua. Caso ocorra a água como a fase dispersa, tem-se emulsões do tipo A/O (SHAW, 1992).

Sendo constituídas de componentes tanto apolares (lipossolúveis) quanto polares (hidrossolúveis), podem carrear em sua estrutura tanto filtros solares hidrossolúveis quanto lipossolúveis, fato importante do ponto de vista da proteção solar. As emulsões A/O são as mais adequadas para a proteção da pele, porém apresentam elevado caráter graxo ou gorduroso, com conseqüente desconforto para o usuário. Em razão do exposto, as emulsões O/A constituem os sistemas mais utilizados e garantem adequada proteção com um sensorial mais confortável ao usuário (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Sabe-se que os agentes emulsivos tem propriedade de diminuir a tensão interfacial entre óleo e água e são fundamentais na estabilização das emulsões. No entanto, estes compostos muitas vezes não conseguem diminuir a tensão interfacial a ponto de controlar totalmente a energia da superfície provocada pelo aumento da área interfacial. Desta forma, as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis e, esse é um dos motivos pelo qual no desenvolvimento tecnológico, procura-se utilizar de meios que possam retardar pelo maior tempo possível os processos de instabilidade como, por exemplo, a separação das fases (OLIVEIRA et al., 2004).

A adição de polímeros hidrofílicos a agentes tensoativos melhora a estabilidade das emulsões óleo em água. Algumas proteínas, copolímeros, polissacarídeos e homopolímeros são considerados candidatos adequados para agentes emulsionantes, uma vez que podem formar uma camada adsorvida, que desempenha um papel importante como uma camada protetora. Além disso, quando os polímeros estão presentes na fase externa, aumenta sua viscosidade e o aumento da estabilidade pode ser observado (RÓŽAŇSKA et al., 2012).

A presença de substâncias poliméricas adsorvidas nos glóbulos de um sistema emulsionado causam redução da tensão interfacial, elevando a estabilidade do sistema. O efeito desejado desses adjuvantes é dependente da concentração e localização na interface óleo em água (VELASCO et al., 2008b).

O *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, é um emulsificante polimérico, que tem sido utilizado no desenvolvimento de fotoprotetores (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011). Apresenta-se como blocos reticulados de copolímeros (ácido acrílico) e de metacrilatos de cadeia longa hidrofóbica (acrilato/C10-C30 alquil-acrilato reticulado) (SZÜCS et al., 2008). Suas moléculas possuem uma pequena porção com afinidade pelo óleo (lipofílica) e uma grande porção com afinidade pela água (hidrofílica). Essa estrutura química permite que ele atue como um emulsionante primário em emulsões do tipo óleo-em-água (PEMULEN, 2011). Pode ser disperso tanto na fase aquosa (método direto) ou oleosa (método indireto) da emulsão (LIMA et al., 2008; PEMULEM, 1999). São macromoléculas, não penetram no tecido biológico, e por serem utilizados em concentrações inferiores a 1,0%, apresentam conseqüentemente baixa irritabilidade na pele (PEMULEM, 2011).

O *Sodium Polycrylate* é um homopolímero aniônico, pré-neutralizado utilizado como emulsionante polimérico para produção de emulsões com processos a frio em uma ampla faixa de pH 5,5 a 11,0. Além dessa função também pode atuar como formador de gel e modificador de reologia podendo apresentar uma viscosidade substancial em baixas concentrações de uso (RAPITHIX, 2003; SANFELICE; TRUTI, 2010). Este emulsionante confere uma boa estabilidade e podem contribuir para o aumento da resistência à água, característica desejável em formulações fotoprotetoras (RIBEIRO, 2010).

Outros polímeros como o *Carbomer* e o *Polyacrylamide (and) C₁₃₋₁₄ Isoparaffin (and) Laureth-7*, tem sido utilizados no desenvolvimento de emulsões do tipo O/A (FERRARI et al., 2007; FERRARI et al., 2008; LIMA et al., 2008; PIANOVISKI et al., 2008).

O *Carbomer* é um polímero do ácido poliacrílico utilizado como agente espessante, formador de gel, loção e creme e ainda agente modificador de reologia. Pode ser disperso na fase aquosa ou na oleosa. Quando adicionado nessa última, o polímero migra para a aquosa proporcionando o espessamento da emulsão (CARBOMER, 2007). É utilizado no preparo de emulsões de fase externa aquosa, uma vez que contribui para o aumento da viscosidade do sistema e, portanto, proporciona a estabilidade da emulsão (CORRÊA et al, 2005).

O *Polyacrylamide (and) C₁₃₋₁₄ Isoparaffin (and) Laureth-7* é um polímero utilizado como agente emulsificante, geleificante, de consistência e estabilizador de

emulsões para produção de emulsões pelo processo a frio. Tecnicamente é conhecido como um polímero do tipo *Hydro Swelling Droplet*, ou seja, quando se adiciona água ao produto, a emulsão se inverte, a água promove a hidratação do polímero, formando instantaneamente, uma rede polimérica que irá promover o espessamento do meio e estabilizar o sistema, o que permite a produção de emulsões a frio com agitação moderada, simplificando o processo de produção (SEPIGEL 305, 2013).

A seleção de emolientes é muito importante no desenvolvimento de emulsões fotoprotetoras, uma vez que dependendo da polaridade destes agentes pode haver um deslocamento no comprimento de onda de absorvância máxima (λ max.) dos filtros solares com proteção UVB e UVA (RODRIGUES; SALKKA, 2001). Esses autores estudaram a influência de óleos emolientes sobre o metoxicinamato de etilhexila e a benzofenona-3 e verificaram que óleos de baixa polaridade exibiram influência negativa sobre a absorção. Ao contrário, óleos altamente polares mostraram absorção fortemente aumentada de UV. Os óleos polares solubilizam os absorvedores de UV permitindo uma dispersão uniforme da solução de óleo, maximizando assim o poder de absorção. Os óleos de baixa polaridade podem promover concentrados solubilizados, análogos à micelização tensoativa na água, diminuindo a absorção.

Os emolientes influenciam também a capacidade de espalhamento e penetração do produto solar na pele. Os óleos emolientes podem apresentar baixa, média e alta espalhabilidade e impactar na aplicação das emulsões fotoprotetoras. O ideal é combinar três ou quatro óleos emolientes de propriedades de espalhamento variável (RODRIGUES; SALKKA, 2001). Os emolientes podem atuar de maneiras diferentes dependendo do tamanho da sua molécula e da concentração usada na formulação (KHURY; SOUSA, 2010).

Na área cosmética diferentemente de medicamentos não existe nenhum protocolo oficial padronizando os testes de estabilidade, pois estes devem ser adequados aos objetivos do formulador, da forma cosmética e dos constituintes da formulação. No entanto com o intuito de direcionar as indústrias cosméticas e/ou os formuladores, a Anvisa, publicou um Guia de estabilidade sugerindo parâmetros de avaliação e os testes de estabilidade (ANVISA, 2004). Segundo este guia os testes podem ser classificados de acordo com as seguintes etapas: centrifugação, se aprovado segue para os testes seguintes denominados preliminares, de triagem ou

ainda de curto prazo, tendo aproximadamente um tempo de duração de 15 dias. Os testes de estabilidade normal ou exploratório e também chamado de estabilidade acelerada têm duração aproximada de 90 dias. Além destes recomenda-se realizar o teste de prateleira, também denominado de longa duração ou *shelf life* que acompanha todo o tempo de validade do produto.

Temperaturas elevadas de estocagem, contaminações microbiológicas e reações químicas indesejáveis podem acelerar a instabilidade. Quando ocorre a instabilidade de emulsões, suas características químicas e físicas podem variar (ANVISA, 2004). As principais alterações apresentadas estão relacionadas às suas características físicas tais como: cremação, sedimentação, floculação, coalescência e inversão de fases (SANTOS, 2010a).

Diferentes metodologias podem ser utilizadas para verificar tais variações: determinação do valor do pH, viscosidade, densidade, condutividade elétrica, umidade, tamanho da partícula, entre outros (ANVISA, 2004).

O perfil de estabilidade de um produto é um dos parâmetros utilizados para avaliar seu desempenho, segurança e eficácia, além de sua aceitação pelo consumidor (ANVISA, 2004).

2.3.1 Reologia de sistemas emulsionados

A Reologia é a ciência que estuda as propriedades do fluxo e como este se deforma e flui sob a influência de forças externas. Constitui um ramo integrante da física, fisiologia e ciências farmacêuticas e é provavelmente uma das mais importantes propriedades dos sistemas emulsionados (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

Uma das propriedades avaliada na deformação de fluidos é a viscosidade. Esta representa a resistência de um fluido ao escoamento, ou seja, o atrito das camadas internas dentro do fluido que impõe resistência a fluir. O contrário da viscosidade é denominado fluidez (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

A viscosidade do fluido varia com a tensão de cisalhamento e a duração da taxa de cisalhamento. Tensão de cisalhamento é a força por unidade de área cisalhante necessária para manter o escoamento do fluido. Taxa de cisalhamento é o deslocamento relativo das partículas ou moléculas do fluido. É uma medida da mudança na velocidade quando as camadas intermediárias de um fluxo se movem uma em relação à outra. A taxa de cisalhamento também pode ser denominada de

grau de deformação ou gradiente de velocidade de cisalhamento por uma determinada distância (MORAES, 2011; TADROS, 1994).

Os fluidos viscosos podem ser classificados em função do seu comportamento de fluxo ou reológico. Este comportamento envolve a relação entre a resposta da viscosidade frente à taxa ou tempo de cisalhamento. Os fluidos newtonianos são aqueles em que a viscosidade é afetada pela temperatura e pressão. Entretanto, a viscosidade não varia com o aumento da taxa ou tensão cisalhante, sendo esta denominada como viscosidade absoluta. Para um fluido newtoniano ideal, a tensão de cisalhamento é uma função linear da taxa de cisalhamento e a constante de proporcionalidade para esta relação (η) é chamada de viscosidade Newtoniana (TORRES et al., 2007).

Os outros fluidos que não apresentam esse comportamento são chamados de não Newtonianos. Esses podem ainda ser divididos em pseudoplásticos, onde a viscosidade decresce com o aumento da taxa de cisalhamento e sua estrutura é recuperada quando a taxa de cisalhamento retorna a zero. Fluidos dilatantes em que a viscosidade aumenta com o aumento da taxa de cisalhamento e, plásticos (corpos de Bingham) com tensão inicial onde o material apresenta forças internas que o impedem de fluir até atingir a tensão de deformação inicial e em seguida começa a fluir. (LEE; MOTURI; LEE, 2009).

Alguns materiais apresentam mudança na viscosidade dependente do tempo sob condições constantes de taxa de cisalhamento. Podem-se distinguir dois tipos de comportamento: tixotropia, que é a diminuição da viscosidade com o tempo de cisalhamento constante e reopexia, que é o aumento da viscosidade com o tempo de cisalhamento. (MORAES, 2011).

Tixotropia é um termo para descrever um sistema isotérmico em que a viscosidade aparente diminui com o tempo sob o cisalhamento constante e há uma recuperação gradual quando a tensão é removida. Essa propriedade é exibida pelos sistemas pseudoplásticos que exibem a variação de viscosidade dependente do tempo (TADROS, 2004). Este comportamento pode ser verificado através da representação de curvas ascendentes e descendentes com formação da área de histerese.

Diferentes pesquisas demonstraram que a reologia pode ser utilizada para caracterizar e avaliar estabilidade física das emulsões (FERRARI, 1998, 2002;

FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008, TADROS, 2004; TORRES et al., 2007).

2.4 AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA DE PRODUTOS COSMÉTICOS

Como o produto cosmético é de livre acesso ao consumidor, deve ser seguro nas condições normais de uso ou razoavelmente previsíveis de uso. Assim a avaliação de segurança deve ser realizada antes do produto ser lançado no mercado (BRASIL, 2012b).

As informações necessárias na avaliação do risco potencial de um produto cosmético estão fundamentadas no conhecimento dos ingredientes que compõem sua fórmula (BRASIL, 2012b).

Algumas substâncias de origem vegetal podem produzir reações adversas, quando aplicadas sobre a pele como ingrediente cosmético. Por exemplo, o *Hypericum perforatum* apresenta fototoxicidade dose/irradiação dependente (NOHYNEK et al., 2010) demonstrando que substâncias naturais tem potencial fototóxico. Da mesma forma, os óleos essenciais, substâncias naturais complexas de uso tradicional em fragrâncias e cosméticos podem conter quantidades variáveis de alérgenos sensibilizantes. Estes exemplos demonstram que ingredientes derivados de plantas que parecem ter uma história de uso seguro em alimentos e/ou medicamentos podem, no entanto, apresentarem riscos à saúde do consumidor quando usados como ingredientes cosméticos (NOHYNEK et al., 2010).

Entre outros fatores relacionados à toxicidade dos extratos vegetais estão associados às aminas, compostos nitrosos ou substâncias prejudiciais que podem ser produzidos durante o crescimento da planta, armazenamento, processo de preservação ou de cozimento (LEE, 2013).

Existem vários ensaios utilizados para a avaliação de segurança de produtos e insumos cosméticos, entre eles os testes de citotoxicidade e fototoxicidade (BRASIL, 2012b).

O ensaio de citotoxicidade define o potencial de degeneração ou morte celular provocado pelo material constituinte nos cosméticos. Uma das metodologias recomendadas pela Anvisa é a citotoxicidade pelo método de vermelho neutro NRU (*Neutral Red Uptake*) (BRASIL, 2012b).

Estes ensaios podem ser utilizados para monitorar as modificações de substâncias citotóxicas quando são associadas a outras que tem como finalidade minimizar os seus efeitos tóxicos. Estudos relataram que nanopartículas de titânio associadas ao polímero polietilenoglicol, tem seus efeitos citotóxicos reduzidos (MANO et al., 2012).

Ensaio de toxicidade também foram utilizados como ensaios complementares para estudar nanopartículas de hera inglesa (*Hedera helix*) em substituição às nanopartículas metálicas em produtos para proteção solar. As nanopartículas de hera utilizadas na mesma concentração das metálicas (dióxido de titânio) apresentaram toxicidade significativamente menor (XIA et al., 2010).

Estas pesquisas visam a padronização de protocolos para avaliar a toxicidade de sistemas de liberação prolongada como as nanopartículas, devido a sua aplicabilidade em vários campos (KONG et al., 2011).

Fototoxicidade é definida como uma resposta tóxica, a uma substância aplicada no corpo, que é induzida ou aumentada após a exposição à luz, ou que é induzida por irradiação na pele após a administração sistêmica (OECD, 2004). Como é uma resposta não-imunológica induzida pela luz e por um produto químico fotoativo aplicado na pele, é caracterizada por eritema e edema e, às vezes, vesiculação, e pigmentação. As reações de fototoxicidade são comparáveis com reações de irritação primária na medida em que podem ser desencadeadas após uma única exposição (GASPAR et al., 2013).

Existe escassez de dados publicados a respeito de triagem da atividade fototóxica de extratos vegetais empregados em cosméticos. Assim, faz-se necessário analisar a fototoxicidade de plantas medicinais usadas para tratamentos tópicos o que tem levado diversos autores a buscar este dado de segurança.

Entre os testes para avaliação da cito e fototoxicidade *in vitro* utiliza-se a metodologia do MTT que tem, como princípio, a determinação da habilidade de células vivas em reduzir 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT, Sigma), formando cristais insolúveis de formazana de coloração violeta (CORREA-ROYERO, 2010; MORAES, 2011; PEDRIALI et al., 2010) e o teste 3T3 NRU utilizado neste estudo. Esses dois testes são sugeridos pelo guia de avaliação de segurança de produtos cosméticos da Anvisa (BRASIL, 2012b).

A informação decorrente do ensaio de fototoxicidade *in vitro* 3T3 NRU é utilizada para definir o potencial fototóxico de uma substância em estudo, ou seja, a

existência ou ausência de possíveis riscos associados a uma substância em estudo, por exposição à radiação UV e visível. O ensaio não é realizado para detectar outros efeitos nocivos decorrentes da ação combinada das substâncias químicas e a das radiações, como a fotogenotoxicidade, a fotoalergia e a fotocarcinogenicidade, embora muitas substâncias químicas que apresentam essas propriedades exibam uma reação positiva no ensaio de fototoxicidade *in vitro* 3T3 NRU (BRASIL, 2001).

O teste 3T3 NRU *in vitro* é validado cientificamente apenas para detectar potencial fototóxico como objetivo de prevenir reações fototóxicas na população em geral, mas resultados positivos não podem prever a incidência exata das reações de fototoxicidade em seres humanos (GASPAR et al., 2013).

Doses não citotóxicas de muitos produtos químicos podem causar respostas fototóxicas quando expostos a doses de radiação UV. Este ensaio é uma comparação entre a citotoxicidade de um composto químico quando testado na presença e na ausência de uma dose de UVA (LOHÉZIC-LE DÉVÉHAT et al., 2013).

O fator de fotoirritação (PIF) é um parâmetro utilizado para transformar os resultados de fototoxicidade *in vitro* 3T3 NRU em uma previsão do potencial fototóxico. Este fator é obtido por comparação entre duas concentrações igualmente eficazes (EC50) da substância em estudo, respectivamente sem (-UV) e com exposição (+UV) a uma dose não citotóxica de radiação UVA visível (BRASIL, 2001).

2.5 PLANTAS COM ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA

Substâncias de origem vegetal tem utilização milenar na história da humanidade. Produtos sintéticos industrializados foram gradativamente utilizados pela facilidade de obtenção e baixo custo. Porém, a partir da década de 1980, surgiu um renovado interesse por matérias primas de origem vegetal. Fatores como a necessidade de novas substâncias e os efeitos adversos de alguns compostos sintéticos justificaram a utilização de plantas como alternativas terapêuticas e cosméticas (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011). Atualmente, é uma tendência na cosmetologia a incorporação de extratos vegetais com atividades ou propriedades biológicas ou fisiológicas comprovadas em produtos de aplicação tópica (VIOLANTE et al., 2009).

Esta prática tem se estendido também à pesquisa de produtos naturais com atividades antioxidantes e fotoprotetoras (MUNHOZ et al., 2012; OLIVEIRA JR. et al., 2013 a,b; SISTO et al., 2012; SOUSA et al., 2007; VIOLANTE et al., 2008). Pesquisas de plantas com estas atividades tem como foco espécies que possuam moléculas contendo cromóforos, anéis aromáticos e compostos com possível atividade antioxidante e que absorvam a radiação UV (POLONINI; RAPOSO; BRANDÃO, 2011).

A dificuldade de se trabalhar com extratos com atividades antioxidante e fotoprotetora se deve à grande complexidade química existente, o que torna muito difícil atribuir e quantificar em matrizes biológicas a classe específica de substâncias responsáveis por determinada atividade (MANSUR, 2011; SILVA et al., 2013).

Os antioxidantes vegetais apresentam várias ações na proteção cutânea contra a radiação ultravioleta, incluindo a redução de radicais livres. Estes são responsáveis por uma cascata de eventos que culminam no envelhecimento cutâneo e desenvolvimento do câncer. Logo, antioxidantes vegetais podem ser efetivos na prevenção dos efeitos deletérios do sol (GONZÁLEZ et al., 2013; KIM et al., 2012; LOHÉZIC-LE-DÉVÉHAT et al., 2013; OLIVEIRA JR. et al., 2013 a,b).

A pele possui mecanismos de defesa naturais contra os radicais livres, entre eles enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, e glutathione peroxidase) e antioxidantes não enzimáticos (vitamina C, vitamina E, glutathione, e ubiquinona). No entanto, por causa da constante exposição ambiental a agentes físicos e químicos, pode ocorrer um desequilíbrio entre a formação de agentes oxidantes e antioxidantes endógenos naturais. A aplicação tópica de antioxidantes naturais pode proteger a pele contra os danos induzidos por UV por absorção de UV, através da proteção do DNA, ou devido as suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (WÖLFLE et al., 2013), assim, produtos que contêm componentes antioxidantes pode ser uma estratégia útil para a prevenção dos danos causados pelas radiações ultravioletas na pele (GIAMPIERI et al., 2012).

Os compostos fenólicos presentes em muitas espécies de plantas, tem atividade antioxidante devido as suas propriedades redutoras e à estrutura química. Estes se enquadram em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SOUSA et al., 2007).

