

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

**USO DO RESÍDUO INDUSTRIAL DO SISAL (*Agave sisalana* Perrine)
EM PRODUTOS COSMÉTICOS SUSTENTÁVEIS COM ATIVIDADES
ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA**

AUTOR DISCENTE: Cláudia Cecílio Daher

ORIENTADOR: Márcio Ferrari

NATAL-RN

2022

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

**USO DO RESÍDUO INDUSTRIAL DO SISAL (*Agave sisalana* Perrine)
EM PRODUTOS COSMÉTICOS SUSTENTÁVEIS COM ATIVIDADES
ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA**

Tese apresentada à Coordenação do
Programa de Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas, como requisito do curso de
Doutorado em Ciências Farmacêuticas.

AUTOR DISCENTE: Cláudia Cecílio Daher

ORIENTADOR: Márcio Ferrari

NATAL-RN

2022

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Daher, Cláudia Cecílio.

Uso do resíduo industrial do sisal (Agave sisalana Perrine) em produtos cosméticos sustentáveis com atividades antioxidante e fotoprotetora / Cláudia Cecílio Daher. - 2023.

160f.: il.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Natal, RN, 2023.

Orientador: Márcio Ferrari.

1. Sisal - Tese. 2. Agave Sisalana - Tese. 3. Antioxidante - Tese. 4. Cosméticos - Tese. 5. Fotoproteção - Tese. I. Ferrari, Marcio. II. Título.

RN/UF/BS-CCS

CDU 633.526.2

Cláudia Cecílio Daher

**USO DO RESÍDUO INDUSTRIAL DO SISAL (*Agave sisalana*
Perrine) EM PRODUTOS COSMÉTICOS SUSTENTÁVEIS COM
ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Márcio Ferrari
Presidente – UFRN

Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho
Examinador Externo – FCFRP-USP

Prof. Dr. Gabriel Azevedo de Brito Damasceno
Examinador Externo – UFBA

Profa. Dra. Lourena Mafra Veríssimo
Examinador Interno – UFRN

Profa. Dra. Cristiane Fernandes de Assis
Examinador Interno – UFRN

Natal, 22 de julho de 2022

NATAL/RN 2022



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E
CONTRATOS

FOLHA DE ASSINATURAS

Emitido em 22/07/2022

DOCUMENTOS DE ACEITAÇÃO Nº 22/2022 - PPGCF/CCS (15.27)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 02/02/2023 10:56)

CRISTIANE FERNANDES DE ASSIS

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DFARM/CCS (15.13)

Matricula: ###786#5

(Assinado digitalmente em 02/02/2023 11:22)

LOURENA MAFRA VERISSIMO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

NUPLAM (11.50)

Matricula: ###694#5

(Assinado digitalmente em 02/02/2023 17:09)

MARCIO FERRARI

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DFARM/CCS (15.13)

Matricula: ###142#4

(Assinado digitalmente em 02/02/2023 12:05)

PEDRO ALVES DA ROCHA FILHO

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.318-##

(Assinado digitalmente em 10/02/2023 13:49)

GABRIEL AZEVEDO DE BRITO DAMASCENO

ASSINANTE

EXTERNO CPF:

###.###.984-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrn.br/documentos/> informando seu número: 22, ano: 2022, tipo:

DOCUMENTOS DE ACEITAÇÃO, data de emissão: 02/02/2023 e o código de verificação: **df56a1f255**

*Dedico esse trabalho a Luzia,
que tem me ensinado a florescer.
Gratidão eterna.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a vida vivida, aos caminhos percorridos, a proteção de Deus e Nossa Senhora e a todos os anjos que foram colocados em meu caminho.

Minha família maior: pai, mãe, irmãs, cunhados, sobrinhos; meu pequeno núcleo familiar: marido e filhos; meu orientador, mestre e exemplo de profissional e de ser humano; meus amigos e colegas do laboratório e da vida.

Agradeço ainda aqueles que se dedicaram e se dedicam a tornar o Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) de excelência.

Aos professores, colegas, alunos e ex-alunos da Universidade Potiguar (UnP) e Centro Universitário Natalense (Uniceuna).

Enfim, a todos aqueles que me fazem querer ser melhor!

Muito Obrigada!

“Para ser grande, sê inteiro: nada Teu exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes. Assim em cada lago a lua toda brilha, porque alta vive”.

(Fernando Pessoa)

RESUMO

O sisal é a principal fibra dura produzida no mundo. Na composição química do resíduo de *Agave sisalana*, são encontrados carboidratos, saponinas e compostos fenólicos, os quais são utilizados na indústria cosmética com atividades antioxidante e fotoprotetora. Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma formulação multifuncional com atividades antioxidante e fotoprotetora a partir do resíduo industrial de *A. sisalana*. Foi realizada uma extração por ultrasonicação do material vegetal sólido, variando as concentrações do agente extrator (50% etanol/água (v/v), 80% etanol/água (v/v) e 100% etanol). O extrato com maior rendimento foi caracterizado quimicamente e avaliado quanto a atividade antioxidante *in vitro*. Foram preparadas dez formulações fotoprotetoras variando as concentrações dos componentes e o tempo de cisalhamento. O extrato de *A. sisalana* na concentração de 1,0% foi incorporado às formulações mais estáveis e a estabilidade preliminar e acelerada dessas foi avaliada e as emulsões foram investigadas quanto a segurança. As formulações fotoprotetoras contendo ou não o extrato que se apresentaram estáveis após 90 dias, tiveram realizadas a determinação do Fator de Proteção Solar *in vivo*, Fator de Proteção UVA, comprimento de onda crítico, e proteção contra a luz visível e azul. A extração por ultrassom utilizando etanol/água 50% (EH 50), como veículo extrator foi a que apresentou melhor rendimento. O extrato exibiu boa concentração de compostos fenólicos e apresentou atividade antioxidante *in vitro* nas diferentes etapas da cascata oxidativa. Emulsões sem e com o extrato de *A. sisalana* 1,0% mantiveram-se estáveis durante 90 dias, apresentando comportamento reológico desejável para um cosmético de uso tópico: pseudoplástico e tixotrópico. A emulsão contendo o extrato de *A. sisalana* apresentou-se segura após os estudos clínicos. Verificou-se que a adição do extrato a formulação fotoprotetora aumentou estatisticamente o FPS quando comparada a formulação sem o extrato com proteção contra radiação UVA, comprimento de onda crítico, absorção da luz visível e azul e enquadraram-se quanto as exigências da legislação atual para protetores solares. Diante dos resultados apresentados o resíduo sólido de *A. sisalana* pode ser indicado como componente de formulações cosméticas fotoprotetoras e antioxidantes.

Palavras-Chave: Sisal; *Agave sisalana*; antioxidante; cosméticos; Fotoproteção.

ABSTRACT

Sisal is the main hard fiber produced in the world. In the chemical composition of the *Agave sisalana* residue, carbohydrates, saponins and phenolic compounds are found, which are used in the cosmetic industry with antioxidant and photoprotective activities. This work aimed to develop a multifunctional formulation with antioxidant and photoprotective activities from the industrial residue of *A. sisalana*. An ultrasonic extraction of the solid plant material was performed, varying the concentrations of the extracting agent (50% ethanol/water (v/v), 80% ethanol/water (v/v) and 100% ethanol). The extract with the highest yield was chemically characterized and evaluated for *in vitro* antioxidant activity. Ten photoprotective formulations were prepared varying the component concentrations and the shear time. The *A. sisalana* extract at a concentration of 1.0% was incorporated into the most stable formulations and their preliminary and accelerated stability was evaluated and the emulsions were investigated for safety. The photoprotective formulations containing or not the extract that were stable after 90 days, had their *in vivo* Sun Protection Factor, UVA Protection Factor, critical wavelength, and protection against visible and blue light determined. Ultrasound extraction using 50% ethanol/water (EH 50) as extractor vehicle showed the best yield. The extract exhibited a good concentration of phenolic compounds and showed *in vitro* antioxidant activity at different stages of the oxidative cascade. Emulsions without and with 1.0% *A. sisalana* extract remained stable for 90 days, presenting a desirable rheological behavior for a cosmetic for topical use: pseudoplastic and thixotropic. The emulsion containing *A. sisalana* extract proved to be safe after clinical studies. It was verified that the addition of the extract to the photoprotective formulation statistically increased the SPF when compared to the formulation without the extract with protection against UVA radiation, critical wavelength, absorption of visible and blue light and they fit in with the requirements of current legislation for sunscreens. In view of the results presented, the solid residue of *A. sisalana* can be indicated as a component of photoprotective and antioxidant cosmetic formulations.

Keywords: Sisal; *Agave sisalana*; antioxidant; cosmetics; Photoprotection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química dos fenóis.	23
Figura 2 - Estrutura química dos principais polifenóis encontrados em plantas.	24
Figura 3 - Principais estratégias de fotoproteção dos derivados fitoquímicos contra fotodanos induzidos por UV.	25
Figura 4 - Esquema das reações e respectivas enzimas (em azul) envolvidas na formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.	27
Figura 5 - Planta e Inflorescência de <i>Agave sisala</i> .	29
Figura 6 - Efeitos imunossupressores da radiação UV.	31
Figura 7 - Fotoreações e defesas ao dano solar naturais e fitoquímicas.	32
Figura 8 - Espectro de radiação solar que atinge a superfície da Terra: radiação ultravioleta UVB (200 – 320 nm) e UVA (320 – 400 nm), luz visível (400 – 750 nm), e radiação infravermelha (750 nm – 1 mm).	33
Figura 9 – Foto danos e fotoenvelhecimento provocado pelas radiações solares.	35
Figura 10 – Mecanismo de ação dos filtros solares.	37
Figura 11 - Obtenção da fibra de sisal e coleta do resíduo de <i>Agave sisalana</i> .	44
Figura 12 - Etapas da obtenção e caracterização dos extratos.	45
Figura 13 - Equipamento para determinação do fator de proteção solar <i>in vivo</i> .	64
Figura 14 - (A) Diagrama de Venn global baseado na rede molecular global em modo positivo, mostrando o total de características detectadas. (B) Diagrama de Venn baseado em metabólitos anotados.	74
Figura 15 - Rede molecular clássica: terpenóides e metabólitos O-glicosil.	75
Figura 16 - Atividade antioxidante do EH 50 nas etapas inicial (verde) intermediária (roxo) e final (vermelho) do processo oxidativo.	83

LISTA DE ILUSTRAÇÕES cont.

- Figura 17** - Comportamento pseudoplástico da emulsão E5 com o extrato de *Agave sisalana* no tempo inicial e após 90 dias em diferentes temperaturas. 92
- Figura 18** - Reograma da emulsão E5 sem o extrato de *Agave sisalana* após 24h de preparo e após 90 dias em diferentes temperaturas. 93
- Figura 19** - Reograma da emulsão E5 com o extrato de *Agave sisalana* após 24h de preparo e 90 dias em diferentes temperaturas. 93
- Figura 20** - Curva representativa da varredura do extrato de *Agave sisalana* na concentração de 10 mg/mL 99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Equipamentos utilizados no desenvolvimento do trabalho	43
Tabela 2 - Condições da extração para obtenção de polifenóis por meio da ultrasonicação.	46
Tabela 3 - Condições de gradiente da cromatografia líquida de alta eficiência.	48
Tabela 4 - Composição das emulsões fotoprotetoras estudadas (INCI NAMES).	54
Tabela 5 - Emulsões desenvolvidas variando as concentrações dos componentes e o tempo de cisalhamento.	55
Tabela 6 - Emulsões contendo ou não o EH 50 do resíduo de <i>Agave sisala</i> na concentração de 1,0% variando o polímero UltraThix™ e o tempo de cisalhamento.	56
Tabela 7 - Testes realizados para avaliar a atividade fotoprotetora das emulsões contendo ou não o extrato do resíduo de <i>A. sisalana</i> .	61
Tabela 8 - Rendimento de extração por ultrasonicação do material vegetal sólido do resíduo extraído em diferentes proporções de solventes hidroetanólicos 50%, 80% e 100%.	70
Tabela 9 – Caracterização química do extrato vegetal obtido (50%) por ultrasom.	72
Tabela 10 - Metabólitos detectados por HPLC-ESI -IT do EH 50	76
Tabela 11 - Parâmetros avaliados nas formulações preparadas, após 24 h.	85
Tabela 12 - Resultados dos testes de estabilidade preliminar das emulsões com e sem adição de extrato de <i>Agave sisalana</i> no tempo zero e após cinco dias (t0 e t5), variando o UltraThix™ e o tempo de cisalhamento.	87
Tabela 13 - Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão E5 sem extrato.	90
Tabela 14 - Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão E5 com extrato.	91
Tabela 15 - Resultados fator de proteção solar <i>in silico</i> pelo programa <i>Sunscreen Simulator</i> da Basf.	95

LISTA DE TABELAS cont.

Tabela 16 - Fator de proteção solar das emulsões fotoprotetoras sem e com o extrato de <i>A. sisalana</i>	97
Tabela 17 - Fator de proteção UVA (FPUVA) do produto de referência	100
Tabela 18 - Fator de proteção UVA (FPUVA) e comprimento de onda crítico (λ_c) da emulsão fotoprotetora sem o extrato de <i>A. sisalana</i> .	100
Tabela 19 - Fator de proteção UVA (FPUVA) e comprimento de onda crítico (λ_c) da emulsão fotoprotetora com o extrato de <i>A. sisalana</i> .	100
Tabela 20 - Absorção da emulsão fotoprotetora sem o extrato de <i>A. sisalana</i> na faixa de luz visível e luz azul.	101
Tabela 21 - Absorção da emulsão fotoprotetora com o extrato de <i>A. sisalana</i> na faixa de luz visível e luz azul.	102

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Cálculo do rendimento de extração.	46
Equação 2 – Sequestro de radicais DPPH•.	51
Equação 3 – Sequestro de radicais ABTS ⁺ .	51
Equação 4 – Quelação de íons cobre.	52
Equação 5 – Quelação de íons ferro.	52
Equação 6 – Sequestro de radical Hidroxila.	52
Equação 7 – Sequestro de radical superóxido.	54
Equação 8 – Cálculo do FPS <i>in vivo</i>	63
Equação 9 – Cálculo do FPS <i>in vitro</i>	65
Equação 10 – Cálculo do FPS <i>in vitro</i> ajustado e determinação do coeficiente de ajuste “C”	65
Equação 11 – Cálculo do FPUVA ₀ :	66
Equação 12 – Cálculo da dose UVA ‘D’ para a irradiação da amostra	66
Equação 13 – Cálculo do FPUVA após a irradiação da amostra	66
Equação 14 – Cálculo da absorbância em cada incremento do comprimento de onda (A_{λ})	67
Equação 15 – Cálculo do comprimento de onda crítico λ_c	67
Equação 16 – Cálculo da irradiância em cada comprimento de onda (400 nm a 800 nm)	69
Equação 17 – Cálculo da transmitância do produto	69
Equação 18 – Cálculo da porcentagem de absorção do produto	69

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Ácido acético
AAE	Extrato de <i>Agave angustifolia</i>
ABTS ⁺	Ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
ACN	Acetonitrila
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APO1	Apolipoproteína 1
CAT	Capacidade antioxidante total
CGEN	Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
cm	Centímetro
cm ²	Centímetro quadrado
COLIPA	Comité de Ligação das Associações Europeias da Indústria de Perfumaria e Cosmética
cP	Centipoise
Cu	Cobre
DME	Dose Mínima Eritematógena
DMSO	Dimetilssulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH•	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
E 100	Extrato etanólico 100%
EAU	Extração assistida por ultra-som
ECM	Matriz extracelular
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EH 50	Extrato hidroetanólico 50%
EH 80	Extrato hidroetanólico 80%
ERO	Espécie reativa de oxigênio
EROS	Espécies reativas de oxigênio
Fe	Ferro
GHz	Gigahertz
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Glutaciona redutase

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS cont.

GSH	Glutationa reduzida
+GSSG	Glutationa oxidada
HO •/ OH-	Radical hidroxila
HO ₂ -	HO ₂ -
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₂ O	Água
IL	Interleucina
IV	Infravermelho
J	Joule
kDa	Kilodalton
kHz	Quilo-Hertz.
MAPK	Proteína quiinase ativada por mitógenos
Mn	Manganês
m	Metro
µg	Micrograma
µM	Micrometro
µL	Mililitro
MMPs	Metaloproteinases
MS	Espectrometria de Massa
N	Índice de comportamento de fluxo
NF-kB	Fator nuclear kappa B
NOS	NO sintase
Nm	Namomêtro
NTB	Nitroblue tetrazolim
O-	Radical oxigênio
O ₂ ⁻	Íon superóxido
O/A	Óleo em água
OH	Hidroxila
ONU	Organização das Nações Unidas
ORP	Potencial de oxidação-redução

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS cont.

pH	Potencial hidrogeniônico
p/p	Peso/peso
PS	Protetor solar
RDC	Resolução da diretoria colegiada
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPM	Rotações por minuto
RUV	Radiação ultravioleta
SiO ₂	Dióxido de silício
SOD	Superóxido dismutase
™	Marca não registrada
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TR	Tempo de retenção
TrxR	Tiorredoxina redutase
Trx	Tiorredoxina
UR	Umidade relativa do ar
UV	Ultravioleta
Vis	Radiação visível
VP	Vinil pirrolidona
W	Watt
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
2.1	MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS E SUAS APLICAÇÕES COMO ATIVOS ANTIOXIDANTES E FOTOPROTETORES	22
2.2	AGAVE SISALANA	28
2.3	IMPACTO DAS RADIAÇÕES SOLARES NA PELE	31
2.4	PROTETORES SOLARES	36
3	OBJETIVOS	40
3.1	OBJETIVO GERAL	40
3.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	40
4	MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1	MATERIAIS	42
4.1.1	Matérias-primas e reagentes	42
4.1.2	Equipamentos	43
4.2	MÉTODOS	44
4.2.1	Preparação do extrato rico em polifenóis	45
4.2.2	Obtenção do extrato rico em polifenóis por ultrasonicação	45
4.2.3	Caracterização química	46
4.2.3.1	Dosagem de compostos fenólicos totais	46
4.2.3.2	Determinação de flavonoides totais	47
4.2.3.3	Análise de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência.	47
4.2.3.4	Análise qualitativa dos metabólitos secundários de <i>A. sisalana</i> por espectrometria de massas.	48
4.2.3.5	<i>Classical Molecular Networking</i>	49
4.2.4	Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antioxidante	50
4.2.4.1	Avaliação da capacidade antioxidante total (CAT)	50
4.2.4.2	Avaliação da capacidade do poder redutor	50
4.2.4.3	Avaliação da capacidade do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)	50

4.2.4.4	Sequestro do radical 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS ⁺)	51
4.2.4.5	Quelação de íons cobre (Cu ²⁺)	51
4.2.4.6	Quelação de íons ferro (Fe ²⁺)	52
4.2.4.7	Avaliação da atividade de sequestro de radical hidroxila (OH [•])	52
4.2.4.8	Sequestro de íons superóxido (O ₂ ^{•-}).	53
4.2.5	Desenvolvimento das formulações	53
4.2.5.1	Composição e método de preparo das formulações	53
4.2.5.2	Avaliação das formulações	56
4.2.5.2.1	<i>Análise macroscópica das formulações</i>	56
4.2.5.2.2	<i>Determinação do tipo de emulsão</i>	57
4.2.5.3	Estudo de estabilidade das formulações	57
4.2.5.3.1	<i>Testes preliminares de estabilidade</i>	57
4.2.5.3.2	<i>Testes de estabilidade acelerada (TEA)</i>	58
4.2.6	Estudos clínicos de segurança em produtos cosméticos.	58
4.2.6.1	Avaliação dermatológica da irritabilidade dérmica primária, acumulada e sensibilização.	58
4.2.6.2	Avaliação dermatológica do potencial de fototoxicidade e fotossensibilização.	60
4.2.7	Avaliação da atividade fotoprotetora	61
4.2.7.1	Determinação do fator de proteção solar <i>in vivo</i>	62
4.2.7.2	Determinação do fator de proteção UVA <i>in vitro</i>	64
4.2.7.3	Avaliação da absorção na faixa de Luz visível e Luz azul	68
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	70
5.1	OBTENÇÃO DO EXTRATO RICO EM POLIFENÓIS POR ULTRASONICAÇÃO	70
5.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	72
5.3	AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	78
5.4	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	84
5.4.1	Composição e método de preparo das formulações	84
5.4.2	Testes de estabilidade das formulações	86
5.5	ESTUDOS CLÍNICOS DE SEGURANÇA DA FORMULAÇÃO FOTOPROTETORA	94
5.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA	95

5.6.1	Determinação do fator de proteção solar <i>in silico</i>	95
5.6.2	Determinação do fator de proteção solar <i>in vivo</i>	96
5.6.3	Determinação do Fator de Proteção UVA <i>in vitro</i>	99
5.6.4	Avaliação da absorção na faixa de Luz visível e Luz azul	101
6	CONCLUSÕES	103
	REFERÊNCIAS	106
	APÊNDICE A	123
	ANEXO 1	129
	ANEXO 2	141
	ANEXO 3	151

1 INTRODUÇÃO

Uma fração da radiação eletromagnética emitida pelo sol está na faixa ultravioleta (UV) com comprimento de onda entre 100 nm e 400 nm. Apenas uma pequena porção deste espectro é transmitida para a superfície da Terra (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Devido ao seu potencial energético, é capaz de induzir mudanças na expressão gênica e promover o fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese (WANG *et al.*, 2016).

O câncer de pele é o mais frequente no Brasil e no mundo, e corresponde a 27% de todos os tumores malignos do país. A previsão do Instituto Nacional do Câncer é de que, o número de casos novos de câncer de pele não melanoma esperados no Brasil, para cada o triênio 2020-2022, será de 83.770 em homens e de 93.170 em mulheres. O melanoma, forma mais grave da doença é responsável por 8,5 mil casos novos no Brasil (INCA, 2022). Este número poderia ser reduzido com a adesão de diferentes medidas de fotoproteção (SBD, 2022).

Protetores solares são produtos formulados em diferentes formas farmacêuticas, para uso corporal, facial e capilar, com a finalidade de diminuir a ação da radiação UV sobre a pele e cabelos. Em sua composição são adicionados filtros solares. Atualmente, 36 filtros UV estão listados para uso, destes, 34 filtros orgânicos e dois inorgânicos (BRASIL, 2022).

Pesquisas na área cosmética têm sido realizadas com matérias-primas vegetais que possuem atividade fotoprotetora, a fim de reduzir a utilização dos filtros solares sintéticos e obter formulações seguras, eficazes e sustentáveis.

Entre as principais respostas à radiação UV, as plantas desencadeiam a biossíntese de uma série de constituintes fitoquímicos relacionados à defesa, muitos dos quais são metabólitos secundários. Polifenóis, flavonoides, terpenos, catequinas e alcaloides são exemplos destas classes de produtos naturais que apresentam atividade fotoquimiopreventiva (BALDISSEROTTO *et al.*, 2018; JENKINS, 2009; NAPAGODA *et al.*, 2016; REUTER, MERFORT, SCHEMPP, 2010).

Na área cosmética, diferentes pesquisas têm sido desenvolvidas com plantas cuja composição química apresenta compostos fenólicos, atribuindo à atividade antioxidante desses metabólitos possíveis propriedades fotoprotetoras

(CRETU; MORLOCK, 2014; DAHER *et al.*, 2014; FERNANDES, 2017; HONG *et al.*, 2012; JARZYCKA *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2016; NAPAGODA *et al.*, 2016) antioxidante e antienvhecimento (HWANG *et al.*, 2017; KANG *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2016; LIMTRAKUL, 2016).

Agave sisala Perrine, conhecida popularmente como sisal, é uma planta originária do México, adaptada na Caatinga brasileira. Essa espécie apresenta grande interesse econômico porque é considerada importante fonte de fibras utilizadas para produção de cordas e artesanatos. No entanto, apenas uma pequena proporção das folhas do sisal (4%) é usada para a obtenção de fibras, sendo 96% considerados resíduo industrial que ficam depositados nos locais de produção da planta causando danos ambientais (BARRETO *et al.*; 2017; DUNDER *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2014).

A utilização dos resíduos de sisal no Brasil ainda é pouco explorada, apesar de sua indicação como suplemento de fertilizante orgânico e alimentos para ruminantes, bem como para o fornecimento de matéria-prima para a produção de corticosteroides (SANTOS; BRANCO, 2014). Barreto e colaboradores (2017) estudaram a aplicação do resíduo industrial do sisal para o desenvolvimento de matéria-prima e formulações cosméticas com ação hidratante. Esses resultados motivaram o estudo desse resíduo no tocante à obtenção de um extrato rico em polifenóis e, devido à atividade desses metabólitos, desenvolver formulações com propriedades antioxidante e fotoprotetora.

Esta pesquisa está fundamentada: i) no uso de matéria-prima vegetal obtida a partir de um resíduo industrial; ii) na utilização de polifenóis que conhecidamente apresentam atividades antioxidante e fotoprotetora e, que quando associados aos filtros solares comumente utilizados pela indústria cosmética podem reduzir a concentração dos mesmos na formulação, minimizando o potencial fotossensibilizante dos filtros solares sintéticos e custo da formulação; iii) na diminuição do impacto ambiental com o uso do resíduo industrial do sisal; iv) na contribuição com o desenvolvimento sustentável e agregar valor à cadeia produtiva de *Agave sisalana*, e, v) nos benefícios socioeconômicos para as comunidades que cultivam esta planta.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS E SUAS APLICAÇÕES COMO ATIVOS ANTIOXIDANTES E FOTOPROTETORES

O metabolismo secundário (ou especializado) compreende produtos naturais com função de contribuir com a perpetuação da espécie e adequação da planta ao dinâmico e interativo ambiente que a cerca. Estes incluem polifenóis, saponinas, esteróides, compostos organossulfurados, vitaminas, entre outros. São importantes em todo o processo de desenvolvimento da planta e sua síntese está aumentada em condições de estresse, como as causadas por excesso de radiações solares. Grande parte desses metabólitos assumem o papel de mitigar o estresse oxidativo e os possíveis danos da radiação UV (FORNI *et al.*, 2019).

Metabólitos especializados podem interagir com a radiação solar de diferentes modos: os fenilpropanóides e seus glicosídeos e os bioflavonóides podem absorver efetivamente radiações ultravioletas A (UVA) e radiações ultravioletas B (UVB) devido à sua estrutura molecular consistindo em aromático condensado - anéis de 5 e 6 carbonos com vários grupos hidroxila (OH). Além disso, a presença de frações glicosil em metabólitos especiais favorece aumento na fotoestabilidade. Os estilbenos, catequinas, flavonóides e terpenóides protegem moléculas e estruturas da planta contra os danos de espécies reativas de oxigênio (EROs), formadas após a reação de UV com matéria orgânica em presença de oxigênio molecular (fotorreações tipo II). Os heterociclos contendo nitrogênio e os terpenóides podem usar energia da radiação UV, visível ou infravermelha para promover reações fotoquímicas, como a fotossíntese ou síntese de polímero contendo terpenóide e polifenol. Este sistema de proteção UV em plantas e organismos se assemelha à barreira fotoquímica cutânea de humanos (KOSTYUK *et al.*, 2018).

Pesquisas realizadas com diferentes espécies vegetais contendo em sua composição química compostos polifenóis, apresentaram atividades antioxidante e fotoprotetora (AGUILERA *et al.*, 2021; CRETU; MORLOCK, 2014; DAHER *et al.*, 2014; DE LIMA CHERUBIM *et al.*, 2019; FERNANDES, 2017; HONG *et al.*, 2012; HUBNER *et al.*, 2019; JARZYCKA *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2016; NAPAGODA *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Esses constituintes

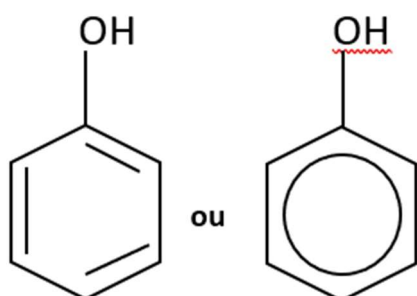
especializados são promissores como protetores solares porque podem absorver na região UVB e/ou UVA (VIOLANTE *et al.*, 2008, 2009), diminuem a inflamação, o estresse oxidativo e efeitos prejudiciais causados ao DNA das células cutâneas (DE LIMA CHERUBIM *et al.*, 2019; GIAMPIERI *et al.*, 2012; YAROVAYA *et al.*, 2021).

Os polifenóis constituem uma grande classe de fitoquímicos encontrados em plantas comestíveis e medicinais. Esses metabólitos podem ser encontrados em diferentes partes de plantas e dentre suas principais atividades biológicas tem-se a proteção contra estressores biológicos, vírus, bactérias e fungos e auxiliar no processo de adaptação à mudança de ambiente, transdução de sinal celular ou expressão gênica (RATZ-ŁYKO *et al.*, 2015).

Na literatura, podem ser encontradas diferentes classificações de grupos de polifenóis com características estruturais particulares, tais como: fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonóides, quinonas, cumarinas, lignanas, estilbenos e, taninos (ZILLICH *et al.*, 2015).

A estrutura geral dos polifenóis é representada pela presença de um anel fenólico de caráter hidrofóbico (Figura 1) e um ou mais grupos de natureza hidrofílica, o que torna possível a interação com outras biomoléculas, especialmente proteínas, através de interações como forças van der Waals, interação de ligação de hidrogênio ou dipolo-dipolo. Essa estrutura e suas propriedades físico-químicas constituem a base de sua atividade biológica na pele (DE LIMA CHERUBIM *et al.*, 2019; ZILLICH *et al.*, 2015).

Figura 1 – Estrutura química dos fenóis.

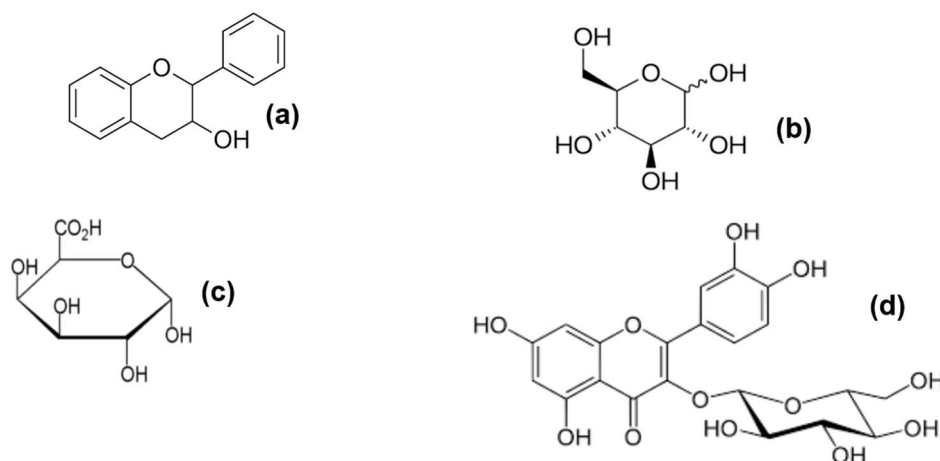


Autoria: Própria.

A presença de hidroxila, ligada ao anel aromático, age como hidrogênio ou agente doador de elétrons, cedendo-o a um radical livre ou a outras espécies reativas conferindo a esse metabólito atividade antioxidante. Além de sua capacidade antioxidante, alguns apresentam propriedades quelantes de metais como cobre e ferro (BOSCH *et al.*, 2015; RATZ-ŁYKO *et al.*, 2015). A capacidade de quelar íons metais é benéfica para a inibição dos processos inflamatórios e do funcionamento dos vasos capilares. Os polifenóis podem ainda atuar sobre as enzimas lipoxigenase, ciclooxygenase, hialuronidase, colagenase, elastase e tirosinase contribuindo para a redução das modificações na pele sob a influência de enzimas envolvidas na remodelação do tecido conjuntivo (THRING, *et al.*, 2009).

Os polifenóis podem ocorrer tanto na forma de moléculas simples tais como ácidos fenólicos, ou como compostos altamente polimerizados como os taninos. Por outro lado, grupos hidroxí e polifenóis podem ser metilados, sulfonados, acilados por ácidos arilo ou alifáticos e glicosilados por açúcares (glicose, galactose, ramnose, xilose e arabinose) e ácidos de açúcar (ácido galacturônico ou ácido glucurônico). A maioria dos polifenóis enquanto heterosídeos ocorrem na forma de beta-O-glicosídeo ou 1-6, 1-2 ou 1-4 alfa O-glicosídeos ligados ao anel aromático através do grupo OH (Figura 2) (RATZ-ŁYKO *et al.*, 2015).

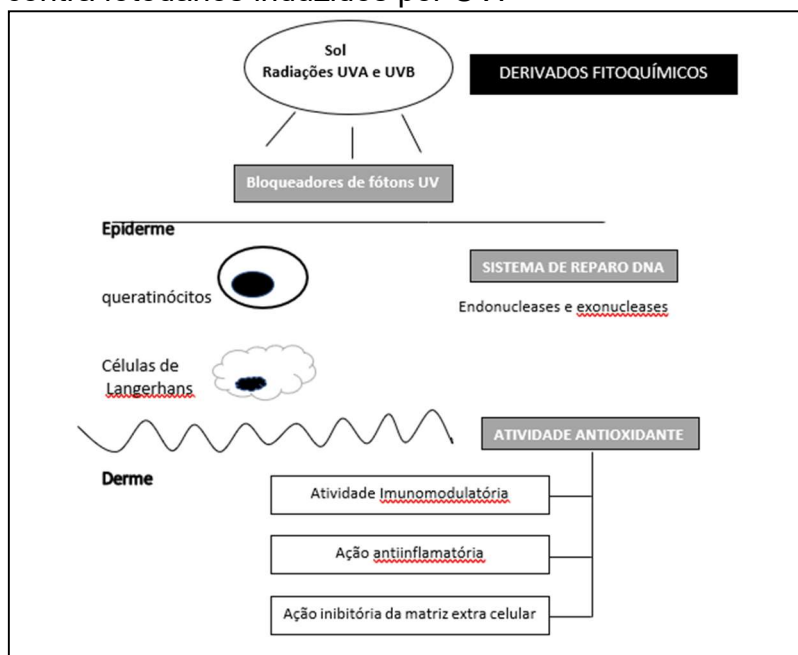
Figura 2 - Estrutura química dos principais polifenóis encontrados em plantas.



Onde: (a) Taninos; (b) Glicose; (c) Ácido galacturônico; (d) O-glicosídeo. Autoria: Própria

As moléculas contendo grupamentos polifenol podem absorver radiação UV em intervalo de 240 nm a 285 nm e de 300 nm a 550 nm. Após a absorção da energia quântica, tornam-se excitadas e ao retornarem ao estado inicial, emitem o excesso de energia sob a forma de radiação infravermelha, o que é possível devido a presença de duplas ligações que permitem o deslocamento do elétron a um menor nível de energético (VIOLANTE *et al.*, 2008, 2009). Além de fornecer um fator de proteção ao longo do espectro de UV, essas moléculas também podem apresentar atividades anti-inflamatória e de imunomodulação, reparo de DNA e, atuar como antioxidantes sobre os radicais livres (LEE; KIM; KIM, 2014; ZILLICH *et al.*, 2015) (Figura 3).

Figura 3 - Principais estratégias de fotoproteção dos derivados fitoquímicos contra fotodanos induzidos por UV.



Fonte: Adaptado de Bosch *et al.*, 2015.

Radicais livres são átomos ou moléculas produzidos durante os processos metabólicos e atuam como mediadores transferindo elétrons em várias reações bioquímicas. Essas moléculas apresentam um papel importante no metabolismo orgânico como na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. São produzidos endogenamente (através de organelas citoplasmáticas que metabolizam oxigênio, nitrogênio e cloro), ou adquiridos de forma exógena

através da radiação solar, cigarro, poluição ambiental etc. e o excesso gera o estresse oxidativo (ALVES *et al.*, 2010).

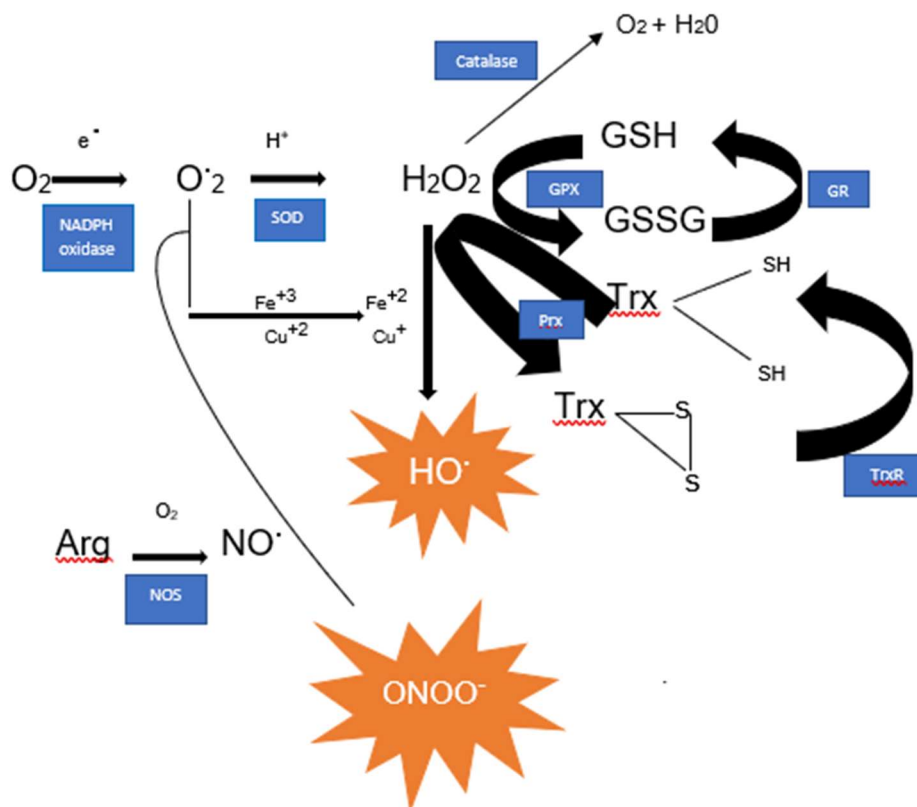
O metabolismo do oxigênio (O_2), gera a maioria dos radicais livres que são conhecidos pelo termo espécies reativas de oxigênio e encontrados em todos os sistemas biológicos (ALVES *et al.*, 2010). O excesso de radicais livres pode neutralizar a capacidade de defesa e o sistema antioxidante, prejudicando as biomoléculas essenciais na célula, oxidando lipídios de membrana, proteínas celulares, carboidratos, DNA e enzimas (FAROOQ *et al.*, 2020; PISOSCHI *et al.*, 2016).

Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, o O_2 sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de H_2O . Durante esse processo são formados intermediários reativos, como os radicais superóxido (O_2^-), hidroperoxila (HO_2) e hidroxila (OH^*), e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Normalmente, a redução completa do O_2 ocorre na mitocôndria, e a reatividade das EROs é neutralizada com a entrada dos quatro elétrons (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

A célula possui um sistema de defesa para combater os radicais livres, prevenindo ou regenerando os danos oxidativos. Esse sistema é constituído por glutathiona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathiona-peroxidase (GSH-Px), glutathiona-redutase (GSH-Rd), e vitamina E (ALVES *et al.*, 2010; MORAIS *et al.*, 2018; PISOSCHI *et al.*, 2016). Essas substâncias presentes naturalmente em nosso organismo e em alimentos são responsáveis pela proteção do mesmo contra os danos oxidativos. (CHORILLI, LEONARDI, SALGADO., 2007).

No metabolismo aeróbio a formação de uma série de reações pode resultar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (Figura 4) (BARBOSA, MEDEIROS, AUGUSTO, 2006).

Figura 4 - Esquema das reações e respectivas enzimas (em azul) envolvidas na formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.



Legenda: NOS: óxido nítrico sintase; SOD: superóxido dismutase; GPx: glutathione peroxidase; Prx: peroxirredoxinas; GR: glutathione redutase; TrxR: tioredoxina redutase; Trx: tioredoxina; GSH: glutathione reduzida; GSSG: glutathione oxidada (dímero). Fonte: Adaptado de Barbosa, Medeiros, Augusto, (2006).

Existem diversos métodos para verificar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas que avaliam a cascata oxidativa do início ao final. São eles: avaliação da capacidade antioxidante total (CAT); avaliação da capacidade do poder redutor; avaliação da capacidade do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); sequestro do radical 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) (ABTS⁺); quelação de íons cobre (Cu^{2+}); quelação de íons ferro (Fe^{2+}); avaliação da atividade de sequestro de radical hidroxila (OH^{\cdot}). Estes testes são necessários para a seleção inicial de substâncias (naturais ou sintéticas), que podem ser utilizadas no desenvolvimento de fármacos ou produtos cosméticos. Entretanto, devido aos diferentes tipos de radicais livres e as suas diversas formas de atuação nos organismos vivos, dificilmente existirá um único método para avaliar a atividade antioxidante precisa e quantitativamente de um composto (ALVES *et al.*, 2010).

Face ao exposto, é notável a capacidade dos polifenóis atuarem como antioxidantes e fotoprotetores. Dessa forma, torna-se coerente estudar espécies vegetais que apresentam em sua composição química polifenóis e, avaliar seu potencial como ingrediente com ação antioxidante e fotoprotetora.

2.2 AGAVE SISALANA

Agave sisalana é uma planta originária do México, mas no século 19 se espalhou para os países da África, Ásia, América, como, USA, Brasil, Flórida e nas Ilhas do Caribe. No Brasil, as primeiras plantações comerciais de sisal são datadas no final da década de 1930 e na década de 1960, a produção no Brasil foi acelerada e atualmente é o principal produtor mundial de fibras de sisal (SINDIFIBRAS, 2019).

O gênero *Agave* inclui 210 espécies que estão em regiões tropicais e subtropicais do mundo, principalmente em ambientes desérticos, secos e semiáridos. Apresenta-se resistente à seca e com grande potencial para uso em regiões com baixa pluviosidade (EMBRAPA, 2010).

A *Agave sisalana* Perrine ex Engelmänn pertence família Agavaceae (Asparagaceae) também é conhecida como Sisalou Sisal Hemp. Sua principal utilização consiste na extração das fibras contidas em suas folhas, dando origem à principal fibra dura produzida no mundo, contribuindo com mais da metade da produção comercial de todas as fibras desse tipo. A *Agave* é cultivada em grande escala para produção de fibras na África Oriental, Brasil, Índia e vários países da Ásia e tem grande importância não só no contexto econômico, mas também em aspecto social (BARRETO *et al.*, 2020; EMBRAPA 2010; TEWARI; TRIPATHI; ANJUM, 2014).

A. sisalana é um arbusto perene de 2 metros de altura com folhas rígidas e semelhantes a espadas que se estendem a partir da roseta basal (Figura 5 A). As folhas têm cerca de 10 centímetros de largura e até 1,5 metro de comprimento com espinha dorsal marrom afiada até o fim, e cor cinza-verde. Uma inflorescência ramificada sobrepõe-se a um talo de flor de 7 m a 9 m de altura com flores verde-amareladas de até 7 centímetros de largura (Figura 5 B). Possuem frutas e cápsula oblonga com sementes pretas. As plantas geralmente são estéreis e morrem após a primeira florada. Pequenas plântulas (bulbils)

formam-se na inflorescência que caem no chão após a floração e formam-se novas plantas. A planta tem uma vida útil de cerca de 7 a 10 anos (TEWARI; TRIPATHI; ANJUM, 2014).

Figura 5 - Planta e Inflorescência de *Agave sisala*.



Onde: **A** – Planta e **B** - Inflorescência de *Agave sisala*. Autoria: própria.

Estudos da composição química do resíduo de *A. sisalana*, apontaram a presença de diferentes carboidratos (BARRETO *et al.*, 2017; MARAN; PRIYA, 2015; SANTOS *et al.*, 2013; ZHANG; LIU; LIN, 2013; ZHANG; LIU; LIN, 2014), saponinas (RIBEIRO *et al.*, 2013) e compostos fenólicos (BARRETO *et al.* 2017; CHEN *et al.*, 2009). Esses metabólitos são de grande importância para as indústrias cosmética e farmacêutica (BARRETO *et al.*, 2017; FUTRAKUL; KANLAYAVATTANAKUL; KRISDAPHONG, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2015; ZHANG; LIU; LIN, 2013; ZHANG; LIU; LIN, 2014).

Sapogeninas esteróides como a Hecogenina, presentes nas folhas de *A. sisalana*, fornecem o material de partida na indústria farmacêutica para produção de hormônios esteroidais (CERQUEIRA *et al.*, 2012). Na China, a licogenina e a tigogenina das espécies *Agave* são usadas como precursores industriais para a síntese parcial de fármacos esteroidais (WANG *et al.*, 2014). A partir de hecogenina obtém-se a cortisona. Três saponinas esteroidais, dongnosídeos C, D e E foram isoladas e caracterizadas a partir dos resíduos fermentados secos

de suco de folhas de *A. sisalana* além de dongnosídeo B e A que também foram relatados (DING *et al.*, 1993).

A planta de sisal é geralmente constituída pela fibra e haste. A fibra é amplamente utilizada e fornece entre 4% e 5% do peso fresco, e o restante, considerado descarte, é composto principalmente de água, tecido parenquimatoso, celulose, fibras e vários compostos e componentes inorgânicos relacionados aos metabolismos primário e secundário da planta. Este material é comumente descartado nos locais de obtenção das fibras, usualmente nas fazendas que cultivam o sisal (ADE-AJAYI *et al.*, 2011; BARRETO *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2015).

Apesar de indicação de uso como suplemento de fertilizante orgânico e alimentos para ruminantes, bem como o fornecimento de matéria-prima para a produção de corticosteroides (WANG *et al.*, 2014), formação de biocompósitos poliméricos (GUAMBO *et al.*, 2020), biomateriais de sutura para a reparação de feridas (ZUCCARELLO *et al.*, 2021) e do conhecimento do seu potencial antioxidante (BARRETO *et al.*, 2020) e hidratante (BARRETO *et al.*, 2017) historicamente a utilização do resíduo de sisal ainda é pouco explorada (ADE-AJAYI *et al.*, 2011).

O sisal é uma cultura de grande importância para o semiárido brasileiro, adaptada às condições dessa região (baixo índice pluviométrico) e gerador de emprego e renda. O cultivo do sisal e a retirada das fibras ainda são arcaicos, não usam tecnologias avançadas. Somado a isso, o baixo valor pago pela fibra, o reduzido índice de aproveitamento da planta (somente 3 a 5% das folhas colhidas são convertidas em produto comercial), a concorrência com as fibras duras sintéticas, o elevado custo inicial para implantação e manutenção da lavoura e a falta de variedades mais produtivas tem colaborado para o declínio da cultura no Semiárido (FREITAS *et al.*, 2018).

Estratégias para alavancar essa produção consistem no investimento tecnológico no manejo da cultura e no aproveitamento do subproduto. Esse resíduo ainda é abundante e barato e o seu aproveitamento beneficia a indústria alimentícia, cosmética e medicamentos, além de minimizar os impactos ambientais e econômicos do seu descarte.

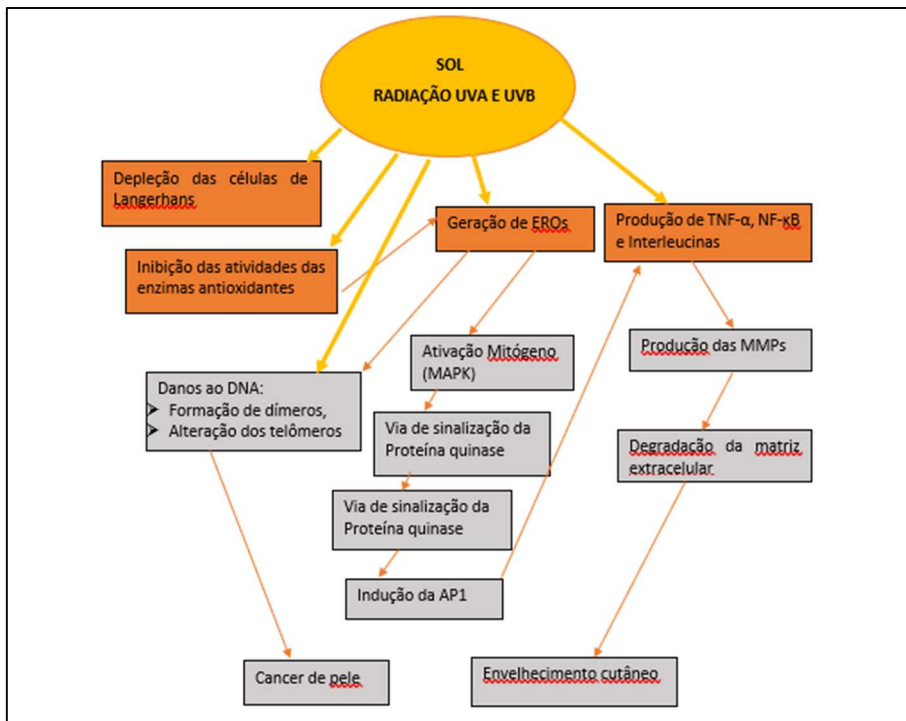
O resíduo de *A. sisala* apresenta polifenóis com comprovada atividade antioxidante (BARRETO, 2017). Portanto, esta pesquisa buscou avaliar o

resíduo das folhas do sisal com foco em uma fração rica em polifenóis para uso em formulações cosméticas com ação antioxidante e fotoprotetora.

2.3 IMPACTOS DAS RADIAÇÕES SOLARES NA PELE

As radiações UVA e UVB provocam alterações clínicas na pele como rugas, queimaduras solares, supressão imunológica, câncer e envelhecimento precoce da pele (fotoenvelhecimento). Essas radiações estimulam a produção de fator nuclear Kappa B (NF- κ B) e mediadores inflamatórios como as Interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) que promovem sinergicamente o acúmulo de EROS, aumentam a expressão de metaloproteinases da matriz (MMPs), levando ao aparecimento de eritema e edema, em resposta à inflamação. Imunossupressão generalizada que leva à carcinogênese tem sido relatada após exposições acumulativas à radiação UV (STREILEIN *et al.*, 1994) (Figura 6).

Figura 6 - Efeitos imunossupressores da radiação UV.

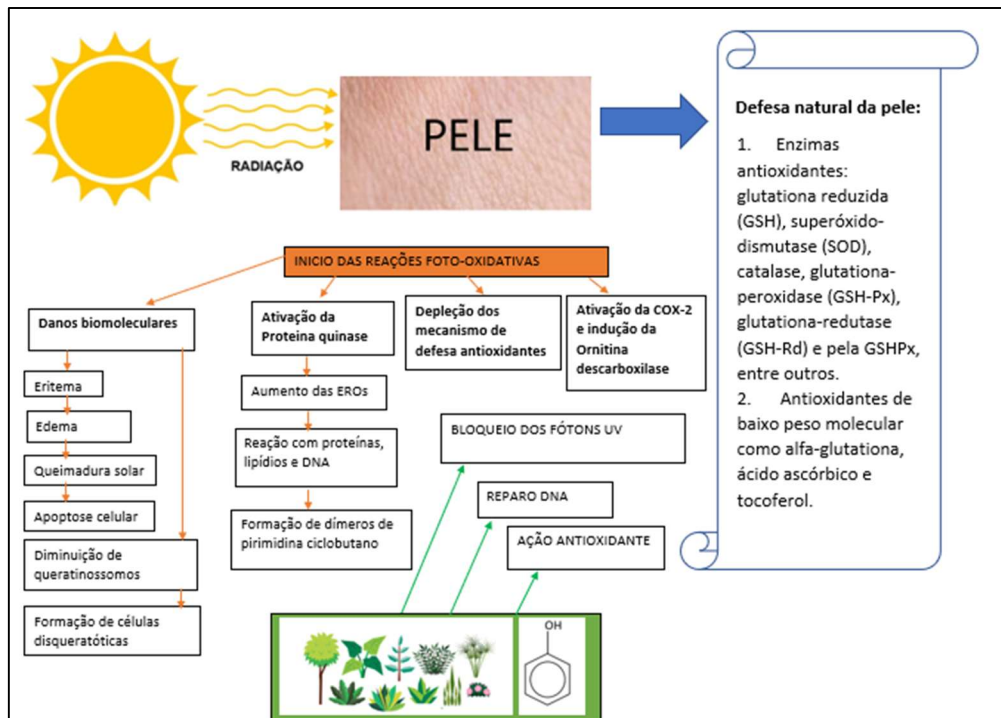


Autoria: Própria.

A radiação UVB é absorvida principalmente na epiderme, desencadeia mediadores pró-inflamatórios e estimula a expressão de MMPs que degradam a matriz extracelular (ECM) e, em última análise, resulta no envelhecimento cutâneo. A radiação UVA atinge mais intensamente a derme, gera espécies reativas de oxigênio, induz a síntese de MMPs e causa mutação de DNA mitocondrial. O excesso de radiações UV pode inibir as atividades das enzimas antioxidantes, provocar alterações nos sistemas antioxidantes de defesa e, finalmente, levar ao dano oxidativo na pele. O estresse oxidativo induzido por UV ativa a via de sinalização da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e, em seguida, induz a proteína ativadora 1 (AP-1), resultando em maior ativação de citocinas, como interleucinas e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (WANG *et al.*, 2016; VIJAYAKUMAR *et al.*, 2020) (Figura 7).

A Figura 7 ilustra os danos provocados devido a absorção das radiações ultravioletas na pele, as defesas antioxidantes naturais da pele e aquelas obtidas pelas plantas.

Figura 7 - Fotoreações e defesas ao dano solar naturais e fitoquímicas.

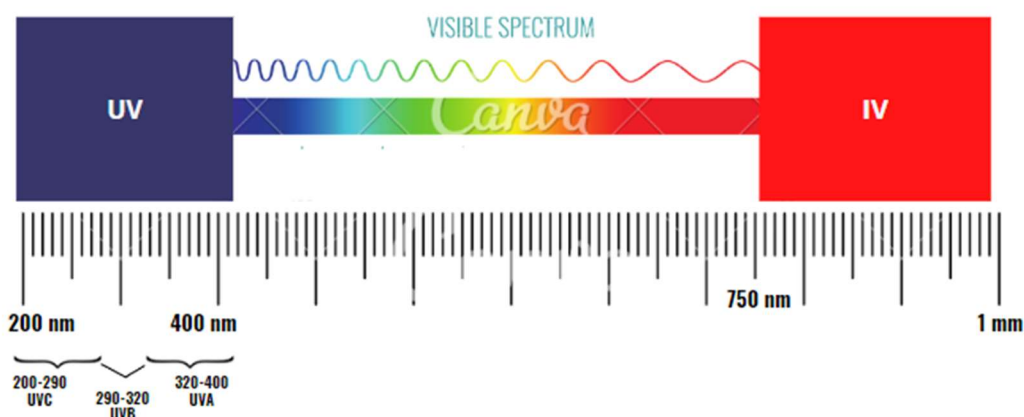


Autoria: Adaptado de Saraf; Kaur, 2010.

Até recentemente os danos causados à pele pelas radiações solares eram atribuídos quase que exclusivamente pela radiação ultravioleta. No entanto, pesquisas evidenciaram que a radiação infravermelha (IV) e a luz visível (Vis) também podem contribuir para o envelhecimento extrínseco da pele (DONG *et al.*, 2019, LIEBEL *et al.*, 2012; MANN *et al.*, 2019; NAKASHIMA; OHTA; WOLF, 2017, OPLÄNDER *et al.*, 2011, VANDERSEE *et al.*, 2015; WORTZMAN; NELSON, 2021).

A radiação infravermelha, dividida em IV-A, IV-B e IV-C, é responsável por 51% da radiação solar total que atinge a pele (Mc DANIEL *et al.*, 2015; DE ASSIS *et al.*, 2021). A radiação IV-A regula centenas de genes na pele, com função na homeostase da matriz extracelular (ECM), apoptose, crescimento celular e respostas ao estresse. As radiações IV-B e IV-C são as principais responsáveis pelo aumento da temperatura da pele associada à exposição solar, e relacionadas não somente à destruição de colágeno e elastina da pele como ao calor, que é caracterizado pelo aumento na expressão de MMP, enzimas que degrada colágeno e elastina (Mc DANIEL *et al.*, 2015).

Figura 8 - Espectro de radiação solar que atinge a superfície da Terra: radiação ultravioleta UVB (290 – 320 nm) e UVA (320 – 400 nm), luz visível (400 – 750 nm), e radiação infravermelha (750 nm – 1mm).



Autoria: Própria

O espectro visível intermediário (Vis 400-760 nm) (Figura 8) foi considerado inofensivo por muito tempo, embora este apresente uma irradiância espectral global em uma latitude de 45°N ao meio-dia solar, pico em torno de 500 nm (MANN *et al.*, 2019). É responsável por 47% da energia solar que atinge

a pele (WORTZMAN; NELSON, 2021). Algumas indicações preliminares associam a luz visível à regulação positiva da expressão de MMPs, danos ao DNA e proliferação de queratinócitos.

A luz visível pode causar ruptura da barreira da pele, inflamação e envelhecimento prematuro da pele e, a maioria dos danos ocorrem devido à exposição ao espectro de luz azul, que representa os comprimentos de onda da luz visível mais curtos e mais altos e dessa forma são capazes de penetrar profundamente na pele (WORTZMAN; NELSON, 2021). A hemoglobina e a melanina da epiderme são altamente absorventes da luz visível. A penetração máxima da luz azul é de 0,07–1,0 mm (SADOWSKA; NARBUTT; LESIAK, 2017). No entanto, a pele é exposta à luz visível durante quase todo o dia e os efeitos cumulativos dessa podem resultar em danos à pele que contribuem para o envelhecimento precoce da pele (LIEBEL *et al.*, 2012). A luz visível de alta energia, induz a hiperpigmentação, em particular em indivíduos com pele escura. Além disso, a luz visível (400-700 nm) e a radiação UVA1 (340-400 nm) atuam sinergicamente na pigmentação da pele e eritema solar (MANN *et al.*, 2019).

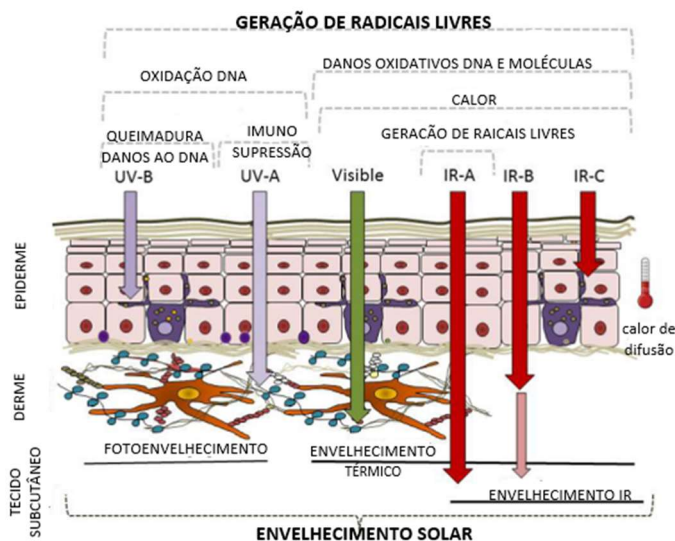
A luz azul induz um efeito anti-inflamatório e efeito antiproliferativo; assim, pode ser benéfica para doenças inflamatórias crônicas da pele como dermatite atópica, eczema e psoríase. Sabe-se ainda que tem uma ação positiva no tratamento da acne vulgar, crescimento capilar e redução do prurido. Por outro lado, existem alguns estudos indicando os efeitos negativos da luz azul, como aumento do estresse oxidativo, redução da capacidade antioxidante dos fibroblastos, dessincronização do ritmo noturno das células, e aumento da resposta inflamatória (DONG *et al.*, 2019; NAKASHIMA; OHTA; WOLF, 2017; OPLÄNDER *et al.*, 2011; SADOWSKA; NARBUTT; LESIAK, 2017; VANDERSEE *et al.*, 2015).

No interior das células da pele, a exposição à luz azul induz a formação de enzimas MMPs que degradam o colágeno. Embora os efeitos biológicos não tenham sido totalmente elucidados, o uso generalizado de dispositivos de diodo emissor de luz (LED), incluindo o uso de *smartphones*, *tablets* e computadores, têm contribuído para a exposição cumulativa e com consequências a longo prazo para a saúde dos olhos e da pele. A exposição à luz visível artificial induz substancialmente danos mitocondriais, alterações nos fibroblastos, aumento da produção de EROs, geração de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1, TNF- α) e

expressão de MMP-1 de forma dose-dependente (LIEBEL *et al.*, 2012; WORTZMAN; NELSON, 2021).

O aumento da produção de moléculas reativas e, com isso, o incremento do estresse oxidativo é resultado da incidência de todas as radiações solares na pele e está ligado aos fotodanos e ao fotoenvelhecimento (Figura 9) (MC DANIEL *et al.*, 2015).

Figura 9 – Foto danos e fotoenvelhecimento provocado pelas radiações solares.



Fonte: Adaptado de Mc Daniel *et al.*, 2015.

Dessa forma, metabólitos presentes em matérias-primas de origem vegetal podem mitigar os danos causados pelas radiações e radicais livres: inibindo reações de radicais livres induzidas por UV nas células da pele e na matriz extracelular; protegendo lipídios antioxidantes da superfície da pele, tais como alfa-tocoferol, coenzima Q10, e esqualeno; induzindo sistemas antioxidantes endógenos em queratinócitos e fibroblastos; atenuando as respostas inflamatórias em células cutâneas imunológicas (queratinócitos/leucócitos/células dendríticas); modulando o estresse metabólico e proliferativo excessivo induzido por resposta UV e, reduzindo a imunossupressão relacionada com UV (imunomodulação) (KOSTYUK *et al.*, 2018; LORIGO; CAIRRAO, 2019). No entanto, para esses biocompostos vegetais atuarem como descritos acima devem ser veiculados em formulações,

como por exemplo, formulações fotoprotetoras que tem como principal função minimizar as ações deletérias da radiação solar.

2.4 PROTETORES SOLARES

Os protetores solares ou fotoprotetores são produtos formulados a partir da associação dos filtros solares, considerados ingredientes ativos, com veículos como soluções oleosas, aerossóis, emulsões e géis. Essa associação forma diversos produtos finais, com diferentes espectros de ação contra a radiação solar, sensorial, fotoestabilidade, entre outros aspectos. O objetivo dos protetores solares é proteger contra os efeitos nocivos das radiações UVA e UVB na pele saudável. Estes devem ser aplicados antes da exposição ao sol (2 mg/cm²) e, reaplicado a cada duas horas (MANCEBO; HU; WANG, 2014; PETERSEN; WULF; 2014).

Os filtros solares são moléculas ou complexos moleculares responsáveis por promover fotoproteção contra as radiações ultravioleta dos tipos A e B e luz visível, de acordo com seus espectros de ação (MORGANROTH, LIM, BURNETT, 2013).

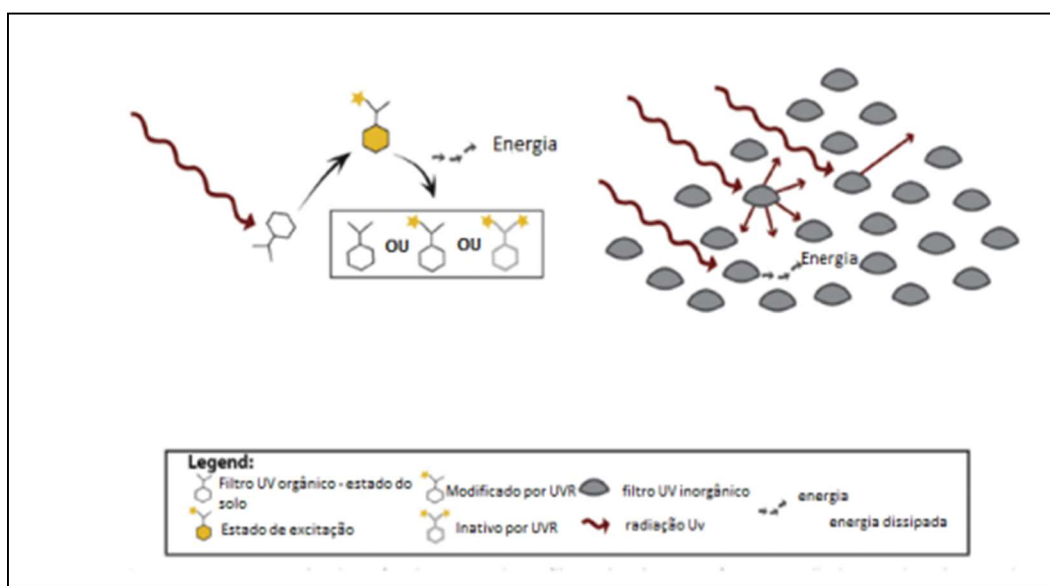
A resolução RDC N° 69, de 23 de março de 2016 (BRASIL, 2016) dispõe sobre o "REGULAMENTO TÉCNICO MERCOSUL SOBRE LISTA DE FILTROS ULTRAVIOLETAS PERMITIDOS PARA PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, COSMÉTICOS E PERFUMES", foi revogada recentemente pela RDC 600 de fevereiro de 2022 (BRASIL 2022). Na lista estão relacionados filtros solares com proteção UVA, UVB ou contra ambas as radiações que podem ser utilizados no Mercosul.

Os filtros inorgânicos, dióxido de titânio e óxido de zinco, atuam absorvendo (dependendo do tamanho da partícula), espalhando e refletindo as radiações UV. Os benefícios desses agentes incluem sua fotoestabilidade, baixa alergenicidade, e ampla proteção contra os raios UVA e UVB. O dióxido de titânio apresenta melhor proteção UVB, enquanto o óxido de zinco oferece melhor cobertura contra a UVA. Para melhorar a aceitabilidade cosmética, eles são micronizados, resultando em um produto mais transparente que apresenta boa compatibilidade com a pele (MANCEBO; HU; WANG, 2014).

Os filtros solares orgânicos representam a maior parte das moléculas utilizadas em produtos para proteção solar. Essas moléculas absorvem as radiações em um comprimento de onda e as convertem em outros menos prejudiciais ao organismo (RADICE *et al.*, 2016). Podem absorver a radiação UVA, UVB ou ambas (MANCEBO *et al.*, 2014; MORGANROTH, LIM, BURNETT, 2013).

A Figura 10 representa o mecanismo de ação dos filtros solares físicos e químicos. Filtros orgânicos absorvem energia da radiação UV, causando a excitação dos elétrons. Ao retornar ao estado fundamental, a energia é liberada na forma de calor ou luz. A transição de volta ao estado fundamental tem o potencial de causar modificações químicas, resultando em filtros que são menos eficazes na filtragem de luz UV. Filtros inorgânicos podem absorver, refletir e espalhar a luz UV.

Figura 10 - Mecanismo de ação dos filtros solares.



Fonte: Adaptado de Mancebo *et al.*, 2014

Durante e após o desenvolvimento de uma formulação fotoprotetora, diferentes metodologias *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, são utilizadas para avaliar a atividade fotoprotetora.

O método *in silico* é resultante de modelos matemáticos computacionais e tem sido utilizado como ponto de partida para o desenvolvimento de protetores solares. O FPS é obtido por meio de expressões matemáticas (OSTERWALDER,

SCHÜTZ, VOLLHARDT, 2018). Existem alguns programas disponíveis como o *Sunscreen Simulator*, BASF e o *DSM Sunscreen Optimizer*, que permitem ao formulador simular quali e quantitativamente combinações de filtros solares predizendo o provável FPS da formulação, FPUVA e comprimento de onda crítico. É um método muito utilizado no início do desenvolvimento, onde são testadas as possíveis combinações dos filtros solares antes da manipulação da formulação. Esse teste é rápido e apresenta baixo custo, reduz muito o tempo desta fase do desenvolvimento.

A determinação do FPS *in vivo* é o procedimento mais complexo e apresenta protocolos que utilizam uma luz padronizada que simula a luz solar. Recentemente tem se utilizado a ISO 24444 para avaliação do FPS *in vivo* (ISO 24444:2010; ISO 24444:2019). A Resolução – RDC 269 de 10 de março de 2022 (BRASIL, 2022) define FPS como a “razão entre a dose de ultravioleta que causa uma resposta eritematosa mínima (MED) na pele protegida e na pele desprotegida”.

Para avaliar a proteção UVA, o método de espectroscopia de refletância difusa híbrida (H-DRS), *in vivo/in vitro* utiliza a espectroscopia de refletância difusa (DRS) em que apenas a faixa UVA pode ser avaliada pois a UVB é quase que completamente absorvida pela pele e a intensidade da radiação UVB é baixa para ser medida. Portanto, deve ser combinado com uma medição de transmitância *in vitro* para extrapolar na região UVB da curva de absorção e calcular o FPS (THROM *et al.*, 2020).

Esse método consiste em avaliar a proteção UVA conferida por um produto. Por método espectrofotométrico utilizando um substrato adequado para a aplicação da amostra. O teste se fundamenta na medida de transmitância da radiação UV pela amostra que é aplicada a um substrato apropriado e com rugosidade semelhante à da pele. As amostras são expostas a níveis determinados e controlados de radiação UV por meio do uso de uma fonte de irradiação especificada pelo método da *The European Cosmetic and Perfumery Association* (COLIPA). Devido a possíveis variações de resultados interlaboratoriais é utilizado o FPS *in vivo* para o ajuste matemático dos espectros de transmissão de radiação através de um coeficiente de multiplicação C. Durante a determinação do FPUVA é realizada também a avaliação do comprimento de onda crítico. O valor do comprimento de onda crítico (λ_c) para o produto teste é

definido como aquele comprimento de onda onde a área abaixo do espectro de absorvância para o produto irradiado de 290 nm a λ_c é 90% da integral do espectro de absorvância de 290 nm a 400 nm (IPclin, 2022).

O fotoprotetores são classificados como produtos de grau 2 que devem ser registrados (BRASIL, 2012) e, portanto, para serem autorizados para comercialização necessitam apresentar para Anvisa os testes de FPS *in vivo*, determinação do nível de proteção da radiação UVA e o comprimento de onda crítico (BRASIL, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver formulações com atividades antioxidante e fotoprotetora contendo o extrato rico em polifenóis obtido do resíduo industrial de *Agave sisalana*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Obter o extrato rico em polifenóis a partir do resíduo do sisal (*Agave sisalana*);

3.2.2 Caracterizar quimicamente o extrato rico em polifenóis;

3.2.3 Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato obtido por meio de diferentes metodologias;

3.2.4 Desenvolver emulsões fotoprotetoras contendo ou não o extrato em estudo;

3.2.5 Avaliar a estabilidade preliminar e acelerada das formulações desenvolvidas;

3.2.6 Avaliar a segurança *in vivo* da formulação contendo o extrato rico em polifenóis;

3.2.7 Avaliar a eficácia fotoprotetora *in silico* da associação dos filtros solares utilizados nas formulações;

3.2.8 Avaliar a eficácia fotoprotetora *in vitro* e *in vivo* das formulações contendo ou não o extrato rico em polifenóis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Matérias-primas e reagentes

Quando aplicável, a nomenclatura dos ingredientes foi apresentada de acordo com a *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient* – INCI.

Na etapa de extração e obtenção dos extratos de *A. sisalana* foram utilizados: água destilada, álcool etílico absoluto 99,5% PA (QELL, São Paulo, Brasil),

Para a caracterização dos extratos foram utilizados: ácido sulfúrico PA (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), acetonitrila (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), D-galactose (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), ácido gálico (CAQ -Casa da Química Indústria e Comércio, São Paulo, Brasil), ácido acético (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, Brasil), reagente de *Bradford* (Bio-Rad Laboratórios do Brasil, São Paulo, Brasil), reagente de Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Alemanha), bicarbonato de sódio (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), dimetilsulfóxido – DMSO (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), solução de fenol 80% (Quimiobrás Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, Brasil), catequina, vanilina, ácido elágico, quercetina e eugenol (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA), álcool metílico (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil) .

Na avaliação da atividade antioxidante *in vitro* os seguintes reagentes foram utilizados: ácido sulfúrico PA (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), ácido acético (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda., Diadema, Brasil), Sclorato de alumínio (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), ABTS (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), persulfato de potássio P. A. (Dinâmica Química Contemporânea LTDA, Indaiatuba, Brasil), ferrocianeto de potássio (CRQ química, São Paulo, Brasil), ácido tricloroacético (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), cloreto de ferro (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), ácido ascórbico (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), *ButylHidroxiTolueno* – BHT (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo,

Brasil), fosfato de sódio (Quimiobras Indústria e Comércio Ltda – ME, Jaraguá do Sul, Brasil), molibdato de amônio (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, Brasil), violeta de piracotecol (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), sulfato de cobre II pentahidratado (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), tampão acetato de sódio (CRQ química, São Paulo, Brasil), tampão ácido acético (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, Brasil), cloreto de ferro II tetra hidratado (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), cloreto de ferro III (Dinâmica Produtos Químicos Ltda, São Paulo, Brasil), ferrozina (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), fosfato de sódio monobásico anidro (Quimiobras Indústria e Comércio Ltda – ME, Jaraguá do Sul, Brasil), fosfato de sódio dibásico diidratado (CRQ QUÍMICA, São Paulo, Brasil), salicilato de sódio (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), sulfato ferroso (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, Brasil), EDTA (Neon Comercial Ltda, São Paulo, Brasil), sulfato de ferro II (Dinâmica Produtos Químicos Ltda., São Paulo, Brasil), metionina (Dinâmica Produtos Químicos Ltda, São Paulo, Brasil) e riboflavina (Dinâmica Produtos Químicos Ltda, São Paulo, Brasil).

Para o estudo de desenvolvimento das formulações, foram utilizadas as matérias-primas listadas a seguir: Água destilada, EDTA (Neon Comercial Ltda, São Paulo, Brasil), *Sodium hydroxide*, *Acrylic Acid/vp Crosspolymer* (Ashland Inc., São Paulo, Brasil), *Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol* (Mt Arlington, NJ, EUA), *Butyl Methoxydibenzoylmethane* (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), *Octocrylene* (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), *Ethylhexyl Salicylate* (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), *Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine* (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), *Homosalate* (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), *Tridecyl Neopentanoate* (Ashland Inc., São Paulo, Brasil), *Laureth-23 (and) Glyceryl Stearate* (Ashland Inc., São Paulo, Brasil), *Tricontanyl PVP* (Ashland Inc., São Paulo, Brasil), *Dimethicone* (Jovii Cosmecêutica, Cachoeirinha, Brasil), hidróxido de sódio (Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo, Brasil), Olus 4000 (Ipel, São Paulo, Brasil)

4.1.2 – Equipamentos

Os equipamentos utilizados estão listados no Tabela 1.