Sousa e colaboradores (2007) determinaram a quantidade de fenóis totais e a atividade antioxidante de cinco plantas medicinais e verificaram a correlação positiva entre o teor fenólico total e a atividade antioxidante para duas das plantas avaliadas.

Roesler; Lorencini; Pastore (2010) estudaram frutos do cerrado: *Annona crassiflora* (araticum), *Eugenia dysenterica* (cagaita) e *Caryocar brasiliense* (pequi) e correlacionaram alto conteúdo fenólico e excelente atividade antioxidante em modelos *in vitro*.

A determinação da atividade antioxidante de extratos vegetais já é bem conhecida e documentada, mas a avaliação da sua capacidade de proteção solar é limitada devido ao espectro de radiação UV que alguns compostos absorvem (HUPEL; POUPART; AR GALL, 2011).

Há citações na literatura sobre a atividade fotoprotetora atribuída à presença de polifenóis presentes na *Camellia sinensis* (chá verde), no *Polypodium leucotomos*, nas sementes de uva, no cacau, no extrato de *Achyrocline satureioides* (marcela), e no extrato aquoso do *Rosmarium officinalis* (alecrim) (HONG et al., 2012; SANTOS, 2010b; SILVA et al., 2013).

Kaur e Saraf (2012) compararam formulações com extratos de *Curcuma longa* e *Punica granatum* com relação ao conteúdo fenólico e atividade antioxidante e observaram que ambos os extratos apresentaram atividade fotoprotetora, porém o extrato com maior concentração de compostos fenólicos (*Punica granatum*) apresentou maior atividade antioxidante.

Mishra; Mishra; Chattopadhyay (2011) relataram que as plantas *Luffa cylindrica*, *Peumus boldus*, *Portulaca oleracea* e *Aloe vera*, podem ser utilizadas em produtos fotoprotetores por apresentarem constituintes com ação antioxidante protegendo a pele dos efeitos deletério da radiação UVB.

2.6 AÇAÍ (*Euterpe oleraceae*)

A *Euterpe oleraceae* Martius da família Arecaceae, é uma palmeira que alcança em torno de 15 a 20m de altura, conhecida popularmente como açaí, açaí-branco, açaí-do-Pará, açaí-da-várzea, juçara ou palmiteiro. É uma planta que prefere os terrenos alagados e áreas úmidas, e por isso sua ocorrência é mais frequente às margens dos rios, sobretudo, nas margens de pequenos rios, igarapés e em florestas de solos arenosos mal drenados, às vezes, formando populações quase

homogêneas. No entanto, fora desses ambientes, a espécie é bastante vulnerável à estiagem, principalmente, quando cultivadas em canteiros dentro da zona urbana. Os caules são cilíndricos, medindo de 8 a 12 cm de diâmetro, possuem superfície lisa, coloração cinzenta e cicatrizes aneladas resultantes das renovações das bainhas. Por apresentar uma abscisão constante de folhas, aliada ao sistema radicular fasciculado e abundante e, com a presença de raízes adventícias, o plantio do açaí é recomendado para proteção do solo, enriquecimento de matas ciliares, proteção de nascentes e prevenção contra assoreamento de rios, lagos e igarapés (GORDON et al., 2012; LORENZI et al., 1996; SOUZA et al., 1996).

O fruto do açaí apresenta forma globosa, medindo de 1,2–1,5 cm de comprimento por 1,1-1,6 cm de diâmetro; o epicarpo (casca) é fino e liso, com coloração negro-arroxeadado, no entanto algumas variedades podem apresentar ocasionalmente, frutos de coloração verde na maturidade; o mesocarpo (polpa) é pouco volumoso, possui coloração violácea e espessura em torno de 1 mm. A polpa oleaginosa é comestível, a semente possui o endocarpo duro e fibroso. O açaí, quando completamente maduro, é recoberto por uma capa branco-acinzentada (GORDON et al., 2012; SANTOS et al., 2008; SOUZA et al., 2011).

O açaí é encontrado principalmente na região Norte do Brasil, nos Estados do Pará, Amazonas, Maranhão e Amapá, e estende-se para as Guianas e Venezuela. Da palmeira são extraídos o palmito e o fruto para o consumo alimentar (INÁCIO, 2013; LORENZI et al., 1996; SANGRONIS; SANABRIA, 2011; SOUZA et al., 1996;).

É uma espécie promissora para o manejo sustentado de produtos florestais não madeireiros, visto que, a comercialização de seus subprodutos possibilita geração de emprego, aumento de bens móveis e imóveis que, conseqüentemente promovem melhoria na qualidade de vida das populações ribeirinhas (MUÑIZ-MIRET et al., 1996; PESSOA et al., 2010).

Atualmente, seu uso tem se estendido a diferentes estados brasileiros e alguns países da Europa, Estados Unidos, Japão e China. A disseminação do uso e o conhecimento das propriedades desse fruto geraram novas formas de comercialização por parte das indústrias alimentícia e de cosméticos (GORDON et al., 2012; SOUZA et al., 2011).

O açaí é a principal cultura da fruticultura paraense, em termos da ocupação de mais de 25 mil pessoas, de forma direta e indireta, e responde por cerca de 70% da formação da renda dos extrativistas ribeirinhos. É o principal alimento de grande

parcela das famílias ribeirinhas e das famílias de baixa renda dos centros urbanos. O consumo de açaí incorpora questões culturais e, recentemente, os aspectos da estética e saúde, em função de elementos que o tornam um alimento funcional, por ser rico em fibras, vitaminas e antocianina (NOGUEIRA; SANTANA; GARCIA, 2013).

O fruto da *Euterpe oleracea* Mart. contém além dos nutrientes essenciais (Quadro 1), diversos compostos secundários, de natureza fenólica. Em especial, as antocianinas, uma classe distinta de polifenóis a qual é atribuída a propriedade antioxidante desse fruto (KUSKOSKI et al., 2006). Costa e colaboradores (2013) atribuíram as atividades biológicas do açaí, principalmente aos seguintes compostos: antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos, procianidina e lignanas.

Quadro 1 - Composição nutrientes essenciais do açaí.

Composição	Teor (g/100g)
Proteínas	13
Lipídios totais	48
Açúcares totais	1,5
Açúcares redutores	1,5
Fibras	34
Potássio	0,932
Fósforo	0,124
Cálcio	0,286
Magnésio	0,174
Antocianina	0,500

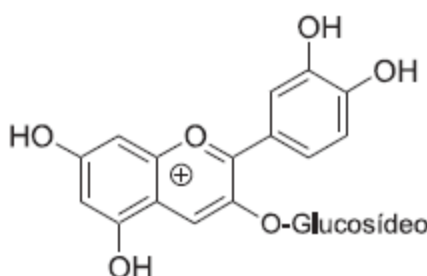
Fonte - ROGEZ, 2000, apud CONSTANT, 2003.

As antocianinas são pigmentos solúveis em água intensamente coloridos e amplamente distribuídos na natureza. São capazes de absorver luz na região do visível, conferindo uma infinidade de cores entre laranja, vermelho, púrpura e azul, dependendo do meio em que se encontram (CRETU; MORLOCK, 2014). As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica. Ainda as cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como a polinização e a dispersão de sementes. A

estrutura química básica das antocianinas é composta por uma estrutura policíclica de quinze carbonos (LOPES et al., 2007).

As hidroxilas presentes na estrutura química das antocianinas estão ligadas a açúcares, sendo os mais comuns, glicose, xilose, arabinose, ramnose, galactose ou dissacarídeos constituídos por esses açúcares, estes podem estar ligados ácidos fenólicos, como *p*-coumárico, cafêico, fenílico e vanílico. O açúcar presente nas moléculas de antocianinas confere maior solubilidade e estabilidade a estes pigmentos (MARÇO; POPPI, 2008).

Figura 1 - Estrutura química da antocianina cianidina 3- glucosídeo.



Fonte – MARÇO; POPPI, 2008.

As várias formas antociânicas encontradas diferem entre si pelo número de grupos hidroxílicos e metoxílicos presentes na aglicona, pela natureza, número e sítio de ligação dos açúcares e pelo número e natureza dos ácidos alifáticos e/ou aromáticos ligados à molécula de açúcar (CRETU; MORLOCK, 2014).

Souza e colaboradores (2011) revisaram estudos científicos realizados com o açaí, comprovando a capacidade antioxidante, a ação anti-inflamatória e o efeito hipocolesterolemizante desse fruto, associando a sua ingestão com a melhora de doenças crônico-degenerativas. Poulou e colaboradores (2012) verificaram que a polpa do açaí pode proteger as células (neurônios) de processos oxidativos e inflamações relacionadas ao envelhecimento e geração de doenças neurodegenerativas.

Schauss e colaboradores (2006) demonstraram a capacidade antioxidante da polpa de açaí utilizando diferentes métodos de avaliação e várias fontes de espécies reativas. Nessa pesquisa foi relatada a atividade antioxidante contra o ânion superóxido e alta capacidade contra o radical peróxido. Outros estudos comprovaram

as atividades anti-inflamatória e antioxidante do açaí (HOGAN et al., 2010; KANG et al., 2010, 2011b; POULOSE et al., 2012; SOUZA et al., 2010a).

Flavonoides do açaí vem sendo isolados e identificados, pois exibem grande capacidade antioxidante e anti-inflamatória. O mecanismo da atividade antioxidante dos flavonoides envolve a ação seqüestradora direta ou extinção de radicais livres de oxigênio ou espécies reativas de oxigênio, bem como a inibição de enzimas oxidativas que geram essas espécies reativas de oxigênio. Quanto à inflamação, atuam aumentando a expressão de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e algumas enzimas (KANG et al., 2012; XIE et al., 2012).

Kang e colaboradores (2011b) isolaram, identificaram e avaliaram as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias de cinco flavonóides obtidos a partir da polpa do açaí liofilizada. Quatro deles, não tinham sido relatados na literatura. A capacidade antioxidante foi avaliada através de ensaio antioxidante químico que é baseado na inibição oxidação do radical peroxilo (ORAC). Os autores concluíram que a capacidade antioxidante desses compostos variou em função da estrutura química e do ensaio utilizado.

Estudos investigam os efeitos protetores das frações da polpa de açaí (frações extraídas com metanol e etanol ricos em antocianinas tais como cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina e peonidina, enquanto que a fração extraída usando acetona foi rica em compostos fenólicos, como catequina, ácido ferúlico, quercetina, resveratrol e ácidos sinérgicos e vanílico) no envelhecimento e em doenças neurodegenerativas associadas à idade, o que poderia ter implicações na melhora das funções cognitivas e motoras por diminuição dos processos oxidativos e inflamatórios (LASLO et al., 2012; POULOSE et al., 2012; SCHAUSS et al., 2010).

Face a composição e atividade antioxidante descritos nas literaturas e, sabendo que os polifenóis podem absorver a radiação UV e atuar como antioxidante reduzindo os efeitos deletérios dessa radiação, essa pesquisa teve como um dos objetivos avaliar a atividade fotoprotetora do extrato glicólico de açaí.

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver emulsões fotoprotetoras estáveis do tipo O/A contendo extrato glicólico de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e avaliar a eficácia fotoprotetora.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Avaliar a citotoxicidade e fototoxicidade do extrato glicólico de açaí;

3.2.2 Desenvolver emulsões fotoprotetoras O/A contendo extrato glicólico de açaí;

3.2.3 Avaliar a estabilidade físico - química das emulsões obtidas;

3.2.4 Determinar o fator de proteção solar *in vivo* das emulsões desenvolvidas;

3.2.5 Determinar o fator de proteção UVA e comprimento de onda crítico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS

Foi realizada a seleção das matérias-primas adequadas para o desenvolvimento das formulações: filtros solares, agentes de consistência, emulsionantes e co-tensoativos, emolientes, coadjuvantes técnicos e extrato vegetal.

Todas matérias primas utilizadas no desenvolvimento das formulações são de grau cosmético e constantes no *Cosmetic Ingredient Review* – CIR (CIR, 2013) e no *European Commission Health and Consumers – Cosmetics Ingredients & Substances* - CosIng (COSING 2013). Os ingredientes constantes nessas bases de dados Americana e Européia, respectivamente, são considerados seguros para uso em produtos cosméticos.

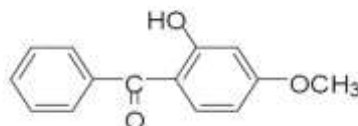
A nomenclatura dos ingredientes foi apresentada pelo *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient* – INCI (COSING, 2013).

4.1.1 Filtros solares

Benzophenone3 (CANTRELL; MACGARVEY; TRUSCOTT, 2001; RIBEIRO, 2010)

Filtro solar químico (Figura 2) com absorção no espectro de UVA e UVB.

Figura 2 - Estrutura molecular do filtro solar *Benzophenone3*.



Fonte: Ribeiro, 2010

- Comprimento de onda de absorção: 288 a 325 nm.
- Nome químico em português: benzofenona 3.
- Solubilidade: lipossolúvel.

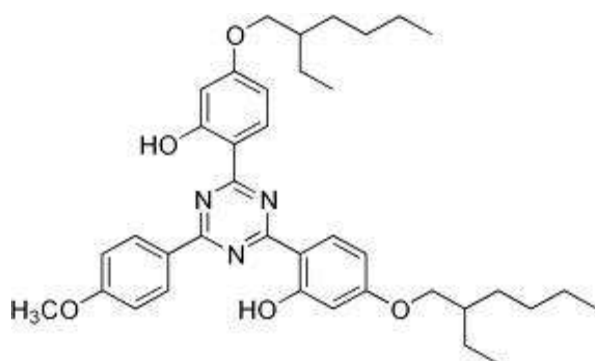
- Regulamentação no Brasil: permitido até 10% (BRASIL, 2006).
- Foi cedido pela Ashland Inc. (São Paulo - SP, Brasil), comercializado como Escalol® 567.

Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine (LAUTENSCHLAGER; WULF; PITTELKOW, 2007; RIBEIRO, 2010)

Filtro solar químico (Figura 3) com absorção de amplo espectro na região de UVA e UVB, porém absorve até 360nm, a partir desse comprimento de onda apresenta eficácia diminuída. Pode ser usado para melhorar a fotoestabilidade e eficiência de protetores solares contendo *avobenzone* e *2-ethyl p-methoxycinnamate*.

- Nome químico em português: Bis-etilhexiloxifeno metoxifenil triazina
- Solubilidade: lipossolúvel
- Regulamentação no Brasil: permitido até 10% (BRASIL, 2006).
- Doado pela BASF do Brasil (São Paulo-SP, Brasil). Denominado comercialmente como Tinosorb®S.

Figura 3 - Estrutura molecular do filtro solar *Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine*.

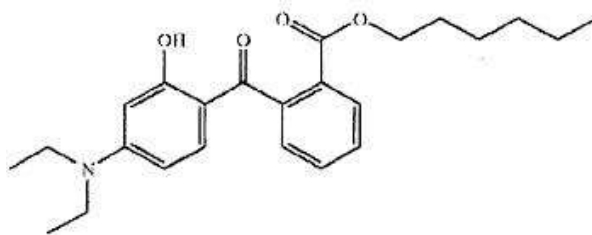


Fonte: Ribeiro, 2010.

Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate (RIBEIRO, 2010)

Filtro solar químico (Figura 4) com absorção no espectro de UVA. Promove proteção eficaz contra UVA longo (até 400 nm).

Figura 4 - Estrutura molecular do filtro solar *Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate*.



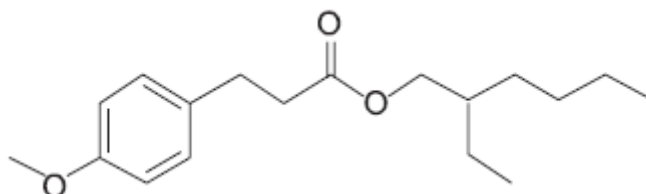
Fonte: Corrêa; Isaac, 2012.

- Nome químico em português: dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato.
- Solubilidade: lipossolúvel.
- Regulamentação no Brasil: permitido até 10% (BRASIL, 2006).
- Comercialmente denominado de Uvinul A® plus, foi cedido pela BASF do Brasil (São Paulo-SP, Brasil).

Ethylhexyl Methoxycinnamate (KULLAVANIJAYA; LIM, 2005; RIBEIRO, 2010)

Filtro solar químico (Figura 5) com absorção de radiação UVB em 310nm. Pode apresentar degradação quando exposto à luz solar durante um curto período de tempo, o que leva a uma diminuição na eficácia de absorção de UV.

Figura 5 - Estrutura molecular do filtro solar *Ethylhexyl Methoxycinnamate*.



Fonte: Cantrell; Macgarvey; Truscott, 2001.

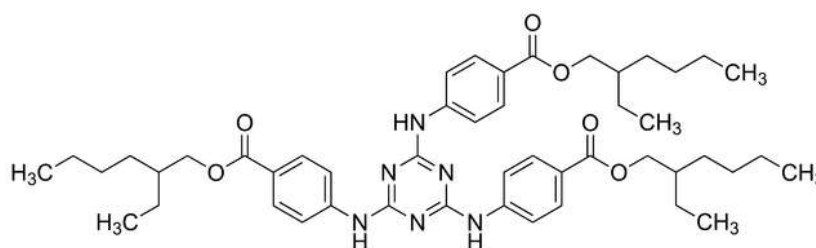
- Nome químico em português: Metoxicinamato de etilexila (Metoxicinamato de octila).
- Solubilidade: lipossolúvel.

- Concentração máxima permitida no Brasil: 10% (BRASIL, 2006).
- Comercializado e fornecido Ashland Inc. (São Paulo - SP, Brasil), com o nome de Escalol® 557

Ethylhexyl Triazone (LAUTENSCHLAGER; WULF; PITTELKOW, 2007; RIBEIRO, 2010)

Filtro solar químico com absorção de radiação UVB (Figura 6).

Figura 6 - Estrutura molecular do filtro solar *Ethylhexyl Triazone*.



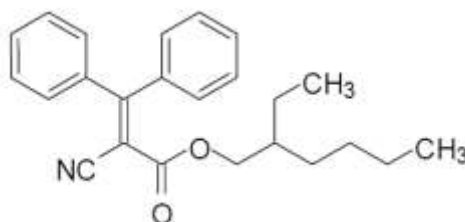
Fonte: Ribeiro, 2010.

- Nome químico em português: Etilxil triazona.
- Solubilidade: lipossolúvel.
- Regulamentação no Brasil: permitido até 5% (BRASIL, 2006).
- Doador pela BASF do Brasil (São Paulo-SP, Brasil). Apresenta-se no mercado com o nome de Uvinul® T150.

Octocrylene (CORRÊA, ISAAC, 2012; RIBEIRO, 2010).

Filtro solar químico (Figura 7) com absorção de radiação UVB com absorção máxima em 303 nm.

Figura 7 - Estrutura molecular do filtro solar *Octocrylene*.



Fonte: Corrêa, Isaac, 2012.

- Nome químico em português: Octocrileno.
- Solubilidade: lipossolúvel.
- Regulamentação no Brasil: permitido até 10% (BRASIL, 2006).
- Comercialmente denominado Escalol® 597, cedido pela Ashland Inc. (São Paulo - SP, Brasil).

4.1.2 Agentes de consistência, emulsionantes e co-tensoativos:

Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer (PEMULEN, 2011)

- Concentração de uso recomendada: 0,2 a 0,4%.
- Nome em português: Crossoverpolímero de acrilatos/ acrilato de alquila C10-30.
- Emulsificante polimérico, comercializado com a denominação de Pemulen® TR-1.
- Dado pela Lubrizol do Brasil Aditivos Ltda (São Paulo, SP – Brasil)

Carbomer (CARBOMER, 2007)

- Concentração de uso recomendada: até 8%.
- Nome em português: carbômero
- Altamente higroscópico.

- São incompatíveis com ácidos fortes e altas concentrações de eletrólitos. Sensíveis à agitação prolongada e cisalhamento e exposição à luz solar.
- Comercialmente denominado como Carbopol® Ultrez 10.
- Cedido pela Lubrizol do Brasil Aditivos Ltda (São Paulo, SP – Brasil).