Tabela 1 – Equipamentos utilizados no desenvolvimento da pesquisa

Equipamento	Marca, modelo	Cidade, Estado, País
Agitador mecânico	IKA, mod. RW 20, digital	Staufen, Baden-Württemberg, Alemanha
Balança	BEL modelo S5201	Piracicaba, São Paulo, Brasil
Balança	Shimadzu – modelo BL3200H	Quioto, Quioto, Japão
Bomba a vácuo	Prismatec, Mod.121	Piracicaba, São Paulo, Brasil
Centrífuga	Fanen, mod 206 BL	São Paulo, São Paulo, Brasil
Cromatógrafo líquido de ultra performance	Shimadzu SPD-10AV VP UV VIS Detector	Quioto, Quioto, Japão
Coluna Analítica	Shimadzu Shim-pack CLC-ODS(M)® C18	Quioto, Quioto, Japão
Detector de ultravioleta	PMA 2103 LLG SUV detector (Solar Light Co. Inc)	Philadelphia, PA, Estados Unidos
Espectrofotômetro de absorbância para microplacas	BioTek, Epoch microplate spectrophotometer.	Winooski, Vermont, Estados Unidos
Espectrofotômetro UV visível	BEL SP 1105	Piracicaba, São Paulo, Brasil
Espectroradiômetro	UV/Vis 200 nm - 800 nm OL 756 Gooch & Housego	Orlando, Flórida, Estados Unidos
Estufa	Odontobrás, modelo ECB1.1, Brasil	Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil
Dispersador	IKA ULTRA-TURRAX® T 18 basic	Staufen, Baden-Württemberg, Alemanha
Geladeira	Mabe, mod. bem460NFM2A2BR	Itu, São Paulo, Brasil
Lâmpadas de radiação ultravioleta	Phillips, 100 Watts	Amsterdam, Países Baixos.
Lavadora Ultrassônica	USC-1450	Indaiatuba, São Paulo, Brasil
Liofilizador	Christ Alpha 1-2 LD, Osterode am	Harz, Saxônia-Anhalt. Alemanha
Medidor de intensidade de radiação UV	Solarmeter®	Glenside, Pensilvânia, Estados Unidos
pHmetro	Hanna Instruments, mod HI 21	Woonsocket, Rhode Island, Estados Unidos.

Placa de polimetilmetacrilato (PMMA)	Helioplate HD6 HelioScreenLabs®	Marseille, França Provença,
Rotaevaporador	Büchi, Model V-700	Essen, Renânia do Norte-Vestfália, Alemanha
Simulador solar	Model 601 Multiport® SPF Testing 6 Output Solar Simulator (Solar Light Co. Inc)	Glenside, Pensilvânia, Estados Unidos
Simulador solar	ProLumina®	Itu, São Paulo, Brasil
Tamiz	Peneira granulométrica	Presidente Prudente, São Paulo, Brasil
Triturador	Liquidificador industrial Spolu-Benesse, Mod. SPL-049, Itajobi, Brasil	Itajobi, São Paulo, Brasil
Viscosímetro	Brookfield-modelo RV-III	Middleboro, Massachusetts, Estados Unidos

Autoria: Própria.

4.2 MÉTODOS

O resíduo foi cedido pela empresa Sisaltec- Indústria de Fibras de Sisal do RN. A coleta foi realizada na fazenda de cultivo de sisal na cidade de Pedra Grande, Rio Grande do Norte, Brasil (5°07'56.3"S 35°54'31.7"W). Uma excisada da planta foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, sob número de registro UFRN- 20544.

As figuras 11 A, B e C representam o processo de obtenção da fibra e do resíduo do sisal.

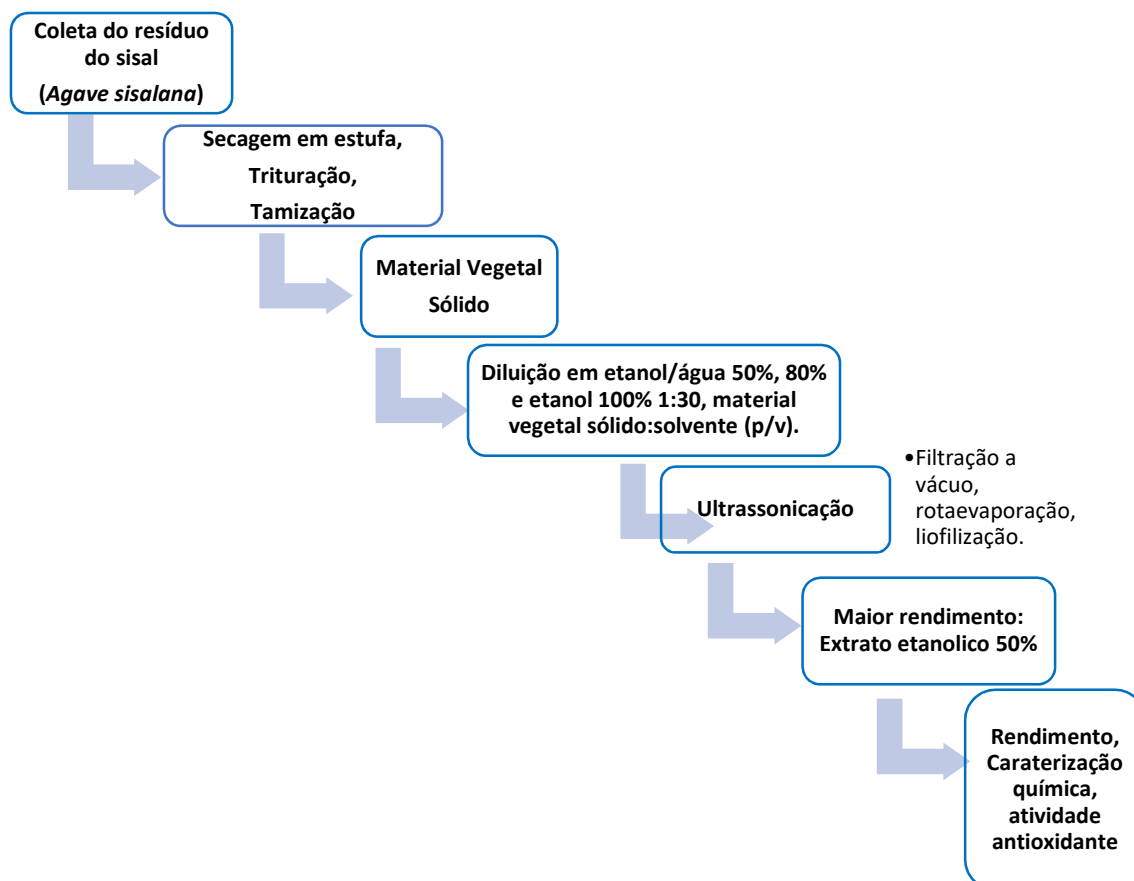
Figura 11 – Obtenção da fibra de sisal e coleta do resíduo de *Agave sisalana*.



A – Folhas de *A. sisala* e máquina de desfibramento; **B** - Fibras das folhas de *A. sisalana*.; **C** – Coleta do resíduo das folhas de *A. sisalana*. Autoria: própria

4.2.1 Preparação do extrato rico em polifenóis

Figura 12 – Etapas da obtenção e caracterização dos extratos.



4.2.2 Obtenção do extrato rico em polifenóis por ultrassonicação

O resíduo, na sua totalidade, porção sólida (denominado de material vegetal sólido) foi seco em estufa de ar circulante à 45°C, no período de 5 dias. Após secagem, o material foi triturado (triturador em facas) e tamizado em 710 µm.

Diluições da porção sólida obtidas do resíduo de *A. sisalana*, foram submetidas ao processo de extração por meio da ultrassonicação, conforme condições descritas abaixo para obtenção do extrato rico em polifenóis (Tabela 2).

Tabela 2- Condições da extração para obtenção do extrato rico em polifenóis por meio da ultrasonicação.

Variáveis	Condições
Técnica extrativa	Ultrasonicação
Frequencia	25 kHz; 2.45 GHz; Amplitude de onda: 50%
Potência	135 W
Temperatura de extração	60°C
Líquido extrator	Etanol/água destilada (v/v): diluição: 50%, 80% e etanol 100%
Proporção material vegetal/líquido extrator	1g/30 mL (Sólido/Líquido - S/L)
Tempo de extração	60 minutos

Autoria: Própria.

Os extratos obtidos pela técnica descrita acima foram denominados de EH 50; EH 80 e E 100 conforme concentração de etanol no líquido extrator. Após filtração à vácuo, as amostras foram rotaevaporadas (temperatura banho: entre 37 °C e 39 °C , rotação 4 RPM, pressão mínima: 49 mbar) até completa evaporação do etanol, liofilizadas por 48 horas e analisadas quanto ao rendimento de extração de acordo com a equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa da amostra liofilizada}}{\text{massa do material vegetal sólido}} \times 100 \quad (1)$$

4.2.3 Caracterização química

4.2.3.1 Dosagem de compostos fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais do extrato rico em polifenóis por ultrasonicação foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (DOMÍNGUEZ *et al.*, 2005). Inicialmente, uma curva do padrão de ácido gálico em DMSO foi realizada em diferentes concentrações: 1,25, 2,5, 5,0, 10,0, 20,0, 40,0, 60,0 e 80,0 µg/mL. Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços, e, em cada um foram adicionados 25,0 µL da amostra (extratos ou ácido gálico), 125,0 µL de reagente de Folin-Ciocalteu (10% v/v em H₂O) e 100,0 µL de bicarbonato de sódio

a 7,5% (p/v). Os brancos foram constituídos de 25,0 µL de DMSO e/ou do reagente Folin-Ciocalteu (125,0 µL de H₂O) na ausência das amostras. As placas foram incubadas por 40 min., protegidas da luz e em temperatura ambiente. A leitura foi realizada pelo leitor de ELISA à 765 nm. O conteúdo total de compostos fenólicos nos extratos foi expresso em miligramas equivalente do padrão ácido gálico (EAG) por grama de extrato (mg de EAG/g de extrato).

4.2.3.2 Determinação de flavonoides totais

A determinação do teor de flavonóides totais nas frações foi realizada por meio do método do cloreto de alumínio (SOUSA *et al.*, 2015). Uma curva do padrão de quercetina em DMSO foi construída em diferentes concentrações: 2,5, 5,0, 10,0, 20,0, 40,0, 60,0 e 80,0 µg /mL. Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços, e, em cada poço foram adicionados 50,0 µL de amostra (extrato ou quercetina), 160,0 µL de etanol 95% (v/v), 20,0 µL de cloreto de alumínio a 1,8% (m/v) e 20,0 µL de acetato de sódio (820,3 mg em 100,0 mL de H₂O). Os brancos foram constituídos de 50,0 µL de DMSO ou cloreto de alumínio. As placas foram incubadas por 30 min. em temperatura ambiente. A leitura foi realizada pelo leitor de ELISA à 415 nm.

4.2.3.3 Análise de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência

Os extratos foram submetidos a CLAE (utilizando o sistema cromatográfico SPD-10AV-VP, detector UV-VIS, Shimadzu), a 280 nm, conforme descrito anteriormente por Padilha *et al.* (2018). A separação foi realizada em uma coluna Shim- Pack CLC-ODS C18 (4,6 mm x 150 mm) mantida a 25°C, com fluxo de fase móvel de 0,6 mL/min. por 18 minutos. O volume de injeção foi de 10,0 µL para cada amostra. Além disso, a constituição e gradiente de móvel fase foram de acordo com a Tabela 3. Os padrões foram solubilizados em solução de ácido acético (1%, v/v) e etanol (1,5:1, v/v). As curvas de calibração foram construídas em uma faixa de concentração de 0,1-0,0005 mg/ mL de padrões de ácido gálico, catequina, ácido vanílico, ácido sirgíco, ácido elágico, vanilina, quercetina e eugenol, expressos em mg/100 g de amostra.

Tabela 3 – Condições de gradiente da cromatografia líquida de alta eficiência.

Tempo (min.)	Composição		Fluxo (mL/min.)
	Fase A (Ácido acético 1%)	Fase B (Acetonitrila)	
0:00	100	0	
5:00	70	30	
10:00	30	70	0,6
15:00	0	100	
18:00	0	100	

Autoria: Própria

4.2.3.4 Análise qualitativa dos metabólitos secundários de *A. sisalana* por espectrometria de massas

Para essa análise, o EH 50 foi diluído (25 mg/mL) e ultrafiltrado em centrífuga em 4 ciclos de 4500 rpm/ 50 min, até volume constante do filtrado, utilizando a coluna Vivaspin 20 MWCO PES 3 kDa. A separação por centrifugação foi realizada com o objetivo de separar frações com moléculas de peso molecular acima e abaixo de 3 kDa.

As análises de LC-MS foram realizadas da seguinte forma: 1,0 mg da fração contendo moléculas acima ou abaixo de 3kDa foi ressuspensa em 1,0 mL de MeOH/H₂O na proporção de 5:5 (p/v). Após a dissolução completa, as amostras foram centrifugadas. Em seguida, 1,0 µL dessas amostras foram analisadas por cromatografia líquida de espectrometria de massa-ion Trap (LC-MS-IT) usando um sistema acoplado a um espectrômetro de massa equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI) e analisador do tipo *ion TRap* (Amazon SL Bruker®). As separações cromatográficas foram obtidas usando uma coluna cromatográfica fase reversa C18 100Å (150 x 2,1 mm, 5 µm) e

mantida a 35°C. A vazão foi de 0,25 mL/min., utilizou-se gradiente de solvente com fase A (água com 0,1% de ácido fórmico) e fase B (acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico), de 5% a 100% de B em 20 min., e mantendo a 100% de B por 10 min. O modo negativo foi realizado sem ácido fórmico em ambas as fases.

Os dados de MS foram adquiridos nos modos positivo e negativo usando uma faixa de MS de m/z 50–1200. Os parâmetros MS foram estabelecidos da seguinte forma: pressão do gás nebulizador, 5,0 Bar; fluxo de gás seco, 10,0 L/min; tensão capilar, 4500 V; temperatura da fonte de íons, 300°C; aquisição de taxa de espectros, 3 espectros/s. A fragmentação Auto MS/MS foi realizada para os quatro íons mais intensos por espectro, e foi realizada aplicando uma energia de dissociação induzida por colisão de 60 eV de acordo com a massa parental. Além disso, o íon precursor foi liberado após a aquisição dos espectros MS/MS. Todos os dados de MS foram analisados com o software Bruker Compass Data Analysis 4.3 (Bruker Daltonics).

4.2.3.5 *Classical Molecular Networking*

Os dados de entrada para redes moleculares foram gerados através da conversão dos dados brutos LC-MS/MS para o formato de dados mzML usando o software *MSConvert* (www.proteowizard.sourceforge.net) e depois carregados na plataforma Web GNPS (<https://gnps.ucsd.edu>) para redes moleculares. O fluxo de trabalho de análise foi realizado com o MS-Cluster ativado. Os dados foram filtrados removendo todos os íons do fragmento MS/MS dentro de ± 17 Da do precursor m/z . A tolerância da massa do íon precursor foi ajustada para 2,0 Da e uma tolerância do íon do fragmento MS/MS de 0,5 Da. Uma rede foi então criada onde as arestas foram filtradas para ter uma pontuação de cosseno acima de 0,7 e 6 ou mais picos correspondentes. Além disso, as arestas entre dois nós foram mantidas na rede se e somente se cada um dos nós aparecesse nos respectivos top 10 nós mais semelhantes. Os espectros na rede foram então pesquisados contra as bibliotecas espectrais do GNPS. Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma maneira que os dados de entrada. Todas as correspondências mantidas entre espectros de rede e espectros de biblioteca precisavam ter uma pontuação acima de 0,7 e pelo menos 6 picos correspondentes. A rede molecular gerada foi visualizada usando *Cytoscape* 3.6.0.

O trabalho de rede molecular no GNPS pode ser encontrado para o modo positivo em <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=95119831c7b74214949d24292bd5d4a0>. A anotação estrutural *Molecular Networking* disponível na plataforma *Web Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS) foi usada para anotação de metabólitos (Wang *et al.*, 2016). Os espectros MS/MS que não foram anotados pela plataforma GNPS foram pesquisados em um banco de dados interno, construído pelos compostos previamente caracterizados e identificados na *A. sisalana*.

4.2.4 Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante dos extratos obtidos.

4.2.4.1 Avaliação da capacidade antioxidante total (CAT)

A avaliação da CAT foi realizada utilizando a metodologia padronizada por Prieto, Pineda e Aguiar (1999). Inicialmente, 500,0 µL da amostra (1,0 mg/mL) foi adicionada de 500,0 µL de solução reagente (ácido sulfúrico 0,6 M, fosfato de sódio 28,0 mM e molibdato de amônio 4,0 mM) e incubadas em banho-maria a 95 °C durante 90 min. A mistura foi deixada em repouso na temperatura ambiente e, em seguida, valores de absorbância foram mensurados espectrofotometricamente em comprimento de onda de 695 nm. O padrão utilizado foi o ácido ascórbico e a capacidade antioxidante total foi expressa em equivalentes de ácido ascórbico por massa da amostra aplicada no ensaio.

4.2.4.2 Avaliação da capacidade do poder redutor

O poder redutor foi avaliado de acordo com o método descrito por Wang e colaboradores (2008). Diferentes concentrações das amostras (0,25; 0,50; 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 mg/mL) foram solubilizadas em tampão fosfato (0,2 M, pH 6,6) e incubadas com ferrocianeto de potássio (1%) a 50°C por 20 min. A reação foi finalizada com a adição de ácido tricloroacético (10%) e posteriormente homogeneizada com água destilada (25,0 mL) e cloreto de ferro III 0,1% (25,0 mg). A absorbância foi mensurada a 700 nm. O resultado foi expresso como porcentagem de atividade correspondente a massa de ácido ascórbico.

4.2.4.3 Avaliação da capacidade do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

O potencial de sequestro de radicais foi avaliado por meio do método do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Diferentes concentrações das amostras foram avaliadas (0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 e 10,0 mg/mL). Uma solução etanólica de DPPH 0,1mM (2,0 mL) foi adicionada à 1,0 mL das amostras nas diferentes concentrações (ZHANG; LIU; LIN, 2014). Após agitação, as amostras foram mantidas a temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por um período de 30 min. e as absorbâncias foram mensuradas a 517 nm. O BHT foi utilizado como controle positivo e avaliado nas mesmas concentrações. A capacidade sequestrante foi calculada de acordo com a equação 2 e os resultados expressos em média e desvio padrão.

$$\text{Sequestro de radicais DPPH (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do branco}} \right) \right] \times 100 \quad (2)$$

4.2.4.4 Sequestro do radical 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) (ABTS⁺)

A capacidade de sequestro de radicais foi avaliada utilizando o radical ABTS⁺, segundo método descrito por Re e colaboradores (1999), com modificações. Uma solução aquosa (5,0 mL) de ABTS⁺ (7,0 mM) foi adicionada de 88,0 µL de uma solução de persulfato de potássio (140,0 mM). A mistura foi homogeneizada e armazenada ao abrigo da luz por um período de 16 horas. Em seguida, diluída com etanol até absorbância de 0,7 no comprimento de onda de 734 nm. Uma alíquota de 280,0 µL da solução de ABTS⁺ foi adicionada de 20,0 µL de diferentes concentrações das amostras (0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 e 10,0 mg/mL). A capacidade de inibição do percentual de ABTS⁺ foi calculada de acordo com a equação 3 e os resultados expressos em média e desvio padrão.

$$\text{Sequestro de radicais ABTS}^+ (\%) = \left[1 - \left(\frac{\text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do branco}} \right) \right] \times 100 \quad (3)$$

4.2.4.5 Quelação de íons cobre (Cu²⁺)

A capacidade de quelar o íon cobre (Cu^{2+}) foi avaliada por meio do método descrito por Anton (1960). Diferentes massas das amostras (0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 μg), solubilizadas em tampão acetato (pH 6,0), foram adicionadas de uma solução reagente (piracotocol 4,0 mM e sulfato de cobre) e mensuradas a 632 nm. Uma curva analítica foi construída utilizando o EDTA como padrão nas concentrações de 0,0005, 0,001, 0,0025, 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,025, 0,05, 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Os resultados foram expressos em porcentagem de quelação de cobre de acordo com a equação 4:

$$\text{Quelação de cobre (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do branco}} \right) \right] \times 100 \quad (4)$$

4.2.4.6 Quelação de íons ferro (Fe^{2+})

A capacidade das amostras em quelar o íon ferro foi avaliado espectrofotometricamente por meio do método adaptado de Decker e Welch, (1990) em um comprimento de onda de 562 nm. Diferentes massas das amostras (0,1, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 μg) foram adicionadas de uma solução reagente (FeCl_2 2,0 mM, Ferrozina 5,0 mM) incubadas em temperatura ambiente por 10 min. Uma curva analítica foi construída utilizando o EDTA como padrão nas concentrações de 0,0005, 0,001, 0,0025, 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,025, 0,05, 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Os resultados foram expressos de acordo com a equação 5:

$$\text{Quelação de ferro (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\text{absorbância da amostra}}{\text{absorbância do branco}} \right) \right] \times 100 \quad (5)$$

4.2.4.7 Avaliação da atividade de sequestro de radical hidroxila (OH^-)

O potencial de sequestro da radical hidroxila foi avaliado por meio do método adaptado de Sminorff e Cumbes (1989), fundamentado na reação de Fenton. Concentrações diferentes da amostra (0,25, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mg/mL) foram adicionados de uma solução reagente (sulfato de ferro 10,0 mM, EDTA 10,0 mM, salicilato de sódio 2,0 mM, 30% H_2O_2) incubadas a 37°C por 1 hora e mensuradas espectrofotometricamente em 510 nm. A curva analítica foi preparada de forma semelhante, a partir de uma solução de ácido gálico (10,0 mg/mL) nas concentrações de 0,025; 0,500; 1,000; 1,500 e 2,000 mg/mL . Os resultados foram expressos em percentual de sequestro de radical hidroxila conforme descrito na equação 6:

$$\text{Sequestro de radical hidroxila (\%)} = \left[\frac{\text{Abs do controle} - \text{Abs da amostra}}{\text{Abs do controle} - \text{Abs do branco}} \right] \times 100 \quad (6)$$

Onde: Abs = absorvância

4.2.4.8 Sequestro de íons superóxido (O_2^-)

Uma solução reagente contendo 50,0 nM de tampão fosfato (pH 7,8), 13,0 mM de metionina, 2,0 μ M riboflavina, 100,0 μ M EDTA, 75,0 μ M NBT foi adicionada a soluções contendo diferentes massas da amostra a ser analisada (0,1, 0,25, 0,5 e 1,0 mg). Esta mistura foi exposta a luz fluorescente em uma câmara dissipadora de luz por 10 min. para que seja produzido o azul de formazan. A absorvância foi avaliada em um comprimento de onda de 560 nm (DASGUPTA; DE, 2004). O percentual de sequestro de radicais superóxido foi obtido por meio da equação 7:

$$\text{Sequestro de radical superóxido (\%)} = \left[\frac{\text{Abs do controle} - \text{Abs da amostra}}{\text{Abs do controle} - \text{Abs do branco}} \right] \times 100 \quad (7)$$

Onde: Abs = absorvância

4.2.5 Desenvolvimento das formulações

4.2.5.1 Composição e método de preparo das formulações

Inicialmente foi realizado um levantamento dos componentes como filtros solares, agentes de consistência, emulsionantes e coadjuvantes técnicos de sete protetores solares, com indicação para corpo e/ou face, disponíveis no mercado (Apêndice A). A seleção dos filtros solares foi fundamentada nesta pesquisa e na formulação elaborada em parceria com a empresa Razzini Ltda. Foi verificado se os filtros solares químicos constavam na lista positiva de filtros solares na RDC 69 (BRASIL, 2016). As informações foram atualizadas com a RDC 600 (BRASIL, 2022) e os filtros solares permanecem nessa lista positiva. Também foi consultada a RDC 30 (BRASIL, 2012), atualizada pela RDC 629/2022 (BRASIL, 2022) que estabelece os requisitos técnicos para produtos fotoprotetores..

Com o objetivo de obter o FPS *in silico*, as concentrações de filtros solares sugeridas, foram adicionadas ao programa *Sunscreen Simulator* da BASF (BASF, 2019).

A composição da emulsão fotoprotetora está apresentada na Tabela 4. Como mencionado anteriormente, quando aplicável, a nomenclatura dos ingredientes foi apresentada de acordo com o INCI.

Tabela 4 – Composição das emulsões fotoprotetoras estudadas.

Componentes (INCI)	%
FASE A	
Aqua	q.s.p. 100,00
<i>Disodium EDTA</i>	0,10
<i>Sodium Hydroxide</i> (solução aquosa 10%)	0,16
<i>Acrylic Acid/VP Crosspolymer</i>	X*
FASE B	
<i>Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol</i>	X*
<i>Butyl Methoxydibenzoylmethane</i>	2,00
<i>Octocrylene</i>	4,00
<i>Ethylhexyl Salicylate</i>	2,50
<i>Tridecyl Neopentanoate</i>	0,60
<i>Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine</i>	2,00
<i>Homosalate</i>	9,00
<i>Laureth-23 (and) Glyceryl Stearate</i>	0,50
<i>Dimethicone</i>	0,60
<i>TriAcontanyl PVP</i>	0,60
FASE C	
<i>Sodium Hydroxide</i> (solução aquosa a 10%)	1,10
FASE D	
Olus 4000	0,60
Extrato do resíduo de <i>A. sisalana</i>	X**

X*= as concentrações foram variadas. X**= quando adicionado o extrato a concentração foi de 1%. Autoria: Própria.

A fase A foi aquecida à temperatura entre 75°C e 80°C. Em outro recipiente, aqueceu-se os ingredientes da fase B entre 80°C e 85°C. A fase B foi vertida na fase A sob o cisalhamento de 7.200 rpm a 11.200 rpm durante 5 min. ou 15 min. divididos em três etapas em cada tempo. A mistura foi neutralizada com a fase C, interrompeu-se o alto cisalhamento e manteve-se a homogeneização sob agitação mecânica a 1000 rpm, durante 5 min. ou até o arrefecimento a 40 ± 2 °C. A fase D foi adicionada à temperatura inferior a 40 °C e a formulação mantida em agitação mecânica de 1000 rpm por 5 min. Nas formulações com o extrato, este foi incorporado na fase D na concentração de 1% (p/p).

A partir dos constituintes descritos na tabela acima (Tabela 4), foram desenvolvidas 10 emulsões variando as concentrações do polímero *Acrylic Acid/VP Crosspolymer* que será denominado pelo nome comercial de - UltraThix™ e do emulsificante *Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol*, denominado de PolyAqual™ 2W e, o tempo de cisalhamento, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Emulsões desenvolvidas variando as concentrações dos componentes e o tempo de cisalhamento.

Variáveis estudadas			
Emulsão	Concentração UltraThix™ (%)	Concentração PolyAqual™ 2W (%)	Tempo de cisalhamento (min.)
E1	----	2,00	15
E2	----	3,00	15
E3	----	4,00	15
E4	----	5,00	15
E5	0,60	2,00	15
E6	0,45	2,00	15
E7	0,30	2,00	15
E8	0,60	2,00	5
E9	0,45	2,00	5
E10	0,30	2,00	5

Autoria: Própria

Submeteu-se as emulsões ao teste de centrifugação (4.2.4.3.1 a) e aquelas em que foi observada estabilidade frente a esta análise, foram submetidas aos próximos experimentos.

Foram preparadas emulsões contendo ou não 1,0% (p/p) do extrato de *A. sisalana* 50%, mantendo a mesma concentração de PolyAqualTM 2W (2%), e variando as concentrações do UltraThix™ (0,6%, 0,45% e 0,3%) e o tempo de cisalhamento (5min. e 15min.), conforme Tabela 6.

Tabela 6 – Emulsões contendo ou não o EH 50 do resíduo de *Agave sisala* na concentração de 1,0% variando o polímero UltraThix™ e o tempo de cisalhamento.

Emulsões	Extrato de Agave sisalana (%)	Concentração UltraThix™ (%)	Tempo de cisalhamento (minutos)
E5	0,0	0,60	15
E5'	1,0	0,60	15
E6	0,0	0,45	15
E6'	1,0	0,45	15
E7	0,0	0,30	15
E7'	1,0	0,30	15
E8	0,0	0,60	5
E8'	1,0	0,60	5
E9	0,0	0,45	5
E9'	1,0	0,45	5
E10	0,0	0,30	5
E10'	1,0	0,30	5

Autoria: Própria.

4.2.5.2 Avaliação das formulações

4.2.5.2.1 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).

4.2.5.2.2 Determinação do tipo de emulsão

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

4.2.5.3 Estudo de estabilidade das formulações

4.2.5.3.1 Testes preliminares de estabilidade

As amostras foram mantidas por cinco dias em estufa a 45 ± 2 °C

. As avaliações foram realizadas após 24 horas do preparo (t_0) e no quinto dia (t_5). (RIBEIRO et al., 2015). Os seguintes parâmetros foram analisados:

a) Teste de centrifugação: amostras de 10,0 g foram adicionadas em tubos cônicos e submetidas a 3000 rpm durante trinta minutos à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (ANVISA, 2004). Foram observadas as características organolépticas e processos de instabilidade, como a separação de fases, cremação e sedimentação (4.2.5.2.1). As amostras que apresentaram algum processo de instabilidade foram eliminadas do estudo (FERRARI, 1998, 2002; LIMA *et al.*, 2008; PIANOVSKI *et al.*, 2008).

b) 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 diretamente na amostra diluída (DAVIS, 1977; FERRARI, 1998, 2002; LIMA *et al.*, 2008; PIANOVSKI *et al.*, 2008).

c) Determinação da viscosidade: a determinação da viscosidade foi realizada em viscosímetro tipo cone e placa, acoplado a um *Software Rheocalc* versão V 3.01. Os parâmetros foram determinados a 25 ± 2 °C utilizando o *spindle* CP 51 ($d = 12$ mm, $\theta = 1.565^\circ$) e 0,5 g de cada amostra. Os reogramas foram obtidos com curvas ascendentes e descendentes com aumento da velocidade de rotação progressivo (1 rpm a 10 rpm) para obter-se a curva ascendente, e o procedimento foi repetido no sentido inverso com a diminuição das velocidades (10 rpm a 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). As leituras foram realizadas em triplicata para cada lote.

d) Análise estatística: Os resultados obtidos 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. A avaliação foi realizada pelo *software* estatístico GraphPad Prism 7.

4.2.5.3.2 Testes de Estabilidade Acelerada (TEA)

Foram acondicionadas trinta gramas (30,0 g) das emulsões consideradas estáveis pelos testes preliminares em potes de poliestireno e submetidas a condições variáveis de temperatura: temperatura ambiente (25 ± 2 °C); geladeira (4 ± 2 °C) e estufa (45 ± 2 °C). As leituras foram realizadas nos tempos zero (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 (4.2.5.3.1.b) e determinação da viscosidade (4.2.5.3.1 c).

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 e avaliados pelo software de modelagem estatística Jamovi 1.6.23.

4.2.6 Estudos clínicos de segurança em produtos cosméticos

4.2.6.1 Avaliação dermatológica da irritabilidade dérmica primária, acumulada e sensibilização

Foram selecionados 60 voluntários sadios seguindo critérios de inclusão: fototipos I a IV; ambos os sexos; faixa etária entre 18 e 65 anos; pele íntegra na região de estudo (região dorsal). Entre os critérios de exclusão destacam-se: dermatoses ativas (local e disseminada); gestantes ou lactantes; antecedentes de reações alérgicas, irritação ou sensações de desconforto intensas a produtos de uso tópico: cosméticos e medicamentos; participantes com histórico de alergia ao material utilizado no estudo; antecedentes de atopia; antecedentes de patologias agravadas ou desencadeadas pela radiação ultravioleta; entre outros. Os pacientes deveriam evitar medicações como: anti-inflamatórios, anti-histamínicos, imunossupressores, vitamina A ácida e derivados bem como não realizar tratamentos estéticos ou dermatológicos durante o estudo.

O produto foi aplicado sobre apósitos semi-oclusivos e esses foram colocados no dorso direito ou esquerdo dos participantes (segundo aleatorização). Foi utilizada água destilada como controle. As posições dos produtos e controle nos apósitos de cada participante foram mantidas ao longo de todo o teste.

Foi realizada avaliação médica inicial no momento da inclusão dos participantes para verificação da ausência de sinais clínicos iniciais incompatíveis com a inclusão dos participantes. Os participantes foram questionados sobre as sensações de desconforto sentidas, paralelamente ao exame clínico que incluiu a verificação de sinais clínicos como edema, eritema, pústulas, bolhas, pápulas, crostas e nódulos.

Após a avaliação médica inicial, iniciou-se a pesquisa. Foi empregado o teste de contato (*patch test*). O produto e o controle foram aplicados sob apósito semi-oclusivo no dorso dos participantes, no lado direito ou esquerdo (de acordo com a randomização). O teste de contato permaneceu na pele durante 48 horas, sendo retirado após esse tempo para leitura de sinais clínicos e questionamento das sensações de desconforto pelo médico dermatologista. Após a leitura, novo apósito foi colocado, mantendo-se os produtos na mesma posição. O teste teve duração de 6 semanas com fases de indução, descanso e desafio.

A avaliação de segurança clínica teve acompanhamento dermatológico e disponibilidade médica 24 horas para eventuais reações adversas. Esse teste foi

realizado em parceria com a empresa IPclin e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Invitare Pesquisa Clínica Auditoria e Consultoria Ltda sob o CAAE n. 63069722.2.0000.8098 (Anexo 1).

4.2.6.2 Avaliação dermatológica do potencial de fototoxicidade e fotossensibilização.

Foram selecionados 30 voluntários sadios seguindo critérios de inclusão: fototipos I a IV; ambos os sexos; faixa etária entre 18 e 65 anos; pele íntegra na região de estudo (região dorsal). Como critérios de exclusão inclui-se: marcas cutâneas na área experimental que interfiram na avaliação de possíveis reações cutâneas (distúrbios da pigmentação, malformações vasculares, cicatrizes, aumento de pilosidade, efélides e nevus em grande quantidade, queimaduras solares); dermatoses ativas (local e disseminada) que possam interferir nos resultados do estudo; gestantes ou lactantes; antecedentes de reações alérgicas, irritação ou sensações de desconforto intensas a produtos de uso tópico: cosméticos e medicamentos; antecedentes de atopia; antecedentes de patologias agravadas ou desencadeadas pela radiação ultravioleta; portadores de imunodeficiências; exposição solar intensa ou a sessão de bronzeamento até 15 dias antes da avaliação inicial; previsão de exposição solar intensa ou a sessão de bronzeamento, durante o período de condução do estudo; previsão de tomar banho de mar, piscina ou sauna durante o estudo; participantes que praticam esportes aquáticos; entre outras.

Os pacientes deveriam evitar medicações como: anti-inflamatórios, anti-histamínicos, imunossupressores, vitamina A ácida e derivados bem como não realizar tratamentos estéticos ou dermatológicos durante o estudo.

O produto foi aplicado sobre apósitos semi-oclusivos e esses colocados no dorso direito ou esquerdo dos participantes (segundo aleatorização). As posições dos produtos e controle nos apósitos de cada participante foram mantidas ao longo de todo o teste. Foi realizada avaliação médica inicial no momento da inclusão dos participantes para verificação da ausência de sinais clínicos iniciais incompatíveis com a inclusão dos participantes.

Para a realização da pesquisa, o produto e o controle foram aplicados sob apósito semi-oclusivo no dorso dos participantes, no lado direito ou esquerdo (de

acordo com a randomização). O teste de contato permaneceu na pele durante 48 horas, sendo retirado após esse tempo para irradiação da região com UVA na dose de 4 J/cm². Após irradiação, foi realizada a leitura de sinais clínicos e questionamento das sensações de desconforto pelo médico dermatologista. Então, novo apósito foi colocado, mantendo-se os produtos na mesma posição. As aplicações, leituras e irradiações foram realizadas ao longo de 6 semanas com fases de indução, descanso e desafio.

Utilizou-se um Simulador Solar constituído por lâmpadas de radiação ultravioleta de 100 Watts, com controle digital do tempo de irradiação. A radiação foi controlada por um medidor de intensidade de radiação UV. A radiação ultravioleta usada corresponde aproximadamente a uma hora de exposição solar, ao meio-dia de um dia típico ensolarado de janeiro. A dose de radiação UVA adotada foi de 4 J/cm². A intensidade de radiação medida da lâmpada foi de 10 mW/cm². Portanto, o tempo de exposição foi de 6 min 40 s. Esse teste foi realizado em parceria com a empresa IPclin e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Invitare Pesquisa Clínica Auditoria e Consultoria Ltda sob o CAAE n. 63070422.0.0000.8098 (Anexo 2).

4.2.7 Avaliação da atividade fotoprotetora

As avaliações da atividade fotoprotetora das formulações contendo ou não o extrato do resíduo de *A. sisalana* estão mencionadas na tabela 7.

Tabela 7 - Testes realizados para avaliar a atividade fotoprotetora das emulsões contendo ou não o extrato do resíduo de *A. sisalana*.

Parâmetro avaliado	TIPO	Proteção solar esperada	Metodologia
Determinação FPS	<i>In silico</i>		<i>Sunscreen Simulator da Basf</i>
Determinação FPS	<i>In vivo</i>	30	ISO 24444:2019
Determinação FPUVA	<i>In vitro</i>	Mínimo 1/3 do FPS de rótulo	ISO 24443:2012

Determinação do comprimento de onda crítico	<i>In vitro</i>	Mínimo 370 nm	ISO 24443:2012
Absorção na faixa da luz visível	<i>In vitro</i>		ISO 24443:2012
Absorção na faixa da luz azul	<i>In vitro</i>		ISO 24443:2012

Autoria: Própria

4.2.7.1 Determinação do fator de proteção solar *in vivo*

O fator de proteção solar (FPS) foi determinado de acordo com o protocolo da norma ISO 24444:2019 – *Cosmetics — Sun protection test methods — In vivo determination of the sun protection factor (SPF)*. O teste *in vivo* foi realizado em parceria com a empresa IPclin (Vinhedo, SP), aprovado Comitê de Ética em Pesquisa da Invitare Pesquisa Clínica Auditoria e Consultoria Ltda sob o CAAE n.63109522.9.0000.8098 (Anexo 3).

Utilizou-se como critérios de inclusão para esse estudo pacientes com idade entre 18 até 65 anos; fototipos: I a III; sexo masculino e feminino; ângulo tipológico individual (ITA^o) maior que 28^o - determinado por colorimetria (escala Fitzpatrick). Como critérios de exclusão distúrbios da pigmentação, malformações vasculares, cicatrizes, aumento de pilosidade, efélides e nevus em grande quantidade, queimaduras solares; gestantes ou lactantes; antecedentes de reações alérgicas, antecedentes de patologias agravadas ou desencadeadas pela radiação ultravioleta; portadores de imunodeficiências; transplantados renais, cardíacos ou hepáticos; exposição solar intensa ou a sessão de bronzamento até 15 dias antes da avaliação inicial; previsão de tomar banho de mar, piscina ou sauna durante o estudo; uso de imunossupressores, anti-histamínicos, anti-inflamatórios não hormonais, e corticoides até duas semanas antes da seleção, entre outros.

Participaram do estudo 10 voluntários do sexo feminino com idades entre 21 e 54 anos e fototipos I a III.

Como fonte de radiação ultravioleta para irradiação dos voluntários foi utilizado o simulador solar com lâmpada de arco de xenônio de 300 W utilizando-se o PMA 2103 SUV LLG como detector de ultravioleta eritema-efetivo, para ajuste de potência antes de cada radiação.

A dose eritemática mínima (MED) de cada participante foi determinada por uma sequência de exposição à luz ultravioleta, com intensidade (MED/minuto) aumentada em progressão geométrica, sendo cada exposição graduada com aumento de 12% em relação à anterior (1,12ⁿ). Após 16-24 horas da irradiação foi feito o exame dermatológico local para verificação dos pontos com aparecimento de eritema.

Após a determinação da MED, fez-se a determinação do FPS estático (seco). No dorso (região infra-escapular) de cada participante foram demarcados com caneta cirúrgica retângulos de 5,0 x 7,0 cm (35 cm²), chamados de sítios. Os sítios foram limpos com algodão seco. Nos sítios demarcados foram aplicados 2 mg/cm² das amostras em avaliação ou do produto padrão, espalhando-os homogeneamente com dedo envolto numa dedeira. Após a aplicação, os participantes aguardaram 15 minutos para a secagem. Após a secagem foi feita a irradiação do sítio, considerando o tempo definido da MED individual e o FPS esperado do produto. 16-24 horas após a irradiação foi feito o exame dermatológico local para a determinação do FPS.

O valor do FPS é definido pela razão entre o tempo necessário para produzir uma MED na pele protegida com produto contendo filtro solar (MED_p) e o tempo necessário para produzir uma MED na pele não protegida (MED_u). Assim, o FPS é calculado pela Equação 8:

$$FPS = \frac{MED_p \text{ pele protegida}}{MED_u \text{ pele não protegida}} \quad (8)$$

Para cada participante foi calculado o valor do FPS. Para o painel de participantes foi calculado o FPS médio, o desvio padrão e o limite inferior do intervalo de confiança 95%.

Figura 13 – Equipamento para determinação do fator de proteção solar *in vivo*



Fonte: IPclin (<https://www.grupoipclin.com.br/pt-br/servicos/clinicos-in-vivo>)

4.2.7.2 Determinação do Fator de Proteção UVA *in vitro*

A determinação do Fator de Proteção UVA (FPUVA), por meio de método espectrofotométrico, foi descrita inicialmente por B. L. Diffey e J. Robson e modificada e adaptada pela COLIPA. O protocolo foi fundamentado na norma ISO 24443:2012 - *Determination of sunscreen UVA photoprotection in vitro*.

Para este método, placas de PMMA (poli-meta-acrilato de metila HD6 - Helioplate) com um lado do substrato texturizado foram utilizadas. O produto foi aplicado no substrato uniformemente distribuídas ao longo da placa, na razão de 1,3 mg/cm². Em seguida, espalhado de modo padronizado com dedo protegido por dedeira de látex descartável até obtenção de filme uniforme. A amostra foi, então, submetida à secagem em temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos no escuro antes da realização da leitura. Uma placa de PMMA com 5,0mg de glicerina espalhada foi utilizada para o registro da linha de base do espectrofotômetro.

Pré-irradiação das placas:

Uma dose única de irradiação foi calculada a partir do valor de $FPUVA_0$. As amostras foram mantidas abaixo de 40°C durante a exposição à radiação UV.

Cálculos:

A) *Cálculo do FPS in vitro* (equação 9):

$$FPS_{in vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E_{\lambda} \times I_{\lambda} \times d_{\lambda}}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E_{\lambda} \times I_{\lambda} \times 10^{-A_{0\lambda}} \times d_{\lambda}}$$

(9)

Onde:

- $E(\lambda)$ = Espectro de ação para o eritema CIE 1987
- $I(\lambda)$ = Espectro de irradiância da fonte UV
- $A_0(\lambda)$ = Absorbância monocromática média do produto em teste antes da exposição
- $UV d\lambda$ = Variação no comprimento de onda (1 nm)

B) *Cálculo do FPS in vitro ajustado e determinação do coeficiente de ajuste "C"*:

"C" é o coeficiente de ajuste (equação 10) utilizado para ajustar o valor de FPS *in vitro* com o FPS do produto determinado *in vivo* (rotulado). É recomendado que "C" esteja entre 0,8 e 1,2.

$$FPS_{in vitro,aj} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E_{\lambda} \times I_{\lambda} \times d_{\lambda}}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E_{\lambda} \times I_{\lambda} \times 10^{-A_{0\lambda} \times C} \times d_{\lambda}} = FPS_{in vivo}$$

(10)

C) *Cálculo do FPUVA₀*: FPUVA₀ é calculado para cada placa de PMMA individualmente de acordo com a seguinte equação (11):

$$FP - UVA_0 = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P_{\lambda} \times I_{\lambda} \times d_{\lambda}}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P_{\lambda} \times I_{\lambda} \times 10^{-A_{0\lambda} \times C} \times d_{\lambda}} \quad (11)$$

Onde:

- $P(\lambda)$ = Espectro de ação para o PPD.

D) *Cálculo da dose UVA 'D' para a irradiação da amostra*

A dose UVA única "D" é deduzida do valor de FPUVA₀. A dose unitária D₀ foi definida experimentalmente para se obter boa correlação entre o FPUVA *in vivo* e o FPUVA *in vitro*. De acordo com o método COLIPA D₀ = 1,2 J.cm⁻² (Equação 12):

$$D = FPUVA_0 \times D_0 \text{ J/cm}^2 \quad (12)$$

E) *Cálculo do FPUVA após a irradiação da amostra*: O FPUVA *in vitro* é calculado usando a equação abaixo (13):

$$FP - UVA = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P_{\lambda} \times I_{\lambda} \times d_{\lambda}}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P_{\lambda} \times I_{\lambda} \times 10^{-A_{\lambda} \times C} \times d_{\lambda}} \quad (13)$$

Onde:

- $A(\lambda)$ é a absorvância monocromática média do produto em teste após a exposição UV.

Cada placa de PMMA foi lida em diferentes sítios a fim de assegurar que pelo menos 2 cm² fossem medidos.

O FPUVA₀ ou FPUVA de uma placa é calculado através da absorvância média de todos os sítios de uma mesma placa de PMMA. Se o coeficiente de

variação para a absorvância entre os diferentes sítios excedesse 50%, esta placa foi rejeitada e uma nova placa preparada.

O FPUVA₀ ou FPUVA do produto é a média dos FPUVA₀ ou FPUVA de pelo menos 3 placas individuais. Se os coeficientes de variação entre os FPUVA₀ ou FPUVA das placas individuais excedessem 20% então novas placas eram preparadas até que o critério para o coeficiente de variação fosse alcançado.

E) *Cálculo do comprimento de onda crítico*

Uma série de valores de absorvância (dependente do incremento do comprimento de onda) são calculados para cada uma das três placas, separadamente, nas quais o produto teste foi aplicado. A absorvância em cada incremento do comprimento de onda ($A\lambda$) é calculada da seguinte forma (Equação 14):

$$A(\lambda) = \log(C(\lambda)/P(\lambda)) \quad (14)$$

Onde:

- $C(\lambda) = n C(\lambda)[1] * C(\lambda)[2] * \dots * C(\lambda)[n]$
- $P(\lambda) = n P(\lambda)[1] * P(\lambda)[2] * \dots * P(\lambda)[n]$
- $C(\lambda) [n]$ = Média aritmética das medidas de transmissão tomadas como n pontos de medida e o comprimento de onda λ da amostra de referência (Placa de PMMA rugosa e tratada com glicerina)
- $P(\lambda) [n]$ = Média aritmética das medidas de transmissão tomadas como n pontos de medida e o comprimento de onda λ da amostra tratada com o protetor solar (na placa de PMMA rugosa)

O Comprimento de onda crítico λ_c é calculado para cada placa irradiada (Equação 15):

$$\int_{290}^{\lambda_c} A(\lambda).d(\lambda) = 0,9 \int_{290}^{400} A(\lambda) * d(\lambda) \quad (15)$$

O valor do comprimento de onda crítico final para cada produto teste é a média dos valores de cada placa de PMMA irradiada e tratada com o produto.

Os testes para determinação do Fator de Proteção UVA *in vitro* e comprimento de onda crítico descritos acima foram realizados em parceria com a empresa IPclin (Vinhedo, SP).

4.2.7.3 Avaliação da absorção na faixa de Luz visível e Luz azul

Neste estudo foi utilizado o espectroradiômetro com esfera de integração para leitura das amostras nas faixas de 400 nm a 800 nm (luz visível) e de 400 nm a 500 nm (luz azul). O substrato utilizado na análise foram as placas de polimetilmetacrilato (PMMA), apresentando em uma de suas superfícies rugosidade padronizada de 6 μm .

O produto foi aplicado no substrato uniformemente e distribuído ao longo da placa (1,3 mg/cm²). Em seguida, o produto foi espalhado de modo padronizado com dedo protegido por dedeira de látex descartável até obtenção de filme uniforme. A amostra foi submetida à secagem em temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos no escuro antes da realização da leitura. Encerrado o período de repouso, as placas foram inseridas no equipamento de espectrofotometria para as leituras. Em cada placa foram feitas leituras em cinco diferentes pontos.

Uma placa de PMMA “branco” (sem aplicação de amostra) foi posicionada sobre a esfera de integração do espectroradiômetro e foi obtida a irradiância espectral da fonte de luz visível (Suntest CPS+) na faixa de 400 nm a 800 nm em triplicata, de modo que toda a luz incidente no detector fosse a transmitida pela placa “branco”.

As três placas com o produto aplicado foram posicionadas sobre a esfera de integração do espectroradiômetro para obtenção da irradiância espectral da fonte de luz visível na faixa de 400nm a 800nm em triplicata, de modo que toda a luz incidente no detector fosse a transmitida pelas placas com produto.

Primeiramente calculou-se a irradiância total emitida pela fonte de luz que incidiu através da placa “branco” (sem aplicação de amostra). Os valores de irradiância em cada comprimento de onda (400 nm a 800 nm) foram integrados conforme a Equação 16. A irradiância total emitida através das placas com produto foi igualmente determinada utilizando a Equação 16.

$$E_t = \sum_{\lambda=400}^{\lambda=799} \frac{E_{\lambda} \times E_{\lambda+1}}{2}$$

(16)

Onde:

- E_t = Irradiância total
- E_{λ} = Irradiância no comprimento de onda λ

A transmitância do produto (quantidade percentual de luz que é transmitida pelo produto aplicado na placa) foi então calculada através da Equação 17.

$$T = \frac{E_t \text{ produto}}{E_t \text{ branco}} \quad (17)$$

Onde:

- T = transmitância
- E_t produto = Irradiância total obtida através da placa com produto
- E_t branco = Irradiância total obtida através da placa em branco

A porcentagem de absorção do produto (quantidade de luz que é absorvida pelo produto aplicado na placa) foi calculada de acordo com a Equação 18.

$$\%A = 100\% - T \quad (18)$$

Onde:

- T = transmitância
- $\%A$ = porcentagem de absorção do produto.

Os mesmos cálculos mencionados acima foram realizados na faixa de luz azul (400 nm a 500 nm). Os testes de absorção na faixa de luz visível e luz azul foram realizados em parceria com a empresa IPclin (Vinhedo, SP).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO RICO EM POLIFENÓIS POR ULTRASONICAÇÃO

Foi realizado um estudo utilizando a ultrasonicação como metodologia extrativa. Essa metodologia foi escolhida por minimizar o tempo de extração, aumentar a estabilidade e diminuir a degradação dos compostos em comparação com a extração convencional como a maceração (AGUILAR-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019). Além disso é possível mitigar o uso de solventes e poluentes e, tem sido amplamente descrita na literatura a fim de otimizar a extração de polifenóis (AGUILAR-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019; ANAYA-ESPARZA *et al.*, 2018; ARTEAGA-CRESPO *et al.*, 2020; BARBA *et al.*, 2020; FERNÁNDEZ-BARBERO *et al.*, 2019; HOU *et al.*, 2019; JHA; DAS; DEKA, 2017; KAL TSA *et al.*, 2020; UMMAT *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2019).

Para essa metodologia foi utilizado como substrato o material vegetal sólido para obtenção do extrato rico em polifenóis. Como líquido extrator a mistura do etanol e água destilada em diferentes proporções 50%, 80% e etanol 100% (v/v). Os extratos obtidos apresentaram-se na forma de pó, coloração amarelo esverdeado e odor característico da planta. O resultado do rendimento de extração está apresentado na tabela 8, expresso considerando 10,0g de material sólido do resíduo do sisal, seco em estufa de ar circulante e a massa do extrato obtida após a liofilização.

Tabela 8 - Rendimento de extração por ultrasonicação do material vegetal sólido do resíduo extraído em diferentes proporções de solventes hidroetanólicos (50%, 80%) e 100% de etanol.

	EH 50% (v/v)	EH 80% (v/v)	E 100%
Rendimento extração (m/m)	35,40%	2,15%	1,98%

Legenda: Autoria: Própria.

Tradicionalmente, os compostos fenólicos podem ser extraídos por métodos convencionais como extração com agitação, maceração, prensagem a frio, hidrodestilação etc. No entanto, a maioria dessas técnicas é fundamentada no poder de extração de diferentes solventes, juntamente com a aplicação de calor e longos tempos de extração. Essas abordagens podem causar perda de conteúdo de polifenol devido à oxidação, ionização e hidrólise (AGUILAR-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019).

A extração por ultrassom pode produzir um efeito de cavitação, cuja ação pode causar alterações físicas e mecânicas nas matérias-primas, facilitando a extração dos compostos. As condições extrativas como o tempo, temperatura, tipo de solvente, concentração e o modo como a irradiação ultrassônica é aplicada (direta ou indiretamente) influenciam diretamente na eficiência e rendimento da extração (MEDINA-TORRES *et al.*, 2017).

Sabe-se que os compostos vegetais apresentam ampla quantidade e variedade de compostos bioativos, além da possibilidade de interação entre os compostos. Portanto, não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais. Alguns fenólicos com alto peso molecular, são insolúveis em água. Entretanto, mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. Etanol e água são os solventes mais empregados para a extração de polifenóis. A água extrai com eficiência os compostos fenólicos com atividade antioxidante devido à sua polaridade e o etanol tem baixa toxicidade quando comparado a outros álcoois de cadeia curta (ANDREO; JORGE, 2006).

No presente estudo, a extração por ultrassom apresentou os melhores rendimentos com etanol e água destilada na proporção de 50% (v/v) como líquido extrator. Os resultados obtidos mostraram rendimentos de extração superiores aos apresentados por Oroian *et al.*, (2020) e Zhang *et al.*, (2019) que usaram condições de extração semelhantes a esse trabalho. Hou *et al.*, 2019 observaram que o rendimento de extração exibiu uma tendência de queda na concentração de etanol acima de 60%, o que possivelmente se devia ao fato de que maior concentração de etanol poderia levar mais facilmente à dissolução de impurezas solúveis em álcool.

Os estudos de Ummat *et al.* (2020) e Galvan D'Alessandro *et al.* (2012) verificaram que a combinação de etanol: água (50:50, v/v) permitiu valores mais elevados de extração de compostos fenólicos. Estudos anteriores mostraram que os polifenóis têm polaridade moderada, que tendem a ser extraídos com solventes de polaridade média; assim, o etanol é um solvente mais conveniente do que a água para extrair o conteúdo fenólico total (BARBA *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020; UMMAT *et al.*, 2020).

Fundamentado na revisão de literatura que relata solventes com porcentagens alcoólicas são frequentemente usados para extrair compostos fenólicos de matrizes vegetais (BARBA *et al.*, 2020; GALVAN D'ALESSANDRO *et al.* 2012; HOU *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2020), foi feita a opção de utilizar a solução hidroetanólica como veículo extrator e os demais experimentos foram realizados com o extrato que apresentou maior rendimento (50%).

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Na tabela abaixo (Tabela 9) são apresentados os resultados da avaliação quantitativa do extrato quanto a fenólicos totais, flavonoides totais e a análise dos compostos fenólicos por CLAE.

Tabela 9 - Caracterização química do extrato vegetal obtido (EH 50) por ultrassom.

Testes realizados	EH 50
Fenólicos totais (mg de EAG/g de extrato)	77,93 ± 0,02
Flavonoides totais (mg de EQ/g de extrato)	6,97 ± 0,04
Ácido gálico (mg/g)	8,47
Catequina (mg/g)	10,17

Legenda: EAG, equivalente a mg de ácido gálico; EQ, equivalente a mg de quercetina. Autoria: Própria.

Jiménez-Moreno *et al.* (2019), determinaram a influência das diferentes condições de extração (temperatura, concentração de etanol e razão amostra/solvente) na composição fenólica e na capacidade antioxidante dos extratos de caule da uva Mazuelo (*Vitis vinifera* Carignan) e, verificaram que a

concentração de etanol foi o fator que mais influenciou na extração de diferentes compostos bioativos. O maior teor de compostos fenólicos totais e a maior atividade antioxidante dos extratos foram obtidos com etanol a 50% e a 40° C. O composto mais abundante encontrado foi a catequina, mas concentrações de ácido gálico, também foram extraídas.

Corroborando com trabalho de Jiménez-Moreno *et al.* (2019), foi verificado que o tratamento ultrassônico exibiu um efeito positivo significativo sobre o teor de fenol total e flavonóides analisados. A análise por HPLC utilizando o sistema cromatográfico SPD-10AV-VP mostrou dois picos com tempo de retenção (TR) de 3,28 min. e 10,75 min. Este pico mostrou absorções características nos espectros de UV dos compostos flavonóides e os sinais foram atribuídos ao ácido gálico e catequina, respectivamente.

O ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico) é um composto fenólico natural com baixa toxicidade e produzido por diferentes plantas. É amplamente utilizado nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética por sua capacidade de inibir a peroxidação lipídica. Apresenta atividades antioxidantes, antitumorais e antimetastáticas conhecidas (BARBA *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2019). A catequina é encontrada em várias fontes naturais, e suas propriedades antioxidantes e de proteção UV sugerem potencial uso em formulações cosméticas e dermatológicas (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2018).

Kim *et al.* (2018), verificaram que além das atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, efeitos na proliferação, diferenciação e apoptose, a catequina possui efeitos positivos na hidratação da pele, retenção de umidade e diminuição da formação de rugas, além da redução da geração de melanina.

Vieira (2014), estudou as porções líquidas e sólidas obtidas de *A. sisalana* submetidos por secagem em *spray drying* e obteve menor rendimento do resíduo sólido (rendimento de 24,3 g), no entanto, melhor concentração de compostos fenólicos e flavonoides totais do que os obtidos nesta pesquisa.

Estudo semelhante ao deste trabalho foi realizado por Bamba e colaboradores (2018), a fim de obter a melhor extração para obtenção de polifenóis do bagaço de mirtilo. Os resultados indicaram que a extração assistida por ultrassom é o método de escolha para extrair alto valor bioativos fenólicos. Para que os extratos obtenham uma atividade antioxidante superior, as seguintes condições da ultrassom são recomendadas: sistema de solventes

binários (50% de etanol/água), baixa relação sólido/solvente etanólico, pH ligeiramente básico e temperatura acima de 20°C (BAMBA *et al.*, 2018).

A análise qualitativa dos metabólitos secundários do extrato foi realizada por espectrometria de massas. Baseado na similaridade de cosseno, formou-se uma rede molecular (MN) com 700 íons precursores visualizados como nós, que são conectados por largura de borda, representando a similaridade de cosseno entre diferentes espectros de MS/MS ($0,80 < r < 0,90$). O diagrama de Venn global baseado na rede molecular global no modo positivo mostrou características únicas para o EH 50 < 3KDA (96) e 50% > 3KDA (161), enquanto 260 características eram comuns a ambas as amostras (Figura 14 A). A abordagem de rede molecular (MN) permitiu a anotação putativa de 21 metabólitos (Tabela 10). Um diagrama de Venn baseado em metabólitos anotados mostrou metabólitos únicos para EH 50% < 3KDA (5) e 50% > 3KDA (7), enquanto 9 metabólitos eram comuns a ambas as amostras (Figura 14 B, Tabela 10). Estudos de fragmentação conduzidos por redes moleculares revelaram duas famílias moleculares principais: terpenóides e metabólitos O-glicosil (Figura 15). A anotação putativa dos metabólitos foi confirmada manualmente pela verificação dos espectros de fragmentação. Em geral, os dados espectrais dos terpenóides anotados mostraram as perdas neutras como 18 Da, 68 Da, 28 Da e 18 Da, que são atribuídas a H₂O, C₅H₈, CO, H₂O respectivamente (Figuras 15; Tabela 10). Esses metabólitos apresentaram um padrão de fragmentação semelhante com alta similaridade espectral, uma vez que foram agrupados com pontuações de cosseno relativamente altas (0,70–0,95).

Figura 14 - (A) Diagrama de Venn global baseado na rede molecular global em modo positivo, mostrando o total de características detectadas. (B) Diagrama de Venn baseado em metabólitos anotados.

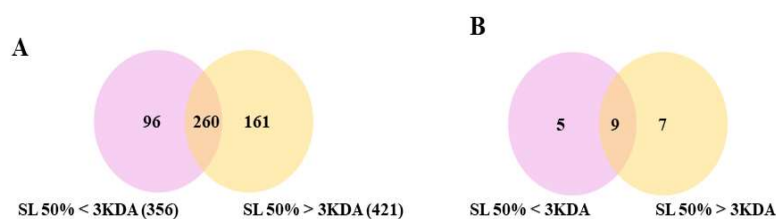
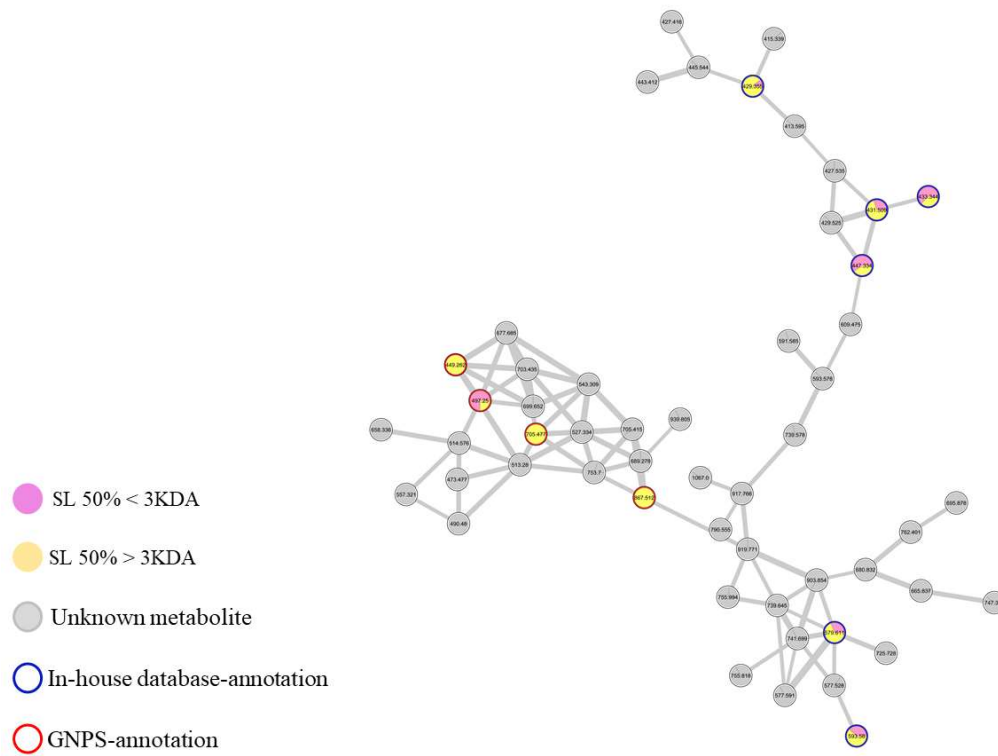


Figura 15- Rede molecular clássica: terpenóides e metabólitos O-glicosil



Autoria: Própria. **Fonte:** Santos, Reginaldo, F. P. (2021).

Tabela 10 - Metabólitos detectados por HPLC-ESI -IT do EH 50

nº	Rt (min)	Composto	Massa experimental [M+H] ⁺	MS/MS	Identificado com base em espectros publicados por Gao <i>et al.</i> 2015
1	1,2	(2S,3R)-5-hydroxy-3-[(2S,3R)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-3-yl]-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one;	867	705; 543	GNPS - Bronze Cosine: 0,75
2	6,0	Swertiamarin	374 [M] ⁺	212; 195; 177	GNPS -Bronze Cosine: 0,84
3	5,5	Chlorogenic acid	355	163; 145; 135	GNPS -Bronze Cosine: 0,91
4	6,9	5,7-dihydroxy-2-[4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one	757	611; 449; 287	GNPS – Bronze Cosine: 0,90
5	6,9	Cantalasaponin-1 Hainangenin 3,6-di-O-b-D-glucopyranoside Hongguanggenin 3,6-di-O-b-D-glucopyranoside	773	611; 449	
6	6,9	(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(hydroxymethyl)-6-[4-prop-2-enyl-2-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenoxy]oxane-3,4,5-trio	497 [M+Na] ⁺	335; 173	GNPS -Bronze Cosine: 0,79
7	7,0	Luteolin-7-O-glucoside	449	287	GNPS - Bronze Cosine: 0,93
8	7,2	2S,3R,4S,5S,6R)-2-[4-[(3S,3aR,6S,6aR)-6-[3,5-dimethoxy-4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxyphenyl]-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan-3-yl]-2,6-dimethoxyphenoxy]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol	765 [M+Na] ⁺	603; 441	GNPS - Bronze Cosine: 0,72
9	7,5	3-[(2S,3R,4S,5R,6R)-6-[[2R,3R,4R,5S,6S)-3,5-dihydroxy-6-methyl-4-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-	741	595; 449; 287	GNPS – Bronze Cosine: 0,90

10	7,7	yl]oxymethyl]-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxy-5,7-dihydroxy-2-(4- hydroxyphenyl)chromen-4-on [(2S,3R,4S,5S,6R) -3-[(2S,3R,4R)-3,4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)oxolan-2- yl]oxy-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-5-hydroxy-2-(4- hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,	727	595;433; 287	GNPS – Gold Cosine: 0,74
11	9,5	beta-D-Glucopyranose, 1-O- [(2alpha,3beta,5xi,9xi,18xi,19alpha) - 2,3,19,23,24-pentahydroxy-28-oxoolean-12-en- 28-yl]-	705 [M+Na]+	543	GNPS – Gold Cosine: 0,75
12	9,9	(25R)-5a-Spirostan-3b,6a,20b-triol 3,6-di-O-b-D- glucopyranoside	759	597; 435	
13	10,0	Chlorogenin 3,6-di-O-b-D-glucoyranoside	757	595; 433	-
14	11,0	Agamenoside C; Agamenoside I	633 [M+Na]+	615; 471	-
15	11,0	Agavoside A	593	431	-
16	13,7	Manogenin	447	429; 411; 383; 315; 297	-
17	13,8	12-epi-Rockogenin; Barbourgenin; Chlorogenin; Gitogenin; Rockogenin; Ruizgenin	433	415; 347; 319; 301	-
18	14,1	Sarsasapogenin 3-O-b-D-glucoyranoside; Tigogenin 3-O-b-D-glucoyranoside	579	417	-
19	14,3	Botogenin; dehydrohecogenin	429	411; 315; 297	-
20	14,6	Gloriogenin; hecogenin Yuccagenin	431	413; 395; 317; 299	-
21	17,4	Diosgenin	415	415	397

Autoria: Própria. Fonte: Santos, Reginaldo, F. P. (2021).

Com base nos bancos de dados GNPS e também no banco de dados interno, 26 metabólitos O-glicosil foram anotados, principalmente terpenóides e flavonóides (Tabela 10). Destes, 12 terpenóides O-glicosil e 9 flavonóides O-glicosil foram anotados. Um exame detalhado nos dados espectrais dos metabólitos O-glicosil apontou perdas neutras de uma, duas ou três moléculas com 146 Da (desoxihexose), 162 Da (hexose) e/ou 176 Da (ácido glicurônico).

Embora a ferramenta MN tenha sido útil não só para melhorar a anotação dos metabólitos, mas também para a visualização do perfil químico, várias características provenientes de resíduos de *A. sisalana* pertencentes a aglomerados conhecidos e desconhecidos permanecem sem anotações, podendo representar metabólitos supostamente novos.

Face as concentrações de fenólicos e flavonóides, ácido gálico e catequina encontradas no extrato em estudo, e a anotações obtidas pelo *Molecular Networking*, sinalizam que o EH 50 é um possível candidato com atividade antioxidante que pode ser utilizado como insumo para indústria cosmética. O EH 50 seguiu para a avaliação *in vitro* da atividade antioxidante.

5.3 – AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O extrato obtido por ultrassom, extrato hidroalcoólico 50% (EH 50), foi avaliado quanto à atividade antioxidante *in vitro* e os resultados estão descritos abaixo.

Kahlaoui *et al.*, (2019), relataram que o uso de extração assistida por ultrassom melhora a atividade antioxidante em comparação com a extração convencional. Galvan D'Alessandro *et al.* (2012) e Žlabur *et al.* (2020), trabalharam com extratos de outros gêneros e observaram que esse mesmo processo de extração aumentou as concentrações de fenólicos e as atividades antioxidantes.

Não existe um método padrão-ouro, no entanto vários ensaios podem ser realizados a fim de fornecer uma imagem completa da atividade antioxidante dos extratos vegetais (FERNÁNDEZ-POYATOS *et al.*, 2019).

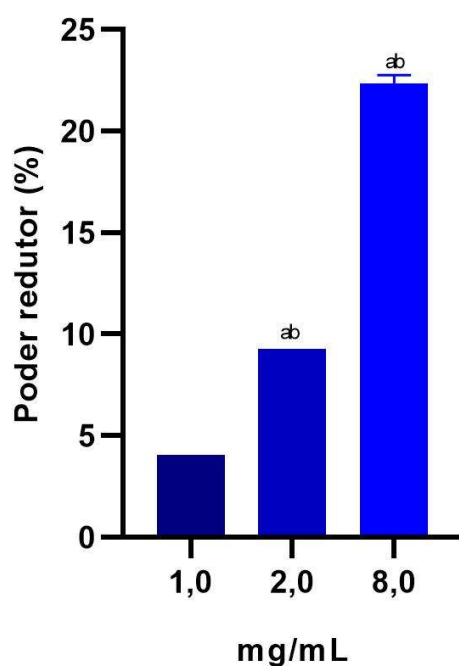
Os resultados demonstraram que o extrato obtido por ultrassom, exibiu atividade de eliminação de radicais livres no início da cadeia oxidativa,

fundamentados nos ensaios CAT, poder redutor, DPPH e ABTS. Estes resultados corroboram com os de Barreto *et al.* (2020) que trabalharam com o prensado obtido do resíduo de *A. sisalana* extraído em etanol 95 °GL a uma razão resíduo/ solvente de 1:3 (v/v).

A capacidade antioxidante total (CAT) expressa a capacidade do extrato de proteger contra danos potenciais dos radicais livres. EH 50 apresentou atividade de 27,61% ($\pm 7,592$).

O poder redutor é um dos mecanismos de ação antioxidante que pode servir como indicador de potencial atividade antioxidante. Esse método possui como critério de avaliação determinar quanto Fe^{3+} /ferricianeto amarelo pode ser reduzido a Fe^{2+} verde por uma amostra. Quanto maior for o teor de Fe^{2+} , maior será a absorbância e mais forte será a capacidade de redução (BARBOSA *et al.*, 2010). Diferentes concentrações das amostras (0,25; 0,50; 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 mg/mL) foram solubilizadas em tampão fosfato e a atividade foi concentração dependente, aumentando a atividade, com o aumento da concentração do extrato com valores máximos de 22,050% (8,0 mg/mL) (gráfico 1).

Gráfico 1 - Atividade de poder redutor do EH 50 em diferentes concentrações.



Onde: a- diferença estatística de 1,0; b- diferença estatística de 2,0. $p \leq 0,05$. Teste de Tukey. Autoria: Própria.

O método DPPH é baseado na capacidade do EH 50 em sequestrar o radical estável de nitrogênio orgânico o 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH•) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). A maioria dos resultados é apresentada como valor de IC50, que é definida como a concentração efetiva na qual 50% dos radicais DPPH são eliminados (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Este valor é calculado através da representação gráfica da inibição percentual do radical DPPH• em função da concentração do antioxidante. O EH 50, apresentou valor de IC50 de 11,75 mg/mL com atividade de 18,83% na concentração de 2 mg/mL. Esta atividade de eliminação de radicais livres pode ser explicada pela presença de compostos fenólicos totais. Os compostos fenólicos impedem a ação dos radicais livres no organismo e podem reduzir o radical DPPH à sua forma menos reativa, a hidrazina, fixando um hidrogênio que é removido das substâncias fenólicas (AXIOTIS et al., 2020). Não obstante, Fernandes *et al.* (2017), demonstraram que alguns extratos metanólicos vegetais podem apresentar alto conteúdo fenólico e não possuírem atividade de eliminação de DPPH, sugerindo que os compostos fenólicos extraídos podem conter poucos grupos hidroxilas e desta forma não fazer o sequestro de radicais livres.

Alves e colaboradores (2010) relatam que os resultados dos testes de DPPH devem ser cuidadosamente interpretados, pois os espectros de algumas substâncias analisadas podem sobrepor ao espectro do DPPH ao redor de 515 nm, interferindo no resultado.

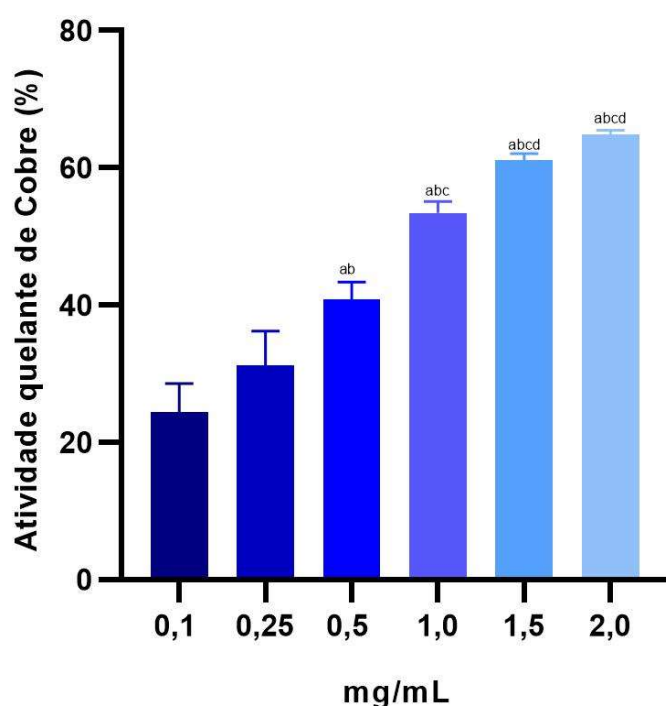
O ensaio de sequestro de radicais ABTS é fundamentado em reações de transferência de elétrons para avaliar a atividade de eliminação de radicais de vários compostos (RUSU *et al.*, 2019). O extrato avaliado EH 50 na concentração de 1,0 mg/mL apresentou atividade de 60,16% ($\pm 0,68$). BARBA *et al.* (2020) e Galvan D'Alessandro *et al.* (2012), relataram que obtiveram melhores resultados antioxidantes utilizando etanol/água como solvente na proporção de 50:50 (v/v). Neste trabalho foi utilizado o mesmo sistema solvente e apresentou atividade de sequestro de radicais ABTS.

A formação de radicais livres pode ser favorecida pelos íons ferro e cobre. Entre 2% a 5% do oxigênio metabolizado nas mitocôndrias são desviados para outra via metabólica e reduzidos dando origem aos radicais livres. Na redução

do oxigênio são gerados os radicais superóxido, hidroxila e peróxido de hidrogênio, através de reações específicas (reações de Fenton e Haber-Weiss), catalisadas por enzimas e com a participação dos íons cobre e ferro (BARBOSA *et al.*, 2010).

Corroborando com o trabalho de Barreto *et al.* (2020), na concentração de 1,0 mg/mL, o EH 50 apresentou atividade de redução de Cu^{+2} para Cu^{+} de 53,40% ($\pm 1,68$) e em 1,5 mg/mL 61,13% ($\pm 0,97$) (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Atividade quelante do íon cobre do EH 50 em diferentes concentrações.

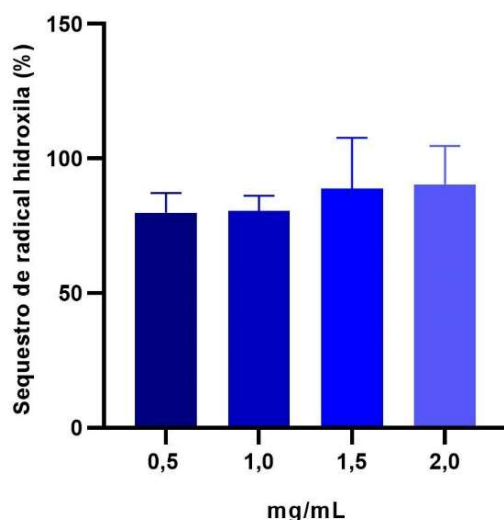


Onde: a- diferença estatística de 0,1; b- diferença estatística de 0,25; c- diferença estatística de 0,5; d- diferença estatística de 1,0. $p \leq 0,05$. Teste de Tukey. Autoria: Própria.