Polyacrylamide (and) C₁₃₋₁₄ Isoparaffin (and) Laureth-7 (SEPIGEL 305, 2013)

- Concentração de uso recomendada: 0,5 a 5%.
- Estável em pH 2 a 12.
- Incompatibilidades: Os eletrólitos diminuem a força de espessamento.
- Nome comercial: Sepgel®305.
- Foi fornecido pela Chemyunion Química Ltda (Sorocaba - SP, Brasil).

Sodium Polyacrylate (RAPITHIX, 2003)

- Concentração de uso recomendada: 0,2 a 0,5 de sólido
- Estável em faixa de pH 5,5 a 11,0.
- Nome comercial: Rapihtix® A-100.
- Foi doado pela Ashland Inc. (São Paulo - SP, Brasil).

4.1.3 Emolientes

Caprylic/Capric Triglyceride (CRODA, 2014)

- Triglicérideo de ácido cáprico caprílico, emoliente polar de alto peso molecular e de cadeia média e saturada.

- Constituídos principalmente por ésteres de ácidos caprílicos (C8) e cápricos (C10) derivados do óleo de coco.
- São derivados de ácidos graxos completamente saturados e por isso de baixa viscosidade, médio índice de espalhabilidade (média oleosidade).
- Solvente para filtros solares químicos.
- Concentração de uso recomendada: 1,0 a 10,0%
- Compatível com óleos mineral e vegetal, ésteres sintéticos, silicones de baixa viscosidade e etanol.
- Foi doado pela Croda do Brasil (Campinas, SP, Brasil). No mercado é vendido como Crodamol® GTCC.

Ethylhexyl Palmitate (KAMERSHWARI; MISTRY, 2001)

- Éster do 2-Etilexanol com o ácido palmítico, derivado do óleo de palma.
- Emoliente de cadeia ramificada. Ingredientes de cadeia ramificada são relativamente mais leves e menos oleosos quando comparados com os emolientes correspondentes de cadeia normal.
- Solvente para filtros solares químicos.
- Concentração de uso recomendada: 1,0 a 10,0%.
- Comercializado como palmitato de octila e obtido da Via Farma Ltda (São Paulo, SP, Brasil).

Ethylhexyl Stearate (CRODA, 2014)

- Éster emoliente de cadeia ramificada, possui alta compatibilidade dérmica e médio coeficiente de espalhabilidade.
- Concentração de uso recomendada: 2,0 a 10,0%.

- Denominado comercialmente como Crodamol® OS, foi fornecido pela Croda do Brasil (Campinas, SP, Brasil).

PPG-3 Benzyl Ether Myristate (CRODA, 2014)

- Éster de cadeia ramificada.
- A parte benzílica confere compatibilidade com filtros solares, pode ser utilizado como solubilizante e dispersante para filtros químicos e físicos.
- Concentração de uso recomendada: 1,0 a 10,0%.
- Cedido pela Croda do Brasil (Campinas, SP, Brasil) é comercializado como Crodamol® STS.

4.1.4 Coadjuvantes técnicos

BHT

Composto orgânico lipossolúvel com atividade antioxidante (DEG Importação de Produtos Químicos, Sorocaba – SP, Brasil) (FONSECA; PRISTA, 1993).

Disodium EDTA

Ácido etilenodiamino tetra-acético, composto orgânico com função de agente quelante (DEG Importação de Produtos Químicos, Sorocaba – SP, Brasil) (FONSECA; PRISTA, 1993).

Phenoxyethanol (and) Caprylyl Glycol

Denominado no comércio como Optiphen® é um conservante livre de parabenos e formaldeído, doado pela Ashland Inc. (São Paulo - SP, Brasil) (ASHLAND, 2014).

Propylene Glycol

Propano-1,2-diol, composto orgânico, utilizado como agente umectante (Synth Produtos para Laboratórios Ltda. Diadema - SP, Brasil) (FONSECA; PRISTA, 1993).

Triethanolamine

Líquido límpido, viscoso, pouco volátil e higroscópico, utilizado para ajuste do pH da formulação (DEG Importação de Produtos Químicos, Sorocaba – SP, Brasil) (FONSECA; PRISTA, 1993).

4.1.5 Extrato Vegetal

O extrato glicólico de açaí (*Euterpe oleracea*) utilizado (lote PR0D016027, validade 09/12/2013) encontra-se disponível no comércio, comercializado e fornecido pela empresa Mapric Produtos Farmacocosméticos Ltda (São Paulo, SP, Brasil). Denominado pelo INCI como *Euterpe Oleracea Fruit Extract*.

De acordo com o certificado de análise da Mapric o extrato glicólico de açaí apresenta as seguintes propriedades físico-químicas:

- Proporção 1:5 (fruto/polpa: líquido extrator)
- Densidade: 1004g/cm³;
- pH: 5,5;
- Aparência: Líquida;
- Cor: vinho a levemente avermelhado;
- Odor: característico;
- Solúvel em propilenoglicol, sorbitol, glicerina e água;
- Bolores, leveduras e coliformes fecais: ausentes.

4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E FOTOTOXICIDADE DO EXTRATO GLICÓLICO DE AÇAÍ.

4.2.1 Linhagem celular – Fibroblastos

Foram utilizadas culturas de células fibroblastos 3T3 (embrião de rato): BALB/C 3T3, clone A31 (ATCC número CCL-163). Antes da utilização destas células, após o descongelamento, foi verificada a sensibilidade destas à irradiação UVA. A qualidade das células foi aprovada se após a irradiação com uma dose de UVA de 5 J/cm² (dose de UVA usada no teste de fototoxicidade) a viabilidade estiver no mínimo 80% das células não irradiadas. A 9 J/cm² a redução da viabilidade celular não pode exceder 50% (OECD, 2004).

4.2.2 Concentrações do extrato glicólico de açaí:

Foram testadas 8 concentrações do extrato glicólico de açaí diluídos em solução salina equilibrada (EBSS) obtendo-se as concentrações (p/v): 0,001 mg/mL, 0,003 mg/mL, 0,01 mg/mL, 0,03 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,3 mg/mL, 1 mg/mL e 3 mg/mL.

4.2.3 Avaliação da Fototoxicidade e Citotoxicidade através da metodologia *in vitro* Neutral Red Uptake (NRU) (OECD, 2004).

Células fibroblastos 3T3 (embrião de rato) foram semeadas em placas de 96 poços para formação de monocamada (1x10⁴ células/100ul meio de cultura DMEM/ a 37°C/ 7,5% CO₂/ 24 horas).

O meio de cultura foi removido e lavado 2 vezes com EBSS/PBS. Oito concentrações do extrato glicólico de açaí (100 µl/poço) em meio EBSS/PBS foram adicionadas às células e incubadas (37° C/ 5,0% CO₂) por 1 hora. Para o veículo, controle (EBSS/PBS), padrão de citotoxicidade (dodecil sulfato de sódio - SDS) e padrão de fototoxicidade (Tetraciclina) foi realizado o mesmo tratamento.

Uma placa, então, foi exposta à uma dose de 10 J/cm² de UVA (+UV), e a outra placa foi mantida no escuro (-UV, ou controle negativo), para determinação da fototoxicidade.

Para a avaliação da citotoxicidade, duas placas (duplicata) foram mantidas por 50 minutos no escuro a temperatura ambiente.

As placas foram lavadas 2 vezes com EBSS/PBS, o meio de tratamento foi trocado pelo meio de cultura, incubado (37° C/ 5,0% CO₂/ overnight), e fez-se o controle microscópico das alterações morfológicas.

O meio de cultura foi removido e adicionou-se 100 µl de meio com corante vermelho neutro que foi incubado durante 3 horas, 37 °C, a 5,0% CO₂. Para remoção do corante, as células foram lavadas com EBSS/PBS e a solução dessorção (solução de ácido acético/etanol) foi adicionada. As placas foram agitadas por 10 minutos e foi medida a absorção do vermelho neutro a 540 nm (viabilidade celular).

A viabilidade celular obtida com cada uma das oito concentrações foi comparada com os controles não tratados e o percentual de inibição/proteção foi calculado. A medida da captação do vermelho neutro (viabilidade celular) foi realizada espectrofotometricamente.

Estes testes foram realizados no extrato glicólico de açaí (lote PR0D016027, validade 09/12/2013) pelo Laboratório Tridskin (São Paulo – SP).

4.3 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR *IN SILICO*

Foram selecionados filtros solares químicos (Tabela 01), descritos anteriormente e permitidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2006) para obter uma formulação com FPS 30 e atender as recomendações da RDC 30 (BRASIL, 2012a) que estabelece os requisitos técnicos para produtos fotoprotetores.

Para determinação do FPS *in silico* foi utilizado o programa *Sunscreen Simulator* da Basf (BASF, 2011).

4.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES.

4.4.1 Métodos de preparo

As técnicas de preparo foram dependentes dos polímeros:

As emulsões compostas pelo *Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer* (P1 – P3, Tabela 01): a dispersão do polímero foi realizada na fase oleosa, seguindo o método indireto (LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008). As fases oleosa e aquosa foram aquecidas a 70±2°C separadamente. Sob agitação mecânica de 500 rpm (Ika, mod. RW 20 digital, Alemanha) a fase oleosa foi vertida na aquosa e mantida em agitação até o arrefecimento a 40±2°C. O extrato glicólico de açaí foi adicionado à formulação e o sistema homogeneizado a 500 rpm durante 5 minutos.

Tabela 1 – Composição das emulsões O/A com extrato glicólico de açaí (% p/p).

COMPONENTES	P1	P2	P3	PC1	PC2	PC3	PS1	PS2	PS3	R1	R2	R3
<i>Propylene Glycol</i>	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
<i>Disodium EDTA</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>Triethanolamine (sol. 50%)</i>	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	---	---	---
<i>BHT</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer</i>	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	---	---	---
<i>Carbomer</i>	---	---	---	0,1	0,2	0,3	---	---	---	---	---	---
<i>Polyacrylamide (and) C 13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7</i>	---	---	---	---	---	---	0,5	1,0	1,5	---	---	---
<i>Sodium Polyacrylate</i>	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0,5	1,0	1,5
<i>Caprylic/Capric Triglyceride</i>	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
<i>Ethylhexyl Stearate</i>	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
<i>PPG-3 Benzyl Ether Myristate</i>	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
<i>Ethylhexyl Palmitate</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Bis-Ethylhexyloxyphenol Metoxifeniltriazina</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Benzophenone-3</i>	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
<i>Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate</i>	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
<i>Ethylhexyl Triazone</i>	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
<i>Octocrylene</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Ethylhexyl Methoxycinnamate</i>	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
<i>Phenoxyethanol (and) Caprylic Glicol</i>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Euterpe Oleracea Fruit Extract</i>	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
<i>Distilled Water</i>	64,1	64,0	63,9	63,8	63,7	63,6	63,4	62,9	62,4	64,3	63,8	63,3

Legenda: P = *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*; PC = *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Carbomer*; PS = *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Polyacrylamide (and) C 13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*; R = *Sodium Polyacrylate*. Autoria: Própria.

Para formulações contendo o *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* e *Carbomer* (PC1 - PC3 – Tabela 01): o *Carbomer* foi disperso na fase aquosa sob agitação mecânica (Ika, mod. RW 20 digital, Alemanha) de 900rpm a temperatura ambiente. A fase oleosa contendo o *Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer* foi aquecida a $60 \pm 2^\circ\text{C}$ e vertida na fase aquosa, mantendo a agitação mecânica (Ika, mod. RW 20 digital, Alemanha) de 900 rpm por 15 minutos. No final do processo o extrato glicólico de açaí foi adicionado e mantido o sistema com agitação durante 5 minutos a 900 rpm.

O mesmo procedimento foi realizado para o preparo das formulações contendo *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* e *Polyacrylamide (and) C 13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7* (PS1 - PS3 – Tabela 01).

As emulsões formuladas com o *Sodium Polyacrylate* (R1 – R3, Tabela 01): A fase aquosa foi submetida à agitação mecânica (Ika, mod. RW 20 digital, Alemanha) de 500 rpm a temperatura ambiente até completa dispersão do polímero durante 25 minutos. A fase oleosa com o *Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer* foi aquecida $50 \pm 2^\circ\text{C}$ e, vertida na fase aquosa. Depois da completa adição da fase oleosa o sistema foi mantido sob agitação de 900 rpm por 10 minutos. No final do processo o extrato glicólico de açaí foi adicionado e mantido o sistema com agitação durante 5 minutos a 900 rpm.

As formulações submetidas aos estudos descritos posteriormente foram formuladas em três lotes.

4.4.2 Avaliação das formulações

4.4.2.1 Análise macroscópica das formulações

A análise macroscópica (visual) foi realizada após vinte e quatro horas do preparo das amostras, observando-se as características organolépticas (cor e odor) e a homogeneidade das formulações a fim de identificar prováveis processos de instabilidade como cremagem, floculação e coalescência (FERRARI, 1998, 2002). Foram utilizados os seguintes critérios de registros das observações (ANVISA, 2004; FERRARI, 1998, 2002): Normal ou sem alterações (N); Levemente modificada (LM); Modificada (M) e Intensamente modificada (IM).

4.4.2.2 Determinação do tipo de emulsão

Utilizou-se o teste de diluição (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1995) para determinação do tipo de emulsão. Em um tubo de ensaio foram adicionados 1,0g da amostra e 9,0g de água destilada. Após homogeneização, observou-se o aspecto. A amostra que apresentou um aspecto homogêneo foi caracterizada do tipo O/A.

4.4.2.3 Testes de estabilidade das formulações

4.4.2.3.1 Testes preliminares de estabilidade

Todos os testes e avaliações descritos a seguir iniciaram-se após 24 horas do preparo das amostras (ANVISA, 2004; FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

a) Teste de centrifugação: amostras de 10 g foram adicionadas em tubos cônicos e submetidas a 3000 rpm durante trinta minutos (Fanen, mod 206 BL, Brasil) à temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (ANVISA, 2004). Foram observadas as características organolépticas e processos de instabilidade, como a separação de fases, cremeação e sedimentação. As amostras que apresentaram algum processo de instabilidade foram eliminadas do estudo (FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

b) Estresse Térmico: emulsões testes (40 g) foram acondicionadas em potes de poliestireno e submetidas ao aquecimento em banho termostaticado (Logen Scientific, mod. LSBMLS 2006-2, Brasil) na faixa de temperatura de 40 a 80°C , com o aumento da temperatura em intervalos de 5°C , mantendo-se por trinta minutos em cada temperatura. As leituras foram realizadas antes do aquecimento e após o término de 80°C , depois do arrefecimento natural das amostras à temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (BRACONI et al., 1995; FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

c) Ciclo gela - degela: amostras (40 g) foram acondicionadas em potes de poliestireno e submetidas em geladeira $4 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas (Mabe, mod. REMB460NFM2A2BR, Brasil) e em estufa (Fanen, mod. 515, Brasil) $45 \pm 2^\circ\text{C}$ pelo mesmo tempo, completando assim um ciclo. As leituras foram realizadas antes do início do teste e no final do 6º ciclo (12º dia) (FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

Utilizou-se como parâmetros de avaliação nos testes de estresse térmico (ET) e ciclo gela e degela (CGD): as características organolépticas, determinação do valor do pH e da condutividade elétrica além da avaliação da viscosidade aparente.

d) Determinação do valor do pH: Em um tubo de ensaio foram adicionados 1,0 g da emulsão e 9,0 g de água recém destilada, homogeneizadas e determinado o valor do pH, inserindo o eletrodo (Hanna Instruments, mod. HI 21) diretamente na amostra diluída (DAVIS, 1977; FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

e) Determinação da condutividade elétrica: Foi avaliada a condutividade elétrica das emulsões à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ inserindo o eletrodo (Logen Scientific, mod. CD-300-K1) diretamente na amostra (FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

f) Determinação da viscosidade: a determinação da viscosidade foi realizada em Reômetro (Brookfield—modelo RV-III, EUA) tipo cone e placa, acoplado a um *Software Rheocalc* versão V3.01. Os parâmetros foram determinados a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ utilizando o *spindle* CP 52 ($d=12$ mm, $\theta = 3.0^\circ$) e 0,5 g de cada amostra. Os reogramas foram obtidos com curvas ascendentes e descendentes com aumento da velocidade de rotação progressivo (1-10 rpm) para obter-se a curva ascendente, e o procedimento foi repetido no sentido inverso com a diminuição das velocidades (10-1 rpm) para obter-se a curva descendente. As medidas foram realizadas em intervalos de 2 rpm, mantendo a rotação durante 10 segundos em cada velocidade (LIMA et al., 2008). Para a

estabilidade acelerada (**4.4.2.3.2**) os valores obtidos foram utilizados para calcular a área de histerese e o índice de fluxo. Esse último parâmetro foi calculado a partir da equação matemática de Herschel-Bulkley, (LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008). As leituras foram realizadas em triplicata para cada lote.

g) Análise estatística: Os resultados experimentais foram submetidos à análise de normalidade da distribuição amostral e avaliados através do teste paramétrico da Análise de Variância (ANOVA) e, complementarmente, através do teste de Tukey. Foram avaliados pelo programa SPSS 13.0 para windows. (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

4.4.2.3.2 Testes de Estabilidade Acelerada (TEA)

Foram acondicionadas trinta gramas (30 g) das emulsões consideradas estáveis pelos testes preliminares em potes de poliestireno e submetidas a condições variáveis de temperatura, mantendo-se a umidade relativa (UR) quando em câmara climática: temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$); geladeira (Mabe, mod. REMB460NFM2A2BR, Brasil) ($4 \pm 2^\circ\text{C}$); câmara climática (Nova ética, mod. 520-CLDTS 150, Brasil) ($37 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ UR; e, $45 \pm 2^\circ\text{C}$ e $75 \pm 5\%$ UR). As leituras foram realizadas nos tempos 1 (24 horas após o preparo), 30, 60 e 90 dias (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

Os parâmetros avaliativos foram: determinação do valor do pH (4.4.2.3.1. d) e determinação da viscosidade área de histere e índice de fluxo (4.4.2.3.1 f).

Os resultados experimentais foram submetidos à análise de normalidade da distribuição amostral e avaliados através do teste paramétrico da Análise de Variância (ANOVA) e, complementarmente, através do teste de Tukey). Foram avaliados pelo programa SPSS 13.0 para windows (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

4.5 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR *IN VIVO*

O Projeto de Pesquisa e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade de Cuiabá – UNIC sob o protocolo n. 2011 -123 (ANEXO A).

De acordo com a RDC 30/21012 (BRASIL, 2012a) a determinação do FPS de um produto cosmético deve seguir uma metodologia padronizada e validada internacionalmente. Sendo assim, o FPS *in vivo* foi determinado de acordo com o método COLIPA (COLIPA, 2006). O teste *in vivo* foi realizado pela empresa Allergisa eficácia (Campinas, SP) em formulações contendo ou não o extrato glicólico de açaí a 5%.

O estudo foi realizado por meio de estudo clínico, mono-cego, aleatório, com controle paralelo do fator de proteção solar de um produto de uso tópico, utilizando 10 voluntários.

Utilizou se como critérios específicos de inclusão: voluntários de ambos os sexos, de fototipo I, II e III, com idades de 18 a 60 anos; e, como critérios de exclusão: histórico de reações fototóxicas ou fotoalérgicas, histórico pessoal ou familiar de câncer de pele, presença de queimadura solar, bronzado, tom de pele desigual, manchas, nevos, queratose seborréia ou excesso de pelos no local do teste.

A avaliação colorimétrica dos fototipos dos voluntários foi realizada por meio de colorímetro espectrofotômetro (CM-2600d/2500d, Konica Minolta, EUA).

Como fonte de radiação ultravioleta para irradiação dos voluntários foi utilizado o simulador solar Multiport 601 (Solar Light Company, Philadelphia, EUA) com lâmpada de arco de xenônio, filtros Schott WG320 e UG11, com seis saídas independentes. A potência foi ajustada antes de cada radiação por meio de um detector de ultravioleta eritema-efetivo PMA 2103LLG (Solar Light Company, Philadelphia, EUA).

A formulação controle utilizada foi à formulação P2 COLIPA (COLIPA, 2006) contendo 7,0% de octil dimetil PABA e 3,0% benzofenona-3, com FPS esperado na faixa de 14,2 a 19,0.

As aplicações dos produtos testes e do controle foram realizadas com o voluntário deitado em uma maca, onde foram demarcadas em suas costas (região

dorsal infra-escapular) duas áreas medindo 30 cm². Em uma das áreas aplicou-se o produto em teste e em outra o controle, ambos em quantidade de 60±1,5mg, correspondendo 2,0mg/cm². Após um período de 15 a 30 minutos, irradiaram-se as duas áreas e uma terceira área de pele desprotegida.

Os eritemas formados foram avaliados após 16 a 24 h a irradiação. A dose mínima de eritema (MED) foi definida como a menor dose de ultravioleta capaz de gerar um eritema minimamente perceptível.

O FPS individual (*FPS_i*) do produto e controle para cada voluntário foi calculado como a razão entre a dose mínima de eritema (MED) da pele protegida pelo produto (MED_p) e a MED da pele não protegida (MED_u) por meio da equação abaixo (Equação 1):

$$FPS_i = \frac{MED_p \text{ (pele protegida)}}{MED_u \text{ (pele desprotegida)}} \quad (1)$$

O FPS final do produto e do controle foram calculados pela média do FPS de cada voluntário e o desvio padrão. Utilizou-se o teste *t-Student* como tratamento estatístico em intervalo de confiança de 95%.

4.6 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO UVA *IN VITRO*

A determinação do fator de proteção UVA *in vitro* foi realizada de acordo com a metodologia padronizada e validada internacionalmente pela COLIPA (COLIPA, 2011).

O teste foi realizado pela empresa Allergisa eficácia (Campinas, SP) em formulações contendo ou não o extrato glicólico de açaí a 5%.

4.6.1 Preparo das amostras

O produto foi aplicado sobre a superfície de uma placa de PMMA Helioplates HD6 (Helioscience, Labsphere, North Sutton, EUA) com dimensões de 50 x 50 x 2,5mm e rugosidade de 6 µm, na quantidade de 1,3 mg/cm², espalhando-o com a ponta do dedo pré-saturada até se obter um filme

visualmente uniforme. A placa com o produto foi deixada em repouso por 15 minutos, ao abrigo da luz.

4.6.2 Determinação da absorvância da placa em branco

Foi determinado o espectro de absorvância na faixa de 290-400 nm (Labsphere, mod. UV-1000S, Labsphere, Noth Sutton, EUA) em intervalo de 1 nm, das placas em branco com 15 µL de glicerina aplicados, obtendo se três espectros em diferentes pontos de cada placa.

4.6.3 Determinação da absorvância antes da exposição ao UV

Determinou-se espectro de absorvância na faixa de 290-400 nm (Labsphere, mod. UV-1000S, Labsphere, Noth Sutton, EUA) em intervalo de 1 nm, utilizando uma placa sem produto como referência. Foram obtidos três espectros em diferentes pontos de cada placa. Com o espectro de absorvância do produto, calculou-se o FPS *in vitro* inicial por meio da fórmula a seguir (Equação 2):

$$FPS_{in vitro} = \frac{\sum_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda)}{\sum_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)}} \quad (2)$$

Onde:

$E(\lambda)$: Espectro de Ação Eritematosa;

$I(\lambda)$: Irradiância espectral simulada na faixa UV;

$A_0(\lambda)$: Absorvância monocromática média do produto, antes da exposição ao UV.

Em seguida, determinou-se o coeficiente de ajuste (C), utilizado para igualar o FPS *in vitro* ao valor obtido no teste *in vivo*, obtendo se o FPS *in vitro* ajustado (Equação 3):

$$FPS_{\text{in vitro, af.}} = \frac{\sum_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda)}{\sum_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda) \times C}} = FPS_{\text{in vitro}} \quad (3)$$

A partir desses dados foi calculado o FPUVA do produto antes da radiação (Equação 4);

$$FPUVA_0 = \frac{\sum_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda)}{\sum_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda) \times C}} \quad (4)$$

4.6.4 Irradiação das amostras

As três placas de PMMA com a amostra foram expostas a uma dose controlada de radiação UV, de modo a submeter o produto a condições próximas às daquelas do uso real. Foi empregado um irradiador UV (Atlas, modelo Sunstest CPS+, França) equipado com filtro UV *Special Glass*. As amostras foram expostas a radiação nas faixas do UVA, UVB e visível, sendo a dose calculada de modo a fornecer uma quantidade (D) de energia na faixa UVA, calculada como segue (Equação 5). D_0 é definida pela COLIPA como uma dose de 1,2 J/cm² de radiação UVA.

$$D = FPUVA_0 \times D_0 \quad (5)$$

4.6.5 Determinação da absorbância após a exposição ao UV

Após a irradiação do produto, a absorbância de cada uma das três placas foi novamente determinada, conforme o procedimento descrito no item 4.6.4. Foram obtidos três espectros de cada placa. Com esses resultados foram calculados o FPUVA final do produto de acordo com a fórmula (Equação 6):

$$FPUVA = \frac{\sum_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda)}{\sum_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A(\lambda) \times C}} \quad (6)$$

4.6.6 Amostra referência

Uma amostra referência (S2) padronizada pela metodologia, foi avaliada seguindo os mesmos procedimentos descritos acima. O valor médio de FPUVA da amostra referência deve estar dentro da faixa de 10,7 e 14,7 (COLIPA, 2011).

4.6.7 Cálculo da Razão FPS/FPUVA

O cálculo da Razão FPS/FP-UVA, foi realizado utilizando os valores obtidos nos testes de FPS *in vivo* (COLPIA, 2011).

4.6.8 Análise estatística

Para comparar as formulações com e sem extrato de açaí foi utilizado o teste de t - student para variáveis independentes (Programa Statistic versão 9.0).

4.7 DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA CRÍTICO

O comprimento de onda crítico (λ_c) foi determinado para os produtos aplicados em todas as placas contendo ou não o extrato de açaí, a partir dos espectros após a irradiação UV. O λ_c foi calculado de acordo com a equação (equação 7) (COLIPA, 2011):

$$\frac{\sum_{\lambda=290}^{\lambda=\lambda_c} A(\lambda)}{\sum_{\lambda=290}^{\lambda=400} A(\lambda)} = 0,9 \quad (7)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E FOTOTOXICIDADE DO EXTRATO GLICÓLICO DE AÇAÍ

De acordo com a Anvisa (BRASIL, 2012b) a segurança dos ingredientes deve fornecer bases técnicas adequadas para formulação de produtos seguros. Assim, mesmo o extrato de açaí (*Euterpe Oleracea Fruit Extract*) estando presente nas listas da CIR (CIR, 2013) e CosIng (COSING 2013), o que já prediz ao formulador que tal ingrediente é seguro, o extrato em estudo foi submetido a dois testes primordiais para segurança de um ingrediente: citotoxicidade e fototoxicidade.

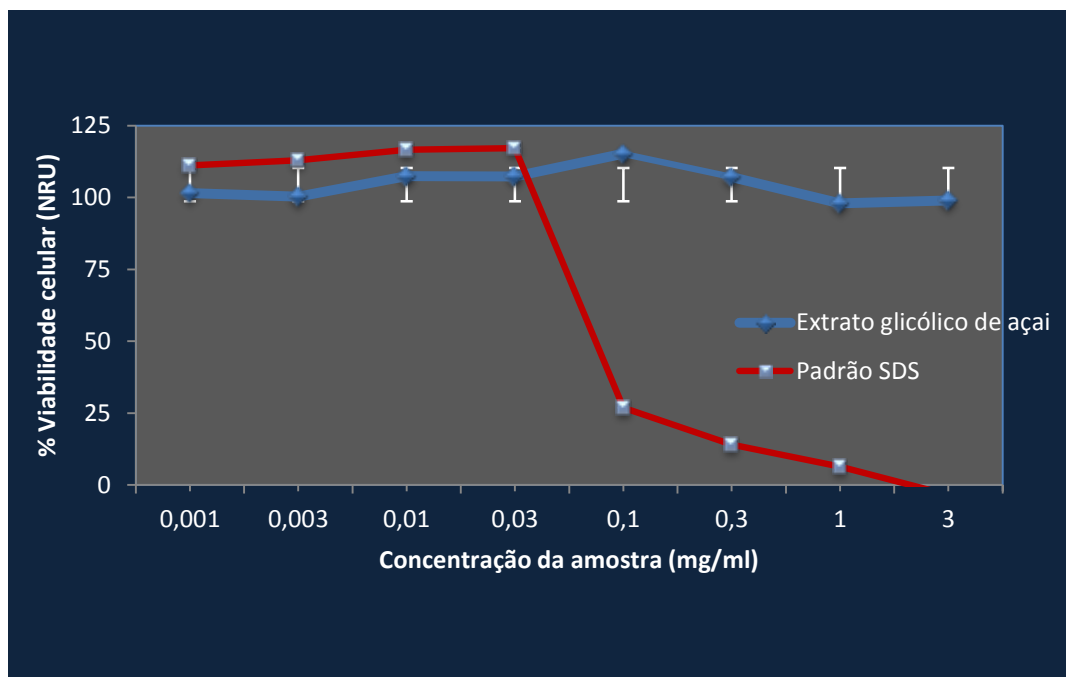
O extrato glicólico de açaí utilizado nessa pesquisa, já foi avaliado pelos testes de irritabilidade primária e acumulada realizados pela empresa fornecedora (Mapric Ltda). Esses são testes *in vivo* que também atestam a segurança de ingredientes e/ou produtos cosméticos (BRASIL, 2012b).

Como mencionado por Nohynek et al. (2010) não é porque um produto é natural que ele não pode apresentar potencial fototóxico. Felzenszwalb et al. (2013), realizaram a avaliação toxicológica da *Euterpe edulis* Mart, uma palmeira comestível, também com elevada capacidade antioxidante e altos níveis de polifenóis, e apresentaram resultados positivos de mutagenicidade, efeitos clastogênicos e aneugênicos.

Atualmente, diferentes pesquisas sobre a segurança de ingredientes vegetais têm sido publicadas, especialmente fornecendo dados sobre cito e fotoxicidade (FELZENSZWALB et al., 2013; KONG et al., 2011; MANO et al., 2012; OSTROSKY, 2009).

A viabilidade celular obtida com cada uma das oito concentrações (0,001 a 3 mg/mL) do extrato em estudo foi comparada com os controles não tratados e o percentual de inibição/proteção foi calculado. Os resultados mostraram a viabilidade de mais de 98% das células tratadas com concentrações variadas do extrato glicólico (Figura 8)

Figura 8 - Curva de viabilidade celular (%) das culturas de células fibroblásticas em contato com solução do extrato glicólico de açaí (azul) e com o padrão SDS (vermelho) por 24 horas, utilizando como indicador da viabilidade celular o corante vermelho neutro.



Autoria: Própria.

O extrato glicólico de açaí, em contato direto com os fibroblastos apresentou viabilidade celular em todas as concentrações testadas (0,001 até 3 mg/ml) (Figura 8). Foi utilizado como padrão dodecil sulfato de sódio (SDS), IC50 00783 que é considerado pela metodologia um irritante médio (Figura 8).

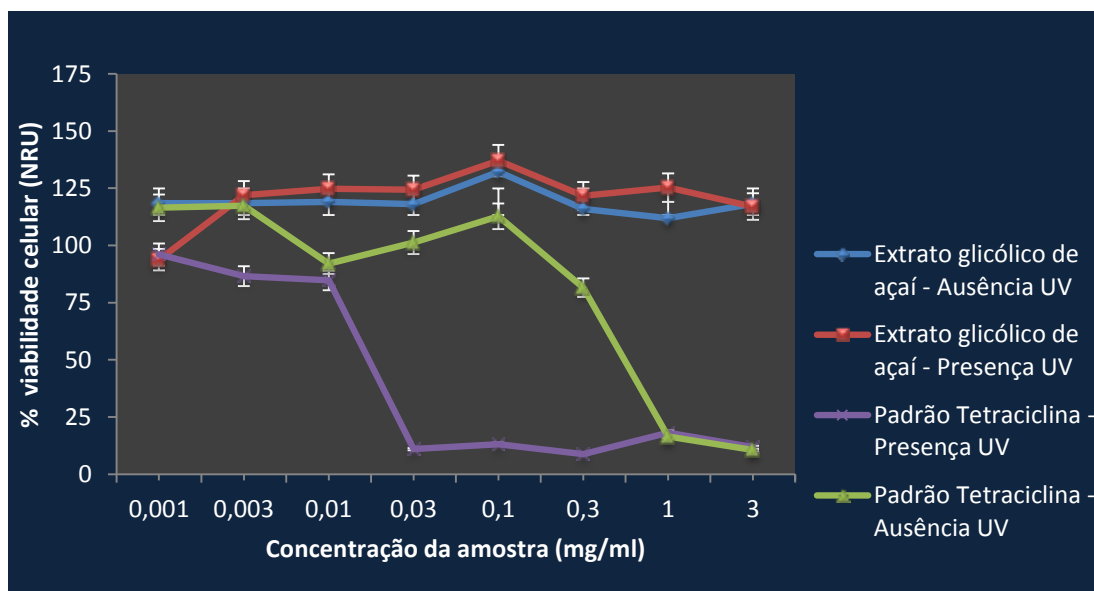
Os resultados apresentados permitem afirmar que o extrato glicólico de açaí não é citotóxico. Resultados positivos no ensaio de citotoxicidade descaracterizam a condição de inocuidade de ingredientes para serem utilizados como cosméticos (DEMARCO et al., 1998). Dessa forma o extrato em estudo pode ser considerado viável para uso cosmético.

Souza e colaboradores (2012) avaliaram a citotoxicidade de plantas do cerrado brasileiro (extratos de *Pouteria torta* e *Eugenia dysenterica*) e após verificarem que não apresentavam citotoxicidade, sugeriram as mesmas para uso cosmético. Essa pesquisa valida a indicação do extrato glicólico de açaí com uma matéria-prima para desenvolvimento de produtos cosméticos.

Lee (2013) avaliou frações aquosas e etanólicas da *Angelica keiskei*, quanto à irritação cutânea, citotoxicidade e fototoxicidade. Essa planta é utilizada na Coreia, Japão e outros países do Extremo Oriente, principalmente devido a sua atividade antioxidante, como nutracêutico, cosmético ou fármaco. Os resultados do ensaio *in vitro* demonstraram que as frações analisadas são seguras. O autor também realizou testes *in vivo* e obtiveram os mesmos resultados, demonstrando uma boa correlação entre as metodologias. Dessa forma, no tocante a citotoxicidade, fundamentados na correlação das metodologias *in vitro* e *in vivo*, podemos supor que o extrato glicólico de açaí quando aplicado topicamente não será citotóxico.

Roesler; Lorencini; Pastore (2010) também utilizaram a mesma metodologia *in vitro* empregada nesta pesquisa para avaliar os extratos etanólicos de frutas do cerrado: *Annona crassiflora*, *Eugenia dysenterica* e *Caryocar brasiliense*.

Figura 9 - Curva de viabilidade celular (%) das culturas de fibroblastos em contato com a solução de extrato glicólico de açaí por 48 horas, na presença (vermelho) e ausência (azul) de UV, utilizando como indicador da viabilidade celular o corante vermelho neutro. Viabilidade do padrão tetraciclina na presença de UV (lilás) e na ausência de luz (verde).



Fonte: Própria.

Os resultados da Figura 9 permitem observar que o extrato glicólico de açaí não foi fototóxico em nenhuma das concentrações avaliadas (0,001 a 3 mg/mL), pois estimulou a proliferação celular na presença e na ausência de luz.

O estudo da citotoxicidade não dispensa a necessidade de avaliar a fototoxicidade pois doses não citotóxicas podem causar respostas fototóxicas quando expostas a doses de radiação UV. O ensaio de fototoxicidade é uma comparação entre a citotoxicidade de um composto químico quando testado na presença e na ausência de uma dose de UVA (LORÉZIC-LE DÉVÉHAT et al, 2013). Dessa forma, há uma confirmação que o extrato de açaí em estudo realmente não é citotóxico.

Souza e colaboradores, (2010b) avaliaram a atividade fototóxica dos extratos e compostos isolados de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, a fim de utilizá-los com segurança para o tratamento de lesões de pele e como possível ingrediente em cosméticos e concluíram que os extratos de *S. cayennensis* são seguros para terapias tópicas. Dessa forma também pode se concluir que como o extrato glicólico de açaí em estudo não foi fototóxico, pode ser indicado como um ingrediente seguro para uso cosmético.

Antignac e colaboradores (2011) relataram diferentes plantas que após ingestão ou contato com a pele humana, apresentam atividade fototóxica: Apiaceae (aipo, cenoura, Carraway), Fabaceae (soja, ervilha, grão de bico), Moraceae (figos), Umbelliferae (salsa, cenoura, anis, cherivia), Rutaceae (citrus, especialmente limas e limões), Rubiaceae espécies (café, gardênia), assim como as plantas que contêm furocumarínicos (bergamota, uva, limão, limões). Essa pesquisa demonstra a necessidade da execução do teste de fototoxicidade para cada ingrediente cosmético antes de ser incluído como componente de uma formulação.

Em nosso estudo não foi possível calcular o PIF (PIF=*1), uma vez o extrato glicólico de açaí nas concentrações utilizadas não apresentou redução da viabilidade celular durante a exposição à luz UVA, ou seja, a substância não produziu efeitos tóxicos mesmo à concentração mais alta testada (BRASIL, 2001).

Os resultados obtidos de fototoxicidade pelo método NRU *in vitro* é de grande importância, especialmente porque o extrato em estudo foi utilizado para o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras, produto tópico comumente usado

durante o dia, com a exposição ao sol e a luz artificial (ROESLER; LORENCINI; PASTORE, 2010).

Outro fato de grande importância do estudo da citotoxicidade e fototoxicidade do extrato glicólico de açaí utilizado nessa pesquisa é porque na lista da CosIng (COSING, 2013) o referido extrato é mencionado com a função de condicionador de cabelos, o que corrobora com os estudos realizados nesta pesquisa, fornecendo dados científicos sobre a segurança do ingrediente para pele.

5.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

Existem diversos fatores que determinam a efetividade e estabilidade de emulsões fotoprotetoras, entre eles à escolha dos componentes como emolientes, emulsificantes, filtros solares, umectantes, conservantes dentre outros. Khury e Sousa (2010) relataram que no que se refere ao produto em si, deve-se considerar associações de componentes que resultem na formação de um sistema estável, resistente a variações térmicas e choques mecânicos, com seu conjunto de propriedades específicas relativamente constantes e dentro dos parâmetros estabelecidos pelo formulador durante o prazo de validade proposto para o produto.

Neste trabalho, foi utilizada a concentração de 5% do extrato de açaí, fundamentado na pesquisa desenvolvida por Ferrari e Rocha-Filho (2011) que estudaram o óleo de açaí nessa mesma concentração, e também porque é uma concentração viável comercialmente.

Inicialmente foram elaboradas formulações com os tensoativos poliméricos *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* (P1-P3) e *Sodium Polyacrylate* (R1 – R3) individualmente e em diferentes concentrações crescentes (Tabela 1). Esses tensoativos poliméricos atuam pelo mecanismo de estabilização eletroestérica, o que representa uma combinação da repulsão elétrica e estabilização estérica (HEMKER, 1990; LOCHEAD et al., 1986). O primeiro, por exemplo, pode emulsionar quantidades superiores a 20% de óleo em pH 3,0 a 11,0, e devido à sua natureza de hidrogel, a concentração sugerida de uso é de 0,1-0,3% (PEMULEN, 1999), enquanto tensoativos clássicos, geralmente

requerem uma concentração de 3,0 a 7,0% para a estabilização da emulsão, podendo, desencadear processo de irritabilidade à pele.

Estes emulsionantes apresentam elevado peso molecular, o que representa uma vantagem, pois diminui a possibilidade de penetrar na pele minimizando em muitos casos a irritação como acontece com o uso de surfactantes de baixo peso molecular. Adicionalmente, estes materiais apresentam como vantagens: proporcionar estabilidade da emulsão, simplificado procedimento de formação da emulsão e a possibilidade de formular sistemas a temperatura ambiente (SIMOVIC et al., 1999).