Na concentração de 2,0 mg/mL o EH 50, não apresentou capacidade de quelação do ferro. O Fe^{+2} é um pró-oxidante entre vários íons metálicos e a quelação do Fe^{+2} pode prevenir o dano oxidativo através do retardamento da oxidação catalisada por metal e inibição da produção de ERO (BARBOSA *et al.*, 2010).

A capacidade de eliminação do radical hidroxila está apresentada no gráfico 3. Na concentração de 2,0 mg/mL EH 50 apresentou atividade de 90,47%, entretanto não houve diferença estatisticamente significativa de atividade nas diferentes concentrações utilizadas (gráfico 6). O radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$) possui meia-vida curta, o que torna difícil seu sequestro *in vivo*, altas concentrações de antioxidante são necessárias para que se obtenha um resultado satisfatório. Já em experimentos *in vitro* pode ser facilmente sequestrado devido à sua alta reatividade (ALVES *et al.*, 2010).

Gráfico 6 - Atividade de eliminação do radical hidroxila em diferentes concentrações.



Onde: $p \geq 0,05$. Teste de Tukey. Autoria: Própria.

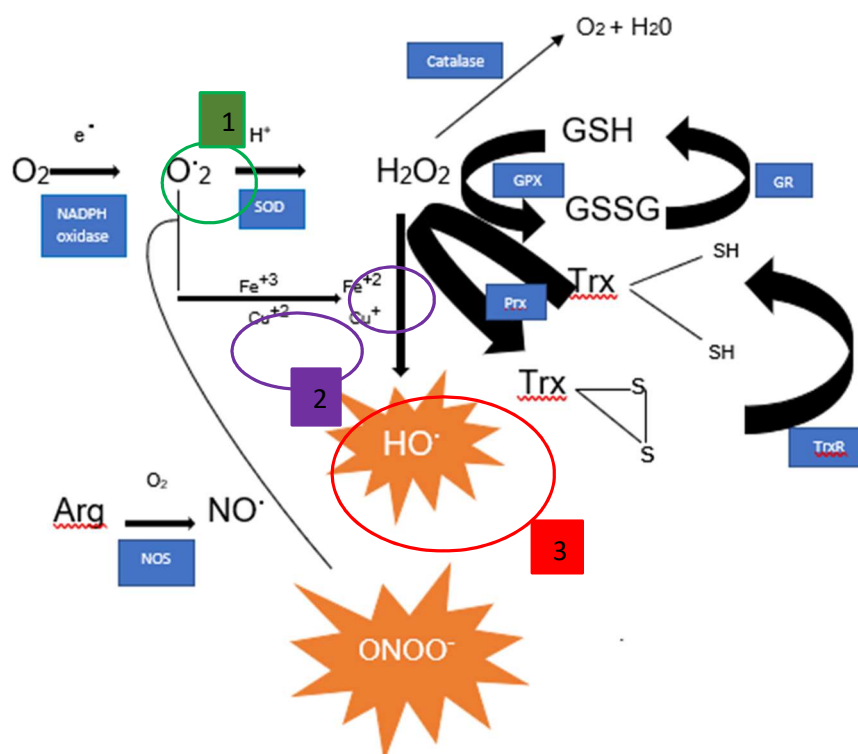
As superóxidos dismutases (SOD) desempenham papel chave no sistema de defesa antioxidante através da dismutação do radical superóxido, produzindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) o qual pode ser eliminado pelas peroxidases (BULBOVAS *et al.*, 2005). O EH 50, apresentou capacidade de eliminação dos de 5,49 ($\pm 0,81$) na concentração de 1,0 mg/mL.

Outras espécies de Agave foram investigadas com relação à atividade antioxidante. O extrato de *Agave angustifolia* (AAE) exibiu atividade antioxidante com base nos ensaios DPPH, ABTS e quelação de íons ferro, sugerindo que o potencial antioxidante do AAE poderia estar associado à presença de flavonóides como o kaempferol e a quercetina (LÓPEZ-ROMERO *et al.*, 2018).

Hamissa *et al.*, (2012) demonstraram que os compostos fenólicos da *Agave americana* apresentaram forte correlação com a atividade antioxidante. Fundamentado nesses estudos, pode-se sugerir que a atividade antioxidante do EH 50 esteja relacionada à presença de ácido gálico e catequina (Tabela 9), que são os constituintes presentes em maior quantidade.

A natureza heterogênea de um fitocomplexo vegetal e as diferentes interações com os radicais explorados nos testes antioxidantes, faz com que os extratos apresentem diferente desempenho (BALDISSEROTTO *et al.*, 2018). O EH 50 apresentou atividade antioxidante em toda as etapas da cascata oxidativa (Figura 16), demonstrando o potencial para uso em formulações cosméticas como um bioativo natural com atividade antioxidante.

Figura 16 - Atividade antioxidante do EH 50 nas etapas inicial (verde) intermediária (roxo) e final (vermelho) do processo oxidativo.



Legenda: Metodologias utilizadas: 1. Avaliação da capacidade antioxidante total (CAT); Avaliação da capacidade do poder redutor; Avaliação da capacidade do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); Sequestro do radical 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico) ($ABTS^+$). 2. Quelação de íons cobre (Cu^{2+}), quelação de íons ferro $^{+2}$. 3. Avaliação da atividade de sequestro de radical hidroxila (OH^{\cdot}), sequestro de íons superóxido ($O_2^{\cdot-}$).

5.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

5.4.1 Composição e método de preparo das formulações

A partir do levantamento dos constituintes das formulações de filtros solares disponíveis no mercado (Apêndice A) foi realizado um estudo com o objetivo de verificar os componentes mais utilizados nos produtos comercializados. Foi avaliada a composição qualitativa descrita na rotulagem de sete produtos comerciais no tocante aos: filtros solares, emulsificantes e espessantes, emolientes, conservantes, antioxidantes e fragrância.

Os filtros solares e concentrações utilizadas apresentados na composição das formulação (Tabela 04) têm seu uso aprovado pela ANVISA são lipossolúveis, classificados como orgânicos e estão listados na RDC 600/2022 (BRASIL, 2022). O filtro solar *Butyl Methoxydibenzoylmethane* é conhecido como Avobenzona e oferece proteção contra o espectro de radiação UVA. O *Octocrylene* é efetivo contra a radiação UVB e tem concentração máxima de uso de até 10%. O *Ethylhexyl Salicylate* também oferece proteção contra a radiação UVB com concentração máxima de uso de 5%. O *Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine* é um absorvedor de radiação de amplo espectro (UVA/UVB), fotoestável que oferece proteção em baixas concentrações de uso. O *homosalate* absorve radiação UVB e pode ser utilizado até 15%.

Na pesquisa descrita no Apêndice A, das sete formulações investigadas, todas apresentaram os filtros *Butyl Methoxydibenzoylmethane* e *Octocrylene*. Cinco apresentaram *Ethylhexyl Salicylate* e *Homosalate*. Três delas possuíam em sua constituição o filtro *Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine*. Godinho e colaboradores (2017), realizaram uma pesquisa dos principais filtros solares que fazem parte das formulações à venda no Brasil, e, constataram que o filtro solar mais encontrado nas formulações foi o dióxido de titânio, seguido pelo *Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine*. Os demais filtros selecionados para a formulação desse trabalho estão entre os dez listados por Godinho *et al.* (2017).

A composição da formulação (Tabela 4) foi adicionada de *Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol* (PolyAqual™ 2W), um auto-emulsificante de poliglicerol O/A. A porção glicerol e o ácido graxo são ligados em conjunto em um sistema livre de solvente que permite uma polaridade

consistente. De acordo com o fornecedor da matéria-prima, clinicamente, pode prevenir e reparar os danos causados à função de barreira da pele pela exposição aos raios UV (INNOVACOS, 2019).

O *Acrylic Acid / VP Crosspolymer*, é um espessante cujo nome comercial é UltraThix™ P-100, apresenta-se como um copolímero reticulado de vinil pirrolidona (VP) e ácido acrílico atuando como modificador de reologia multifuncional (ASHLAND, 2020).

A partir da formulação proposta (Tabela 4) foi realizado o estudo da variação da concentração dos componentes UltraThix™ e PolyAqual™ 2W e o tempo de cisalhamento (Tabela 11). Após 24 horas de preparo, foi realizada a análise macroscópica (visual) das amostras, observando-se as características organolépticas (cor e odor), a homogeneidade e o teste de centrifugação (tabela 11).

Tabela 11 – Parâmetros avaliados nas formulações preparadas, após 24 h.

FORMULAÇÕES	VARIÁVEIS ESTUDADAS			RESPOSTAS AVALIADAS	
	Concentração (%)	Concentração (%)	Tempo de cisalhamento (Min.)	Características organolépticas	Teste de Centrifugação
	UltraThix™	PolyAqual™ 2W			
E1	----	2,00	15	N	SF
E2	----	3,00	15	N	SF
E3	----	4,00	15	N	SF
E4	----	5,00	15	N	SF
E5	0,60	2,00	15	N	N
E6	0,60	2,00	5	N	N
E7	0,45	2,00	15	N	N
E8	0,45	2,00	5	N	N
E9	0,30	2,00	15	N	N
E10	0,30	2,00	5'	N	N

Legenda: N=Normal; SF= Separação Fases. Autoria: Própria.

As formulações, quando avaliadas pelo teste de diluição em água (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1995), apresentaram-se com aspecto homogêneo, caracterizando emulsões do tipo O/A.

As características organolépticas fornecem também parâmetros que permitem avaliar, de imediato, o estado em que se encontra a amostra em estudo

por meio de análises comparativas, com o objetivo de verificar alterações como: separação de fases, precipitação e turvação permitindo o reconhecimento primário do produto (ANVISA, 2004).

A força da gravidade atua sobre a amostra fazendo com que suas partículas se movam no seu interior. O teste de centrifugação produz estresse na amostra simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades. Estas poderão ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, formação de *caking*, coalescência entre outras. A amostra é centrifugada em temperatura, tempo e velocidade padronizados. Em seguida avalia-se visualmente a amostra (ANVISA, 2004). As emulsões E1, E2, E3 e E4, apresentaram separação de fases após esse teste, e, portanto, não prosseguiram para os próximos testes de estabilidade.

5.4.2 Testes de estabilidade das formulações

As formulações E5 à E10 mantiveram-se estáveis macroscopicamente e após ao teste de centrifugação, sendo assim, foram submetidas aos testes de estabilidade preliminar, variando a concentração de *Acrylic Acid/VP Crosspolymer - UltraThix™*, tempo de cisalhamento (Tabela 5) e adição ou não de 1,0% do extrato de *A. sisalana* conforme tabela 12.

O teste de estabilidade preliminar é executado na primeira fase do desenvolvimento do produto e é realizado a fim de auxiliar na escolha das formulações (ANVISA, 2004). As emulsões manipuladas para os testes preliminares apresentaram-se homogêneas com aspecto de creme, cor branca antes da adição do extrato e bege claro após a adição deste e, mantiveram as mesmas características após a estabilidade preliminar.

Tabela 12 – Resultados dos testes de estabilidade preliminar das emulsões com e sem adição de extrato de *Agave sisalana* no tempo zero e após cinco dias (t0 e t5), variando a concentração do UltraThix™ e o tempo de cisalhamento.

Emulsões	Concentração UltraThix™(%)	Tempo de cisalhamento (Min.)	t0		t5	
			pH	Viscosidade aparente mínima (cP)	pH	Viscosidade aparente mínima (cP)
E5	0,6	15	6,7 ± 0,08	3720 ± 200	6,78 ± 0,07	3265 ± 109
E5'	0,6	15	6,0 ± 0,06	982 ± 50	5,89 ± 0,11	903 ± 18
E6	0,6	5	6,5 ± 0,19	3361 ± 115	6,99 ± 0,007 *	3518 ± 333
E6'	0,6	5	6,1 ± 0,01	1778 ± 271	6,49 ± 0,04 *	1864 ± 90
E7	0,45	15	7,1 ± 0,25	1807 ± 21	7,6 ± 0,34	2251 ± 13 *
E7'	0,45	15	6,2 ± 0,09	457 ± 13	6,15 ± 0,010	583 ± 27 *
E8	0,45	5	7,0 ± 0,18	2066 ± 54	7,0 ± 0,007	2242 ± 14 *
E8'	0,45	5	6,1 ± 0,03	609 ± 11	6,4 ± 0,02 *	727 ± 21 *
E9	0,30	15	7,7 ± 0,45	820 ± 26	8,1 ± 0,22	1004 ± 39 *
E9'	0,30	15	6,4 ± 0,02	324 ± 3	6,4 ± 0,09	454 ± 30 *
E10	0,30	5	7,8 ± 0,01	1113 ± 85	7,9 ± 0,21	1046 ± 29
E10'	0,30	5	6,7 ± 0,03	347 ± 58	6,9 ± 0,14	274 ± 9

Legenda: E: sem o extrato de *A. sisalana*; E' com 1,0% do extrato de *A. sisalana*. Os resultados dos valores de pH e de viscosidade aparente foram expressos como média ± desvio padrão (SD). n=9. *p<0,05. Autoria: Própria.

O método de preparo das emulsões possui influência sobre as propriedades físico-químicas delas, que por sua vez, têm consequência direta sobre a estabilidade termodinâmica das formulações. Para produção de emulsões com menor tamanho de partícula, os métodos chamados de alta energia envolvem a introdução de energia ao sistema, a qual é realizada pelo emprego de homogeneizadores de alta velocidade, homogeneizadores de alta pressão e homogeneizadores ultrassônicos. O uso do Ultra-Turrax permite a produção de emulsões com menores tamanhos de gotículas. (HOLKEM *et al.*, 2015).

O pH é de grande importância para a estabilidade de fármacos e cosméticos, podendo indicar uma decomposição química dos componentes da formulação, reações de hidrólise, oxidação e presença de microorganismos (ANVISA, 2004). A pele possui um pH levemente ácido, que varia entre 4,6 e 5,8 (RODRIGUES, 1995). O ajuste do pH deve respeitar a biocompatibilidade com a via de administração (GIL, 2010).

Nesse estudo as emulsões E6, sem e com o extrato de *A. sisalana* e a E8 com o extrato apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos valores de pH após a estabilidade preliminar. Todas as formulações apresentaram valores de pH compatíveis com o pH fisiológico da pele (RIBEIRO, 2015). Durante o processo de formulação foi adicionado o hidróxido de sódio como agente neutralizante e o valor do pH obtido foi adequado à manutenção da estabilidade da formulação e está na faixa de atividade e estabilidade dos filtros solares que fazem parte desta composição.

A viscosidade é um dos parâmetros reológicos de um sistema e pode ser um indicativo de estabilidade das formulações. A avaliação desse parâmetro auxilia a determinar o comportamento do produto ao longo do tempo e se um produto apresenta a consistência ou fluidez apropriada. Pode-se observar na Tabela 12 que as formulações contendo o extrato apresentaram menor viscosidade independentemente da adição do UltraThix™ e do tempo de cisalhamento. De Oliveira-Junior *et al.*, 2017, relataram que a adição do extrato hidroalcolico de *Neoglaziovia variegata* (Nv-HA), contribuiu para a diminuição da viscosidade das formulações.

As alterações de viscosidade são atribuídas principalmente a porcentagem de fase oleosa, tamanho de gotícula da fase interna, pH e

concentração do polímero (PERIOLI *et al.*, 2008). As emulsões E7, E8 e E9 sem e com o extrato de *A. sisalana* apresentaram diferenças estatisticamente significativas de viscosidade, com aumento desta após os testes de estabilidade preliminar, que pode ser justificado devido a evaporação de água nas formulações (LEONARDI, 2008) ou a concentração do agente emulsificante (PERIOLI *et al.*, 2008). O aumento da temperatura pode ressaltar processos físico-químicos de desestabilização, devido a fatores como: mudanças no perfil das interações intermoleculares, evaporação de solventes voláteis e recristalização (polimorfismo) (GIL, 2010).

As emulsões E5 e E10 contendo ou não 1% do extrato de *A. sisalana* não apresentaram alterações estatisticamente significativas de viscosidade e valores de pH após a estabilidade preliminar, e seguiram para o teste de estabilidade acelerada.

As emulsões E10 sem ou com o extrato apresentaram variações significativas nos parâmetros de pH e viscosidade com 30 dias, assim elas foram excluídas do teste de estabilidade acelerada. No preparo dessas emulsões, reduziu-se o agente emulsificante e o tempo de cisalhamento. Segundo Jafari *et al.*, (2008), a concentração do emulsificante, as condições do processo de homogeneização como o tempo e a intensidade de emulsificação, a baixa taxa e tempo de adsorção do agente tensoativo na interface, são fatores que podem afetar o tamanho das gotículas da emulsão.

As emulsões E5 sem e com 1% do extrato de sisal apresentaram-se estáveis após os testes e os valores de pH, viscosidade aparente mínima, índice de fluxo e área de histerese, estão apresentados nas tabelas 14 e 15.

A alteração dos valores de pH durante o estudo de estabilidade fornece informações a respeito da estabilidade química da formulação, ou seja, decréscimos desses valores podem estar relacionados à oxidação da fase oleosa com a formação de cadeias oxidadas ou ainda a hidrólise de triglicerídeos, manifestada pela formação de ácidos graxos livres (MASMOUDI *et al.*, 2005). Os valores de pH das formulações mantiveram-se estáveis durante 90 dias nas diferentes temperaturas avaliadas. Baby *et al.*, (2007), desenvolveram emulsões O/A fluidas contendo o extrato de *Trichilia catigua* Adr. Juss e *Ptychopetalum olacoides* Bentham e verificaram que as formulações com os extratos apresentaram tendência a reduzir o valor do pH em condição de

armazenamento de alta temperatura, provavelmente, devido à alteração dos componentes das emulsões e as substâncias ativas dos extratos.

Tabela 13 – Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão E5 sem extrato.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	pH	Viscosidade aparente mínima (cP)	Índice de Fluxo	Área de Histerese (d/cm².s)
t0 (24h)	25	6,50 ±	3849 ± 592	0,43 ±	4756,77 ±
		0,06		0,01	1058,17
30	4	6,63 ±	4450 ± 393	0,43 ±	3298,43 ±
		0,01		0,02	2349,86
	25	6,59 ±	3973 ± 203	0,36 ±	5362,50 ±
		0,12		0,02	662,79
45	6,57 ±	3309 ± 673	0,28 ±	3715,83 ±	
	0,12		0,04	459,13	
60	4	6,54 ±	4287 ± 163	0,41 ±	4611,70 ±
		0,10		0,02	1054,52
	25	6,72 ±	4260 ± 522 *	0,40 ±	4106,50 ±
		0,17		0,04	655,28
45	6,34 ±	2970 ± (337)	0,43 ±	2117,51 ±	
	0,17		0,07	1252,04	
90	4	6,60 ±	4712 ± 211	0,40 ±	5596,65 ±
		0,03		0,06	172,76
	25	6,60 ±	4050 ± 646	0,40 ±	3606,14 ±
		0,14		0,01	1613,91
45	6,37 ±	3349 ± 1060	0,34 ±	4212,12 ±	
	0,18		0,09	1325,6)	

Os resultados dos valores de pH e de viscosidade aparente foram expressos como média ± desvio padrão (SD). n=9. *p<0,05. Autoria: Própria

Tabela 14 - Resultados dos testes de estabilidade acelerada da emulsão E5 com extrato.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	pH	Viscosidade aparente mínima (cP)	Índice de Fluxo	Área de Histerese (d/cm ² .s)
t0 (24h)	25	6,34 ± 0,03	1296 ± 45	0,39 ± 0,04	62,83 ± 22,12
		6,34 ± 0,08		1235 ± 18	0,24 ± 0,005
30	25	6,49 ± 0,11	1103 ± 107	0,32 ± 0,01	484,83 ± 286,42
		6,29 ± 0,05		1075 ± 96	0,27 ± 0,03
	45	6,52 ± 0,10	1170 ± 157	0,26 ± 0,14	953 ± 108,36
		6,88 ± 0,06)		1198 ± 59	0,20 ± 0,15
60	25	6,23 ± 0,06	1065 ± 96	0,23 ± 0,05	1843,91 ± 46,90
		6,37 ± 0,13		1460 ± 123	0,25 ± 0,04
	45	7,00 ± 0,21	1248 ± 63	0,32 ± 0,03	1120,48 ± 661,37
		6,18 ± 0,06		1269 ± 229	0,28 ± 0,03
90	25	6,37 ± 0,13	1460 ± 123	0,25 ± 0,04	471 ± 163,74
		7,00 ± 0,21		1248 ± 63	0,32 ± 0,03
	45	6,18 ± 0,06	1269 ± 229	0,28 ± 0,03	1843,92 ± 437,13
		6,37 ± 0,13		1460 ± 123	0,25 ± 0,04

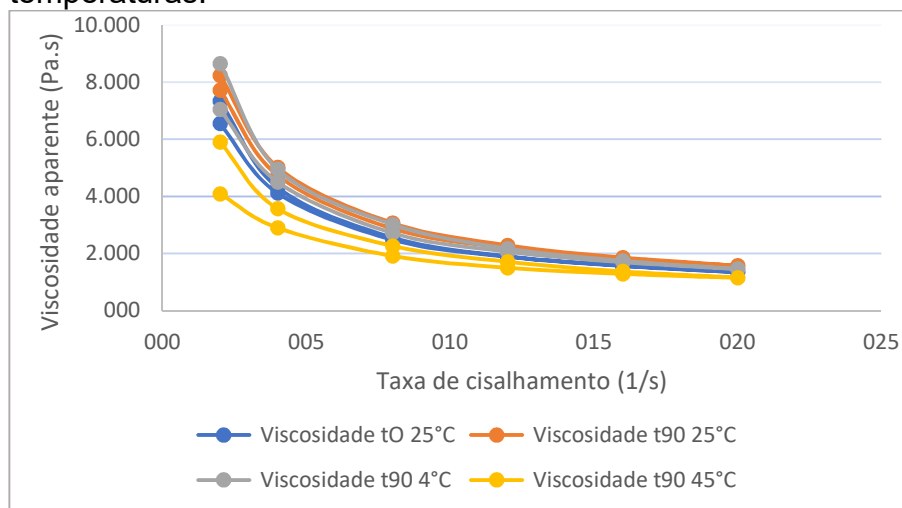
Autoria: Própria

A viscosidade mínima aparente das formulações sem e com o extrato, nas diferentes condições de armazenamento, comparando o t0 com o t90, não apresentou diferença estatística, o que permite considerá-las estáveis.

Existem alguns parâmetros reológicos para a avaliação do comportamento dos fluidos. Entre eles o índice de comportamento de escoamento (n) que indica o comportamento do fluxo após desestruturação do

fluido. Quando o valor de n corresponde a 1, a viscosidade é dada por uma constante, ou seja, tem-se um fluido newtoniano. Quando $n > 1$, a viscosidade será diretamente proporcional à taxa de cisalhamento, então se tem um fluido dilatante. Para valores de n no intervalo de 0 a 1, o comportamento do fluido é dito pseudoplástico (BARNES, 2000). As tabelas 14 e 15 apresentaram valores de n menores do que 1 em todas as variações de tempo e temperatura. Na Figura 17 observa-se uma diminuição na viscosidade aparente quando se eleva o valor da taxa de cisalhamento confirmando o comportamento pseudoplástico.

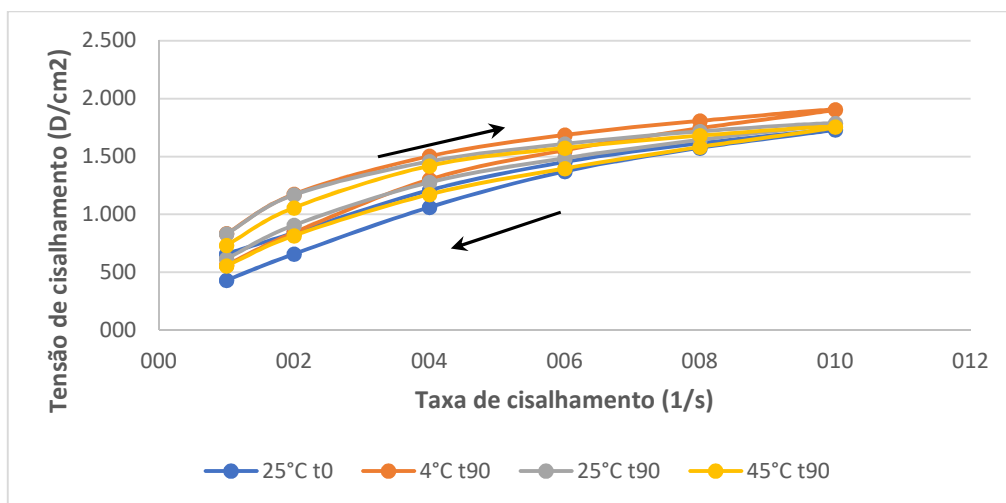
Figura 17 - Comportamento pseudoplástico da emulsão E5 com o extrato de *Agave sisalana* no tempo inicial e após 90 dias em diferentes temperaturas.



Autoria: Própria

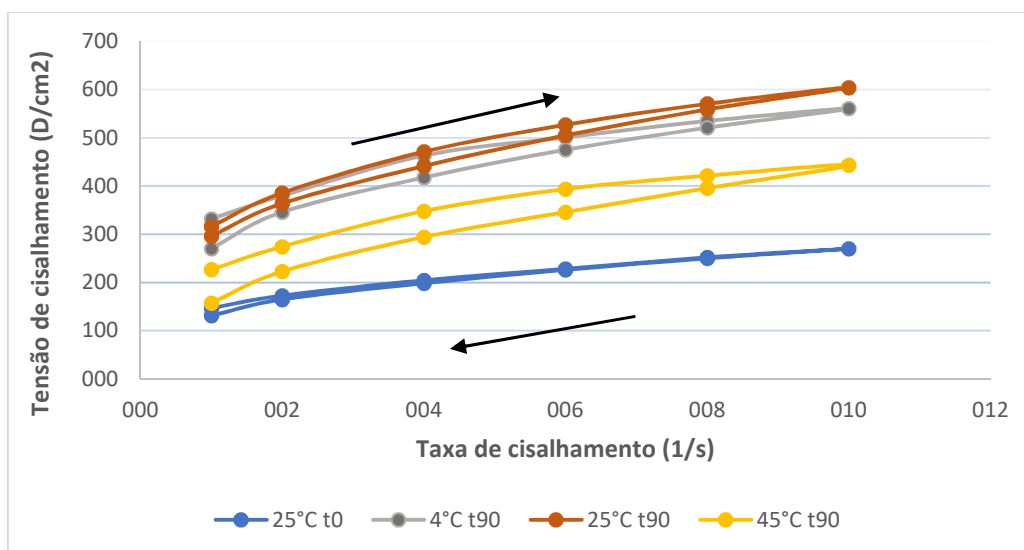
Ao observar a área de histerese entre as curvas ascendentes e descendentes nas tabelas 14 e 15 e, os reogramas das emulsões E5 (Figuras 18 e 19) é possível verificar que tanto no t_0 quanto após os 90 dias, nas diferentes condições de temperaturas, as formulações apresentaram comportamento tixotrópico.

Figura 18 - Reograma da emulsão E5 sem o extrato de *Agave sisalana* após 24h de preparo e após 90 dias em diferentes temperaturas.



Autoria: Própria

Figura 19 - Reograma da emulsão E5 com o extrato de *Agave sisalana* após 24h de preparo e 90 dias em diferentes temperaturas.



Autoria: Própria

Frente aos parâmetros analisados na estabilidade acelerada durante 90 dias, foi possível considerar a emulsão E5 como uma emulsão estável, podendo assim ser avaliada a segurança e eficácia das formulações fotoprotetoras.

5.5 ESTUDOS CLÍNICOS DE SEGURANÇA DA FORMULAÇÃO FOTOPROTETORA

As reações cutâneas mais frequentes relatadas pelo uso de protetores solares incluem irritação subjetiva (como picadas e queimação), dermatite de contato irritante e comedogenicidade. Com menos frequência, ou raramente, pode ocorrer dermatite de contato alérgica e fotoalérgica, geralmente sem consequências a longo prazo e podem ser aliviadas quando se interrompe o uso do produto. Para crianças menores de 6 meses não é recomendável o uso de protetores solares, pois a pele é mais sensível podendo ocorrer irritação ou erupções cutâneas (HENDERSON *et al.*; 2022; SANDER *et al.*; 2020).

Os componentes da formulação podem ser os responsáveis pelo risco potencial de qualquer efeito local e sistêmico. Mas na composição final do produto pode haver associação entre os componentes da formulação e ainda facilitar a absorção total ou parcial dos ingredientes, influenciando no risco potencial do produto.

O objetivo do teste de sensibilidade dérmica foi demonstrar a ausência de reações de sensibilização alérgica (hipersensibilidade tardia reações) aos protetores solares, incluindo três fases: indução, repouso e desafio. A emulsão fotoprotetora com o extrato de *A. sisalana* não induziu processo de irritação e sensibilização cutânea, durante o período de estudo e, portanto, suporta o apelo "Dermatologicamente testado". Os resultados obtidos nesse trabalho, corroboram com aqueles apresentados por Tomazelli *et al.*, (2018), Rosado *et al.*, (2019) e Batista *et al.*, (2022), que avaliaram a segurança da rutina, cafeína e própolis vermelha, respectivamente, associadas a uma formulação fotoprotetora. O potencial de irritação de um produto cosmético depende de uma série de variáveis, como componentes usados na formulação, concentração dos componentes, absorção, quantidade aplicada, condição da pele, modo e frequência de aplicação (BATISTA *et al.*, 2022).

Os filtros solares de origem natural, ao absorver a energia solar, podem produzir oxigênio singlete que é fototóxico para proteínas e lipídios de membrana e para o DNA. Por essa razão é importante determinar se os extratos naturais exibem efeitos fotoprotetores ou fototóxicos após a radiação UV para sua

aplicação como filtros UV em formulações fotoprotetoras (HE *et al.*, 2021). Em consonância com os resultados de TOMAZELLI *et al.*, (2018), a emulsão fotoprotetora com o extrato de *A. sisalana* não induziu fototoxicidade ou fotossensibilização cutânea durante o período de estudo.

5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA

5.6.1 Determinação do fator de proteção solar *in silico*

Foi realizado um estudo preliminar *in silico* da associação dos filtros solares que seriam utilizados na formulação. Como mencionado anteriormente esses filtros solares foram selecionados a partir das formulações de mercado e da fórmula sugerida pela empresa Razzini Ltda e aprovados pela legislação brasileira. Este teste é utilizado por se tratar de uma metodologia menos onerosa, ser prática, rápida e facilitar o planejamento da formulação no pré desenvolvimento (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). No entanto, é considerado apenas a combinação quali e quantitativa dos filtros solares e não a composição como um todo.

O resultado do FPS calculado *in silico* está na tabela abaixo (Tabela 15).

Tabela 15 - Resultados fator de proteção solar *in silico* pelo programa *Sunscreen Simulator* da BASF.

DADOS	RESULTADOS OBTIDOS
FPS <i>in silico</i>	20,2 (ISSO 24444) 20 (EU 2006)
Comprimento de onda crítico	373 nm
FPS-UVA	8,8 (ISO 24442)
FPS- FPUVA	0,44
UVA/UVB <i>relação</i>	Sem irradiação: 0,75 Com irradiação: 0,73
FPS% UV filtro	1,03

Autoria: Própria

O FPS calculado foi de 20,2 considerando a ISSO 24444:2019. Os métodos de determinação do FPS *in silico* complementam as possibilidades oferecidas pelos métodos *in vivo* e *in vitro*. O cálculo *in silico* não tem o componente de erro aleatório ao ser repetido. Isso significa que qualquer desvio em relação ao FPS verdadeiro é erro sistemático. Os modelos para o cálculo do FPS *in silico* utilizam o mesmo algoritmo de cálculo do FPS usado nas medições *in vitro*, mas substituem a medição da transmitância calculando a absorvância geral dos filtros UV em uma película irregular de protetor solar. Além de valer-se dessas simulações para desenvolver novas formulações de protetores solares, os cálculos podem ajudar a conhecer do desempenho geral do protetor solar (OSTERWALDER *et al.*, 2020).

Na simulação *in silico* o produto apresentou comprimento de onda crítico de 373 nm e FPUVA 8,8 (Tabela 15). Para que haja proteção contra as radiações, o produto fotoprotetor deve conter filtros solares UVB, e UVA e apresentar no mínimo o FPUVA de, 1/3 do FPS rotulado e um comprimento de onda crítico superior a 370 nm, a fim de caracterizar o produto como um protetor solar de amplo espectro (UVB/UVA) (BRASIL, 2022).

A razão UVA/UVB e o comprimento de onda crítico fornecem um índice de proteção contra as radiações UV de comprimentos de onda curto e longo, que também podem ser danosos a pele. O primeiro é a razão das extinções médias na faixa UVA e UVB e o segundo é o comprimento de onda (λ) que determina 90% do espectro integral de absorção de 290 nm a 400 nm (BRASIL,2022).

Fundamentado na razão UVA/UVB e no comprimento de onda crítico, Diffey, (1994), propôs a seguinte classificação: relação UVA/UVB entre 0,41 e 0,6 - boa proteção; relação entre 0,61 e 0,8 - proteção superior, acima de 0,8 - máxima proteção. Com relação ao comprimento de onda crítico, a proteção UVA máxima é alcançada com $\lambda \geq 370$ nm. Observando a Tabela 15 pode-se afirmar que os resultados obtidos *in silico* estão em conformidade com as exigências da RDC 629/ 2022 da Anvisa (BRASIL, 2022).

5.6.2 Determinação do fator de proteção solar *in vivo*

A tabela 16 apresenta os dados obtidos do FPS *in vivo* das formulações contendo ou não o extrato de *A. sisalana*. A emulsão sem o extrato apresentou

um FPS de 39,1 e a emulsão com o extrato de *A. sisalana* de 40,5. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabela 16 - Fator de proteção solar das emulsões fotoprotetoras sem e com o extrato de *A. sisalana*.

Parâmetros		Formulação fotoprotetora sem o extrato de <i>A. sisalana</i>	Formulação fotoprotetora com o extrato de <i>A. sisalana</i>
FPS = $\Sigma(\text{FPSi})/n$	17,3	39,1	40,5
Desvio Padrão	1,77	1,45	0,45
IC95	1,27	1,04	0,32

$P < 0,05$.(*) ISO 24444:2019 - Cosméticos - Métodos de teste de proteção solar. Autoria: Própria

Oliveira e colaboradores (2021) ao adicionarem o extrato de *Hymenaea martiana* (5% e 10%) à formulação contendo filtro químico, observaram um aumento da atividade antioxidante e fotoprotetora, atribuindo essa atividade a presença de flavonoides. Concluíram que a adição de filtros solares naturais aos filtros químicos é considerada uma alternativa para aumentar a segurança e eficácia dos fotoprotetores. Ahmady e colaboradores (2020), observaram o aumento do FPS ($6,37 \pm 0,14$ para $21,05 \pm 0,85$) com o aumento da concentração do extrato utilizando (2% para 8%), verificando estabilidade com 6% do extrato purificado de *Elaeagnus angustifolia*. Semelhante a esse estudo Costa e colaboradores (2021), utilizaram o extrato bruto de *Marcetia macrophylla* em formulações fotoprotetoras e observaram que os valores de FPS aumentaram proporcionalmente à concentração de extrato em cada formulação. Em concentrações entre 10,0 mg/ μ l e 50,0 mg/ μ l, todas as formulações contendo extrato etanólico apresentaram atividade fotoprotetora satisfatória ($\text{FPS} \geq 6$). No presente trabalho utilizando 1% (0,01 mg/ μ l) do extrato de *A. sisalana* verificou-se um acréscimo na fotoproteção (tabela 16). Concentrações maiores do extrato poderiam resultar em um aumento ainda mais significativo.

Mejía-Giraldo; Gallardo; Puertas-Mejía, (2021), investigaram a atividade fotoprotetora e antioxidante de extratos de seis espécies de plantas coletadas em montanhas de alta altitude e concluíram que os flavonoides presentes nas plantas possuem capacidade de absorção da radiação UV o que as auxilia na

proteção contra as radiações UVA-UVB por meio de mecanismos fotoprotetores e antioxidantes.

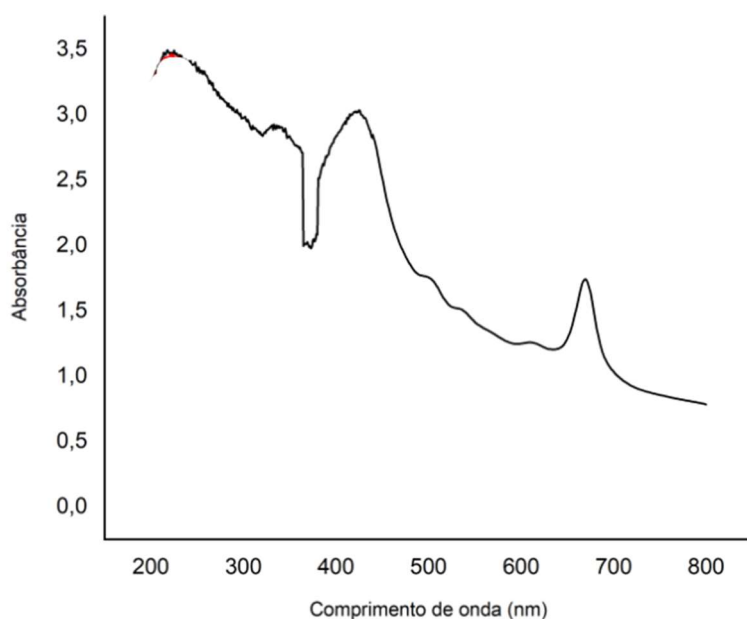
Tomazelli *et al.*, (2018) ao adicionarem a rutina (0,1% p/p) em uma formulação fotoprotetora observaram um aumento do FPS *in vivo* em cerca de 70% em comparação com a formulação sem rutina, evidenciando melhorar eficientemente a fotoproteção, mesmo em baixa concentração. Além disso os autores verificaram um aumento de 40% na atividade antioxidante da formulação. A rutina, um flavonóide da classe dos flavonóis, tem sido estudada por sua atividade antioxidante (TOMAZELLI *et al.*, 2018).