O método tradicional para preparar emulsões óleo-em-água com *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* é a utilização do "método direto", que consiste na dispersão do polímero na fase aquosa. No entanto, uma vez que este emulsionante polimérico é hidrofobicamente modificado, o umedecimento da superfície aquosa é dificultado no processo de dispersão. Esse processo pode ser simplificado por mistura dos emulsionantes poliméricos a fase oleosa, formando uma pré-mistura, denominado de "método indireto", o que permite a utilização de uma fase líquida oleosa como um veículo para dispersar o polímero e, conseqüentemente, facilitar o processo de dispersão (PEMULEN, 2011).

Neste estudo foram avaliados os dois métodos e as emulsões estáveis macroscopicamente foram obtidas quando se utilizou o método indireto. Ferrari e Rocha-Filho (2011), Lima et al., (2008) e Pianovski et al., (2008) também obtiveram emulsões estáveis com esse método.

As emulsões P1 e P2 (Tabela 1) apresentaram separação de fases após 24 horas de preparo, sendo então descartadas do estudo, enquanto que a emulsão P3 apresentou-se macroscopicamente estável.

Perioli et al. (2008) desenvolveram emulsões anti-inflamatórias O/A para uso oral variando as concentrações do *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* (0,3, 0,4 e 0,5%) e verificaram que as alterações de viscosidade são atribuídas principalmente à porcentagem de fase oleosa, tamanho de gotícula da fase interna, pH e concentração do polímero. Relataram que o aumento da viscosidade da emulsão está relacionada com a concentração do polímero. Possivelmente as concentrações de 01 e 02 % (P1 e P2 respectivamente) não foram suficientes para manter a estabilidade do sistema.

Assim, a formulação P3 foi utilizada como formulação padrão para adição de aditivos com o objetivo de proporcionar melhor estabilidade. Pianovski et al., (2008), Lima et al., (2008) e Ferrari e Rocha-Filho (2011) também obtiveram emulsões macroscopicamente estáveis utilizando a concentração de 0,3% de *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, corroborando com os resultados apresentados.

Todas as formulações manipuladas com o *Sodium Polyacrylate* (R1 – R3, Tabela 01) não apresentaram sinais de instabilidade após 24 horas da manipulação.

Um fator que deve ser considerado na escolha de um sistema emulsionante no desenvolvimento de emulsões fotoprotetoras, é que a maioria dos filtros solares têm valores de tensão superficial mais elevada do que os emolientes normalmente utilizados neste tipo de produto. A energia necessária para estabilizar o sistema é maior, o que leva à necessidade empregar concentrações mais altas de emulsionantes com um EHL mais elevado, podendo provocar incompatibilidade com a pele e diminuir a resistência à água. Aditivos reológicos como acrilatos e de acrilato de alquilo C10-30, substituem e/ou minimizam a necessidade do uso de emulsionantes tradicionais, alterando a viscosidade e aumentando a estabilidade das emulsões (KHURY; SOUSA, 2010).

Fundamentados nas pesquisas de Ferrari e Rocha-Filho (2011), Lima et al., (2008) e Pianovski et al., (2008), a adição de espessantes e modificadores reológicos como o *Carbomer* (PC1 – PC3, Tabela 01) e o *Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7* (PS1 – PS3, Tabela 01) foi avaliada em diferentes concentrações com o objetivo de melhorar a estabilidade da formulação (P3).

O estudo da estabilidade de produtos cosméticos contribui para orientar o desenvolvimento da formulação; fornecer subsídios para o aperfeiçoamento das formulações; auxiliar no monitoramento da estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica, produzindo informações sobre a confiabilidade e segurança dos produtos (ANVISA, 2004, ISSAC et al., 2008).

Os estudos de estabilidade preliminar consistem na realização dos testes da fase inicial do desenvolvimento do produto. Empregam-se condições extremas de temperatura com objetivo de acelerar possíveis reações entre seus

componentes e o aparecimento de sinais de instabilidade. Pelas condições em que é conduzido, o estudo não tem finalidade de estimar a vida útil do produto, mas auxiliar a triagem das formulações (ANVISA, 2004).

Excetuando as formulações P1 e P2 que apresentaram separação de fases após 24 horas de preparo, todas as formulações da Tabela 01 foram submetidas aos testes de estabilidade preliminar.

As emulsões manipuladas para os testes preliminares apresentaram-se homogêneas com aspecto de creme, cor bege claro antes da adição do extrato glicólico de açaí e bege mais escuro após a adição deste, e quando avaliadas pelo teste de diluição apresentaram-se como emulsões do tipo O/A.

Após 24 horas de preparo, foi realizado o teste de centrifugação. Esse teste produz estresse na amostra simulando um aumento na força da gravidade, e pode promover a separação de componentes de diferentes densidades, aumentando a mobilidade das partículas com a intenção de acelerar a sedimentação, cremação ou coalescência do sistema, demonstrando rapidamente possíveis processos de instabilidade (ANVISA, 2004; MORAES, 2011). Todas as emulsões foram aprovadas nesse teste (Tabela 4).

Assim como Ferrari (2008), a associação entre tensoativo polimérico e modificador reológico permitiu a estabilização da emulsão frente ao teste de centrifugação, sem qualquer sinal de instabilidade.

A ausência de espessantes hidrofílicos em uma emulsão fluída pode levar a separação de fases após centrifugação por não ter uma fase externa com viscosidade satisfatória, a fim de manter a integridade do sistema (TADROS, 2004; VELASCO et al., 2008a).

As emulsões foram então submetidas ao estresse térmico e ciclo gela-degela, utilizando como parâmetro de cada avaliação as características organolépticas, determinação dos valores de pH e de condutividade elétrica e da viscosidade aparente (Tabela 4)

As formulações PC2, PS1 e R3 apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) após ciclo gela-degela quando comparados os valores de pH antes e após os testes.

Tabela 2- Resultados dos testes de estabilidade preliminar das emulsões contendo extrato de açaí a 5% no tempo inicial e após o estresse térmico e ciclo gela-degela.

PARAMETROS	P3	PC1	PC2	PC3	PS1	PS2	PS3	R1	R2	R3
TEMPO INICIAL (24h)										
Características Organolépticas	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Centrifugação	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Valores de pH	6,84 (±0,33)	6,36 (±0,33)	6,19 (±0,21)	6,03 (±0,13)	6,93 (±0,12)	6,75 (±0,16)	6,82 (±0,08)	6,91 (±0,20)	6,82 (±0,22)	6,66 (±0,11)
Condutividade elétrica (mS)	623 (±62)	594 (±40)	608 (±33)	594 (±30)	775 (±90)	977 (±25)	1.179 (±33)	928,8 (±81)	1.566 (±38)	1924 (±142)
Viscosidade (cP)	2173 (±368)	3897 (±579)	6003 (±775)	7844 (±1249)	4382 (±1509)	5389 (±917)	8248 (±1007)	1923 (±556)	8680 (±419)	6344 (±1313)
APÓS ESTRESSE TÉRMICO										
Características Organolépticas	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Valores de pH	6,92 (±0,06)	6,44 (±0,32)	6,14 (±0,16)	5,85 (±0,15)	7,01 (±0,17)	6,68 (±0,11)	6,84 (±0,19)	6,84 (±0,22)	6,78 (±0,15)	6,68 (±0,18)
Condutividade elétrica (mS)	6059 (±35)	619 (±24)	601 (±52)	592 (±33)	801 (±48)	1008 (±29)	1245* (±12)	1.004* (±66)	1.635 (±42)	2.180* (±1080)
Viscosidade (cP)	2261 (±235)	3651* (±689)	5337 (±1953)	7369 (±487)	3665* (±1509)	4796 (±708)	8165 (±338)	2252* (±667)	8062 (±978)	7026* (±918)
APÓS CICLO GELA-DEGELA										
Características Organolépticas	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Valores de pH	6,93 (±0,12)	6,42 (±0,29)	6,09* (±0,15)	5,78 (±0,13)	7,02* (±0,14)	6,74 (±0,10)	6,87 (±0,07)	6,92 (±0,14)	6,81 (±0,12)	6,79* (±0,15)
Condutividade elétrica (mS)	590* (±65)	566 (±104)	645 (±22)	629 (±33)	650 (±230)	1016 (±75)	1224 (±94)	996* (±55)	1.623 (±123)	2.320 (±1009)
Viscosidade (cP)	1973 (±154)	3458* (±541)	5632 (±328)	6956 (±390)	3235* (±332)	4914 (±322)	7694 (±438)	1863 (±594)	8308 (±267)	6892* (±1684)

*p < 0,05 comparado com tempo inicial. Dados foram expressos como média ± desvio padrão (SD), n=9. Legenda: N = Normal; P = *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, PC = *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Carbomer*, PS = *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Polyacrylamide (and) C 13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*, R = *Sodium Polyacrylate*. Autoria: Própria.

O pH deve garantir a estabilidade dos ingredientes da formulação, a eficácia e segurança, bem como a sua compatibilidade com os fluidos biológicos em conformidade com a via de administração pretendida. Os sistemas apresentam maior estabilidade quando os valores de pH são mantidos dentro de uma pequena variação (VERTUANI et al., 2011).

A avaliação do pH permite indicar problemas de estabilidade entre os ingredientes da formulação podendo indicar uma decomposição química dos componentes da formulação, reações de hidrólise e oxidação ou alterações decorrentes do processo de fabricação, como contaminação bacteriana (ANVISA, 2004; MASMOUDI et al., 2005; SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013).

Alteração na viscosidade pode ocorrer quando o pH se afasta do seu limite ótimo (FRANGE; GARCIA, 2009). Possivelmente, essa situação ocorreu para as formulações PS1 e R3 após CGD.

Perioli et al. (2008) relataram que a alteração do pH interfere na viscosidade de formulações com o *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* pois esta característica físico química está relacionada com a distensão das cadeias poliméricas, rompendo mais ou menos ligações intramoleculares e formando concomitantemente uma série de ligações intermoleculares.

De acordo com os autores Pearce; Kinsella, (1978); Kato et al. (1985), a avaliação da condutividade elétrica é frequentemente usada para determinar a natureza das emulsões e para controlar a sua estabilidade durante o período de estocagem.

Através desse método pode-se perceber alterações na estrutura das emulsões. Os resultados obtidos (Tabela 04) demonstraram possível instabilidade das formulações: P3, pois a condutividade pós-ciclo CGD apresentou variação significativa; R1 onde ocorreu variação significativa tanto após o ET quanto após o CGD; e, PS3 e R3 apresentaram variação após o estresse térmico.

O aumento da condutividade pode ser considerada como um sinal de instabilidade da emulsão. A velocidade de instabilidade depende da formulação. Entretanto, não há uma relação linear entre o aumento da condutividade e o fenômeno de instabilidade, o que a torna apenas um método coadjuvante na avaliação da estabilidade (MASMOUDI et al., 2005).

A viscosidade é uma variável que caracteriza reologicamente um sistema. A avaliação desse parâmetro pode indicar se a estabilidade é adequada, ou seja, fornece indicação do comportamento do produto ao longo do tempo (ANVISA, 2004,). Pode ser alterada pela composição de lipídios, pela proporção entre as fases aquosa e oleosa, pela concentração dos emulsionantes assim como pela adição de polímeros (MILAN et al.,2007).

As emulsões foram preparadas mantendo as concentrações dos emolientes, agentes coadjuvantes e filtros solares e alterando os emulsionantes e agentes de consistência no tocante a concentração e tipo.

Após 24 horas da manipulação, é possível observar na Tabela 04, que, quando a formulação P3 foi aditivada de *Carbomer* ou *Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*, o valor da viscosidade aparente foi crescente condicionado à concentração dos polímeros, ou seja, a viscosidade aumentou com o aumento da concentração do espessante. Esses resultados estão de acordo com os relatos de Perioli et al. (2008). No entanto, ao observar a viscosidade aparente da R3, verifica-se que o valor é menor que R2, demonstrando que não houve uma relação do aumento da concentração do espessante e a viscosidade. Pode se sugerir, fundamentado nos argumentos apresentados por Perioli et al. (2008), que o valor do pH da formulação, que é menor que o da R2, não foi suficiente para proporcionar o estiramento da molécula polimérica, não obtendo assim a viscosidade adequada para aquela concentração.

As formulações de PC1, PS1 e R3 apresentaram variações significativas na viscosidade aparente após o ET e o CGD; e, R1 variou após o ET (Tabela 4). O teste de estresse térmico permite demonstrar a tendência do veículo emulsionado sinalizar processos de instabilidade, tais como formação de cremação, sedimentação e separação de fase, uma vez que o aumento da temperatura faz com que muitas vezes ocorra a redução do valor de viscosidade (VELASCO et al., 2008a).

Segundo Masmoudi et al. (2005) a redução nos valores da viscosidade após um estresse pode ser indicativo de instabilidade. É provável que a diminuição da viscosidade da PC1 e PS1 pode ter ocorrido porque a concentração dos espessantes utilizados (0,1 e 0,5% respectivamente) não foram

suficientes para manter a estabilidade do sistema frente às condições de estresse submetidas.

As emulsões R1e R3, apresentaram aumento da viscosidade após o ciclo gela-degela e após o estresse térmico (apenas R3) em relação a viscosidade inicial. Isto pode ocorrer devido à evaporação de água nas formulações (LEONARDI, 2000).

As formulações PC3, PS2 e R2 foram consideradas estáveis após os testes preliminares e submetidas aos testes de estabilidade acelerada.

As emulsões consideradas estáveis nos testes de estabilidade preliminares foram submetidas aos estudos de estabilidade acelerada, por um período de 90 dias. Também conhecida como Estabilidade Normal ou Exploratória tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento. Emprega geralmente condições menos extremas que os testes anteriores. É um estudo preditivo que pode ser empregado para estimar o prazo de validade do produto (ANVISA, 2004).

Os ensaios organolépticos permitem avaliar o estado em que se encontravam as amostras em estudo por meio de análises comparativas, com objetivo de verificar alterações no que se refere à cor, odor e aparência; constatando semelhanças das emulsões submetidas aos ensaios de estabilidade em relação às emulsões recentemente elaboradas, independente das condições e períodos de armazenamento (ANVISA, 2004). Após os testes de estabilidade acelerada todas as formulações mantiveram as características organolépticas apresentadas após 24 horas do preparo.

A formulação PC3 manteve o pH estável durante todo o tempo do estudo porém, foi instável com relação à viscosidade (Tabela 6). Na temperatura de 45°C houve separação de fases após 90 dias, não permitindo a avaliação do pH e da viscosidade. De acordo com a literatura técnica (CARBOMER, 2007), este polímero pode tornar-se mais vulnerável a íons, tais como os sais encontrados em surfactantes e em extratos vegetais, o que pode explicar a instabilidade do sistema contendo o extrato glicólico de açaí.

Ferrari e Rocha-Filho (2011) e Pianovski et al. (2008), obtiveram emulsões estáveis, usando 0,2% de *Carbomer* e 0,3% de *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate*

Crosspolymer, demonstrando a compatibilidade entre esses agentes, no entanto em nossa pesquisa a adição de 0,3% de *Carbomer*, não foi suficiente para manter a estabilidade da emulsão.

Tabela 3 – Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão PC3.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	pH	Viscosidade aparente mínima (cP)
1º dia (24h)	25°C	6,00±(0,06)	7296±(626)
30 dias	4 °C	6,00±(0,03)	8598±(617)
	25°C	6,00±(0,04)	7798±(811)
	37°C	NA	NA
	45°C	6,00±(0,04)	8819±(541)*
60 dias	4°C	5,90±(0,14)	8548±(522)
	25°C	5,80±(0,17)	7583±(910)
	37°C	NA	NA
	45°C	NA	NA
90 dias	4°C	6,00±(0,11)	7928±(612)
	25°C	5,80±(0,23)	7619±(815)
	37°C	NA	NA
	45°C	NA	NA

Onde: NA = não avaliado. *p<0,05. Autoria: Própria.

Lima et al. (2008) também desenvolveram emulsões com 0,3% de *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* e diferentes concentrações de *Carbomer*, e assim como nossos resultados não obtiveram emulsões estáveis. Os referidos autores conseguiram a estabilidade com a adição de 0,4% de Span 80 e justificaram a estabilidade, pelo mesmo promover uma diminuição no tamanho dos glóbulos e reduzir a tensão interfacial O/A.

A formulação PS2 apresentou variações significativas nos parâmetros de pH e viscosidade (Tabela 5) após 90 dias de estocagem nas diferentes temperaturas, configurando instabilidade do sistema. Devido à separação de fases não foi possível avaliar o pH e viscosidade após o período de teste nas temperaturas de 37°C e 45°C.

Gonçalves; Maia (2009) utilizaram o mesmo agente espessante (*Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*) a uma concentração de

2% para a preparação de emulsões com ácido ascórbico e derivados, e após 28 dias, submetidas a diferentes temperaturas obtiveram emulsões estáveis.

Tabela 4– Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão PS2.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	pH	Viscosidade aparente mínima (cP)
1º dia (24h)	25°C	7,00(±0,05)	4602(±205)
30 dias	4 °C	7,20(±0,21)	5047(±606)
	25°C	7,20(±0,14)	5198(±453)
	37°C	7,20(±0,15)	4712(±411)
	45°C	7,20(±0,14)	4650(±259)
60 dias	4°C	7,00(±0,08)	5907(±465)
	25°C	7,10(±0,13)	4729(±279)
	37°C	7,10(±0,11)	4893(±208)
	45°C	7,10(±0,13)	4810(±180)
90 dias	4°C	7,00(±0,23)*	5538(±557) *
	25°C	7,20(±0,17)*	5340(±416) *
	37°C	NA	NA
	45°C	NA	NA

Onde: NA = não avaliado. *p<0,05. Autoria: Própria.

Anchisi et al. (2001), estudaram diferentes concentrações do *Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7* e estabilizaram emulsões mesmo em baixas concentrações e a adição de extratos vegetais não comprometeu a estabilidade das mesmas.

A reologia descreve a deformação de um produto sob a influência de uma tensão. O parâmetro fundamental a ser investigado no estudo reológico é a viscosidade, que determina a resistência de um sistema em fluir (escoar).

De acordo com Tadros (1994), os fatores que afetam a reologia da emulsão são a fração de volume da fase dispersa, a viscosidade das gotículas dispersas, a distribuição e tamanho das gotas, a viscosidade do meio (que é afetada pelos aditivos presentes, tais como emulsionantes e excesso de espessantes, composição química como polaridade e pH, natureza e concentração dos eletrólitos no sistema). Normalmente, a presença de substâncias poliméricas e os agentes tensoativos em um sistema emulsionado

causam redução da tensão interfacial, por conseguinte, um aumento da estabilidade do sistema atua contra a coalescência e mecanismos de separação de fase.

A emulsão R2 apresentou-se estável após os testes de estabilidade acelerada e os valores de pH, viscosidade aparente mínima, índice de fluxo e área de histerese, estão apresentados nas Tabela 5.

Tabela 5– Valores de pH, viscosidade aparente mínima, índice de fluxo e área de histerese das emulsões R2 durante os estudos de estabilidade acelerada em diferentes temperaturas.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	pH	Viscosidade Aparente Mínima (cP)	Índice de Fluxo	Área de Histerese (d/cm ² .s)
1°	25°C	6,9(±0,10)	8586 (±326)	0,35(±0,03)	298,51(±246,44)
90°	4°C	6,2(±0,04)*	8933 (±676)	0,22(±0,09)	904,64(±728,41)
	25°C	6,3(±0,02)*	8371 (±182)	0,26(±0,04)	330,15(±214,17)
	37°C	6,3(±0,03)*	8374 (±270)	0,23(±0,08)	265,41(±177,57)
	45°C	6,3(±0,02)*	8030 (±193)	0,28(±0,06)	321,08(±187,28)

*p<0,05. Autoria: Própria.

Segundo Masmoudi et al. (2005), a diminuição do pH pode representar uma oxidação da fase oleosa com formação de hidroperóxidos ou mesmo a hidrólise de triglicerídeos levando à formação de ácidos graxos. Apesar das alterações, os valores de pH mantiveram-se compatíveis com o valor de pH fisiológico da pele (KIM et al., 2012).

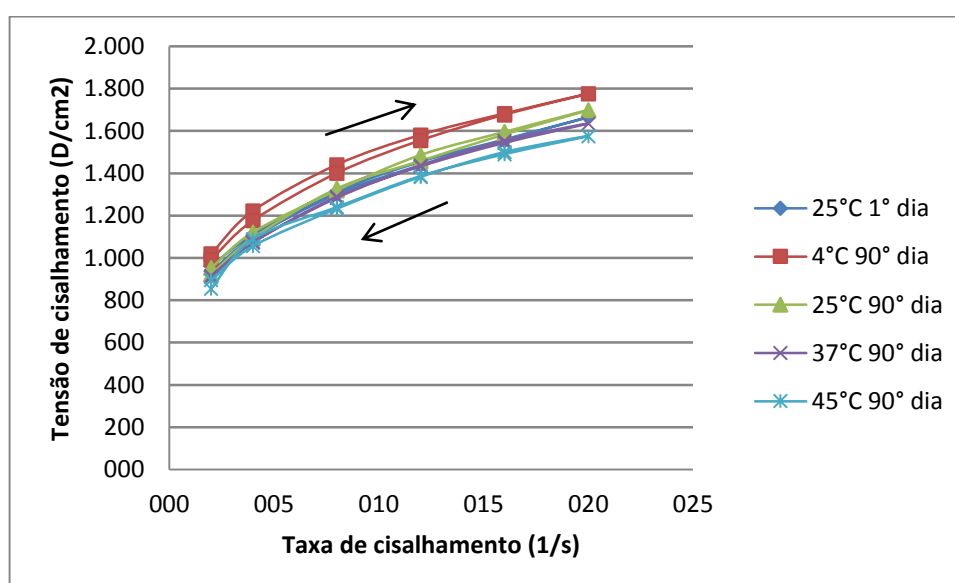
A manutenção do pH em uma formulação fotoprotetora é fundamental para garantia da eficácia dos filtros solares e diminui a possibilidade de ocorrer deslocamentos batocrômicos ou hipsocrômicos nas bandas de absorção UVB o que interfere no valor do FPS (MUNHOZ et al.,2012).

Vários processos que ocorrem em sistemas emulsionados, tais como a sedimentação, cremação, floculação, coalescência e inversão de fases podem ser investigados através de técnicas reológicas, tais como medições da tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, a tensão em função do tempo e a uma tensão constante aplicada e técnicas oscilatórias (TADROS et al., 2004).

As formulações desenvolvidas são sistemas não-Newtonianos, pois, ao contrário dos Newtonianos, apresentam uma relação não linear entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento.

Pelos reogramas da emulsão R2 (Figura 10) é possível observar que esta formulação apresentou comportamento pseudoplástico. Valor de índice de fluxo (n) menor que 1 (Tabela 8), onde n representa o desvio em relação ao comportamento Newtoniano, também caracterizam essa emulsões como pseudoplásticas (CORRÊA et al., 2005; LEE; MOTURI; LEE, 2009; PRESTES et al., 2009; TADROS, 2004).

Figura 10 - Reograma da emulsão R2 no tempo inicial e após 90 dias em diferentes temperaturas



Autoria: Própria

Pseudoplastia com área de histerese implica em um indicador de comportamento tixotrópico. Produtos tixotrópicos tornam-se mais fluidos quando submetidos a uma pressão externa, espalhando-se mais facilmente na região onde são aplicados, e recuperam a viscosidade inicial no momento em que se encerra a aplicação, impedindo que o produto escorra durante o procedimento. A área delimitada pela curva ascendente e descendente é descrita como área de histerese (TADROS, 2004).

Considerando os parâmetros analisados na estabilidade acelerada durante 90 dias, foi possível considerar a emulsão R2 como uma emulsão estável, podendo assim ser aplicada na avaliação do potencial fotoprotetor do extrato glicólico de açaí.

5.3 ESTUDO DO POTENCIAL FOTOPROTETOR

Extratos vegetais interagem de diversas formas com filtros químicos e/ou físicos, alterando parâmetros que interferem na eficácia do produto: FPS, proteção contra a radiação UVA, razão UVA/UVB e comprimento de onda crítico (VELASCO et al., 2008b).

A seleção dos filtros solares utilizados na composição das formulações foi fundamentada por uma pesquisa dos mais utilizados em produtos comerciais.

De acordo com uma pesquisa realizada por Ferreira, Fernandes e Ferrari (2011) com 200 voluntários em Natal, RN e com o mesmo número de pesquisados na cidade de Cuiabá – MT (SILVA et al., 2009), o FPS mais utilizado é o 30.

Dessa forma, o estudo do FPS *in silico*, foi realizado para determinar a composição quali e quantitativa de filtros solares para se obter uma formulação com FPS 30.

Atualmente, são utilizadas técnicas *in vitro* e *in vivo* para a avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) e do fator de proteção UVA (FPUVA). As análises *in vivo* são complexas e possuem custo elevado, principalmente por envolver tecnologia onerosa, contratação de técnicos especializados e voluntários (GREGORIS et al., 2011; VELASCO et al., 2011). Por isso, os estudos preliminares iniciam-se com metodologias *in vitro* e/ou *in silico* na triagem durante o desenvolvimento de formulações cosméticas, as quais são de menor custo e apresentam uma boa correlação com os resultados *in vivo* (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). No que se refere à eficácia efetiva dos protetores solares quanto ao FPS, o método *in vivo* é o exigido atualmente pela Anvisa (BRASIL, 2012a).

Após a obtenção da formulação estável (R2) a mesma foi submetida ao teste de determinação *in vivo* de FPS. Para avaliar a eficácia fotoprotetora do extrato glicólico do açaí, formulações sem a adição do mesmo foram manipuladas e permaneceram estáveis durante todo o período do teste.

Os valores de FPS *in vivo* para cada voluntário das formulações desenvolvidas encontram-se descritos na Tabela 6.

Não houve diferença estatisticamente significativa no valor do FPS *in vivo* obtido nas formulações desenvolvidas ($p < 0,05$), demonstrando que o extrato de

açaí na concentração utilizada não proporcionou aumento ou potencialização do FPS.

Tabela 6- Valores de FPS *in vivo* das formulações R2 desenvolvidas com o extrato de açaí e sem o extrato de açaí e o controle.

Voluntários	FPS formulação R2 sem extrato açaí	FPS Formulação R2 com extrato açaí 5%	FPS Controle
1	23,7	23,7	16,0
2	21,5	20,8	12,8
3	23,2	21,5	20,0
4	20,8	21,5	10,3
5	20,8	24,0	16,0
6	20,8	26,8	16,0
7	18,6	21,5	16,0
8	23,2	30,0	20,0
9	26,0	30,0	20,0
10	26,0	33,5	20,0
FPS Médio (x)	22,5	25,3	16,7
Desvio Padrão (S)	2,4	4,5	3,4

Autoria: Própria.

Diferentemente do que foi demonstrado por Ferrari e Rocha Filho (2011) que obtiveram o mesmo FPS tanto na metodologia *in silico* quanto na *in vivo*, as formulações dessa pesquisa, não apresentaram um FPS *in vivo* compatível com o calculado *in silico* (FPS 30). Alguns fatores podem explicar essa diferença: a composição do veículo, a interação entre os componentes da formulação, o caráter hidrofílico da formulação, a interação da formulação com a pele no teste *in vivo* e com substrato no *in silico*, tipos e concentrações de emulsionantes e emolientes (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011)

Nos produtos comercializados o FPS é indicado por um número inteiro, sendo assim, pela análise do desvio padrão, mesmo não havendo diferença estatística, na prática, ou seja, se as formulações fossem disponibilizadas para o comércio a formulação sem o extrato seria grafado na rotulagem FPS 20 e, a com extrato, FPS 25, o que poderia agregar valor comercial a formulação contendo o extrato glicólico de açaí.

Ferrari e Rocha-Filho (2011) avaliaram o potencial fotoprotetor do óleo de açaí e verificaram que o mesmo também não contribuiu positivamente para aumentar o FPS da formulação.

Assim como os resultados apresentados para o FPS, diversas pesquisas (MANSUR, 2011; MUNHOZ et al., 2012; SILVA et al., 2005; SOUZA et al., 2005; SOUZA et al., 2013; VIOLANTE et al., 2009) realizadas com o objetivo de verificar a eficácia fotoprotetora de ativos naturais adicionados a formulações contendo filtros solares não obtiveram aumento ou potencialização do FPS. Esses autores descreveram a dificuldade de se aumentar o valor do fator de proteção solar através da adição de ativos naturais a filtros solares químicos e físicos, apesar do conhecimento prévio dos constituintes secundários os quais apresentam atividade antioxidante e/ou estrutura química (substâncias aromáticas ricas em hidroxilas) semelhante a dos filtros químicos.

Produtos fotoprotetores contendo plantas nem sempre são eficazes na absorção de UV, no entanto, podem ser capazes de melhorar a tonicidade da pele, reduzir o fotoeritema, queimaduras e vermelhidão causados pela radiação (HU; WANG, 1998). Afaq e Mukhtar (2006) em artigo de revisão, enfatiza que o uso oral e tópico de plantas e/ou substâncias isoladas com atividade antioxidante associadas a filtros solares, podem ser uma abordagem eficaz para a redução de radicais livres gerados pela radiação UVB.

O açaí possui atividades antioxidantes e antiinflamatórias já amplamente descritas na literatura e atribuídas à concentração elevada de polifenóis, em especial às antocianinas e aos polifenóis (COSTA et al., 2013; HOGAN et al., 2010; KANG et al., 2010, 2011b; POULOSE et al., 2012; SOUZA et al., 2010b; XIE et al., 2012). Pode-se sugerir que a concentração de polifenóis contidos no extrato glicólico de açaí em estudo, não foi suficiente para aumentar significativamente o FPS da formulação desenvolvida. Outras proposições para esse resultado podem ser destacadas: o aumento da concentração do extrato na formulação (acima de 5%) poderia ser avaliado e verificado se com essa medida teria resultados diferentes; como descrito anteriormente a proporção polpa/fruto: líquido extrator é de 1:5, se essa proporção fosse, por exemplo, de 1:1 a concentração de polifenóis poderia ser mais elevada e conseqüentemente ter aumentado de forma significativa o FPS.

No entanto, apesar do extrato de açaí incorporado a formulações fotoprotetoras não ter aumentado significativamente o FPS *in vivo*, não se deve descartar a possibilidade dessa formulação atuar como antioxidante através da inibição ou geração de radicais livres provenientes das radiação ultravioleta.

Os efeitos nocivos da radiação UVA começaram a ser investigados na década de 1990. A principal consequência da radiação UVA cumulativa é a produção de espécies reativas de oxigênio, indução do câncer de pele, imunossupressão, e fotoenvelhecimento (HOJEROVÁ; MEDOVČÍKOVÁ; MIKULA, 2011).

Para se ter características preventivas contra as radiações UVB e UVA, o produto fotoprotetor deve conter não apenas filtros solares UVB, mas também um ou mais filtros UVA. Embora seja imperativo a proteção UVB, a proteção UVA é hoje reconhecida como igualmente essencial, exigida pela legislação vigente (BRASIL, 2012a) e tornou-se um alvo para melhorar a eficácia protetor solar (HOJEROVÁ; MEDOVČÍKOVÁ; MIKULA, 2011; SAMBANDAN; RATNER, 2011).

Na tabela abaixo (Tabela 7), estão descritos os valores do fator de proteção UVA (FPUVA), razão FPS/FPUVA e valores de comprimento de onda crítico (λ_c) encontrados para formulações aditivadas ou não com o extrato de açaí a 5%.

Tabela 7 – Fator de proteção UVA (FP-UVA), determinação FPS/FP-UVA e comprimento de onda crítico (λ_c) das emulsões O/A com e sem extrato glicólico de açaí.

	Formulação sem o extrato de açaí	Formulação com o extrato de açaí	Formulação Fotoprotetora Referência
Antes da irradiação			
FPS <i>in vitro</i>	6,17 ($\pm 0,69$)	5,77 ($\pm 0,06$)	---
FP-UVA <i>in vitro</i>	13,34 ($\pm 0,23$)	15,12 ($\pm 0,13$)	---
Após a irradiação			
FP-UVA <i>in vitro</i>	13,38 ($\pm 0,52$)	14,97 ($\pm 0,44$)	14,02 ($\pm 0,16$)
FPS/FP-UVA	1,68 ($\pm 0,06$)	1,69 ($\pm 0,05$)	1,14 ($\pm 0,01$)
Comprimento de onda crítico (λ_c) nm	378	378	---
% FP-UVA eff	100,3%	99,0 %	---

Os dados foram expressos como média \pm desvio-padrão (SD). n = 3. % FP-UVA eff = eficácia percentual após a irradiação. Autoria: Própria.

Não houve diferença estatística entre o FPUVA das formulações adicionadas ou não de extrato de açaí, indicando que o mesmo não contribuiu para aumentar ou potencializar a proteção no espectro de UVA.

Mansur (2011) relatou que ao utilizar o extrato de *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis* Vaz em formulações antisolares obteve uma redução nos valores de FPUVA após a irradiação. O extrato glicólico de açaí não proporcionou aumento significativo no FPUVA, mas também não reduziu os valores como descrito pelo autor citado.

De acordo com a RDC 30/2012 (BRASIL, 2012a) o FPUVA deve ser no mínimo 1/3 do valor do FPS. Ao comparar os valores obtidos para proteção UVA e UVB (tabelas 7 e 6 respectivamente) é possível afirmar que os resultados dessa pesquisa estão em conformidade como o exigido pela Anvisa, permitindo ser grafado na rotulagem do produto desenvolvido que é um protetor de amplo espectro, ou seja, com proteção para radiação UVB e UVA.

Pela metodologia utilizada (COLIPA, 2011) o cálculo do FPUVA é realizado com o FPS *in vitro* ajustado (equação 3), no entanto para se obter a razão FPS/FPUVA foram utilizados os resultados obtidos no teste de FPS *in vivo* (Tabela 6). Este índice caracteriza a relação entre os dois fatores de proteção solar e deve ser menor ou igual a 3, identificando que valor do FPUVA foi no mínimo de 1/3 do valor do FPS. Os resultados apresentados estão em conformidade com essa exigência e portanto de acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2012).

Segundo Wang; Osterwalder; Jung, (2011) a aplicação tópica de antioxidantes associados com filtros solares podem potencialmente neutralizar os radicais livres induzidos por UVA. Estes autores observaram uma forte correlação entre os filtros solares UVA e radicais livres na pele, indicando que um produto com um alto FPUVA absorve mais radiação nociva do espectro UVA e desse modo, reduz a quantidade total de radicais livres gerados na pele. De forma comparativa pode se supor que a formulação fotoprotetora desenvolvida pode diminuir a quantidade de ROS gerado pela exposição a UVA.

Fotoestabilidade é um parâmetro essencial para assegurar a eficácia e segurança dos produtos de proteção solar, uma vez que a radiação ultravioleta pode reduzir a capacidade fotoprotetora destes (COLIPA, 2011).

As emulsões estudadas foram consideradas fotoestáveis, o que é um fator de grande importância principalmente na eficácia dos filtros solares UVA. Os resultados do FPUVA antes e após a irradiação não foram diferentes estatisticamente (Tabela 7). O FPUVA de eficácia calculado para ambas as formulações está igual ou acima de 99% (Tabela 7). Resultados semelhantes foram descritos por Jarzycka e colaboradores (2013), onde emulsões acrescidas de extratos vegetais ricos em polifenóis exibiram uma excelente fotoestabilidade, independente da intensidade de irradiação UV, especialmente na região UVA.

Os valores de comprimento de onda crítico (λ_c) devem ser maiores que 370 nm para que, conjugado a outros parâmetros de avaliação, as formulações analisadas sejam consideradas eficazes frente à exposição à radiação UVA (DIFFEY et al., 2000). Valores de comprimento de onda representam o espectro de proteção mas não avaliam a intensidade de proteção (JARZYCKA et al., 2013).

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2012a) e a COLIPA (COLIPA, 2011), o mesmo deve ser no mínimo 370 nm. Pode-se observar na tabela 7, que o comprimento de onda crítico para as duas formulações está de acordo com o exigido pela legislação brasileira, entretanto a incorporação do extrato glicólico de açaí não interferiu no comprimento de onda da formulação fotoprotetora.

Diferentemente dos resultados obtidos nessa pesquisa, outros estudos obtiveram aumento no FPUVA com produtos naturais. Racan et al. (2002) testaram a Calicin (compostos extraídos de líquenes Chile) e constataram um incremento no FPUVA. No entanto, Baby et al. (2009) evidenciaram que formulações contendo rutina, associada a filtros químicos como o 4-metoxicinamato de 2-etilhexila e 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, apresentaram uma eficácia fotoprotetora *in vitro* no tocante ao aumento do comprimento de onda crítico. Lohézic-Le Dévéhat et al. (2013) estudaram extratos e compostos de líquens, quanto à atividade fotoprotetora, avaliando o FPS *in vivo* e FPUVA *in vitro* e concluíram que esse extrato pode ser utilizado sinergicamente a outros filtros para ampliar a proteção UVA. Jaszewska et al., (2013) demonstraram que extratos

vegetais ricos em polifenóis como a *Oenothera paradoxa* podem ser utilizados na prevenção dos danos causados pela radiação UVA. Outros autores incorporaram extratos vegetais com a mesma finalidade (BAE et al., 2012; GIAMPIERE et al., 2012).

Entretanto, mesmo o extrato glicólico de açaí não ter aumentado significativamente o FPS e FPUVA, os resultados obtidos nessa pesquisa não inviabiliza o uso do mesmo em formulações fotoprotetoras. Provavelmente, estudando frações específicas do extrato poder-se-ia obter melhores resultados. Testes com essas frações ou mesmo com o extrato seco do açaí podem ser realizados para investigar a atividade fotoprotetora.

Vale ressaltar que a formulação desenvolvida nessa pesquisa com 5% do extrato glicólico de açaí é estável, está em conformidade com a legislação brasileira e apresenta todos os testes necessários para o registro junto à Anvisa. A composição da formulação apresenta semelhança com as comercializadas nos mercados brasileiro e internacional, tornando a mesma com viabilidade comercial, fato esse que torna esta pesquisa científica com aplicação prática.

6 CONCLUSÕES

Nas condições experimentais desse trabalho, foi possível concluir que:

Os estudos da citotoxicidade e fototoxicidade atestaram que o extrato glicólico de açaí é seguro e pode ser utilizado em formulações cosméticas.

As emulsões formuladas foram do tipo O/A, e apresentaram-se homogêneas com aspecto de creme, cor bege claro antes da adição do extrato glicólico de açaí e bege mais escuro após a adição deste.

Dentre as formulações manipuladas com o polímero *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* a mais estável macroscopicamente foi obtida com a concentração de 0,3% e o melhor método para a dispersão desse polímero foi o indireto. Sendo, portanto essa emulsão selecionada para os estudos propostos.

A adição de 0,3% de *Carbomer* (PC3) como espessantes na formulação com o *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* permitiu que a mesma fosse estável frente aos testes de estabilidade preliminar. A mesma condição foi observada quando 1,0% do *Polyacrylamide (and) C 13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7* (PS2) foi adicionado a formulação com 0,3% de *Acrylates/C 10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*. A emulsão com o *Sodium Polycrylate* (1% - R2) também apresentou-se estável frente às condições estabelecidas para os testes preliminares de estabilidade.

Dentre as formulações submetidas aos testes de estabilidade acelerada (PC3, PS2 e R2) a que se apresentou estável foi a desenvolvida com 1,0% do *Sodium Polyacrylate* e 5% de extrato glicólico de açaí (R2).

A emulsão estável apresentou comportamento reológico desejável para um cosmético de uso tópico: fluido não newtonianos com perfil pseudoplástico e tixotrópico.

A formulação contendo apenas os filtros solares apresentou FPS 22,5 e com a adição de 5% do extrato glicólico de açaí, FPS 25,3. Não foi observado aumento estatisticamente significativo ou potencialização do FPS com a adição do extrato em estudo.

O FPS *in silico* não foi o mesmo obtido pelo teste *in vivo*.

A formulação fotoprotetora contendo o extrato glicólico de açaí apresentou se fotoestável, FPUVA = 14,97, comprimento de onda crítico a 378 nm e razão FPS/FPUVA = 1,69. Não houve diferença estatística, no tocante ao FPUVA, entre as formulações aditivadas ou não com o extrato.