Rosado *et al.*, (2019) avaliaram a associação da cafeína a uma formulação fotoprotetora. Os protetores solares foram preparados com 2,5% p/p de cafeína ou na ausência deste composto. A formulação com cafeína aumentou o FPS *in vivo* em aproximadamente 25% na proteção contra a radiação UVB. Os autores relataram que a cafeína sozinha não forneceu valor do FPS, mas, em associação com filtros UV químicos, o potencializaram. Essa melhora, segundo os mesmos autores provavelmente pode ser atribuída a atividade antioxidante ou anti-inflamatória da cafeína, atenuando o eritema causado pela radiação UV ou mesmo retardando a formação desse.

Considerando os trabalhos relatados acima onde os flavonoides contribuíram com o aumento do FPS, pode-se considerar que esses metabólitos presentes no extrato de *A. sisalana* em estudo podem ter incrementado o valor do FPS *in vivo*. No entanto, na prática, tanto a rotulagem quanto a proteção efetivamente oferecida pelas formulações fotoprotetoras desenvolvidas, contendo ou não o extrato do resíduo do sisal será FPS 40, mas deve ser destacado que a formulação com o extrato apresenta atividade antioxidante.

O aumento da atividade fotoprotetora também pode ser atribuída a absorbância do extrato nos comprimentos de onda entre 200 nm e 350 nm conforme varredura realizada do extrato nos comprimentos de onda de 200 nm a 800 nm (Figura 20).

Figura 20 - Curva representativa da varredura do extrato de *Agave sisalana* na concentração de 10 mg/mL.



Autoria: Própria

A formulação dessa pesquisa, não apresentou um FPS *in vivo* compatível com o calculado *in silico* (FPS 20) (tabela 16). Alguns fatores podem explicar essa diferença como a composição do veículo, o caráter hidrofílico da formulação, a interação com a pele no teste *in vivo* e, tipos e concentrações de emulsionantes e emolientes (FERRARI; ROCHA-FILHO, 2011).

5.6.3 Determinação do Fator de Proteção UVA *in vitro*

As formulações sem e com o extrato de *A. sisalana* cumpriram essa exigência da Anvisa (BRASIL, 2022) quanto ao FPUVA de 25,3 e 21,5 e comprimento de onda de 383 nm e 381,5 nm respectivamente (Tabelas 18, 19 e 20). Valores de comprimento de onda representam o espectro de proteção mas não avaliam a intensidade de proteção (JARZYCKA *et al.*, 2013).

Tabela 17 - Fator de proteção UVA (FPUVA) do produto de referência.

	FPA ₀	Dose (J/cm ²)	FP- UVA	Coefficiente C	FPS <i>in vivo</i>
Média	14,3	15,6	12,8	1,1	
DP	1,0	1,1	1,3	0,1	16

Legenda: DP = desvio padrão. Padrão: S2 (especificação de FPUA = entre 10,7 e 14,7).
Número de placas: 4. Autoria: Própria.

Tabela 18 - Fator de proteção UVA (FPUVA) e comprimento de onda crítico (λ_c) da emulsão fotoprotetora sem o extrato de *A. sisalana*.

	FPA ₀	Dose (J/cm ²)	λ	FPA	Coefficiente C	FPS <i>in vivo</i>
Média	26,5	31,8	383	25,3	1,0	
DP	1,0	1,3	0,5	1,7	0,0	30

Legenda: DP = desvio padrão; λ_c = comprimento de onda crítico.
Número de placas: 4. Autoria: Própria.

Tabela 19 - Fator de proteção UVA (FPUVA) e comprimento de onda crítico (λ_c) da emulsão fotoprotetora com o extrato de *A. sisalana*.

	FPA ₀	Dose (J/cm ²)	λ	FPA	Coefficiente C	FPS <i>in vivo</i>
Média	22,8	27,2	381,3	21,5	1,0	
DP	1,0	1,0	0,5	1,3	0,0	30

Legenda: DP = desvio padrão; λ_c = comprimento de onda crítico.
Número de placas: 4. Autoria: Própria.

Não foi observado um aumento da proteção UVA e do comprimento de onda crítico com a adição do extrato de *Agave sisala*, provavelmente porque a absorvância do extrato a partir do λ de 350 nm, começa a diminuir (Figura 20).

A relação FPS/FPUVA foi calculada utilizando os resultados do teste de FPS *in vivo* (tabela 17). O índice FPS/FPUVA caracteriza a relação entre os dois fatores de proteção solar e deve ser menor ou igual a 3, identificando que o valor FPUVA foi no mínimo de 1/3 do valor do FPS. O resultado obtido foi de 1,54 e 1,88 para as emulsões sem e com o extrato de *A. sisalana*, significando que as

formulações possuem um amplo espectro UVB e UVA (HERZOG; OSTERWALDER, 2015). Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Mejía-Giraldo; Gallardo; Puertas-Mejía, (2021).

Como já foi relatado, a radiação ultravioleta em excesso, resultam na produção de espécies reativas de oxigênio com danos ao DNA, lipídios, proteínas e alteração na estrutura dos fibroblastos, o que contribui para o envelhecimento cutâneo (KHAN *et al.*, 2018). Compostos bioativos naturais com atividade antioxidante, como o extrato de *A. sisalana* utilizado nessa pesquisa, podem ser uma ferramenta estratégica para superar o efeito deletério induzido pelas radiações UVB e UVA.

5.6.4 Avaliação da absorção na faixa de Luz visível e Luz azul

As formulações sem e com o extrato de *A. sisalana* apresentaram proteção contra a luz visível e luz azul (tabelas 20 e 21).

Tabela 20 - Absorção da emulsão fotoprotetora sem o extrato de *A. sisalana* na faixa de luz visível e luz azul.

Parâmetros	Formulação fotoprotetora sem o extrato de <i>A. sisalana</i>	
	Luz visível (400 a 700 nm)	Luz azul (400 a 500 nm)
Média	21%	23%
DP	1%	1%
Coeficiente de variação	3%	5%

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação. Número de placas: 3.
 Autoria: Própria.

Lorrio e colaboradores (2020), simularam a exposição crônica a dispositivos digitais e verificaram que a luz azul, induziu estresse oxidativo nos fibroblastos, danificou as mitocôndrias alterando sua morfologia e potencial de membrana e aumentou a hiperpigmentação. Os extratos botânicos são particularmente interessantes para prevenir as alterações cutâneas supracitadas, pois geralmente são caracterizados por baixa toxicidade e atividade anti-estresse, e frequentemente proporcionam diversas sinergias como atividade anti-inflamatória, antioxidante e reparadora de tecidos. Os autores concluem da importância de proteger as células da pele da luz azul artificial de

dispositivos digitais, neutralizando os sinais prematuros de fotoenvelhecimento e os extratos botânicos com atividade antioxidante devem ser estudados para essa finalidade (LORRIO *et al.*, 2020).

Tabela 21 - Absorção da emulsão fotoprotetora com o extrato de *A. sisalana* na faixa de luz visível e luz azul.

Parâmetros	Formulação fotoprotetora com o extrato de <i>A. sisalana</i>	
	Luz visível (400 a 700 nm)	Luz azul (400 a 500 nm)
Média	19%	24%
DP	1%	1%
Coeficiente de variação	6%	2%

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação. Número de placas: 3.
 Autoria: Própria

Em julho de 2020, um grupo de especialistas se reuniu a fim de revisar a proteção solar, uma vez que o aumento das evidências sobre o impacto dos diferentes comprimentos de onda da luz solar na pele, demonstra a necessidade de recomendações personalizadas de protetor solar de acordo com o fototipo da pele. De acordo com os autores, a proteção contra os raios UVB é especialmente importante para a pele clara, pois há um alto risco de queimaduras solares, danos ao DNA e câncer de pele. A pele mais escura pode ser naturalmente mais protegida contra UVB, mas é mais propensa à hiperpigmentação induzida por luz visível e UVA. A proteção contra UVA, LV e infravermelho A, pode ser útil para todos os fototipos de pele, pois penetram profundamente e causam fotoenvelhecimento. Apesar dos avanços significativos que foram feitos durante a última década, há necessidade de melhorar a proteção contra UVA1, LV e IV (PASSERON *et al.*, 2021).

Existe, até presente momento, relativamente pouca literatura abordando a proteção contra a luz visível e azul. Protetores solares contendo dióxido de titânio e óxido de zinco protegem contra a radiação UVA e UVB, mas fornecem proteção limitada contra a luz visível e azul. Entretanto, esses protetores solares quando combinados com óxidos de ferro (incluindo óxido de ferro vermelho, amarelo e ferro preto) bloqueiam efetivamente a luz azul (BERNSTEIN; SARKAS; BOLAND, 2021).

Lawrence *et al.*, (2022) avaliaram dois protetores solares, ambos rotulados com FPS 15 e proteção UVA na União Europeia e nos Estados Unidos. A metodologia *in vivo* foi desenvolvida pelos autores, onde a região lombar de indivíduos saudáveis do tipo II-IV com pele Fitzpatrick foi irradiada com doses crescentes de radiação. A alteração da pigmentação foi medida imediatamente, 6 h e 24 h após a irradiação usando dois dispositivos de espectroscopia de refletância e classificação visual. Os filtros solares apresentaram proteção mínima contra pigmentação, demonstrando a necessidade de melhorar a proteção contra a luz visível e azul bem como protocolos de testes *in vivo* e *in vitro* para a avaliação da proteção solar contra essas radiações.

De acordo com Addor *et al.*, (2022) diversas metodologias validadas estão sendo apresentadas na literatura a fim de avaliar a proteção contra a luz visível e luz azul, mas ainda não há um padrão universalmente aceito.

A formulação fotoprotetora com extrato de *A. sisalana*, apresentou um amplo espectro de proteção contra a radiação solar, com FPS 40, FPUVA considerável, proteção contra luz visível e azul. Pode ainda ser grafado na rotulagem, de acordo com a RDC 629/2022 (BRASIL 2022): “Produto muito sensível a queimadura solar” e a designação de categoria de proteção (DCP): “alta proteção”. Esse último dizer é obrigatório de acordo com a RDC citada. Assim, pode se dizer que além de uma formulação fotoprotetora também tem ação ação antioxidante, associando a prevenção do envelhecimento cutâneo.

6 CONCLUSÕES

O material vegetal sólido obtido a partir do resíduo industrial de *A. sisalana* e extraído por ultrassonicação em solução etanólica 50%, apresentou bom rendimento de extração e quando caracterizado quimicamente, observou-se a presença de compostos fenólicos e flavonóides, em especial, ácido gálico e catequina.

A presença desses constituintes pode estar relacionada com o potencial antioxidante em toda a cascata oxidativa, verificado por meio das metodologias antioxidantes *in vitro*.

Dentre as 10 formulações estudadas as emulsões E5 (0,6% do UltraThix™, 2,0% do PolyAqual™ 2W e 15 minutos de tempo de cisalhamento) sem e com o extrato de *A. sisalana* 1,0% mantiveram-se estáveis durante 90 dias, apresentando comportamento reológico de fluido não newtoniano com perfil pseudoplástico e tixotrópico desejável para um cosmético de uso tópico. A associação dos emulsificantes *Acrylic Acid/VP Crosspolymer* e *Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol* e o tempo prolongado de cisalhamento foi fundamental para a estabilidade das formulações.

A emulsão estável contendo o extrato de *A. sisalana* não induziu processo de irritação e sensibilização cutânea e não apresentou reações de fototoxicidade ou fotossensibilização cutânea durante o período de estudo e, portanto, suporta o apelo "Dermatologicamente testado".

No estudo do potencial fotoprotetor verificou-se que o FPS *in silico* não foi o mesmo obtido pelo teste *in vivo*, ou seja, à adição do extrato à formulação fotoprotetora aumentou estatisticamente o FPS quando comparada à formulação sem o extrato, sendo respectivamente, FPS 40,5 e 39,1. As formulações com extrato apresentaram FPUVA = 21,5 e comprimento de onda crítico $\lambda = 381,3$, com absorção da luz visível (400 a 700 nm) = 21% e azul (400 a 500 nm) = 19% e satisfazem as exigências da legislação atual para protetores solares.

Apesar do aumento estatisticamente observado no FPS *in vivo*, após a adição do extrato de *A. sisalana*, na prática, tanto a rotulagem quanto a proteção efetivamente oferecida pelas formulações fotoprotetoras desenvolvidas, contendo ou não o extrato do resíduo do sisal será FPS 40. Entretanto,

concentrações maiores do extrato podem ser avaliadas a fim de verificar o aumento mais expressivo do FPS *in vivo*.

Esta pesquisa buscou e apresentou o aproveitamento do resíduo do sisal de modo sustentável ambiental, econômico e socialmente, através do desenvolvimento de uma formulação multifuncional com ações antioxidante e fotoprotetora. Além da redução do impacto do resíduo no meio ambiente, a utilização de um produto multifuncional, é um importante avanço dermatológico uma vez que permite ao consumidor reduzir custo, número de produtos, possíveis interações entre produtos diferentes e tempo de aplicação.

REFERÊNCIAS

- ADE-AJAYI, A. F.; HAMMUEL, C.; EZEAYANASO, C.; OGABIELA, E. E.; UDIBA, U. U.; ANYIM, B.; OLABANJI, O. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of *Agave sisalana* Perrine juice (waste). *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, v. 3, n. 7, p. 180-183, 2011.
- ADDOR, F. A. S.; BARCAUI, C. B.; GOMES, E. E.; LUPI, O.; MARCON, C. R., MIOT, H. A. Protetor solar na prescrição dermatológica: revisão de conceitos e controvérsias, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 97, n. 2, p. 204-222, 2022.
- AGUILAR-HERNÁNDEZ, G.; GARCÍA-MAGAÑA, M. L.; VIVAR-VERA, M. L. Á.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; SÁNCHEZ-BURGOS, J. A.; MORALES-CASTRO, J.; ANAYA-ESPARZA, L. M.; MONTALVO GONZÁLEZ, E. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Annona muricata* By-Products and Pulp. *Molecules*, v. 5, n. 24, p. 1-15, 2019.
- AGUILERA, J., VICENTE-MANZANARES, M., DE GÁLVEZ, M. V., HERRERA-CEBALLOS, E., RODRÍGUEZ-LUNA, A., & GONZÁLEZ, S. Booster Effect of a Natural Extract of Polypodium leucotomos (Fernblock®) That Improves the UV Barrier Function and Immune Protection Capability of Sunscreen Formulations. *Frontiers in medicine*, v. 8, p. 684665, 2021.
- AHMADY, A.; AMINI, M. H.; ZHAKFAR, A. M.; BABAK, G.; SEDIQI, M. N. Sun Protective Potential and Physical Stability of Herbal Sunscreen Developed from Afghan Medicinal Plants. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 17, n. 3, p. 285-292, 2020.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Methods for determination of *in vitro* antioxidant activity for extracts and organic compounds. *Química Nova* [online], v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ANAYA-ESPARZA, L. M.; RAMOS-AGUIRRE, D.; ZAMORA-GASGA, V. M.; YAHIA, E.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Justicia spicigera* leaves. *Food Science Biotechnology*, v. 27, n. 4, p.1093–1102, 2018.
- ANDREO, D.; JORGE, N. ANTIOXIDANTES NATURAIS: TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO. *Boletim de Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (on line)*, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- ANTON, A. Colorimetric Estimation of Aluminum with Pyrocatechol Violet. *Analytical Chemistry*, v. 32, n. 6, 725-726, 1960.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Guia de estabilidade de produtos cosméticos*, Brasília: Anvisa, 2004.
- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Guia de estabilidade de produtos cosméticos*, Brasília: Anvisa, 2005.

ARTEAGA-CRESPO, Y.; RADICE, M.; BRAVO-SANCHEZ, L. R.; GARCÍA-QUINTANA, Y.; SCALVENZI, L. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Ilex guayusa* Loes. leaves using response surface methodology. *Heliyon*, v. 6, n. 1 e03043, 2019.

ASHLAND – Disponível em: <https://www.ashland.com/industries/personal-and-home-care/skin-and-sun-care/ultrathix-p-1000-polymer>. Acesso em: jan. 2020.

AXIOTIS, E., PETRAKIS, E. A., HALABALAKI, M., MITAKOU, S. Phytochemical Profile and Biological Activity of Endemic *Sideritis siphylea* Boiss. in North Aegean Greek Islands. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 25, n. 9, 2020.

BABY, A. R., MIGLIATO, K. F.; MACIEL, C. P. M.; ZAGUE, V.; PINTO, C. A. S. O.; SALGADO, H. R. N.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R. Accelerated chemical stability data of O/W fluid emulsions containing the extract of *Trichilia catigua* Adr. Juss (and) *Ptychopetalum olacoides* Benth. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 3, p. 405-412, 2007.

BALDISSEROTTO A.; BUSO, P.; RADICE, M.; DISSETTE, V.; LAMPRONTI, I.; GAMBARI, R.; MANFREDINI, S.; VERTUANI, S. *Moringa oleifera* Leaf Extracts as Multifunctional Ingredients for "Natural and Organic" Sunscreens and Photoprotective Preparations. *Molecules*, v. 23, n. 3, p. 1-16, 2018.

BAMBA, B.; SHI, J.; TRANCHANT, C. C.; XUE, S. J., FORNEY, C. F.; LIM, L. T. Influence of Extraction Conditions on Ultrasound-Assisted Recovery of Bioactive Phenolics from Blueberry Pomace and Their Antioxidant Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 23, n. 7, p. 1685-1701, 2018.

BARBA, F. J.; ALCÁNTARA, C.; ABDELKEBIR, R.; BÄUERL, C.; PÉREZ-MARTÍNEZ, G.; LORENZO, J. M.; CARMEN COLLADO, M.; GARCÍA-PÉREZ, J. V. Ultrasonically-Assisted and Conventional Extraction from *Erodium Glaucophyllum* Roots Using Ethanol:Water Mixtures: Phenolic Characterization, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 25, n. 7, p. 1759, 2020.

BARBOSA, L. F.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Danos oxidativos e neurodegeneração: o que aprendemos com animais transgênicos e nocautes? *Química Nova*, v. 29, n. 6, p. 1352-1360, 2006.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R de C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARNES, HOWARD A. *A Handbook of Elementary Rheology*. Aberystwyth: University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 2000.

BARRETO, S. M. A. G.; MAIA, M. S.; BENICA, A. M.; DE ASSIS, H. R. B. S.; LEITE-SILVA, V. R.; ROCHA-FILHO, P. A.; NEGREIROS, M. M. F.; ROCHA, H. A. O.; OSTROSKY, E. A.; LOPES, P. S.; SALES, V. S. F.; GIORDANI, R. B.; FERRARI, M. Evaluation of *in vitro* and *in vivo* safety of the by-product of

Agave sisalana as a new cosmetic raw material: Development and clinical evaluation of a nanoemulsion to improve skin moisturizing. *Industrial Crops and Products*, v. 108, p. 470-479, 2017.

BARRETO, S. M. A. G.; CADAVID, C. O. M.; MOURA, R. A. O.; SILVA, G. M. M.; ARAÚJO, S. V. F.; SILVA FILHO, J. A. A. D.; ROCHA, H. A. O.; OLIVEIRA RP, GIORDANI, R. B.; FERRARI M. *In Vitro* and *In Vivo* Antioxidant Activity of *Agave sisalana* Agro-Industrial Residue. *Biomolecules*, v. 10, n. 10, p, 1435, 2020.

BASF. Sunscreen simulator. Disponível em: http://www.suncreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/Login_show.action. Acesso em: fev. 2019.

BATISTA, C. M.; DE QUEIROZ, L. A.; ALVES, Â., REIS; E., SANTOS, F. A.; CASTRO, T. N.; LIMA, B. S.; ARAÚJO, A.; GODOY, C.; SEVERINO, P.; CANO, A.; SANTINI, A.; CAPASSO, R.; DE ALBUQUERQUE JÚNIOR, R.; CARDOSO, J. C.; SOUTO, E. B. Photoprotection and skin irritation effect of hydrogels containing hydroalcoholic extract of red propolis: A natural pathway against skin cancer. *Heliyon*, v. 8, n. 2, p. e08893, 2022.

BERNSTEIN, E. F.; SARKAS, H. W.; BOLAND, P. Iron oxides in novel skin care formulations attenuate blue light for enhanced protection against skin damage. *Journal of cosmetic dermatology*, v. 20, n. 2, p. 532–537, 2021.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

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. 2012

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Dispõe sobre o "Regulamento Técnico Mercosul sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes". *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 de mar. 2016

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Dispõe sobre a lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e internaliza a Resolução GMC MERCOSUL nº 44/2015, alterada pela Resolução GMC MERCOSUL nº 14/2021. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 9 de fev. 2022.

BOSCH, R.; PHILIPS, N.; SUÁREZ-PÉREZ, J. A.; JUARRANZ, A., DEVMURARI, A.; CHALENSOUK-KHAOSAAT, J.; GONZÁLEZ, S. Mechanisms of Photoaging and Cutaneous Photocarcinogenesis, and Photoprotective Strategies with Phytochemicals. *Antioxidants*, v. 4, n. 2, p. 248–268, 2015.

BULBOVAS, P.; RINALDI, M. C. S.; DELITTI, W. B.C.; DOMINGOS, M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-brasil). *Brazilian Journal of Botany* [online], v. 28, n. 4, p. 687-696.

CERQUEIRA, G. S.; SILVA, G. D. S.; VASCONCELOS, E. R.; FREITAS, A. P.F.; MOURA, B. A.; MACEDO, D. S.; SOUTO, A. L.; FILHO, J. M. B.; LEAL, L. K. A, BRITO, G. A. C.; SOUCCAR, C.; VIANA, G. S. B. Effects of hecogenin and its possible mechanism of action on experimental models of gastric ulcer in mice. *European Journal of Pharmacology*, v. 683, n. 1-3, p. 260–269, 2012.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F. Non-Newtonian Flow and Applied Rheology: Engineering Applications. 2. ed. Hungary, Ed.Butterworth-Heinemann, 2008

CHEN, P. Y.; KUO, Y. C.; CHEN, C. H.; KUO, Y. H.; LEE, C. K. Isolation and immunomodulatory effects on homoisoflavones and flavones from *Agave sisalana*. Perrine ex Engelm. *Molecules*, v. 14, n.5, p. 1789-1795, 2009.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H. R. N. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 88, v.3, p. 113-118, 2007.

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.

COSTA, S. C. C.; DAMASCENO, P. K. F.; LIMA, R. G. G. et al. Evaluation of antioxidant, photoprotective and antinociceptive activities of *Marctia macrophylla* extract: potential for formulation of sunscreens. *Brazilian Journal of Biology*, v. 83, p.1-9, 2021.

DAHER, C. C.; FONTES, I.; SILVA, R. R. O.; DAMASCENO, G. A. B.; SOARES, D. S.; ARAGÃO, C. F. S.; GOMES, A. P. B.; FERRARI, M. Development of O/W emulsions containing *Euterpe oleracea* extract and evaluation of photoprotective efficacy. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 50, n. 3, p. 639-652, 2014.

DASGUPTA, N.; DE, B. Antioxidant activity of *Piper betle* L. leaf extract *in vitro*. *Food Chemistry*, v. 88, n. 2, p. 219-224, 2004.

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.

DE ASSIS, L. V. M.; TONOLLI, P. N.; MORAES, M. N.; BAPTISTA, M. S.; A. M. L.; CASTRUCCI. How does the skin sense sun light? An integrative view of light

sensing molecules, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, v. 47, p. 1-17, 2021.

DE LIMA CHERUBIM, D. J.; BUZANELLO MARTINS, C. V.; OLIVEIRA FARIÑA, L.; DA SILVA DE LUCCA, R. A. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *Journal of Cosmética. Dermatologia*, v. 19, n. 1, p. 33-37, 2020.

DE OLIVEIRA-JÚNIOR, R.G.; SOUZA, G.R.; FERRAZ, C.A.A.; DE OLIVEIRA, A.P.; ARAÚJO, C.S.; DE LIMA-SARAIVA, S.R.G.; REIS, S.A.G.B.; GONÇALVES, T.M.; ROLIM, L.A.; ROLIM-NETO, P.J.; et al. Development and Evaluation of Photoprotective O/W Emulsions Containing Hydroalcoholic Extract of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). *The Scientific World Journal* 2017, 2017, 5019458.

DECKER, E. A.; WELCH, B. Role of Ferritin as a Lipid Oxidation Catalyst in Muscle Food. *Journal of agricultural food chemistry*, v. 38, n. 3, p. 674-677, 1990

DIFFEY, B. L.; ROBSON, R. A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum". *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, v. 40, p. 127-133, 1989.

DING, Y.; TIAN, R. H.; YANG, C. R.; CHEN, Y. Y.; NOHARA, T. Two new steroidal saponin from dried fermented residues of leaf juice of *Agave sisalana* forma Dong no.1. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 41, n. 3; p. 557-560, 1993.

DOMÍNGUEZ, M.; NIETO, A.; MARIN, J.C.; KECK, A.-S.; JEFFERY, E.; CESPEDES, C.L.; DOMINGUEZ-LOPEZ, M. Antioxidant Activities of Extracts from *Barkleyanthus salicifolius* (Asteraceae) and *Penstemon gentianoides* (Scrophulariaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 5889-5895, 2005.

DONG, K.; GOYARTS, E. C.; PELLE, E.; TRIVERO, J.; PERNODET, N. Blue Light Disrupts the Circadian Rhythm and Create Damage in Skin Cells. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 41, p. 558–562, 2019.

NAKASHIMA, Y.; OHTA, S.; WOLF, A. M. Blue Light-Induced Oxidative Stress in Live Skin. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 108, p. 300–310, 2017.

DUNDER, J. R.; LUIZ-FERREIRA, A.; ALMEIDA, A. C. A., DE-FARIA, F. M.; TAKAYAMA, C.; SOCCA, E. A. R.; SALVADOR, M. J.; MELLO, G. C.; SANTOS, C.; OLIVA-NETO, P.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Applications of the hexanic fraction of *Agave sisalana* Perrine ex Engelm (Asparagaceae): control of inflammation and pains creening. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 108, n. 3, p. 263-271, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA EM PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). Informações gerais sobre o sisal. 2010. Disponível em: Acesso em: 17 jan. 2018.

FAROOQ, M. U.; MUMTAZ, M. W.; MUKHTAR, H.; RASHID, U.; AKHTAR, M. T.; RAZA, S. A.; NADEEM, M. UHPLC-QTOF-MS/MS based phytochemical characterization and anti-hyperglycemic prospective of hydro-ethanolic leaf extract of *Butea monosperma*. *Scientific reports*, v., 10, n.1, p. 3530, 2020.

FERNANDES, A. S.; MAZZEI, J. L.; OLIVEIRA, C. G.; EVANGELISTA, H.; MARQUEZ, M. R.; FERRAZ, E. R.; FELZENSZWALB, I. Protection against UV-induced toxicity and lack of mutagenicity of Antarctic *Sanionia uncinata*. *Toxicology*, v. 376, p. 126-136, 2017.

FERNÁNDEZ-BARBERO, G.; PINEDO, C.; ESPADA-BELLIDO, E.; FERREIRO-GONZÁLEZ, M.; CARRERA, C.; PALMA, M.; GARCÍA-BARROSO, C. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) fruit through a Box-Behnken experimental design. *Food Science Technology*, Campinas, v. 39, n. 4, p. 1018-1029, 2019.

FERNÁNDEZ-POYATOS, M. P.; RUIZ-MEDINA, A.; ZENGİN, G.; LLORENT-MARTÍNEZ, E. J. Phenolic Characterization, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Properties of *Berberis thunbergii* DC. Leaves: A Valuable Source of Phenolic Acids. *Molecules*, v. 24, p. 4171, 2019.

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.; 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.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA-NUNES, R.; ANGELO, T.; DA SILVA, S. M. M., et al. Versatile chromatographic method for catechin determination in development of topical formulations containing natural extracts. *Biomedical Chromatography*, v. 32, n. 2, p. 4062, 2018.

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

FORNI, C.; FACCHIANO, F.; BARTOLI, M.; PIERETTI, S.; FACCHIANO, A.; D'ARCANGELO, D.; NORELLI, S.; VALLE, G.; NISINI, R.; BENINATI, S.; TABOLACCI, C.; JADEJA, R. N. Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases. *BioMed research international*, 2019, Apr 7;2019:8748253. doi: 10.1155/2019/8748253. PMID: 31080832; PMCID: PMC6475554.

FREITAS, A. B. T. M.; SANTOS, A. M. B.; SANTOS, J. P. O.; SOUZA, J. S.; MIELEZRSK, F. Desenvolvimento de *Agave sisalana* Perrine sob diferentes manejos de adubação e consórcio *Colloquium Agrariae*, v. 14, n. 4, p. 39-46, 2018.

FUTRAKUL, B.;KANLAYAVATTANAKUL, M.; KRISDAPHONG, P. Biophysic evaluation of polysaccharide gel from durian's fruit hulls for skin moisturizer. *International journal of cosmetic science*, v. 32, n. 3, p. 211-215, 2010.

GALVAN D'ALESSANDRO, L.; KRIAA, K.; NIKOV, I.; DIMITROV, K. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*, v. 93, 42–47, 2012.

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 × ananassa*) Extract against UV-A Irradiation Damage on Human Fibroblasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, p. 2322–2327, 2012.

GIL, E. S. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. 3 ed. São Paulo, SP: Pharmabooks. 2010. 512 p.

GODINHO, M. M.; HOSSY, B. H.; NIEMEYER-CORBELLINI, J. P.; RAMOS-E-SILVA, M. Perfil dos filtros solares utilizados nos fotoprotetores no Brasil. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, v. 9, n. 3, p. 243- 246, 2017.

GUAMBO, M. P. R.; SPENCER, L.; VISPO, N. S. et al. Natural Cellulose Fibers for Surgical Suture Applications. *Polymers (Basel)*, v. 12, n. 12, p. 3042, 2020. doi:10.3390/polym12123042.

HAMISSA, A.M.B.; SEFFEN, M.; ALIAKBARIAN, B.; CASAZZA, A.A.; PEREGO, P.; CONVERTI, A. Phenolics extraction from *Agave americana* (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor. *Food and Bioproducts Processing*, v. 90, n. 1, p.17–21, 2012.

HE, H.; LI, A.; LI, S.; TANG, J.; LI, L.; XIONG, L. Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF). *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, v.,134, p. 111161, 2021.

HENDERSON, S. I.; KING, K. L.; KARIPIDIS, K. K.; TINKER, R. A.; GREEN, A. C. Effectiveness, compliance and application of sunscreen for solar ultraviolet

radiation protection in Australia. *Public health research & practice*, v, 32, n. 1, p. 3212205, 2022. <https://doi.org/10.17061/phrp3212205>

HERZOG, B.; OSTERWALDER, U. Simulation of sunscreen performance. *Pure and Applied Chemistry*, v. 87, n. 9-10, p. 937, 2015.

HOLKEM, A. T.; FRANCO, C. C.; DE BONA, C. D. S.; RAGAGNIN, C. D. M. Técnicas de preparação de sistemas nanotecnológicos aplicados a alimentos. *Ciência e natureza*, v. 37, p. 87., 2015.

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.

HOU, M.; HU, W.; WANG, A.; XIU, Z.; SHI, Y.; HAO, K.; SUN, X.; CAO, D.; LU, R.; SUN, J. Ultrasound-Assisted Extraction of Total Flavonoids from *Pteris cretica* L.: Process Optimization, HPLC Analysis, and Evaluation of Antioxidant Activity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 8, n. 10, p. 425, 2019.

HUBNER, A.; SOBREIRA, F.; VETORE NETO, A.; PINTO, C. A. S. O.; DARIO, M. F.; DÍAZ, I. E. C.; LOURENÇO, F. R.; ROSADO, C.; BABY, A. R.; BACCHI, E. M. The Synergistic Behavior of Antioxidant Phenolic Compounds Obtained from Winemaking Waste's Valorization, Increased the Efficacy of a Sunscreen System. *Antioxidants (Basel)*, v. 8, n. 11, p. 530, 2019.

HWANG, E.; PARK, S. Y.; YIN, C. S.; KIM, H.T.; KIM, Y. M.; YI, T. H. Antiaging effects of the mixture of *Panax ginseng* and *Crataegu spinnatifida* in human dermal fibroblasts and healthy human skin. *Journal of Ginseng Research*, v. 41, n. 1, p. 69-77, 2017.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/cancer-de-pele-saiba-como-prevenir-diagnosticar-e-tratar> Acesso em: jan. 2022.

INNOVACOS. Disponível em: <http://innovacos.com/ingredients/formulience-2/polyaquol-2w/>. Acesso em: jul.2019.

IPclin. Disponível em: <https://grupoipclin.com.br/pt-br/servicos/clinicos-in-vivo>. Acesso em: jan. 2022.

ISO. *Sun protection test methods: In vivo determination of the sun protection factor (SPF)*. ISO 24444:2010, *Cosmetics*. On-line. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/46523.html>. Acesso em: 29/1/2022

ISO. Sun protection test methods: *In vivo* determination of the sun protection factor (SPF). ISO 24444:2019(E), *Cosmetics*, 2^a. ed. On-line. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/72250.html>. Acesso em: 29/1/2022.

JAFARI, S. M.; ASSADPOORA, E.; HEB, Y.; BHANDARIC, B. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, v. 22, n. 7, p. 1191–1202, 2008.

JARZYCKA, A.; LEWINSKA, A.; GANCARZ, R.; WILK, K. A. Assessment of extracts of *Helichry sumarenarium*, *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.

JENKINS, G. I. Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annual Review of Plant Biology*, v. 60, p. 407–431, 2009.

JHA, P.; DAS, A. J.; DEKA, S. C. Optimization of ultrasound and microwave assisted extractions of polyphenols from black rice (*Oryza sativa* cv. Poireton) husk. *Journal of Food Science and Technology*, v. 54, n. 12, p. 3847–3858, 2017.

JIMÉNEZ-MORENO, N.; VOLPE, F.; MOLER, J.A.; ESPARZA, I.; ANCÍN-AZPILICUETA, C. Impact of Extraction Conditions on the Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Grape Stem Extracts. *Antioxidants*, v. 8, n. 12, p. 1–17, 2019

KAHLAOUI, M.; BOROTTO, D. V. S.; GIOVINE, F.; BEN HAJ, K. H.; BOUZOUITA, N.; BARBOSA, P. L.; ZEPPA, G. Characterization of Polyphenolic Compounds Extracted from Different Varieties of Almond Hulls (*Prunus dulcis* L.). *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 8, n.12, p.647, 2019.

KAL TSA, O.; LAKKA, A.; GRIGORAKIS, S.; KARAGEORGOU, I.; BATRA, G.; BOZINO, E.; LALAS, S.; MAKRIS, D. P. A Green Extraction Process for Polyphenols from Elderberry (*Sambucus nigra*) Flowers Using Deep Eutectic Solvent and Ultrasound-Assisted Pretreatment. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 25, n.4, p. 921, 2020.

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

KHAN, A.; BAI, H.; SHU, M.; CHEN, M.; KHAN, A.; BAI, Z. Antioxidative and antiphotaging activities of neferine upon UV-A irradiation in human dermal fibroblasts [published correction appears in Biosci Rep. 2021 Jul 30;41(7):]. *Bioscience Reports*, v. 38, n. 6, p. 1-14, 2018.

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, E.; HWANG, K.; LEE, J.; HAN, S. Y.; KIM E. M.; PARK J.; CHO, J. Y. Skin protective effect of epigallocatechin gallate. *International Journal of Molecular Science*. v. 19, p. 1–14, 2018.

KOSTYUK, V.; POTAPOVICH, A.; ALBUHAYDAR, A. R.; MAYER, W.; DE LUCA, C.; KORKINA, L. Natural Substances for Prevention of Skin Photoaging: Screening Systems in the Development of Sunscreen and Rejuvenation Cosmetics. *Rejuvenation Reserch*, v. 21, n. 2, p. 91–101, 2018.

LAWRENCE, K. P.; SARKANY, R.; ACKER, S.; HERZOG, B.; YOUNG, A. R. A new visible light absorbing organic filter offers superior protection against pigmentation by wavelengths at the UVR-visible boundary region. *Journal of photochemistry and photobiology*. B, Biology, v. 227, p. 112372, 2022.

LEE, K. O.; KIM, S. N.; KIM, Y. C. Anti-wrinkle Effects of Water Extracts of Teas in Hairless Mouse. *Toxicological Research*, v. 30, n. 4, p. 283–289, 2014.

LEE, H.; HONG, Y.; KWON, S. H.; PARK, J.; PARK, J. Anti-aging effects of *Piper cambodianum* P. Fourn. extract on normal human dermal fibroblast cells and a wound-healing model in mice. *Clinical Interventions in Aging*, v. 11, p. 1017-1026, 2016.

LEONARDI, G. R. Cosmetologia aplicada. 2º ed. São Paulo. Ed. Santa Isabel, 230 p., 2008.

LIEBEL, F.; KAUR, S.; RUVOLO, E.; KOLLIAS, N.; SOUTHALL, M. D. Irradiation of skin with visible light induces reactive oxygen species and matrix-degrading enzymes. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 132, n. 7, p. 1901-1907, 2012.

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

LIMTRAKUL, P.; YODKEEREE, S.; THIPPRAPHAN, P.; PUNFA, W.; SRISOMBOON, J. Anti-aging and tyrosinase inhibition effects of *Cassia fistula* flower butanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 16, n. 1, p. 497, 2016.

LIU, Z.; TANG, X.; LIU, C.; DONG, B.; SHAO, Y.; LIU, B.; YUE, H. Ultrasonic extraction of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. and its antioxidant activity. *Food Science & Nutrition*, v. 8, n. 5, p. 2642–2651, 2020.

LÓPEZ-ROMERO, J. C.; AYALA-ZAVALA, J. F.; PEÑA-RAMOS, E. A.; HERNÁNDEZ, J.; GONZÁLEZ-RÍOS, H. Antioxidant and antimicrobial activity of *Agave angustifolia* extract on overall quality and shelf life of pork patties stored under refrigeration. *Journal of food science and technology*, v. 55, n. 11, p. 4413–4423, 2018.