Essa pesquisa apresenta alguns diferenciais que devem ser destacados quando comparados a alguns estudos na área cosmética: a) foi uma pesquisa que estudou o ciclo completo de uma formulação cosmética abordando segurança do ativo, desenvolvimento da formulação e avaliação da eficácia; b) mesmo não incrementando o FPS e FPUVA da formulação, agrega valor na cadeia produtiva do açaí com demonstração de dados científicos; c) pesquisa científica que tem aplicabilidade prática, pois apresenta uma formulação com todos os dados necessários para o seu registro na Anvisa, processo de produção possível de ser industrializado e viabilidade comercial.

REFERÊNCIAS

- AFAQ, F.; MUKHTAR, H. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. *Experimental Dermatology*, v. 15, n. 9, p. 678-684, 2006.
- AFAQ, F. Natural agents: Cellular and molecular mechanisms of photoprotection. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 508, n. 1, p. 144–151, 2011.
- ANCHISI, C.; MACCIONI, A. M.; SINICO, C.; VALENTI, D. Stability studies of new cosmetic formulations with vegetable extracts as functional agents. *IL Farmaco*, v. 56, n. 5-7, p. 427-431, 2001.
- ANTIGNAC, E.; NOHYNEK, G. J.; RE T.; CLOUZEAU J.; TOUTAIN, H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. *Food and Chemical Toxicology*, v. 49, n. 2, p. 324-341, 2011.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Guia de estabilidade de produtos cosméticos*, Brasília: Anvisa, 2004.
- ARAUJO, T. S.; SOUZA, S. O. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. *Scientia Plena*, v. 4, n. 11, p. 1-7, 2008.
- ASHLAND. Disponível em : < <http://www.ashland.com/products/optiphen-preservatives>.> Acesso em: jan. 2014.
- BABY, A. R.; HAROUTIOUNIAN-FILHO, C. A.; SARRUF, F. D.; TAVANTE-JÚNIOR, C. R.; PINTO, C. A. S. O.; ZAGUE, V.; ARÊAS, E. P. G.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rotina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 44, n. 2, p. 232- 248, 2008.
- BABY, A. R.; BALOGH, T. S.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO T. M.; VELASCO, M. V. R. UVA I-protection effectiveness of bioactive compound and organic UV filters: an *in vitro* assessment. *Quimica Nova*. v. 32, p. 1321-1323, 2009.
- BAE, J. T.; KO, H. J.; KIM, G. B.; PYO, H. B.; LEE, G. S. Protective Effects of Fermented Citrus Unshiu Peel Extract against Ultraviolet-A-induced Photoageing in Human Dermal Fibroblasts. *Phytotherapy Research*, v. 26, p. 1851–1856, 2012.
- BALAKRISHNAN, K. P.; NARAYANASWAMY, N. Botanicals as sunscreens: Their role in the prevention of photoaging and skin cancer. *International Journal Research Cosmetic Science*, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2011.

BALOGH, T. S. *Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor*. 2011. 267 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

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

BASF. Sunscreen simulator. Disponível em: <http://www.sunscreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/Login_show.action> Acesso em: mar. 2011.

BÉRARD, F. *Pele e sol*. São Paulo: Larousse, 2006.

BRACONI, F. L.; OLIVEIRA, I. S.; BARONI, M. N. F.; ROCHA FILHO, P. A. Aplicação cosmética do óleo de canola, In: Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos. *Congresso Latino Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos, 12. Anais*. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, p. 6-19, 1995.

BRASIL. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território. Decreto-Lei nº 222, de 08 de agosto de 2001. Determina ensaio de Fototoxicidade *in vitro* 3T3 NRU, conforme Anexo XII deste Decreto-Lei. *Diário da República*, Nº 183, Brasília, DF, 08 ago. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 47, de 13 de março de 2006. Aprova o Regulamento técnico Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos para Produtos de Higiene Pessoais, Cosméticos e Perfumes. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 16 mar. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 30, de 01 de junho de 2012. Fica aprovado o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos nos termos dessa resolução. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 4 de jun. 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos*. 2. ed. Brasília, DF, 2012b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 4, de 30 de janeiro de 2014. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 31 jan. 2014.

CANTRELL, A.; MACGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. Photochemical and photophysical properties of sunscreens. In: GIACOMONI, P. U. *Sun Protection in Man*. Elsevier Science, 2001. p. 495-519.

CARBOMER. *Carbopol Ultrez 10 Polymer for Personal Care Applications. Technical Literature*. October, Cleveland, 2007.

CASWELL, M. Sunscreen formulation and testing. *Cosmetics & Toiletries*, v. 116, n. 9, p. 49-60, 2001.

CIR – Cosmetic Ingredient Review. Disponível em: < <http://www.cir-safety.org/ingredients>. > Acesso em: fev. 2013.

COLE, T. G.; EWEL, J. J. Allometric equations for four valuable tropical tree species. *Forest ecology and management*, v. 229, n. 1-3, p. 351-360, 2006.

COLIPA. Guidelines. In: *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*, 2006.

COLIPA. Guidelines. In: In vitro UV Protection Method Task Force. In vitro method for the in vitro determination of UVA protection factor and critical wavelength values of sunscreen products, 2011.

COMAS, D. I.; WAGNER, J. R.; TOMAS, M. C. Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions: Influence of pH on soybean protein–lecithin interaction. *Food Hydrocolloids*, v. 20, n. 7, p. 990-996, 2006.

CONSTANT, P. B. L. *Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açai (Euterpe oleracea M.)*. 2003. 199f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2003.

CORRÊA, N. M.; CAMARGO JÚNIOR, F. B.; IGNÁCIO, R. F.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica*, v. 41, n. 1, p. 73-78, 2005.

CORRÊA, M. A.; ISAAC, V. L. B. In: CORRÊA, M. A. *Cosmetologia. Ciência e Técnica*. São Paulo: Medfarma, 2012, p. 279-336, cap. 6.

CORREA-ROYERO, J.; TANGARIFE, V.; DURÁN, C.; STASHENKO, E.; MESA-ARANGO, A. In vitro antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigates*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n. 5, p. 734-741, 2010.

COSING –. European Commission Health and Consumers – Cosmetics Ingredients & Substances . Disponível em: <<http://ec.europa.eu/consumers/cosmetics/cosing/index.cfm?fuseaction=search.simpl>> Acesso em: fev. 2013.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JOMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. *Journal of Functional Foods*, v. 5, n. 2, p. 539-549, 2013.

COUTEAU, C.; PAPARIS, E.; EL-BOURRY-ALAMI, S.; COIFFARD, L. J. M. Influence on SPF of the quantity of sunscreen product applied. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 437, n. 1-2, p. 250- 252, 2012.

CRETU, G. C.; MORLOCK, G. E. Analysis of anthocyanins in powdered berry extracts by planar chromatography linked with bioassay and mass spectrometry. *Food Chemistry*, v. 146, p. 104–112, 2014.

CRIADO, P. R.; MELO, J. N.; OLIVEIRA, Z. N. P. Topical photoprotection in childhood and adolescence. *Jornal de Pediatria*, v. 88, n. 3, p. 203-210, 2012.
CRODA. Disponível em <
<http://www.croda.com/home.aspx?d=content&s=157&r=440>> Acesso em: Jan. 2014.

DARNET, S. SERRA, J. L.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. A high-performance liquid chromatography method to measure tocopherols in assai pulp (*Euterpe oleracea*). *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2107 -2111, 2011.

DARVIN, M. E.; FLUHR, J. W.; MEINKE, M. C.; ZASTROW, L.; STERRY, W.; LADEMANN, J. Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. *Experimental Dermatology*, v. 20, n. 2, p. 125-129, 2011.

DAVIS, H. M. Analysis of creams and lotions. In: SENSEL A.J.(Ed.). *Newburger's manual of cosmetic analysis*. Washington: Association Official Analytical Chemists, 1977. cap. 4, p. 32.

DEMARCO, F. F. Evaluation of the cytotoxicity of two dentin-bonding systems. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, v. 12, n. 4, p. 375-382, 1998.

DIFFEY, B. L.; TANNER, P. R.; MATTS, P. J.; NASH, F. In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. *Journal of the american academy of dermatology*, v. 43, n. 6, p. 1024-1035, 2000.

DIFFEY, B. Sunscreen isn't enough. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 64, n. 2-3, p.105-108, 2001.

DI MAMBRO, V. M.; FONSECA, M. J. V. Avaliação da eficácia fotoprotetora *in vivo* de formulações contendo extratos de *Ginkgo biloba* e *Glycyrrhiza glabra*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA, 20, 2006, São Paulo. **Anais eletrônicos...** São Paulo: B2 automação, 2006. 1 CD-Rom.

ELMETS, C. A; SINGH, D.; TUBESING, K.; MATSUI, M.; KATIYAR ,S.; MUKHTAR, H. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenol. *Journal of the american academy of dermatology*, v. 44, n. 3, p. 425-432, 2001.

FELZENSZWALB, I.; DA COSTA MARQUES, M. R.; MAZZEI, J. L.; AIUB, C. A.

Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. *Food and Chemical Toxicology*, v. 58; p. 536–544, 2013.

FERRARI, M. *Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba*. 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos)–Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

FERRARI, M. *Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etilexila e óleo de andiroba (Carapa guyanensis)*. 2002. 142 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2002.

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

FERRARI, M.; MARUNO, M.; NAKANO, A. K.; ROCHA FILHO, P. A. In vivo evaluation of the photoprotective efficacy of O/W/O with Andiroba Oil (*Carapa guianensis*). *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 29, n. 9, p. 1203-1208, 2008.

FERRARI, M.; ROCHA-FILHO, P. A. Multiple emulsions containing amazon oil: açai oil (*Euterpe oleracea*). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 21, n. 4, p. 737-743, 2011.

FERRARI, M.; RAMOS, A. R.; BARRETO, S. M. A. G. Fotoprotetores: você usa corretamente? Natal: EDUFRN, 2012, 9 p.

FERREIRA, G. C. O.; FERNANDES, C. M. O.; FERRARI, M. Uso correto de fotoprotetor: quantidade aplicada, hábitos de exposição e de aplicação do produto. *Brazilian Journal of pharmacy*, v. 92, n. 3, p. 191-197, 2011.

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

FONSECA, A.; PRISTA, L. N. *Manual de terapêutica dermatológica e cosmetologia*. São Paulo: Roca, 1993.

FRANGE, R. C. C.; GARCIA, M. T. J. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/água: avaliação da estabilidade física. *Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada*, v. 30, n. 3, p. 263-271, 2009.

GASPAR, L. R.; THARMANN, J.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; LIEBSCH, M. Skin phototoxicity of cosmetic formulations containing photounstable and photostable UV-filters and vitamin A palmitate. *Toxicology in Vitro*, v. 27, n. 1, p. 418-425, 2013.

GALVEZ, M. V. Antioxidantes en fotoprotección, realmente funcionan? *Actas Dermosifiliográficas*, v. 101, n. 3, p. 197-200, 2010.

GIAMPIERI, F.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; TULIPANI, S.; GONZÁLES-PARAMÁS, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; BOMPADRE, S.; QUILES, J. L.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Photoprotective Potential of Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Extract against UV-A Irradiation Damage on Human Fibroblasts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, p. 2322–2327, 2012.

GONÇALVES, G. M. S.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Shelf life and rheology of emulsions containing vitamin C and its derivatives. *Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada*, v. 30, n. 2, p. 217-224, 2009.

GONZÁLEZ, N.; RIBEIRO, R.; FERNANDES, E.; NOGUEIRA D. R.; CONDE, E.; MOURE, E.; VINARDELL, M. P.; MITJANS, M.; DOMÍNGUEZ, H. Potential use of *Cytisus scoparius* extracts in topical applications for skin protection against oxidative damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 125, p. 83–89, 2013.

GORDON, A.; CRUZ, A. P. G.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. C.; TAXI, M. A. D.; DONANGELO, C. M. D.; MATTIETTO, R. A.; FRIEDRICH, M.; MATTA, V. M.; MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açai fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. *Food Chemistry*, v. 133, n. 2, p. 256-263, 2012.

GREGORIS, E.; FABRIS, S.; BERTELLE, M.; GRASSATO, L.; STEVANATO, R. Propolis as potential cosmeceutical sunscreen agent for its combined photoprotective and antioxidant properties. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 405, n. 1-2, p. 97–101, 2011.

HEMKER, W. J. Universal oil-in-water polyelectrolyte emulsifiers for advanced cosmetic product formulation. *Sofw*, v. 119, n. 14, p. 505-508, 1990.

HOJEROVÁ, J.; MEDOVČÍKOVÁ, A.; MIKULA, M. Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 408, n. 1-2, p. 27-38, 2011.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai *Food Chemistry*, v. 118, n. 2, p. 208–214, 2010.

HONG, Y-H.; JUNG, E. Y.; SHIN, K-S.; KIM, T. Y.; YU, K-W.; CHANG, U. J.; SUH, H. J. Photoprotective Effects of a Formulation Containing Tannase-Converted Green Tea Extract Against UVB-Induced Oxidative Stress in Hairless Mice. *Applied biochemistry and biotechnology*, v. 166, n. 1, p. 165–175, 2012.

HU, G.; WANG, X. Research on a natural sunscreen from Chinese herbs. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 20, n. 3, p. 175-181, 1998.

HUPEL, M.; POUPART, N.; AR GALL, E. Development of a new in vitro method to evaluate the photoprotective sunscreen activity of plant extracts against high UV-B radiation. *Talanta*, v. 86, p. 362- 371, 2011.

INÁCIO, M. R. C.; LIMA, K. M. G.; LOPES, V. G.; PESSOA, J. D. C.; TEIXEIRA, G. H. A. Total anthocyanin content determination in intact açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and palmitero-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. *Food Chemistry*, v. 136, n. 3-4, p. 1160-1164, 2013.

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. *Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada*, v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.

JARZYCKA, A.; LEWINSKA, A.; GANCARZ, R.; WILK, K. A. Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* in photoprotective UVA and UVB; photostability in cosmetic emulsions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 128, p. 50–57, 2013.

JASZEWSKA, E.; SOIN, M.; FILIPEK, A.; NARUSZEWICZ, M. UVA-induced ROS generation inhibition by *Oenothera paradoxa* defatted seeds extract and subsequent cell death in human dermal fibroblasts. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 126, p. 42-46, 2013.

KAHN, F. Palms as key swamp forest resources in Amazonia. *Forest ecology and management*, v. 38, n. 3-4, p.133-142, 1991.

KAMERSHWARL, V.; MISTRY, N. D. Propriedades Sensoriais dos Emolientes. *Cosmetics & Toiletries*, v. 13, n. 3, p. 52-59, 2001.

KANG, J.; LI, Z.; WU, T.; JENSEN, G. S.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Anti- oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chemistry*, v. 122, n. 3, p. 610-617, 2010.

KANG, J.; XIE, C.; LI, Z.; NAGARAJAN, S.; SCHAUSS, A. G.; WU, T.; WU, X. Flavonoids from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Chemistry*, v. 128, n. 1, p. 152-157, 2011b.

KANG, W.; XU, B.; WANG, Y; LI, Y.; SHAN, X.; AN, F.; LIU, J. Stability mechanism of W/O crude oil emulsion stabilized by polymer and Surfactant. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 384, n. 1-3, p. 555– 560, 2011a.

KANG, J. THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, T.; OU, B.; JENSEN, G.; MEDINA, M. B.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chemistry*, v. 133, n. 3, p. 671-677, 2012.

KATO, A.; FUJISHIGE, T.; MATSUDOMI, N.; KOBAYASHI, K. Determination of emulsifying properties of some proteins by conductivity measurements. *Journal of Food Science*, v. 50, n. 1, p. 56-58, 1985.

KAUR, C. D.; SARAF, S. Development of Photoprotective Creams with Antioxidant Polyphenolic Herbal Extracts. *Research Journal of Medicinal Plant*, v. 6, n. 1, p. 83-91, 2012.

KHURY, E.; SOUSA, E. B. Protetores Solares. *Cosmetics & Toiletries*, v. 22, n. 6, p. 66-78, 2010.

KIM, S. H.; JUNG, E. Y.; KANG, D. H.; CHANG, U. J.; HONG, Y-H; SUH, H. J. Physical stability, antioxidative properties, and photoprotective effects of a functionalized formulation containing black garlic extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 117, p. 104–110, 2012.

KIM, S.; OH, H-I.; HWANG, J-K. Oral Administration of Fingerroot (*Boesenbergia pandurata*) Extract Reduces Ultraviolet B-induced Skin Aging in Hairless Mice. *Food Sci. Biotechnol*, v. 21, n. 6, p. 1753-1760, 2012.

KONG, B.; SEOG, J. H.; GRAHAM, L. M.; LEE, S. B. Experimental considerations on the cytotoxicity of nanoparticles. *Nanomedicine*, v. 6, n. 5, p. 929-941, 2011.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H. W. Photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 52, n. 6, p. 937-958, 2005.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LACOUR J. P.; BÉANI J. C. Photoprotectino naturelle, photoprotection externe (topique et vestimentaires). *Annales de dermatologie et de Venereologie*, v. 134, n. 5, p. 418-434, 2007.

LAUTENSCHLAGER, S.; WULF, H. C.; PITTELKOW, R. Photoprotection. *Lancet*, v. 370, n. 9586, p. 528-537, 2007.

LASLO, M.; SUN, X.; TE HSIAO, C.; WU, W. W.; SHEN, R. F.; ZOU, S. A botanical containing freeze dried açai pulp promotes healthy aging and reduces oxidative damage in sod1 knockdown flies. *AGE*, v. 35, n. 4, p.1117–1132, 2013.

LATHA, M. S.; MARTIS, J.; SHOBHA, V.; SHINDE, R. S.; BANGERA, S.; KRISHNANKUTTY, B.; BELLARY, S.; VARUGHESE, S.; RAO, P.; KUMAR, B. R. N. Sunscreening agents, *The journal of clinical and Aesthetic Dermatology*, v. 6, n. 11, p. 16-26, 2013.

LEE, C. H.; MOTURI, V., LEE, Y. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *Journal of Controlled Release*, v. 136, n. 2, p. 88-98, 2009.

LEE, C-W.; KO, H-H.; LIN, C-C.; CHAI, C-Y.; CHEN, W-T.; YEN, F-L. Artocarpin attenuates ultraviolet B-induced skin damage in hairless mice by antioxidant and anti-inflammatory effect. *Food and Chemical Toxicology*, v. 60, p. 123–129, 2013.

LEE, S. H. Evaluation of acute skin irritation and phototoxicity by aqueous and ethanol fractions of *Angelica keiskei*. *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 5, n. 1, p. 45-50, 2013.

LEONARDI, G. R. *Avaliação da estabilidade e efeito no conteúdo aquoso do extrato córneo de formulações cosméticas contendo, ou não, vitaminas A ou E ou ceramidas*. 2000. 98p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

LIMA, C. G.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; PIANNOVSKI, A. R.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; DE MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 3, p. 239-245, 2008.

LIU, S.; GUO, C.; WUB, D.; REN, Y.; SUN, M-Z.; XU, P. Protein indicators for HaCaT cell damage induced by UVB irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 114, p. 94–101, 2012.

LOCHEAD, R. Y.; HEMKER, W. J.; CASTANEDA, J. Y.; GARLEN, D. Novel cosmetic emulsions. *Cosmetics & Toiletries*, v. 101, n. 11, p. 125-138, 1986.

LOHÉZIC-LE-DÉVÉHAT, F.; LEGOUIN, B.; COUTEAU, C.; BOUSTIE J.; COIFFARD, L. Lichenic extracts and metabolites as UV filters. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 120, p. 17–28, 2013.

LOPES, T. J.; XAVIER M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. *Palmeiras no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 303 p.

MANO, S. S.; KANEHIRA, K.; SONEZAKI, S.; TANIGUCHI, A. Effect of Polyethylene Glycol Modification of TiO₂ Nanoparticles on Cytotoxicity and Gene Expressions in Human Cell Lines. *International Journal of Molecular Science*, v. 13, n. 3, p. 3703-3717, 2012.