LORIGO, M.; CAIRRAO, E. Antioxidants as stabilizers of UV filters: an example for the UV-B filter octylmethoxycinnamate. *Biomedical Dermatology*, v. 3, 11, 2019.

LORRIO, S.; RODRÍGUEZ-LUNA, A.; DELGADO-WICKE, P.; MASCARAQUE, M.; GALLEGU, M.; PÉREZ-DAVÓ, A.; GONZÁLEZ, S.; JUARRANZ, Á. Protective Effect of the Aqueous Extract of *Deschampsia antarctica* (EDAFENCE®) on Skin Cells against Blue Light Emitted from Digital Devices. *International journal of molecular sciences*, v. 21, n. 3, p. 988, 2020.

MARAN, J. P.; PRIYA, B. Ultrasound-assisted extraction of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, v. 115, p. 732-738, 2015.

MANCERO, S. E.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. Sunscreens: a review of health benefits, regulations, and controversies. *Dermatology Clinical*, v. 32, n. 3, p. 427-438, 2014.

MANN, T.; EGGERS, K.; RIPPKE, F. et al. High-energy visible light at ambient doses and intensities induces oxidative stress of skin-Protective effects of the antioxidant and Nrf2 inducer Licochalcone A *in vitro* and *in vivo*. *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine*, v. 36, n. 2, p. 135-144, 2020.

MARTINS, F. J.; CANESCHI, C. A.; VIEIRA, J. L.; BARBOSA, W.; RAPOSO, N. R. Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extracts. *Journal of Photochemistry and Photobiology B.*, v. 161, p. 34-39, 2016.

MASMOUDI, H.; DRÉAU, Y. L.; 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. (1-2), p. 117–131, 2005.

McDANIEL D. H.; HAMZAVI, I. H.; ZEICHNER, J. A. et al. Total Defense + Repair: A Novel Concept in Solar Protection and Skin Rejuvenation. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 14, n. 7, p. s3-s11, 2015.

MEDINA-TORRES, N.; AYORA-TALAVERA, T.; ESPINOSA-ANDREWS, H.; SÁNCHEZ-CONTRERAS, A.; PACHECO, N. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, v. 7, n. 3, 2017.

MEJÍA-GIRALDO, J. C.; GALLARDO, C.; PUERTAS-MEJÍA, M. A. Selected Extracts from High Mountain Plants as Potential Sunscreens with Antioxidant Capacity. *Photochemistry and Photobiology*, v. 98, p. 211- 219.

MORAIS, D. V. D.; COSTA, M. A. P. D. C.; SANTA BARBARA, M. F.; SILVA, F. D. L.; MOREIRA, M. M.; DELERUE-MATO, C. et al. Antioxidant, photoprotective and inhibitory activity of tyrosinase in extracts of *Dalbergia ecastaphyllum*. *PLoS ONE*, v. 13, n. 11, p. 1-16, 2018.

MORGANROTH, P. A.; LIM, H. W.; MD, BURNETT, C. T. Ultraviolet Radiation and the Skin *An In-Depth Review. American Journal of Lifestyle Medicine*, v. 7, n. 3, p. 168-181, 2013.

NAKASHIMA, Y.; OHTA, S.; WOLF, A. M. Blue Light-Induced Oxidative Stress in Live Skin. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 108, p. 108, 300–310, 2017.

NAPAGODA, M. T.; MALKANTHI, B. M. A. S.; ABAYAWARDANA, S. A. K.; QADER, M. M.; JAYASINGHE, L. Photoprotective potential in some medicinal plants used to treat skin diseases in Sri Lanka. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. v. 16, n. 1, p. 479, 2016.

OLIVEIRA, F. G. S.; DE VERAS, B. O.; DA SILVA, A. P. S.; DE ARAÚJO, A. D.; BARBOSA, D. C. S.; SILVA, T. C. M.; RIBEIRO, E. R. F. R.; MAIA, M. M. L.; SOUZA JÚNIOR, U. P.; LIMA, V. L. M.; DA SILVA, M. V.; LOPES, N. P.; ROLIM, L. A.; ALMEIDA, J. R. G. S. Photoprotective activity and HPLC-MS-ESI-IT profile of flavonoids from the barks of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae): development of topical formulations containing the hydroalcoholic extract. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 35, n.1, p. 504-516, 2021.

OPLÄNDER, C.; HIDDING, S.; WERNERS, F.B.; BORN, M.; PALLUA, N.; SUSCHEK, C.V. Effects of Blue Light Irradiation on Human Dermal Fibroblasts. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v.103, p. 118–125, 2011.

OROIAN, M.; URSACHI, F.; DRANCA, F. Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Crude Pollen. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 4, p. 322, 2020.

OSTERWALDER, U.; UHLIG, S.; COLSON, B.; VOLHARDT, J. Métodos alternativos para teste de FPS. *Cosmetics & Toiletries*, v. 32, p. 23-30, 2020.

OSTERWALDER, U.; JANSSEN, A.; SCHLIFKE, A. A new option for SPF assessment? *COSSMA*, v. 1-2, p. 20-24, 2018.

PADILHA, C.E.A.; DANTAS, P.V.F.; NOGUEIRA, C.D.C.; LEITÃO, A.L.S., ALMEIDA, H.N.; SANTANA, S D.F.; DOS SANTOS, E.S. Enhancing the recovery and concentration of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) by aqueous two-phase flotation and scale-up process. *Separation Science and Technology*, v. 53, n. 13, p. 2126-2135, 2018.

PASSERON T, LIM HW, GOH CL, et al. Photoprotection according to skin phototype and dermatoses: practical recommendations from an expert panel. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v. 35, n. 7, p. 1460-1469, 2021.

PERIOLI, L.; PAGANO, C.; MAZZITELLI, S.; ROSSI, C.; NASTRUZZI, C. Rheological and functional characterization of new antiinflammatory delivery

systems designed for buccal administration. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 356, n.1-2, p. 19-28, 2008.

PETERSEN, B.; WULF, H. C. Application of Sunscreen-Theory and Reality. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, v. 30, p. 96–101, 2014.

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.

PISOSCHI A. M.; POP, A.; CIMPEANU, C.; PREDOI, G. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, p. 1-36, 2016.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. Tecnologia Farmacêutica, 5 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, 1995, 1437 p.

QUEIROZ, M. F.; SABRY, D. A.; SASSAKI, G. L.; ROCHA, H.; COSTA, L. S. Gallic Acid-Dextran Conjugate: Green Synthesis of a Novel Antioxidant Molecule. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 8, n. 10, p. 478, 2019.

RADICE, M.; MANFREDINI, S.; ZIOSI, P.; DISSETTE, V.; BUSO, P.; FALLACARA, A.; VERTUANI, S. Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters. A systematic review. *Fitoterapia*, v. 114, p. 144–162, 2016.

RATZ-ŁYKO, A.; ARCT, J; MAJEWSKI, S.; PYTKOWSKA, K. Influence of polyphenols on the physiological processes in the skin. *Phytotherapy Research*, v. 29, n. 4, p. 509–517, 2015.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A, PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, p. 1231-7, 1999.

REUTER, J.; MERFORT, I.;SCHEMPP, C. M. Botanicals in dermatology: an evidence-based review. *American Journal of Clinical Dermatology*, v. 11, n. 4, p. 247-67, 2010.

RIBEIRO, B. D.; ALVIANO, D. S BARRETO, D. W.; COELHO, M. A. Z. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): Critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities.

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 436, p. 736-743, 2013.

RIBEIRO, R.; BARRETO, S.; OSTROSKY, E.; ROCHA-FILHO, P.; VERÍSSIMO, L.; FERRARI, M. Production and Characterization of Cosmetic Nanoemulsions Containing *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill Extract as Moisturizing Agent. *Molecules*, v. 20, n. 2, p. 2492-2509, 2015.

ROSADO, C.; TOKUNAGA, V. K.; SAUCE, R.; DE OLIVEIRA, C. A.; SARRUF, F. D.; PARISE-FILHO, R.; MAURÍCIO, E.; DE ALMEIDA, T. S.; VELASCO, M.; BABY, A. R. Another Reason for Using Caffeine in Dermocosmetics: Sunscreen Adjuvant. *Frontiers in Physiology*, v. 10, p. 519, 2019.

RODRIGUES, L. A avaliação biofísica da superfície cutânea: indicadores fisiológicos da funcionalidade epidérmica. *Revista Portuguesa de Farmácia*, v. 45, n. 1, p. 52-59, 1995.

RUSU, M. E.; FIZEŞAN, I.; POP, A.; GHELDIU, A. M.; MOCAN, A.; CRIŞAN, G.; VLASE, L.; LOGHIN, F.; POPA, D. S.; TOMUTA, I. Enhanced Recovery of Antioxidant Compounds from Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Involucre Based on Extraction Optimization: Phytochemical Profile and Biological Activities. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, v. 8, n. 10, p. 460, 2019.

SADOWSKA, M.; NARBUTT, J.; LESIAK, A. "Blue Light in Dermatology" *Life* 11, v. 11, n. 7, p. 670, 2021. <https://doi.org/10.3390/life11070670>

SANDER, M.; SANDER, M.; BURBIDGE, T.; BEECKER, J. The efficacy and safety of sunscreen use for the prevention of skin cancer. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, v. 192, n. 50, p. E1802–E1808, 2020. <https://doi.org/10.1503/cmaj.201085>

SANTOS, J. D. G.; ESPELETA, A. F.; BRANCO, A.; de ASSIS, S. A. Aqueous extration of pectin from sisal waste. *Carbohydrate Polymers*, v. 92, n. 2, p. 1997-2001, 2013.

SANTOS, J. D. G.; BRANCO, A. GC-MS Characterisation of sapogenins from sisal waste and a method to isolate pure hecogenin. *Bioresources*, v. 9, n.1, p. 1325–1333, 2014.

SANTOS, J. D. G.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R.; BRANCO, A. Chemicals from *Agave sisalana* Biomass: Isolation and Identification. *International Journal of Molecular Sciences*, v.16, n. 4, p. 8761–877, 2015.

SARAF, S.; KAUR, C. D. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetic formulations. *Pharmacognosy Reviews*, v. 4, n. 7, p. 1-11, 2010. doi:10.4103/0973-7847.65319.

SBD. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/?s=preven%C3%A7%C3%A3o+solar>. Acesso em: jan. 2022.

SECCO, G. G.; BELTRAMEI, B. M.; SCHWANZ, M. Avaliação *in vitro* do fator de proteção solar (FPS) de cosméticos fotoprotetores manipulados. *INFARMA Ciências Farmacêuticas*, v. 30, n. 4, p. 2018.

SINDIFIBRAS. Disponível em: <http://www.sindicatodaindustria.com.br/sindifibrasba/quemsomos/>. Acesso em: out. 2020.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q.J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, v. 28, n. 4, p.1057-1060, 1989.

SOHAIL, M.; NAVEED, A.; ABDUL, R.; GULFISHAN; MUHAMMAD SHOAB KHAN, H.; KHAN, H. An approach to enhanced stability: Formulation and characterization of *Solanum lycopersicum* derived lycopene based topical emulgel. *Saudi Pharmaceutical Journal: SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, v. 26, n. 8, 1170–1177, 2018.

SOUSA, E.O.; MIRANDA, C.M.B.A.; NOBRE, C.B.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; COSTA, J.G.M. Phytochemical analysis, and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts. *Industrial Crops and Products*, v. 70, p. 7-15, 2015.

STREILEIN, J. W.; TAYLOR, J. R.; VINCEK, V., KURIMOTO, I.; SHIMIZU, T.; TIE, C.; GOLOMB, C. Immune surveillance and sunlight-induced skin cancer. *Immunology Today*, v. 15, n. 4, p. 174–179, 1994.

TEWARI, D.; TRIPATHI, Y. C.; ANJUM, N. *Agave sislana*: a plant with high chemical diversity and medicinal importance. Review Article. *World Journal of pharmaceutical research*, v. 3, n. 8, p. 238-249, 2014.

THRING, T. S.; HILI, P.; NAUGHTON, D. P. Anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 9, n. 27., p. 1-11, 2009.

THROM, C. M.; WIORA, G.; REBLE, C. et al. *In vivo* sun protection factor and UVA protection factor determination using (hybrid) diffuse reflectance spectroscopy and a multi-lambda-LED light source. *Journal of Biophotonics*, v. 14, n. 2, p. 1-8, 2021.

TOMAZELLI, L. C.; DE ASSIS RAMOS, M. M.; SAUCE, R.; CÂNDIDO, T. M.; SARRUF, F. D.; DE OLIVEIRA PINTO, C.; DE OLIVEIRA, C. A.; ROSADO, C.; VELASCO, M.; BABY, A. R. SPF enhancement provided by rutin in a multifunctional sunscreen. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 552, n.1-2, p. 401–406, 2018.

UMMAT, V.; TIWARI, B. K.; JAISWAL, A. K.; CONDON, K., GARCIA-VAQUERO, M., O'DOHERTY, J., O'DONNELL, C.; RAJAURIA, G. "Optimisation of Ultrasound Frequency, Extraction Time and Solvent for the

Recovery of Polyphenols, Phlorotannins and Associated Antioxidant Activity from Brown Seaweeds." *Marine drugs*, v. 18, n. 5, p. 250, 2020.

VANDERSEE, S.; BEYER, M.; LADEMANN, J.; DARVIN, M.E. Blue-Violet Light Irradiation Dose Dependently Decreases Carotenoids in Human Skin, Which Indicates the Generation of Free Radicals. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 5, p. 1–7, 2015.

VIEIRA, J. P. DE L. *Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e de citotoxicidade de produtos extraídos da Agave sisalana* PERRINE. 2014. 64 p. Dissertação (Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas) – Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

VIJAYAKUMAR, R.; GANI, S. S.; ZAIDAN, U. H.; HALMI, M. I. E.; KARUNAKARAN, T.; HAMDAN, M. R. Exploring the Potential Use of *Hylocereus polyrhizus* Peels as a Source of Cosmeceutical Sunscreen Agent for Its Antioxidant and Photoprotective Properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2020, 7520736.

VIOLANTE, I. M. P. et al. Estudo preliminar da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, 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, J; ZHANG, Q; ZHANG, Z; LI, Z. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 42, n. 2, p. 127-132, 2008.

WANG, Y., LI, X.; SUN, H.; YI, K.; ZHENG, J.; ZHANG, J.; HAO, Z. Biotransformation of steroidal saponins in sisal (*Agave sisalana* Perrine) to tigogenin by a newly isolated strain from a karst area of Guilin, China. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, v. 28, n. 6, p. 1024-1033, 2014.

WANG, L.; ZHANG, X.; LI, Y.; XU, L.; LI, C.; ZHANG, Z.; LIANG, J.; SU, Z.; ZENG, H.; LI, Y. Aqueous Extract of *Clerodendranthus spicatus* Exerts Protective Effect on UV-Induced Photoaged Mice Skin. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2016, 9623957.

WANG, M.; CARVER, J.J.; PHELAN, V.V. et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nat Biotechnol.* v.34, n. 8, p. 828-837, 2016.

WORTZMAN, M.; NELSON, D. B. A comprehensive topical antioxidant inhibits oxidative stress induced by blue light exposure and cigarette smoke in human skin tissue. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 20, n. 4, p. 1160-1165, 2021.

YAROVAYA, L.; WARANUCH, N.; WISUITIPROT, W.; KHUNKITTI, W. Effect of grape seed extract on skin fibroblasts exposed to UVA light and its photostability in sunscreen formulation. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 4, n. 4, p. 1271–1282, 2021.

ZHANG, X.; LIU, L.; LIN, C. Structural features, antioxidant and immunological activity of a new polysaccharide (SP1) from sisal residue. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 59, p. 184-191, 2013.

ZHANG, X.; LIU, L.; LIN, C. Isolation, structural characterization and antioxidant activity of a neural polysaccharide from sisal wast. *Food Hydrocolloids*, v. 39, p. 10-18, 2014.

ZHANG, Y.; TANG, H.; ZHENG, Y.; LI, J.; PAN, L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Ajuga ciliata Bunge* and evaluation of antioxidant activities *in vitro*. *Heliyon*, v. 5, n. 10, e02733, 2019.

ZILLICH, O. V.; SCHWEIGGERT-WEISZ, U.; EISNER, P.; KERSCHER, M. (2015), Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 37, p. 455-464, 2015.

ŽLABUR, J. Š.; ŽUTIĆ, I.; RADMAN, S.; PLEŠA, M.; BRNČIĆ, M.; BARBA, F. J.; ROCCHETTI, G.; LUCINI, L.; LORENZO, J. M.; DOMÍNGUEZ, R.; RIMAC BRNČIĆ, S.; GALIĆ, A.; VOĆA, S. Effect of Different Green Extraction Methods and Solvents on Bioactive Components of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Flowers. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 25, n. 4, p. 810, 2020.

ZUCCARELLO, B.; BARTOLI, M.; BONGIORNO, F.; MILITELLO, C.; TAGLIAFERRO, A.; PANTANO, A. New Concept in Bioderived Composites: Biochar as Toughening Agent for Improving Performances and Durability of Agave-Based Epoxy Biocomposites. *Polymers*, v. 13, p.198, 2021.

APÊNDICE A - Composição dos protetores solares disponíveis no mercado

Produtos comerciais	Neutrogena sun fresh FPS 30	Nivea sun protetor solar hidratante FPS 30	Expertise supreme protect 4 FPS 30 L'oreal	Protetor solar l'oreal expertise toque seco anti-acne FPS 30	La roche posay anthelios gel-creme protetor solar FPS 50	La roche posay anthelios XI Protetor solar FPS 50	Vichy Idéal soleil FPS 50 Gel-creme
Áreas de aplicação	Corpo	Corpo	Face e corpo	Face	Face	Corpo	Face
Componentes							
<i>Aqua</i>	X	X	X	X	X	X	X
FILTROS SOLARES							
<i>Butyl Methoxydibenzoylmethano</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Octocrylene</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Ethylhexyltriazone</i>	X		X	X	X	X	
<i>Bis-ethylhexyl Phenol Methoxy PHEnyltriazine</i>	X				X		X
<i>Titanium Dioxide</i>	X	X	X	X		X	X
<i>Homosalate</i>		X	X				X
<i>Ethylhexyl Salicilate</i>		X	X		X	X	X
<i>Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid</i>		X					
<i>Polymethylsilsesquioxane</i>		X					
<i>Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol</i>				X			
<i>Drometrizole Trisiloxane</i>				X	X		X

<i>Terephthalylidene Dicumphor Sulfonic Acid</i>			X	X	X		X
<i>Ethyl-hexyltriazone</i>			X				
EMULSIFICANTES E ESPESSANTES							
<i>Potassium Cetyl Phosphate</i>	X		X			X	X
<i>Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer</i>	X	X	X		X		X
<i>Styrene/acrylates copolymer</i>							X
<i>Methyl Methacrylate Crosspolymer-Acrylamide</i>		X					
<i>Carbomer</i>	X						
<i>Tribehenium</i>	X						
<i>Stearyl Alcohol</i>	X		X	X		X	
<i>Cetyl Alcohol</i>				X			
<i>Polyglyceryl 10 Laurate</i>				X			
<i>Polyisobutene</i>		X					
<i>Sodium Stearoyl Glutamate</i>		X					
<i>Polisorbate 20</i>		X					
<i>Sorbitan Isostearate</i>		X					
<i>Sorbitan Oleate</i>				X	X		
<i>Trimethoxycaprylsilane</i>		X					
<i>Stearic acid</i>			X		X	X	X
<i>Xanthan Gum</i>				X			X
<i>Poly C10-30 Alkyl Acrylate</i>				X			
<i>Sodium Chlorite</i>		X					

<i>Behenyl Alcohol</i>				X			
<i>Ammonium Polyacryloyldimethyl Taurate</i>				X	X		
<i>Ammonium Polyacryloyldimethyl Lauramide</i>				X	X		
<i>Myristyl Alcohol</i>				X			
<i>Gyceryl Stearate Citrate</i>				X			
<i>Disodium Ehylene Dicocamide peg15 Disulfate</i>				X			
<i>Inulin Lauryl Carbamate</i>							X
<i>Peg-8 Laurate</i>							X
<i>Peg 100 stearate</i>			X			X	
<i>VP/Hexadecene Copolymer</i>	X						
EMOLIENTES							
<i>Neopentyl glycol diheptanoato</i>	X						
<i>Cetylpalmitate</i>	X				X		
<i>Caprylyl Glycol</i>	X		X	X		X	
<i>Caprylyl Methicone</i>							X
<i>Isohexadecane</i>						X	
<i>Dicaprylyl Carbonate</i>					X		
<i>Cyclomethicone</i>		X					
<i>Glyceril Glucoside</i>		X					
<i>Dimethiconol</i>							X
<i>Myristic Acid</i>			X				
<i>Palmitic Acid</i>			X			X	
<i>Glyceryl Stearate</i>			X	X		X	
<i>Glyceryl Isostearate</i>						X	

<i>Cyclohexasiloxane</i>			X			X	
<i>Synthetic Wax</i>			X			X	
<i>Disopropyl sebacate Silica</i>				X			
CONSERVANTES E ANTIOXIDANTES							
<i>Phenoxyethanol</i>	X	X	X		X	X	X
<i>Methylparaben</i>		X					
<i>Chorphenesin</i>	X						
<i>Benzyl Alcohol</i>				X			
<i>Sodium Ascorbyl Phosphate</i>	X						
<i>Tocopheryl Acetate</i>	X	X	X	X	X	X	X
FRAGRÂNCIAS							
<i>Parfum</i>		X	X	X			X
<i>Fragrance</i>			X	X			X
<i>Benzyl salicylate</i>		X					
<i>Citronellol</i>		X		X			
<i>Limonene</i>				X			
<i>Coumarin</i>		X					
<i>Eugenol</i>		X		X			
<i>Hexyl cinnamal</i>		X		X			
<i>Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde,</i>		X					
<i>Linalool</i>		X	X	X			
<i>Butylphenyl Methylpropional</i>		X		X			

<i>Alpha Isomethyl Ionone</i>		X					
OUTROS ADJUVANTES							
<i>Alcohol</i>				X		X	
<i>Alcohol Denat</i>					X		
<i>T-butyl Alcohol</i>				X			
<i>Benzyl Alcohol</i>							
<i>Stearyl Alcohol</i>							X
<i>Ginger Root Extract</i>							X
<i>Cinnamomum Cassia Bark extract</i>							X
<i>Poterium Officinale Root Extract</i>							X
<i>C12-15 Alkyl Benzoate</i>	X						
<i>Glycerin</i>	X						X
<i>Propylene Glycol</i>	X		X		X	X	X
<i>Butylene Glycol</i>							X
<i>Carylyl Glycol</i>							X
<i>Pentylene Glycol</i>					X		X
<i>Silica</i>	X				X		X
<i>Disodium EDTA</i>	X		X	X		X	
<i>Triethanolamine</i>			X	X	X	X	X
<i>Trisodium EDTA</i>		X					X
<i>Benzyl Benzoate</i>	X						X
<i>Aluminum Hydroxide</i>			X		X	X	X
<i>Aluminum Star Choctenylsuccina</i>							X

<i>Aloe Barbadensis Leaf Extract</i>	X						
<i>Zea Mays Starch</i>				X	X		
<i>Sodium Hyaluronate</i>				X			
<i>Sodium Hydroxide</i>	X	X					
<i>Chamomilla Recutita Extract</i>	X						
<i>Zingiber officinale Root Extract</i>							X

Autoria: Própria

ANEXO 1

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA IRRITABILIDADE DÉRMICA PRIMÁRIA, ACUMULADA E SENSIBILIZAÇÃO DE PRODUTOS COSMÉTICOS, ATRAVÉS DO TESTE DE CONTATO (Patch Test)_UFR01.2022

Pesquisador: CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63069722.2.0000.8098

Instituição Proponente: IPCLIN - INSTITUTO DE PESQUISA CLINICA INTEGRADA LTDA

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.702.359

Apresentação do Projeto:

Trata-se do envio de respostas de pendências apontadas no parecer inicial. Número do Parecer: 5.670.673.

Detalhes do primeiro parecer:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do documento Informações Básicas da Pesquisa nº 2009847, datado em 06/09/2022.

INTRODUÇÃO

Na sociedade atual, o aspecto estético vem ganhando cada vez mais importância e dessa forma a busca pela melhora da aparência levou a um grande crescimento na indústria de cosméticos. Com esse crescimento, surgiu também a preocupação em garantir a segurança e a eficácia de seus produtos. A criação do Código de Defesa do Consumidor, as exigências da Agência Nacional de Vigilância

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.359

Sanitária do

Ministério da Saúde e a concorrência induziram a indústria a ter maior cautela em relação à ação e benefícios dos seus produtos. Para comprovar a eficácia e a segurança de seus produtos, as indústrias realizam testes clínicos, com acompanhamento de médicos dermatologistas. Uma preocupação crescente da indústria de cosméticos é minimizar possíveis reações adversas nos usuários de seus produtos. Afinal, o consumidor é muito mais crítico quanto à irritação cutânea provocada por um produto cosmético do que por um medicamento tópico. Considera-se reação adversa qualquer sinal ou sintoma desencadeado por um produto tópico utilizado de maneira correta (FISHER, 1995). Entre as reações adversas cutâneas provocadas por estes produtos destaca-se a dermatite eczematosa de contato, urticária, acne e manchas (SAMPAIO &

RIVITTI, 2000). O potencial de irritação de um produto depende de uma série de variáveis: componentes usados, concentração dos ingredientes, absorção, quantidade aplicada, estado da pele, modo e frequência de aplicação e efeito cumulativo (DOOMS-GOOSSENS, 1993). O teste de contato (patch test) tem por objetivo comprovar a segurança do produto sob condições semi-maximizadas a fim de comprovar a ausência de potenciais mecanismos irritativos e alergênicos. Como os principais riscos potenciais do uso de um novo produto são a irritação e a alergia por sensibilização, na pesquisa de alergenidade estão envolvidos os seguintes testes clínicos: irritabilidade dérmica primária, acumulada e sensibilização cutânea. Estes consistem em aplicações repetidas do produto na pele, e têm o objetivo de detectar possíveis irritações ou reações alérgicas de sensibilização (reações imunes de hipersensibilidade tardia ou do tipo IV). Para produtos irritantes, devem ser aplicados diluídos, de forma a não induzir resultados falsos

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.359

positivos. O

teste contempla 3 fases: indução, que tem duração de 03 semanas e objetiva induzir uma possível reação alérgica ao produto aplicado; repouso, em que não há aplicação do produto e tem duração de 02 semanas; e desafio, em que há aplicação do produto em novo local da pele do participante

HIPÓTESE

A realização desta pesquisa comprovará a segurança dos produtos em questão aos seres humanos, usuários finais.

METODOLOGIA

Os produtos serão aplicados diluídos a 5% em água destilada sobre apósitos semi-oclusivos, a formulação fotoprotetora será aplicada tal e qual sobre os apósitos, com auxílio de seringa descartável de 1 mL. Será utilizada água destilada como controle. Os apósitos serão colocados no dorso direito ou esquerdo dos participantes (segundo aleatorização). Cada apósito comporta a aplicação de até 30 produtos, e as posições dos produtos investigacionais e controle nos apósitos de cada participante serão mantidas ao longo de toda a pesquisa. O teste de contato permanecerá na pele do participante durante 48 horas, sendo retirado após esse tempo para leitura de sinais clínicos e questionamento das sensações de desconforto pelo médico dermatologista. Após a leitura, um novo apósito será colocado, mantendo-se o produto na mesma posição. Durante as três primeiras semanas, o participante deverá comparecer ao Instituto toda segunda, quarta e sexta-feira. Depois, o participante terá duas semanas de descanso (não precisa comparecer ao Instituto, mas precisa cumprir com as exigências do estudo). Na sexta semana, o participante deverá retornar ao Instituto para colar o adesivo com produto na segunda-feira, e deverá retornar na

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.359

quarta-feira

para a última avaliação médica. Será realizada avaliação médica inicial no momento da inclusão dos participantes para verificação da ausência de sinais clínicos iniciais incompatíveis com a inclusão dos participantes. Os dados da avaliação médica serão registrados no caderno de investigação. O médico estará disponível durante todo o estudo para avaliação de possíveis eventos adversos. Os resultados serão avaliados como segue:- Sensações de desconforto: os participantes serão questionados sobre as sensações de desconforto sentidas, paralelamente ao exame clínico. As sensações de desconforto relatadas serão descritas em relação à natureza (exemplo: ardência, pinicamento, prurido, repuxamento, resfriamento, aquecimento, etc.); serão classificadas quanto à intensidade como: leve, moderada ou intensa; quanto à localização; e quanto à duração; e será verificada a imputabilidade ao produto teste.- Sinais clínicos: serão classificados de acordo com a Tabela 4 e o nexa causal das reações ao produto será investigado.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pele íntegra na região de estudo (dorso);
- Idade de 18 a 65 anos;
- Sexo: masculino e feminino;
- Participantes com fototipos I, II, III e IV (de acordo com a classificação de Fitzpatrick);
- Ausência de histórico de irritação / alergia ao material usado no estudo;
- Ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- Participantes que queiram participar do estudo sem lucro financeiro. Eles serão ressarcidos pelas despesas relacionadas ao teste, (valor não limitado), tais como transporte e alimentação, entre outros, quando necessário.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Participantes que se recusam em participar do estudo em questão.
- Participantes que apresentam ou apresentaram sintomas característicos ao COVID-19 por pelo

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.359

menos 7

dias antecedentes a data de pesquisa.

- Participantes que fazem parte do grupo de risco da COVID-19 (idosos, pessoas com doenças cardíacas e pulmonares, pessoas portadoras de imunodeficiências, pessoas transplantadas ou em quimioterapia; pessoas com doenças renais ou em diálise; diabéticos, pessoas com doenças do fígado e obesas).
- Marcas cutâneas na área experimental que interfiram na avaliação de possíveis reações cutâneas (distúrbios da pigmentação, malformações vasculares, cicatrizes, aumento de pilosidade, efêlides e nevus em grande quantidade, queimaduras solares);
- Dermatoses ativas (local e disseminada) que possam interferir nos resultados do estudo;
- Gestantes ou lactantes;
- Antecedentes de reações alérgicas, irritação ou sensações de desconforto intensas a produtos de uso tópico: cosméticos e medicamentos;
- Voluntários com histórico de alergia ao material utilizado no estudo;
- Antecedentes de atopia;
- Antecedentes de patologias agravadas ou desencadeadas pela radiação ultravioleta;
- Exposição solar intensa ou a sessão de bronzeamento até 15 dias antes da avaliação inicial;
- Previsão de exposição solar intensa ou a sessão de bronzeamento, durante o período de condução do estudo;
- Previsão de tomar banho de mar, piscina ou sauna durante o estudo;
- Participantes que praticam esportes aquáticos;
- Uso dos seguintes medicamentos de uso tópico sistêmico: imunossupressores, anti-histamínicos, antiinflamatórios não hormonais, e corticoides até duas semanas antes da seleção;
- Tratamento com vitamina A ácida e/ou seus derivados via oral ou tópica até 01 mês antes do início do estudo;
- Previsão de vacinação durante a realização do estudo ou até 03 semanas antes do estudo, para não correlacionar os possíveis efeitos colaterais da vacina com o estudo em questão;

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.359

• Qualquer condição não mencionada acima que, na opinião do investigador, possa comprometer a avaliação do estudo.

Observação: os participantes incluídos são orientados a não alterar dieta, hábitos cosméticos e de higiene, rotina de exercícios e método contraceptivo. Também, a não utilizar produtos da mesma categoria dos produtos testado na região experimental.

Objetivo da Pesquisa:

Esse ensaio visa comprovar ou não, na população estudada, a ausência de reações de irritação dérmica primária e acumulada e de reações alérgicas por sensibilização pelos produtos investigacionais, um sabonete em pó, um extrato vegetal e uma formulação fotoprotetora, por meio teste de contato (patch test).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

O grau dos riscos associados ao estudo pode variar de pessoa para pessoa, levando em consideração as diferentes características fisiológicas e pessoais dos participantes. Todas as matérias primas utilizadas no produto são aprovadas para uso tópico e não são tóxicas. Existem desconfortos e riscos mínimos para o participante do estudo, entretanto, como qualquer produto, poderá causar reações inesperadas como "vermelhidão", "inchaço", "coceira" e "ardor" nos locais de aplicação deste.

BENEFÍCIOS

Comprovação ou não da ausência do surgimento de reações de irritação dérmica primária e acumulada e de reações alérgicas por sensibilização pelos produtos investigacionais, garantindo à comunidade a segurança

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.359

dos produtos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo clínico subjetivo, observacional e unicêntrico, cujo objetivo é determinar na população estudada, a ausência de reações de irritação dérmica primária e acumulada e de reações alérgicas por sensibilização pelos produtos investigacionais, um sabonete em pó, um extrato vegetal e uma formulação fotoprotetora, por meio teste de contato (patch test).

Estima-se a inclusão de 60 participantes, com idade entre 18 e 65 anos, ade ambos os sexos com foto tipo de I a IV (segundo classificação de Fitzpatrick). Ao menos 50 participantes deverão finalizar o estudo.

O recrutamento dos participantes ocorrerá por profissionais contratados pela Instituição, dos quais irão selecionar os potenciais participantes das pesquisas, onde estes deverão residir, trabalhar ou estudar próximo do local onde a pesquisa será realizada.

Os participantes que forem elegíveis para os estudo serão orientados a não sua alterar dieta, hábitos cosméticos e de higiene, rotina de exercícios, método contraceptivo, e a não utilizar produto da mesma categoria do produto testado na região experimental.

A previsão de conclusão do estudo é em 6 semanas. Ocorrerá uma avaliação médica no momento de inclusão dos participantes, para a constatação de ausências de sinais clínicos iniciais incompatíveis com a inclusão dos participantes no estudo.

Os produtos serão aplicados diluídos a 5% em água destilada sobre apósitos semioclusivos, a formulação fotoprotetora será aplicada tal e qual sobre os apósitos, com auxílio de seringa, sempre no mesmo local, e permanecerá na pele do participante, por um período de 48 horas, onde será retirado após este tempo, e ocorrerá a leitura dos sinais clínicos no local e o questionamento das sensações de desconforto, realizadas pelo médico dermatologista. Este procedimento acontecerá nas primeiras três semanas, em dias pré-estabelecidos. Esta fase é denominada como fase de "indução". O próximo período é denominado fase de "descanso" e compreende as semanas 4 e 5, onde não ocorrerá a aplicação de apósito. Na última semana (6ª semana), denominada fase de "desafio", ocorrerá a última aplicação do produto investigacional no participante, com posterior remoção e avaliação médica.

Os resultados serão avaliados como segue:

- Sinais clínicos: serão classificados de acordo com o descrito e onexo causal das reações ao produto será investigado: / – Nada a relatar; E – Eritema; S – Efeito sabão; Ed – Edema, Pa – pápulas; C – Coloração (hipercromia); Pu - Pústulas; Bo – Bolhas; No – Nódulos; Re Ressecamento / Descamação; Cr – Crosta; V Vesícula.

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.359

- Classificação dos sinais clínicos: Vesículas ou pápulas: 1 n° = 1 ou 2, 2 n° > 2; Edema e eritema: 1 Leve, 2 Moderado, 3 Severo/intenso; Aparência do eritema e edema: d difuso, p pontual, peri periférico.

As sensações de desconforto e os sinais clínicos de cada participante serão avaliados, e se ao menos 70% deles não relatar/apresentar sensações de desconforto/sinais clínicos, o produto será considerado seguro.

Os produtos investigacionais a serem utilizados nesta pesquisa, é identificado conforme descrito fórmula abaixo:

Sabonete em pó

Matérias-primas e Quantidade(%):

Manitol 20 ; Lactose 20; Carbonato de sódio 20; Ácido cítrico 10; Sorbitol 20; Eversoft ULS 100S 5; Fração saponina FR8 5.

Extrato vegetal

Matérias-primas e Quantidade(%):

Extrato vegetal que será utilizado em formulações cosméticas semissólidas na concentração de 0,5% - emulsões cosméticas (nanoemulsão).

Formulação Fotoprotetora

Matérias-primas e Quantidade(%):

Aqua 100; Sodium Hydroxide 0,16; Acrylic Acid/VP Crosspolymer 0,6; Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol 2;

Butyl Methoxydibenzoylmethane 2; Octocrylene 4; Ethylhexyl Salicylate 2,5; Tridecyl Neopentanoate 0,60; Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine 2; Homosalate 9; Laureth-23 (and) Glyceryl Stearate 0,50.

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115

Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.359

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados de forma adequada e listados ao final deste parecer.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. Pendências relacionadas aos documentos abaixo:

- PROJETO_HRIPT.pdf

- CRONOGRAMA.pdf

Inconsistência entre a tabela 5, página 10, item 16 e a legenda em destaque da página 11.

- Na tabela 5, página 10, está destacado o período de descanso de D21 a D32 (correto seria até D34), pois em todos os outros tempos incluiu-se os finais de semana.

- Na legenda desta tabela , página 10, está descrito a fase de descanso de D21 a D35 . Porém D35 já e a nova da de aplicação.

- Fazer as correções dos itens mencionados: Tabela 5 e sua respectiva legenda, na fase de Descanso, dos documentos relacionados acima.

2. Pendência relacionada ao TCLE: o campo para assinatura do participante está ANTES da declaração de ciência e concordância. Favor ajustar.