MANSUR, M. C. P. P. R. *Estudo preliminar das atividades fotoprotetora e antioxidante dos extratos das folhas de Bauhinia microstachya var. massambabensis Vaz numa formulação antissolar*. 2011. 145 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2011.

MARTI-MESTRES, G.; FERNANDEZ, C.; PARSOTAM, N.; NIELLOUD, F.; MESTRES, J. P.; MAILLOLS, H. Stability of UV filters indifferent vehicles: solvents and emulsions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 23, n. 7, p. 647-655, 1997.

MARÇO, P.H.; POPPI, R.J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. *Química Nova*, v. 31, n. 4, p. 1218-1223, 2008.

MASMOUDI, H.; DREAU, Y. LE; PICCERELLE, P.; KISTER, J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. *International Journal of Pharmaceutics* v. 289, n. 1, p. 117-131, 2005.

MATHEUS, L. G. M.; KUREBAYASHI A. K. Fotoproteção. São Paulo: Tecnopress, 2002.

MEINKE, M. C.; SCHANZER, S.; HAAG, S. F.; CASETTI, F.; MÜLLER, M. L.; WÖLFLE, U.; KLEEMANN, A.; LADEMANN, J.; SCHEMPP, C. M. In vivo photoprotective and anti-inflammatory effect of hyperforin is associated with high antioxidant activity in vitro and ex vivo. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 81, p. 346–350, 2012.

MILAN, A. L. K.; MILÃO, D.; SOUTO, A. A.; CORTE, T. W. F. Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 43, n. 4, p. 649-657, 2007.

MILESI, S. S.; GUTERRES, S. S.; Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. *Caderno de Farmácia*, v. 18, n. 2, p. 81-87, 2002.

MISHRA, A. K.; MISHRA, A.; CHATTOPADHYAY, P. Herbal Cosmeceuticals for Photoprotection from Ultraviolet B Radiation: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 10, n. 3, p. 351-360, 2011.

MORAES, J. D. D. *Desenvolvimento de cosmético contendo ácido alfa-lipóico para a prevenção de alterações da pele e do envelhecimento cutâneo*. 2011. 182 P. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas campus de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

MORLEY, N.; CLIFFORD, T.; SALTER, L.; CAMPBELL, S.; GOULD, D.; CURNOW, A. The green tea polyphenol (-) epigallocatechin gallate and green tea can protect human cellular DNA from ultraviolet and visible radiation-induced damage. *Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine*, v. 21, n. 1, p. 15-22, 2005.

MUÑIZ-MIRET, N.; VAMOS, R.; HIRAOKA, M.; MONTAGNINI, F.; MENDELSON, R. O. The economic value of managing the açai palm (*Euterpe*

oleracea Mart.) in the floodplains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. *Forest ecology and management*, v. 87, n. 1, p. 163-173, 1996.

MUNHOZ, V. M.; LONNI, A. A. S. G.; MELLO, J. C. P.; LOPES, G. C. Avaliação do fator de proteção solar em fotoprotetores acrescidos com extratos da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas. *Revista Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada*, v. 33, n. 2, p. 225-232, 2012.

NEVES, K. Proteção solar. *Edição Temática*, n. 7, Ano 3, p. 10-35, 2008.

NOHYNEK, G. J. A; ANTIGNAC, E.; RE, T.; TOUTAIN, H. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 243, n. 2, p. 239-259, 2010.

NOGUEIRA, A. K. M.; SANTANA, A. C.; GARCIA, W. S. A dinâmica do mercado de açaí fruto no Estado do Pará: de 1994 a 2009. *Revista Ceres*, v. 60, n. 3, p. 324-331, 2013.

OECD. *Guideline for testing of chemicals*. n. 432 – In vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test. 2004. Disponível em: <
<http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECDtg432.pdf>>. Acesso em: 09 mar. 2013.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORRÊIA, M. A.; CERA, L. F. R.; T. P., FORMARIZ. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Química Nova*, v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.

OLIVEIRA, V. B.; YAMADA, L. T.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M. G. L. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. *Food Research International*, v. 48, n. 1, p. 170-179, 2012.

OLIVEIRA JR., R. G.; ARAÚJO, C. Z.; SOUZA, G. R.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; MORAIS, A. C. S.; SANTOS, J. S. R.; ALMEIDA, J. R. G. S. In vitro antioxidant and photoprotective activities of dried extracts from *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 3, n. 1, p. 122-127, 2013a.

OLIVEIRA JR., R. G.; SOUZA, G. R.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; MORAIS, A. C. S.; ARAÚJO, E. C. C.; NUNES, X. P.; ALMEIDA, J. R. G. S. Dried extracts of *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae) present antioxidant and photoprotective activities in vitro. *Journal of Young Pharmacists*, v. 5, n. 3, p. 102 - 105, 2013b.

OSTROSKY, E. A. *Avaliação da eficácia e segurança do extrato de folhas de Rubus rosaefolius Sm. Visando a aplicação como conservante em produtos cosméticos*. 2009. 172 f. Tese (Doutorado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

OU-YANG, H.; STANFIELD, J.; COLE, C.; APPA, Y.; RIGEL, D. High-SPF sunscreens (SPF \geq 70) may provide ultraviolet protection above minimal recommended levels by adequately compensating for lower sunscreen user application amounts, *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 67, n. 6, p. 1220-1227.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food research international*, v. 40, n. 5, p. 620-628, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food chemistry*, v. 115, n. 4, p. 1199-1205, 2009.

PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins:evaluation of turbidimetric technique. *Journal of Agricultural of Food Chemical*, v. 26, n. 3, p. 716-723, 1978.

PEDRIALI, C. A.; FERNANDES, A. U.; SANTOS, P. A.; SILVA, M. M.; SEVERINO, D.; SILVA, M. B. Antioxidant activity, cito- and phototoxicity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed pulp extract. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 4, p. 1017-1021, 2010.

PEMULEN. Introducing Pemulen Polymeric Emulsifiers. Technical Literature. September, Cleveland, 1999.

PEMULEN. Polymeric Emulsifiers Flexible Solutions for Enhancing the Stability of Low Viscosity Emulsions. Technical Literature. February, Cleveland, 2011.

PERIOLI, L.; PAGANO, C.; MAZZITELLI, S.; ROSSI, C.; NASTRUZZI, C. Rheological and functional characterization of new anti-inflammatory delivery systems designed for buccal administration. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 356, p. 19–28, 2008.

PESSOA, G. D. C.; ARDUIN, M.; MARTINS, M. A.; CARVALHO, J. E. U. Characterization of Açai (*E. oleracea*) Fruits and its Processing Residues. *Brazilian archives of Biology and technology*, v. 53, n. 3, p. 1451-1460, 2010.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões múltiplas O/A/O com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 2, p. 155-159, 2008.

POLONINI, H. C.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, M. A. F. Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na Prevenção do câncer de pele. *Revista de Atenção Primária à Saúde*, v. 14, n. 2, p. 216-223, 2011.

- POULOSE, S. M.; FISHER, D. R.; LARSON, J.; BIELINSKI, D. F.; RIMANDO, A. M.; CAREY, A. N.; SCHAUSS, A. G.; SHUKITT-HALE, B. Anthocyanin-rich Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Fruit Pulp Fractions Attenuate Inflammatory Stress Signaling in Mouse Brain BV-2 Microglial Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 4, p.1084–1093, 2012.
- PRESTES, P. S.; RIGON, R. B.; CORRÊA, N. M. N.; LEONARDI, G. R. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada*, v. 30, n. 1, p. 47-53, 2009.
- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. Tecnologia Farmacêutica, 5 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1995, 1437 p.
- RABELO, A. *Frutos nativos da Amazônia*. Manaus: Editora Inpa, 2012, 381 p.
- RANCAN, F.; ROSAN, S.; BOEHM, K.; FERNANDEZ, E.; HIDALGO, M. E.; QUIHOT, W.; RUBIO, C.; BOEHM, F.; PIAZENA, H.; OLTMANN, U. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 68, n. 2-3, p. 133–139, 2002.
- RAPITHIX. Rheology modifiers for personal care. Technical literature. New Jersey: Repithix™ A-60 and A-100, 2003, 8P.
- RIBEIRO C. *Cosmetologia aplicada a dermoestética*. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010, 441 p.
- RIBEIRO, C. R.; ANTUNES, L. M. G.; AISSA, A. F.; DARIAN, J. D.; DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z.; BIANCHI, M. L. P. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. *Mutation research*, v. 695, n. 1-2, p. 22-28, 2010.
- RODRIGUES, S. L.; OLIVEIRA, F. S.; ANGELIS, L. H. Certificação de cosméticos orgânicos e naturais. *Cosmetics & Toiletries*, v. 24, n. 5, p. 52-57, 2012.
- RODRIGUES, P. C.; SALKA, B. A. Seleção de emolientes. *Cosmetics & Toiletries*, v. 13, n. 3, p. 64-69, 2001.
- ROESLER, R.; LORENCINI, M.; PASTORE, G. Brazilian cerrado antioxidant sources: cytotoxicity and phototoxicity in vitro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 3, p. 814-821, 2010.
- ROSEN, C. F. Photoprotection. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, v. 18, n. 4, p. 307-314, 1999.
- RÓŻAŃSKA, S.; BRONIAK-PRESS L.; RÓŻAŃSKI, J.; MITKOWSKI, P.; OCHOWIAK, M.; WOZIWOZKI, S. Extensional viscosity and stability of oil-in-water emulsions with addition poly(ethylene oxide). *Procedia Engineering*, v. 42, p. 733 – 741, 2012.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreens: An overview and update. *Journal of American Academy of Dermatology*, v. 64, n. 4, p. 748-58, 2011.

SANFELICE, A. M.; TRUTI, M. C. T. Produtos em filme – Inovação na tecnologia de cosméticos. *Acta Scientiarum Health Sciences*, v. 32, n.1, p. 61-66, 2010.

SANGRONIS, E.; SANABRIA, N. Impact of solar dehydration on composition and antioxidant properties of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Archivos Latino americanos de nutricion*, v. 61, n. 1, p. 74-80, 2011

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, M. R. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). *Archivos latinoamericanos de nutricion*, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SANTOS, H. Emulsões Cosméticas. *Cosmetics & Toiletries*, v. 22, n. 4, p. 68-72, 2010a.

SANTOS, J. S. Antioxidantes de Origem Vegetal em Cosméticos. *Cosmetics & Toiletries*, v. 22, n. 3, p. 46- 52, 2010b.

SCHAUDER, S.; IPPEN, H. Contact and photocontact sensitivity to sunscreens. Review of a 15-year experience and of the literature. *Contact Dermatitis*, v. 37, n. 5, p. 221-232, 1997.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, H.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai). *Journal of Agricultural and Food Chemical*, v. 54, n. 22, p. 8604-8610, 2006.

SCHAUSS, A. G.; CLEWELL, U. M.; BALOGH, L.; SZAKONYI, I. P.; FINANCSEK, I. J.; HORVÁTH, J.; THUROCZY, J.; BÉRES, E.; VÉRTESI, U. M.; HIRKA, L. Safety evaluation of an acai-fortified fruit and berry functional juice beverage (MonaVie Active®). *Toxicology*, v. 278, n. 1, p. 46-54, 2010.

SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P. The ABCs of SPFs: an introduction to sun protection products. *Cosmetics & Toiletries*, v. 114, n. 9, p. 49–57, 1999.

SCOTTI, V.; VELASCO, M. V. R. Envelhecimento Cutâneo à Luz da Cosmetologia. São Paulo: Tecnopress, 2003.

SEPIGEL 305. Dossiê técnico do fabricante (Seppic) – Disponível em: <<http://www.fagron.com.br/Produtos/MateriaPrima>> Acesso em 06 de março de 2013.

SHAW, D.J. Introduction to Colloid Surface Chemistry. 4. ed., Butterworth-Heinemann: Oxford. 1992.

SILVA, V. V.; ROPKE, C. D.; ALMEIDA, R. L.; MIRANDA, D. V.; KERA, C. Z.; RIVELLI, D. P.; SAWADA, T. C. H.; BARROS, S. B. M. Chemical stability and SPF determination of *Pothomorphe umbellata* extract gel and photostability of 4-nerolidylcathecol. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 303, n. 1-2, p. 125–131, 2005.

SILVA, C. A.; PEREIRA, D. C.; MARQUES, E. D.; RAHAL, I. C. K. A.; FALCONI, K.; FAVARETTO, L.; PLENTZ, L. P.; RECHE, P. M.; RAMALHO, A. F. S.; FERRARI, M. A Ciência Cosmética como instrumento da Saúde Pública: uso correto de fotoprotetores. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 90, n. 2, p. 159-165, 2009.

SILVA, A. R.; SEIDL, C.; FURUSHO, A. S.; BOENO, M. M. S.; DIEAMANT, G. C.; WEFFORT-SANTOS, A. M. *In vitro* evaluation of the efficacy of commercial green tea extracts in UV protection. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 35, n.1, p. 69–77, 2013.

SIMOVIC, S.; TAMBURIC, S.; MILIC-ASKRABIC, J.; RAJIC, D. An investigation into interactions between polyacrylic polymers and a non-ionic surfactant: an emulsion preformulation study. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 184, n. 2, p. 207–217, 1999.

SISTO, M.; LISI, S.; D'AMORE, M.; DE LUCRO, R.; CARATI, D.; CASTELLANA, D.; LA PESA, V.; ZUCCARELLO, V.; LOFRUMENTO, D. D. Saponins from *Tribulus terrestris* L. protect human keratinocytes from UVB-induced damage. *Journal of Photochemistry and photobiology B: Biology*, v. 117, p. 193–201, 2012.

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

SOUZA, A. G. C; SOUSA, N. R; SILVA, S. E. L; NUNES, C. D. M.; CANTO, A. C.; CRUZ, L. A. A. Fruteiras da Amazônia. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. 204 p.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R. R. D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 15, n. 1, p. 36-38, 2005.

SOUZA, M. O.; SILVA, M; SILVIA, M. E.; OLIVEIRA, R. P.; PEDROSA, M. L. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. *Nutrition*, v. 26, n. 7-8, p. 804-810, 2010a.

SOUZA, P. A.; SILVA, C. G.; MACHADO, B. R. P.; LUCAS, N. C.; LEITÃO, G. G.; ELEUTHERIO, E. C. A.; ORTIZ, G. M. D.; BENCHETRIT, L. C. Evaluation of antimicrobial, antioxidant and phototoxic activities of extracts and isolated

compounds from *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, *Verbenaceae*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n. 6, p. 922-928, 2010b.

SOUZA, M. O.; SANTOS, R. C.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. Açai (*Euterpe oleraceae* Martius): chemical composition and bioactivity. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v. 36, n. 2, p. 161-169, 2011.

SOUZA, P. M.; ELIAS, S. T.; SIMEONI, L. A.; PAULA, E. J.; GOMES, S. M.; GUERRA, E. N. S.; FONSECA, Y. M.; SILVA, E. C.; SILVEIRA, D.; MAGALHÃES, P. O. Plants from Brazilian Cerrado with Potent Tyrosinase Inhibitory Activity. *PLos one*, v. 7, n. 11, p. 1-7, 2012.

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

STANILAND, P.; HEWITT, J. P. Desafio UVA: protetor solar exclusivamente inorgânico. *Cosmetics & Toiletries*, v. 23, n. 2, p. 50-56, 2011.

STAHL, W.; SIES, H. Protection against solar radiation- protective properties of antioxidants. In: GIACOMONI, P. U. Sun Protection in Man. Elsevier Science, 2001. p. 561-572.

SZÜCS, M.; SANDRI, G.; BONFERONI, M. C.; CARAMELLA, C. M.; VAGHI, P.; SZABO –REVESZ, P.; EROS, I. Mucoadhesive behaviour of emulsions containing polymeric emulsifier. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 34, n. 4-5, p. 226-235, 2008.

TADROS, Th. F. Fundamental principles of emulsion applications. *Colloids and Surfaces Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 91, p. 39-55, 1994.

TADROS, Th. F. Application of rheology for assessment and prediction of the longterm physical stability of emulsions. *Advances in Colloid Interface Science*, v. 108-109, p. 227-258, 2004.

TADROS Th. F.; VANDAMME, A.; LEVECKE, B.; BOOTEN, K.; STEVENS, C. V. Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 108 –109, p. 207–226, 2004.

TONON, R. V.; BRADET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food research international*, v. 43, n. 3, p. 907-914, 2010.

TORRES, L. G.; ITURBE, R.; SNOWDEN, M. J.; CHOWDHRY, B. Z.; LEHARNE, S.A. Preparation of o/w emulsions stabilized by solid particles and their characterization by oscillatory rheology. *Colloids and Surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 302, n. 1, p. 439-448, 2007.

VELASCO, M. V. R.; MACIEL, C. P. M.; SARRUF, F. D.; PINTO, C. A. S. O.; CONSIGLIERI, V. O.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Desenvolvimento e Teste Preliminar da Estabilidade de formulações cosméticas acrescidas de extrato comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Bentham *Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada*, v. 29, n. 2, p. 179-194, 2008a.

VELASCO, M. V. R.; SARRUF, F. D.; SALGADO-SANTOS, I. M.; HAROUTIOUNIAN-FILHO, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Broad spectrum bioactive sunscreens. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 363, n. 1-2, p. 50-57, 2008b.

VELASCO, M. V. R.; BALOGH, T. S.; PEDRIALI, C. A.; SARRUF, F. D.; PINTO, C. A. S. O.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro*) – revisão. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011.

VERTUANI, S.; BEGHELLI, E.; SCALAMBRA, E.; MALISARDI, G.; COPETTI, S.; DAL TOSO, R.; BALDISSEROTTO, A.; MANFREDINI, S. Activity and Stability Studies of Verbascoside, a Novel Antioxidant, in Dermo-Cosmetic and Pharmaceutical Topical Formulations. *Molecules*, v. 16, n. 8, p. 7068-7080, 2011.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Estudo preliminar da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 3, p. 175-179, 2008.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 2, p. 452-457, 2009.

WANG, S. Q.; OSTERWALDER, U. M. D.; JUNG, K. Ex vivo evaluation of radical sun protection factor in popular sunscreens with antioxidants. *Journal of the Academy of Dermatology*, v. 65, n. 3, p. 525-530, 2011.

WANG, W.; LI, K.; WANG, P.; HAO, S.; GONG, J. Effect of interfacial dilational rheology on the breakage of dispersed droplets in a dilute oil–water emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 441, p. 43–50, 2014.

WEN LEE- C.; KO, H-H; LIN, C-C; CHAI, C-Y.; CHEN, W-T.; YEN, F-L. Artocarpin attenuates ultraviolet B-induced skin damage in hairless mice by antioxidant and anti-inflammatory effect. *Food and Chemical Toxicology*, v. 60, p. 123–129, 2013.

WOLF, R.; WOLF, D; MORGANTI, P.; RUOCCO, V. Sunscreens. *Clinics in Dermatology*, v. 19, p. 452–459, 2001.

WÖLFLE, U.; HAARHAUS, B.; SCHEMPP, C. M. The Photoprotective and Antioxidative Properties of Luteolin are Synergistically Augmented by Tocopherol and Ubiquinone. *Planta Medica*, v. 79, p. 963–965, 2013.

XIA, L.; LENAGHAN, S. C.; ZHANG, M.; ZHANG Z.; LI Q. Naturally occurring nanoparticles from English ivy: an alternative to metal-based nanoparticles for UV protection. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 8, n. 12, p. 2-9, 2010.

XIE, C.; KANG, J.; LI, Z.; SCHAUSS, A. G.; BADGER, T. M.; NAGARAJAN, S.; WU, T.; WU, X. The açai flavonoid velutin is a potent anti-inflammatory agent: blockade of LPS-mediated TNF- α and IL-6 production through inhibiting NF- κ B activation and MAPK pathw. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 23, n. 9, p. 1184–1191, 2012.

ANEXO A



Registro: nº 123 CEP/UNIC – protocolo nº 2011-123

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/UNIC

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa: **“Desenvolvimento e Avaliação do Potencial Fotoprotetor de Emulsões Múltiplas contendo Extrato de Açaí”** do (a) pesquisador (a) **Marcio Ferrari** foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá - UNIC.

Cuiabá-MT, 26 de agosto de 2011.

Prof. Dr. Marcial Francis Galera
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
UNIC/HGU