PENDENCIA ATENDIDA -

TCLE_v02.pdf

PROJETO_HRIPT_v02.pdf

CRONOGRAMA_v02.pdf

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deverá receber uma via (e não cópia) do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinada por ele (ou seu representante legal) e pelo pesquisador, e rubricada em todas as páginas por ambos;
- Segundo a Resolução CNS Nº 251 de 1997, no item III.2.i, “O pesquisador responsável deverá: (...) Dar acesso aos resultados de exames e de tratamento ao médico do paciente ou ao próprio paciente sempre que solicitado e ou indicado”. Salvo melhor juízo, o pesquisador não deve limitar o acesso dos participantes de pesquisa aos resultados dos seus exames que forem realizados durante o estudo.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme descrita no protocolo aprovado;
- O CEP deverá ser informado de todos os eventos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas e adequadas frente a qualquer evento adverso ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro, nos casos aplicáveis) e enviar notificação ao CEP junto com seu posicionamento;

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115

Bairro: CHACARA INGLESA

CEP: 04.138-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)5581-2429

Fax: (11)5587-4688

E-mail: cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.359

- Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
 - Emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Ressaltamos que deverá ser aguardada a aprovação do CEP (e CONEP, se for o caso) para continuidade da pesquisa;
 - O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;
 - Relatórios parciais devem ser apresentados ao CEP a cada 6 meses após a emissão do parecer de aprovação assim como relatório final ao término do estudo.
 - No caso de estudos com medicamentos, medicamentos biológicos, dispositivos médicos ou odontológicos, produtos de terapia celular, atentar para não iniciar o estudo sem as aprovações da ANVISA e demais autoridades aplicáveis. É importante a compreensão do pesquisador de que a aprovação de um projeto pelo sistema Cep/Conep é apenas um dos requisitos necessários para a realização de um estudo envolvendo seres humanos;
 - O pesquisador deve atentar para todas as resoluções, cartas circulares, normas operacionais e demais orientações emanadas pela Conep, além dos requisitos emanados nos regimentos internos dos Ceps;
 - Em cumprimento as normativas locais, o CEP/Invitare mantém um programa de educação continuada para pesquisadores, participantes de pesquisa ou potenciais participantes de pesquisa bem como a sociedade em geral. Para saber mais sobre esse programa, acesso o site www.invitare.com.br e verifique a ala CEP;
 - O CEP/Invitare possui seu registro válido até julho de 2023, momento em que um novo registro será solicitado;
 - Caso o pesquisador responsável ou demais pesquisadores tenham qualquer dúvida, entrar em contato pelo telefone 11-5581.2429 das 10h às 19h .
- Lembramos entretanto que, segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.359

Atenção: atentar para o novo fluxo de tramitação de evento adverso grave estabelecido através da Carta Circular nº 13/2020-CONEP/SECNS/MS de 02 de junho de 2020.

(apresentar relatório consolidado dos eventos adversos junto com o relatório parcial do estudo)

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2009847.pdf	10/10/2022 14:25:28		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v02.pdf	10/10/2022 14:25:22	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_HRIPT_v02.pdf	10/10/2022 14:25:15	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_v02.pdf	10/10/2022 14:25:04	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	carta_Resposta.pdf	10/10/2022 14:24:38	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEHRIPT.pdf	06/09/2022 16:50:21	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_HRIPT.pdf	06/09/2022 16:49:05	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAO_INSTITUICAO_INFRAESTRUTURA_HRIPT.pdf	06/09/2022 16:48:50	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	_DECLARACAO_INSTITUICAO_RESPONSABILIDADE.pdf	06/09/2022 16:48:11	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	IPclin_ParecerTecnico_Cientifico_Invitar e_Projeto.pdf	06/09/2022 16:44:59	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_PATROCINADOR.pdf	06/09/2022 16:43:25	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_PESQUISADOR.pdf	06/09/2022 16:42:59	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_hRIPT.pdf	06/09/2022 16:42:40	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	06/09/2022 16:42:22	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.359

Folha de Rosto	folhaDeRosto_HRIPT.pdf	06/09/2022 16:41:59	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
----------------	------------------------	------------------------	------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 15 de Outubro de 2022

Assinado por:

MIRIAN APARECIDA GHIRALDINI FRANCO
(Coordenador(a))

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

ANEXO 2

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DERMATOLÓGICA DO POTENCIAL DE FOTOTOXICIDADE E FOTOSSENSIBILIZAÇÃO DE PRODUTOS COSMÉTICOS_UFR02.2022

Pesquisador: CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63070422.0.0000.8098

Instituição Proponente: IPCLIN - INSTITUTO DE PESQUISA CLINICA INTEGRADA LTDA

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.702.597

Apresentação do Projeto:

Trata-se da apresentação de respostas de pendências apontadas no primeiro parecer. Número do Parecer: 5.670.675

Dados do parecer inicial:

Segundo a resolução RDC nº 07/2015, "Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado". Na sociedade atual, o aspecto estético vem ganhando cada vez mais importância e dessa forma a busca pela melhora da aparência levou a um grande crescimento na indústria de cosméticos. Com esse crescimento, surgiu também a preocupação em garantir a segurança e a eficácia de seus produtos. A criação do Código de Defesa do Consumidor, as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde e a concorrência induziram a indústria a ter maior cautela em relação à ação e benefícios dos seus produtos. Para comprovar a eficácia e a segurança de seus produtos, as indústrias realizam testes clínicos em humanos, com acompanhamento de médicos dermatologistas. Uma preocupação crescente da indústria de cosméticos é evitar possíveis reações adversas nos usuários de seus produtos. Afinal, o consumidor é muito mais

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.597

crítico quanto à irritação cutânea provocada por um produto cosmético do que por um medicamento tópico. Considera-se reação adversa qualquer sinal ou sintoma desencadeado por um produto tópico utilizado de maneira correta (FISHER, 1995). Entre as reações

adversas cutâneas provocadas por estes produtos destaca-se a dermatite eczematosa de contato, urticária, acne e manchas (SAMPAIO & RIVITTI, 2000). O potencial de irritação de um produto depende de uma série de variáveis: componentes usados, concentração dos ingredientes, absorção, quantidade aplicada, estado da pele, modo e frequência de aplicação e efeito cumulativo (DOOMSGOOSSENS, 1993). A permeabilidade da pele varia conforme a região do corpo, sendo que as pregas e a face são áreas de maior absorção.

Quando aplicado sobre a pele, um produto terá maior ou menor absorção percutânea em função da sua concentração, tipo de veículo utilizado, área da superfície cutânea e tempo de contato com a pele (ZATZ, 1995). Os testes realizados com seres humanos são regulamentados segundo leis bastante rígidas, com o objetivo de proteger e resguardar os indivíduos. Estas leis variam de acordo com o país. No Brasil, estas pesquisas são permitidas, desde que tenham protocolos aprovados por uma Comissão de Ética em Pesquisa (sistema CEP/CONEP) e sigam os preceitos da Declaração de Helsinque e da Resolução 466/12 (CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, 2012). O teste de contato (patch test) é a principal ferramenta utilizada

no diagnóstico de reação provocada por cosmético e na pesquisa de alergenidade. Como os principais riscos potenciais do uso de um novo produto são a irritação, a alergia por sensibilização, a fototoxicidade e a fotossensibilização, na pesquisa de alergenidade estão envolvidos os seguintes testes clínicos: irritabilidade dérmica primária e acumulada, sensibilização cutânea, fototoxicidade e fotossensibilização.

Estes consistem em aplicações repetidas do produto na pele, e têm o objetivo de detectar possíveis irritações ou indução de sensibilização (KLIGMAN & WOODING, 1967, FISHER, 1995).

HIPÓTESE

A realização desta pesquisa comprovará a segurança do produto em questão aos seres humanos, usuários finais dos mesmos.

METODOLOGIA

Os produtos serão aplicados diluídos a 5% em água destilada sobre apósitos semi-oclusivos, a formulação fotoprotetora será aplicada tal e qual sobre os apósitos. Será utilizada água destilada como controle. Os apósitos serão colocados no dorso direito ou esquerdo dos participantes (segundo aleatorização). As posições dos produtos e controle nos apósitos de cada participante serão mantidas ao longo de todo o teste. Será realizada avaliação médica inicial no momento da

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.597

inclusão dos participantes para verificação da ausência de sinais clínicos iniciais incompatíveis com a inclusão dos participantes.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- * Pele íntegra na região de estudo (dorso);
- * Idade de 18 a 65 anos;
- * Sexo: masculino ou feminino;
- * Participantes com fototipos I, II, III e IV (de acordo com a classificação de Fitzpatrick);
- * Ausência de histórico de irritação / alergia ao material usado no estudo;
- * Ter assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- * Participantes que queiram participar do estudo sem lucro financeiro. Eles serão ressarcidos pelas despesas relacionadas ao teste, (valor não limitado), tais como transporte e alimentação, entre outros, quando necessário.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- * Marcas cutâneas na área experimental que interfiram na avaliação de possíveis reações cutâneas (distúrbios da pigmentação, malformações vasculares, cicatrizes, aumento de pilosidade, efélides e nevus em grande quantidade, queimaduras solares);
- * Dermatoses ativas (local e disseminada) que possam interferir nos resultados do estudo;
- * Gestantes ou lactantes;
- * Antecedentes de reações alérgicas, irritação ou sensações de desconforto intensas a produtos de uso tópico: cosméticos e medicamentos;
- * Participantes com histórico de alergia ao material utilizado no estudo;
- * Antecedentes de atopia;
- * Antecedentes de patologias agravadas ou desencadeadas pela radiação ultravioleta;
- * Portadores de imunodeficiências;
- * Transplantados renais, cardíacos ou hepáticos;
- * Exposição solar intensa ou a sessão de bronzamento até 15 dias antes da avaliação inicial;
- * Previsão de exposição solar intensa ou a sessão de bronzamento, durante o período de condução do estudo;
- * Previsão de tomar banho de mar, piscina ou sauna durante o estudo;
- * Participantes que praticam esportes aquáticos;
- * Uso dos seguintes medicamentos de uso tópico sistêmico: imunossuppressores, anti-histamínicos, antiinflamatórios não hormonais, e corticóides até duas semanas antes da seleção;
- * Tratamento com vitamina A ácida e/ou seus derivados via oral ou tópica até 01 mês antes do

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.597

início do estudo;

* Previsão de vacinação durante a realização do estudo ou até 03 semanas antes do estudo, para não correlacionar os possíveis efeitos colaterais da vacina com o estudo em questão;

* Estar participando de outro estudo;

* Qualquer condição não mencionada acima que, na opinião do investigador, possa comprometer a avaliação do estudo;

* Histórico de ausência de aderência ou de indisposição em aderir ao protocolo de estudo;

* Profissionais diretamente envolvidos na realização do presente protocolo e seus familiares.

Observação: os participantes incluídos são orientados a não alterar dieta, hábitos cosméticos e de higiene, rotina de exercícios e método contraceptivo. Também, a não utilizar produtos da mesma categoria dos produtos testado na região experimental.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo desta pesquisa é comprovar ou não, na população estudada, o potencial fotoirritante e fotossensibilizante tópico dos produtos investigacionais, um sabonete em pó, um extrato vegetal e uma formulação Fotoprotetora.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

O grau dos riscos associados ao estudo pode variar de pessoa para pessoa, levando em consideração as diferentes características fisiológicas e pessoais dos participantes. Todas as matérias primas utilizadas no produto são aprovadas para uso tópico e não são tóxicas. Existem desconfortos e riscos mínimos para o participante do estudo, entretanto, como qualquer produto, poderá causar reações inesperadas como "vermelhidão", "inchaço", "coceira" e "ardor" nos locais de aplicação deste.

BENEFÍCIOS

Avaliação do potencial fotoirritante e fotossensibilizante tópico pelo produto investigacional, garantindo à comunidade a segurança do produto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo clínico subjetivo, unicêntrico, cujo objetivo é determinar na população estudada, o potencial fotoirritante e fotossensibilizante tópico pelos produtos investigacionais, um

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.597

sabonete em pó, um extrato vegetal e uma formulação Fotoprotetora.

Estima-se a inclusão de 30 participantes, com idade entre 18 e 65 anos, ambos os sexos e com fototipo de I a IV (segundo classificação de Fitzpatrick).

O recrutamento dos participantes ocorrerá por profissionais contratados pela Instituição, dos quais irão selecionar os potenciais participantes das pesquisas, onde estes deverão residir, trabalhar ou estudar próximo do local onde a pesquisa será realizada.

Os participantes que forem elegíveis para os estudo serão orientados a não sua alterar dieta, hábitos cosméticos e de higiene, rotina de exercícios, método contraceptivo, e a não utilizar produto da mesma categoria do produto testado na região experimental.

A previsão de conclusão do estudo é em 5 semanas. Ocorrerá uma avaliação médica no momento de inclusão dos participantes, para a constatação de ausências de sinais clínicos iniciais incompatíveis com a inclusão dos participantes no estudo.

Os produtos investigacionais serão aplicados diluídos a 5% em água destilada sobre apósitos semioclusivos, a formulação fotoprotetora será aplicada tal e qual sobre os apósitos, no dorso direito ou esquerdo dos participantes, sempre no mesmo local, por um período de 48 horas, momento em que o participante retorna ao centro de pesquisa para retirar o produto e receber irradiação com lâmpada ultravioleta A (UVA) que imita a luz natural. O tempo de exposição será de 6 minutos e 40 segundos, correspondente a aproximadamente uma hora de exposição solar, ao meio-dia de um dia típico ensolarado de janeiro. Após irradiação, será realizada a leitura de sinais clínicos e questionamento das sensações de desconforto pelo médico dermatologista. Este procedimento acontecerá nas primeiras duas semanas, em

dias pré-estabelecidos. Esta fase é denominada como fase de "indução". O próximo período é denominado fase de "descanso" e compreende as semanas 3 e 4, onde não ocorrerá a aplicação de apósito.

Nesta etapa o participante não precisa comparecer ao centro de pesquisa, mas precisa cumprir com as exigências do estudo. Na última semana (5ª semana), denominada fase de "desafio", os participantes deverão retornar ao centro de pesquisa para aplicar novamente o teste de contato que, desta vez, será removido após 24 horas. Após a remoção, a área será avaliada, irradiada com lâmpada (UVA) e será realizada a última leitura médica após novas 24 horas.

Os resultados serão avaliados como segue:

* Sensações de desconforto: os participantes serão questionados sobre as sensações de desconforto sentidas, paralelamente ao exame clínico. As sensações de desconforto relatadas serão descritas em relação à natureza (exemplo: ardência, pinicamento, prurido, repuxamento,

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.597

resfriamento, aquecimento etc.);

serão classificadas quanto à intensidade como: leve, moderada ou intensa; quanto à localização; e quanto à duração; e será verificada a imputabilidade ao produto teste.

* Sinais clínicos: serão classificados de acordo com o descrito e o nexa causal das reações ao produto será investigado: / – Nada a relatar; E – Eritema; S – Efeito sabão; Ed – Edema, Pa – pápulas; C – Coloração (hipercromia); Pu - Pústulas; Bo – Bolhas; No – Nódulos; Re Ressecamento / Descamação; Cr – Crosta; V Vesícula.

* Classificação dos sinais clínicos: Vesículas ou pápulas: 1 n° = 1 ou 2, 2 n° > 2; Edema e eritema: 1 Leve, 2 Moderado, 3 Severo/intenso; Aparência do eritema e edema: d difuso, p pontual, peri periférico.

As sensações de desconforto e os sinais clínicos de cada participante serão avaliados, e se ao menos 70% deles não relatar/apresentar sensações de desconforto/sinais clínicos, o produto será considerado seguro.

Os produtos a serem usado nesta pesquisa (um sabonete em pó, um extrato vegetal e uma formulação fotoprotetora) são identificado conforme descrito fórmulas abaixo:

Sabonete em pó

Matérias-primas e Quantidade(%):

Manitol 20 ; Lactose 20; Carbonato de sódio 20; Ácido cítrico 10; Sorbitol 20; Eversoft ULS 100S 5; Fração saponina FR8 5.

Extrato vegetal Matérias-primas e Quantidade(%):

Extrato vegetal que será utilizado em formulações cosméticas semissólidas na concentração de 0,5% - emulsões cosméticas (nanoemulsão).

Formulação Fotoprotetora

Matérias-primas e Quantidade(%):

Aqua 100; Sodium Hydroxide 0,16; Acrylic Acid/VP Crosspolymer 0,6; Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol 2; Butyl Methoxydibenzoylmethane 2; Octocrylene 4; Ethylhexyl Salicylate 2,5; Tridecyl Neopentanoate 0,60;

Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine 2; Homosalate 9; Laureth-23 (and) Glyceryl Stearate 0,50.

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115

Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.597

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados de forma adequada e listados ao final deste parecer.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. Relacionado ao documento, "PROJETOFTT.pdf", submetido em 06/09/22 à Plataforma Brasil, destaca-se:

1.1. Inconsistência entre a tabela apresentada na página 9 do projeto, versus o cronograma apresentado na página 10 do projeto. O estudo terá duração de 5 semanas. Realizar a correção.

1.2. O documento "FTT_CRONOGRAMA.pdf", também se apresenta com a duração de 6 semanas.

Correções realizadas - Pendência atendida

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deverá receber uma via (e não cópia) do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinada por ele (ou seu representante legal) e pelo pesquisador, e rubricada em todas as páginas por ambos;
- Segundo a Resolução CNS N° 251 de 1997, no item III.2.i, "O pesquisador responsável deverá: (...) Dar acesso aos resultados de exames e de tratamento ao médico do paciente ou ao próprio paciente sempre que solicitado e ou indicado". Salvo melhor juízo, o pesquisador não deve limitar o acesso dos participantes de pesquisa aos resultados dos seus exames que forem realizados durante o estudo.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme descrita no protocolo aprovado;
- O CEP deverá ser informado de todos os eventos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas e adequadas frente a qualquer evento adverso ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro, nos casos aplicáveis) e enviar notificação ao CEP junto com seu posicionamento;
- Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- Emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Ressaltamos que deverá ser aguardada a aprovação do CEP (e CONEP, se for o caso) para continuidade da pesquisa;

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.597

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;
- Relatórios parciais devem ser apresentados ao CEP a cada 6 meses após a emissão do parecer de aprovação assim como relatório final ao término do estudo.
- No caso de estudos com medicamentos, medicamentos biológicos, dispositivos médicos ou odontológicos, produtos de terapia celular, atentar para não iniciar o estudo sem as aprovações da ANVISA e demais autoridades aplicáveis. É importante a compreensão do pesquisador de que a aprovação de um projeto pelo sistema Cep/Conep é apenas um dos requisitos necessários para a realização de um estudo envolvendo seres humanos;
- O pesquisador deve atentar para todas as resoluções, cartas circulares, normas operacionais e demais orientações emanadas pela Conep, além dos requisitos emanados nos regimentos internos dos Ceps;
- Em cumprimento as normativas locais, o CEP/Invitare mantém um programa de educação continuada para pesquisadores, participantes de pesquisa ou potenciais participantes de pesquisa bem como a sociedade em geral. Para saber mais sobre esse programa, acesso o site www.invitare.com.br e verifique a ala CEP;
- O CEP/Invitare possui seu registro válido até julho de 2023, momento em que um novo registro será solicitado;
- Caso o pesquisador responsável ou demais pesquisadores tenham qualquer dúvida, entrar em contato pelo telefone 11-5581.2429 das 10h às 19h .

Lembramos entretanto que, segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

Atenção: atentar para o novo fluxo de tramitação de evento adverso grave estabelecido através da Carta Circular nº 13/2020-CONEP/SECNS/MS de 02 de junho de 2020.

(apresentar relatório consolidado dos eventos adversos junto com o relatório parcial do estudo)

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	10/10/2022		Aceito

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.702.597

Básicas do Projeto	ETO_2010863.pdf	14:31:39		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_v02.pdf	10/10/2022 14:31:33	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Cronograma	FTT_CRONOGRAMA_v02.pdf	10/10/2022 14:31:26	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	carta_Resposta.pdf	10/10/2022 14:31:18	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	IPclin_ParecerTecnico_Cientifico_Invitar e Projeto.pdf	06/09/2022 17:04:45	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_FTT_.pdf	06/09/2022 17:03:47	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_FTT.pdf	06/09/2022 17:03:30	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAO_INSTITUICAO_INFRAESTRUTURA_FTT.pdf	06/09/2022 17:03:16	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	DECLARACAO_INSTITUICAO_RESPONSABILIDADE.pdf	06/09/2022 17:02:31	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_DO_PESQUISADOR.pdf	06/09/2022 17:00:54	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_PATROCINADOR_FTT.pdf	06/09/2022 17:00:39	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_FTT.pdf	06/09/2022 17:00:17	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Cronograma	FTT_CRONOGRAMA.pdf	06/09/2022 16:59:57	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_FTTassinado.pdf	06/09/2022 16:59:11	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.702.597

SAO PAULO, 15 de Outubro de 2022

Assinado por:
MIRIAN APARECIDA GHIRALDINI FRANCO
(Coordenador(a))

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

ANEXO 3

INVITARE PESQUISA CLINICA AUDITORIA E CONSULTORIA LTDA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR DE UM PRODUTO COSMÉTICO_UFR03.2022

Pesquisador: CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 63109522.9.0000.8098

Instituição Proponente: IPCLIN - INSTITUTO DE PESQUISA CLINICA INTEGRADA LTDA

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.670.784

Apresentação do Projeto:

O espectro solar é composto por uma série de radiações, onde quase todas podem atuar de forma benéfica. Porém, quando a quantidade de energia absorvida é superior à dose tolerável, os riscos são inevitáveis. As principais radiações solares são: • Raios infravermelhos: Responsáveis pela sensação de calor e desidratação da pele durante a exposição ao sol; • UVA (320-400 nm): Bronzeiam superficialmente, porém, contribuem para o envelhecimento precoce da pele, induzido pela exposição solar prolongada; atravessam a maior parte dos vidros comuns. Dependendo da espessura da pele podem atingir tecidos dérmicos, o que os torna tão perigosos quanto os comprimentos de onda de maior energia (UVB). A faixa UVA pode ser subdividida em UVA baixo, de 320-340 nm, responsável pela grande maioria dos efeitos fisiológicos do UVA na pele, e UVA alto, de 340-400 nm, responsável por alterações muito pequenas nas fibras elásticas. • UVB (290-320 nm): São consideradas mais lesivas que as radiações UVA. Possuem pequena penetração na pele, mas devido à sua alta energia, são os maiores responsáveis pelos danos imediatos da radiação solar e por boa parte dos danos tardios. São responsáveis também pela transformação de ergosterol epidérmico em vitamina D. Em excesso, causam eritema (queimadura solar), envelhecimento precoce e câncer de pele, atingindo, principalmente, pessoas de pele clara. • UVC (100-290 nm): São bastante prejudiciais, não estimulam o bronzeamento e causam queimaduras solares e câncer. Alguns estudos detectaram uma destruição lenta na camada de ozônio provocada pelos CFC (clorofluorcarbonetos), uma família de gases utilizados até há pouco tempo como

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.670.784

propelente em aerossóis e em refrigeração. As consequências dessa destruição ainda não foram inteiramente avaliadas, mas sem dúvida afetarão enormemente a vida no planeta. O bronzeamento é uma defesa contra as radiações solares, que estimulam o organismo a produzir melanina, um pigmento natural da pele, reduzindo, com isso, a penetração das radiações UVA e UVB. Nos primeiros dias de exposição ao sol, o mecanismo de produção de melanina começa a ser ativado. Neste período, devem ser utilizados protetores solares com fatores de proteção mais elevados, pois eles atuarão de forma similar à melanina, filtrando os raios UVA e UVB. O fator de proteção solar ou FPS tem a finalidade de indicar ao consumidor qual o grau de proteção dado pelo produto. A grande variabilidade da radiação solar e os diferentes tipos de pele obrigam o consumidor a conhecer a própria pele e a definir qual o FPS mais adequado ao seu caso. Quanto maior o valor do FPS, maior será o nível de proteção. Para escolher o FPS compatível a um determinado tipo de pele, não se deve levar em consideração as partes do corpo mais expostas ao sol, como braços ou rosto, pois tais regiões estão em contato direto e constante com o sol e, portanto, respondem de forma diferente aos seus efeitos. Os métodos de medida do FPS se baseiam no aparecimento de eritema na pele. Daí torna-se necessário padronizar a forma de medir este eritema. Portanto, dose eritemática mínima (MED) é definida como a quantidade de energia requerida para produzir a primeira reação eritemática perceptível com bordas claramente definidas, observadas entre 16-24 horas após a exposição à radiação ultravioleta. A dose eritematogênica mínima (DEM) depende do tipo de pele do indivíduo, da quantidade de melanina na pele, do comprimento e da intensidade da onda incidente. Os indivíduos podem ser classificados em seis grupos que são também chamados de fototipos, sendo este estimado através da história pessoal de queimaduras e bronzeamento, após a exposição por 30 a 50 minutos ao sol de meio dia, após um período sem exposição. Os fototipos têm as seguintes características:

Tabela 1: Fototipos de pele segundo M.A. PATHAK (1983). Tipo Reação à exposição solar Cor da pele
Sempre se queima nunca se bronzeia. Em geral, pessoas de pele branca leitosa, olhos e cabelos claros, com sardas. Branca I
Sempre se queima, bronzeamento mínimo. Pessoas brancas, de cabelos e olhos claros. Branca II
Queima moderadamente. Bronzeia-se gradualmente (bronzeado leve). Corresponde ao fototipo mais frequente das pessoas brancas. Branca III
Queima pouco, bronzeia sempre (bronzeado moderado). Pessoas com pele morena clara, cabelos e olhos escuros orientais. Morena Clara IV
Raramente queima, bronzeia sempre e intensamente. Pessoas morenas, indígenas e mulatas. Morena V
Nunca se queimam. Profundamente pigmentados. Escura VI
O FPS corresponde a quantas MED ou DEM uma pessoa pode ficar exposta ao Sol sem desenvolver o eritema. Portanto, FPS é definido como sendo a relação entre a quantidade de energia ultravioleta requerida para produzir uma dose eritemática

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.670.784

na pele protegida em relação à energia requerida para produzir uma dose eritemática na pele não protegida.

HIPÓTESE

O uso do produto em teste será eficaz na proteção às radiações UV. Como resultado, haverá a redução dos riscos e danos causados por elas, como câncer de pele e envelhecimento precoce.

METODOLOGIA

A dose eritematogênica mínima (MED) é considerada como a quantidade de energia radiante necessária para produzir a menos perceptível e indubitável vermelhidão, avaliada de 16 a 24 horas após a exposição. A MED de cada participante foi determinada por uma sequência de exposição à luz ultravioleta, com intensidade (MED/minuto) aumentada em progressão geométrica, sendo cada exposição graduada com aumento de 12% em relação à anterior (1,12ⁿ). Após 16-24 horas da irradiação será feito o exame dermatológico local para verificação dos pontos com aparecimento de eritema. No dorso (região infra-escapular) de cada participante serão demarcados com caneta cirúrgica retângulos de 5,0 x 7,0 cm (35 cm²), chamados de sítios. Os sítios serão limpos com algodão seco. Nos sítios demarcados serão aplicados 2 mg/cm² das amostras em avaliação ou do Produto Padrão, espalhando-os homogeneamente com dedo envolto numa dedeira. Após a aplicação, os participantes aguardarão 15 minutos para a secagem. Após a secagem será feita a irradiação do sítio, considerando o tempo definido da MED individual e o FPS esperado do produto. 16-24 horas após a irradiação será feito o exame dermatológico local para a determinação do FPS. O valor do FPS é definido pela razão entre o tempo necessário para produzir uma MED na pele protegida com produto contendo filtro solar (MED_p) e o tempo necessário para produzir uma MED na pele não protegida (MED_u). Assim, o FPS é calculado pela Equação 1.

Equação 1. Cálculo de FPS

Para cada participante será calculado o valor do FPS. Para o painel de participantes será calculado o FPS médio, o desvio padrão e o limite inferior do intervalo de confiança 95%.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Idade: 18 até 65 anos;
- Fototipos: I a III;
- Sexo: masculino e feminino;

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.670.784

- Ângulo tipológico individual (ITA°) maior que 28° - determinado por colorimetria

•

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Marcas cutâneas na área experimental que interfiram na avaliação de possíveis reações cutâneas (distúrbios da pigmentação, malformações vasculares, cicatrizes, aumento de pilosidade, efélides e nevus em grande quantidade, queimaduras solares);
- Dermatoses ativas (local e disseminada) que possam interferir nos resultados do estudo;
- Gestantes ou lactantes;
- Antecedentes de reações alérgicas, irritação ou sensações de desconforto intensas a produtos de uso tópico: cosméticos e medicamentos;
- Participantes com histórico de alergia ao material utilizado no estudo;
- Antecedentes de atopia;
- Antecedentes de patologias agravadas ou desencadeadas pela radiação ultravioleta;
- Portadores de imunodeficiências;
- Transplantados renais, cardíacos ou hepáticos;
- Exposição solar intensa ou a sessão de bronzamento até 15 dias antes da avaliação inicial;
- Previsão de exposição solar intensa ou a sessão de bronzamento, durante o período de condução do estudo;
- Previsão de tomar banho de mar, piscina ou sauna durante o estudo;
- Participantes que praticam esportes aquáticos;
- Uso dos seguintes medicamentos de uso tópico sistêmico: imunossupressores, anti-histamínicos, anti-inflamatórios não hormonais, e corticoides até duas semanas antes da seleção;
- Tratamento com vitamina A ácida e/ou seus derivados via oral ou tópica até 01 mês antes do início do estudo;
- Previsão de vacinação durante a realização do estudo ou até 03 semanas antes do estudo, para não correlacionar os possíveis efeitos colaterais da vacina com o estudo em questão;
- Estar participando de outro estudo;
- Qualquer condição não mencionada acima que, na opinião do investigador, possa comprometer a avaliação do estudo;
- Histórico de ausência de aderência ou de indisposição em aderir ao protocolo de estudo;
- Profissionais diretamente envolvidos na realização do presente protocolo e seus familiares.

Observação: os participantes incluídos são orientados a não alterar dieta, hábitos cosméticos e de higiene, rotina de exercícios e método contraceptivo. Também, a não utilizar produtos da mesma

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.670.784

categoria do produto testado na região experimental.

Objetivo da Pesquisa:

Determinar o Fator de Proteção Solar (FPS) do produto investigacional, formulação Fotoprotetora, utilizando o Protocolo baseado na norma ISO 24444:2019 - Cosmetics — Sun protection test methods — In vivo determination of the sun protection factor (SPF).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

O grau dos riscos associados ao estudo pode variar de pessoa para pessoa, levando em consideração as diferentes características fisiológicas e pessoais dos participantes. Todas as matérias primas utilizadas no produto são aprovadas para uso tópico e não são tóxicas. Existem desconfortos e riscos mínimos para o participante do estudo, entretanto, poderá causar: a possível manifestação de uma alergia a um determinado produto cosmético ou o possível aparecimento de uma irritação no local de aplicação, na forma de vermelhidão da pele ou coceira. Se isto ocorrer, a aplicação do produto será suspensa, sendo colocada à sua disposição toda a assistência que se fizer necessária. Formação de marcas vermelhas e/ou escurecidas, decorrentes de queimaduras ocorridas ao longo do teste, possivelmente acompanhadas de desconforto devido ao bronzeamento nas áreas expostas à luz poderão ocorrer, durando de alguns dias a alguns meses (dependendo do indivíduo). A queimadura que ocorre é semelhante à que ocorre pela exposição excessiva ao sol sem a devida proteção. Recomenda-se a não exposição ao sol até o desaparecimento das marcas.

BENEFÍCIOS

Comprovação ou não da eficácia do produto, na determinação do valor de seu FPS, garantindo à comunidade um produto eficaz para uso.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo clínico, unicêntrico, cujo objetivo é Determinar o Fator de Proteção Solar (FPS) do produto investigacional, Formulação Fotoprotetora, através do Protocolo baseado na norma ISO 24444:2019 - Cosmetics — Sun protection test methods — In vivo determination of the

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.670.784

sun protection factor (SPF). Estima-se a inclusão de 10 participantes, com idade entre 18 e 65 anos, de ambos os sexos, com fototipo de I a III (segundo classificação de Fitzpatrick), e $ITA^{\circ} > 28^{\circ}$ (ângulo tipológico individual) determinado por método colorimétrico.

O recrutamento dos participantes ocorrerá por profissionais contratados pela Instituição, dos quais irão selecionar os potenciais participantes das pesquisas, onde estes deverão residir, trabalhar ou estudar próximo do local onde a pesquisa será realizada. Os participantes que forem elegíveis para os estudo serão orientados a não sua alterar dieta, hábitos cosméticos e de higiene, rotina de exercícios, método contraceptivo, e a não utilizar produto da mesma categoria do produto testado na região experimental. O período total do estudo é de 2 dias. Uma região das costas do participante será exposta a a uma série de doses controladas de radiação UVB, geradas através de uma fonte de radiação UV que simula o espectro do sol. Será observado a quantidade de energia do sol necessária para produzir a menos perceptível e indubitável vermelhidão. A queimadura que pode ocorrer é semelhante à que ocorre pela exposição excessiva ao sol sem a devida proteção. Após a aplicação, os participantes aguardarão 15 minutos para a secagem. Após este período o local será submetido novamente à radiação UV através do simulador solar. Após 16-24h, o participante irá retornar para uma avaliação final do local, onde será realizado um exame dermatológico para a determinação do FPS.

O produto a ser usado nesta pesquisa (Formulação Fotoprotetora) esta identificada conforme descrito fórmula abaixo:

Formulação Fotoprotetora

Matérias-primas e Quantidade(%):

Aqua100; Disodium EDTA 0,10; Sodium Hydroxide (solução aquosa 10%) 0,16; Acrylic Acid/VP Crosspolymer 0,6; Polyglyceryl-2 Stearate (and) Glyceryl Stearate (and) Stearyl Alcohol 2,0; Butyl Methoxydibenzoylmethane 2,00; Octocrylene 4,00; Ethylhexyl Salicylate 2,50; Tridecyl Neopentanoate 0,60; Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine 2,00; Homosalate 9,00; Laureth-23 (and) Glyceryl Stearate 0,50; Dimethicone 0,60; Tricontanyl PVP 0,60; Sodium Hydroxide (solução aquosa a 10%) 1,10; Olus 4000 0,60; Agave sisalana extract 1,0.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115	
Bairro: CHACARA INGLESA	CEP: 04.138-000
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429	Fax: (11)5587-4688 E-mail: cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.670.784

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos nos documentos do estudo.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deverá receber uma via (e não cópia) do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinada por ele (ou seu representante legal) e pelo pesquisador, e rubricada em todas as páginas por ambos;
- Segundo a Resolução CNS N° 251 de 1997, no item III.2.i, “O pesquisador responsável deverá: (...) Dar acesso aos resultados de exames e de tratamento ao médico do paciente ou ao próprio paciente sempre que solicitado e ou indicado”. Salvo melhor juízo, o pesquisador não deve limitar o acesso dos participantes de pesquisa aos resultados dos seus exames que forem realizados durante o estudo.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme descrita no protocolo aprovado;
- O CEP deverá ser informado de todos os eventos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas e adequadas frente a qualquer evento adverso ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro, nos casos aplicáveis) e enviar notificação ao CEP junto com seu posicionamento;
- Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- Emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Ressaltamos que deverá ser aguardada a aprovação do CEP (e CONEP, se for o caso) para continuidade da pesquisa;
- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;
- Relatórios parciais devem ser apresentados ao CEP a cada 6 meses após a emissão do parecer de aprovação assim como relatório final ao término do estudo.
- No caso de estudos com medicamentos, medicamentos biológicos, dispositivos médicos ou odontológicos, produtos de terapia celular, atentar para não iniciar o estudo sem as aprovações da ANVISA e demais autoridades aplicáveis. É importante a compreensão do pesquisador de que a aprovação de um projeto pelo sistema Cep/Conep é apenas um dos requisitos necessários para a

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

**INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA**



Continuação do Parecer: 5.670.784

realização de um estudo envolvendo seres humanos;

- O pesquisador deve atentar para todas as resoluções, cartas circulares, normas operacionais e demais orientações emanadas pela Conep, além dos requisitos emanados nos regimentos internos dos Ceps;
- Em cumprimento as normativas locais, o CEP/Invitare mantém um programa de educação continuada para pesquisadores, participantes de pesquisa ou potenciais participantes de pesquisa bem como a sociedade em geral. Para saber mais sobre esse programa, acesso o site www.invitare.com.br e verifique a ala CEP;
- O CEP/Invitare possui seu registro válido até julho de 2023, momento em que um novo registro será solicitado;
- Caso o pesquisador responsável ou demais pesquisadores tenham qualquer dúvida, entrar em contato pelo telefone 11-5581.2429 das 10h às 19h .

Lembramos entretanto que, segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, “cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento”.

Atenção: atentar para o novo fluxo de tramitação de evento adverso grave estabelecido através da Carta Circular nº 13/2020-CONEP/SECNS/MS de 02 de junho de 2020.

(apresentar relatório consolidado dos eventos adversos junto com o relatório parcial do estudo)

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2010872.pdf	08/09/2022 15:43:27		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_FPS.pdf	08/09/2022 15:42:14	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_FPS.pdf	08/09/2022 15:41:46	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	IPclin_ParecerTecnico_Cientifico_Invitare_Projeto.pdf	08/09/2022 15:40:11	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Outros	DECLARACAO_INSTITUICAO_RESPONSABILIDADE.pdf	08/09/2022 15:39:07	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br

INVITARE PESQUISA CLINICA
AUDITORIA E CONSULTORIA
LTDA



Continuação do Parecer: 5.670.784

Orçamento	ORCAMENTO.pdf	08/09/2022 15:37:58	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_PATROCINADOR_FPS.pdf	08/09/2022 15:37:21	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_PESQUISADOR.pdf	08/09/2022 15:36:35	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAO_INSTITUICAO_INFRAE STRUTURA_HRIPT.pdf	08/09/2022 15:36:07	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	08/09/2022 15:35:54	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_FPS.pdf	08/09/2022 15:35:34	CASSIANO CARLOS ESCUDEIRO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 28 de Setembro de 2022

Assinado por:

MIRIAN APARECIDA GHIRALDINI FRANCO
(Coordenador(a))

Endereço: Rua caramuru, 417 11º andar sala 115
Bairro: CHACARA INGLESA **CEP:** 04.138-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5581-2429 **Fax:** (11)5587-4688 **E-mail:** cep@invitare.com.br