UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº17.228 de 25/11/2016
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS
SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2021

Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e estabilidade de formulação em gel contendo do extrato etanólico de *Spondias purpurea L.*

Marília Ribeiro da Silva[1]; Sônia Carine Cova Costa[2]
1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: marilia_rib@hotmail.com
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: scarinecc@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: antioxidante; fotoprotetoção; *Spondias purpurea L.*

INTRODUÇÃO

A pele, que é o maior órgão do corpo, também está suscetível ocorrência de alterações no seu aspecto, principalmente por ser um forte alvo do estresse oxidativo e sofrer sérios danos devido a exposição solar exacerbada. (BOMBARDELLI, 2012).

A radiação UVA é encontrada em níveis muito elevado e mais expressivos, pois distintamente da UVB, que causa queimaduras solares, a radiação UVA ultrapassa penetra profundamente na pele, conseguindo alcançar até a derme, camada mais profunda da pele (PORTILHO, 2018). A exposição a este tipo de radiação, dependendo do tipo de pele e do tempo, frequência e intensidade piora os efeitos da faixa UVA, podendo desencadear profundas mudanças estruturais ao sistema vascular periférico , podendo resultar no surgimento do câncer de pele (MELO, 2018).

Nesse contexto destaca-se a importância dos filtros solares, substâncias químicas de uso externo ou tópico, que possuem a capacidade de atenuar a radiação ultravioleta (UV), por conseguir atuar refletindo e/ou absorver as radiações ultravioletas antes que estas penetrem a pele, diminuindo os efeitos nocivos dessas radiações (SILVA, *et al*. 2019).

A utilização de plantas ou de extratos vegetais no âmbito da cosmetologia vem conquistando grande parte espaço e aceitação diante dos profissionais e consumidores da área, principalmente devido ao aumento na valorização de produtos naturais (MIGUEL,2011).

A *Spondias purpurea L.*, espécie de nome popular seriguela, siriguela ou ceriguela, que contém propriedades fotoprotetoras pela elevada concentração de compostos fenólicos com propriedade de antioxidante devido a capacidade de quelar metais e sequestrar radicais livres, danosos à célula. Além dos flavonoides, também é composta por ácido fenólico hidroxicinâmico dicafeoil-diglicose e compostos altamente antioxidantes como os elagitaninos

(MARTINS *et al.*, 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção da Droga Vegetal

A coleta da Spondias purpurea L. foi realizada em Irará, região metropolitana de Feira de Santana-Ba, localização nas coordenadas de latitude S 12º 4’16,96872’’ e longitude W 38º 47’48,80652’’.

Obtenção do extrato etanólico de *Spondias purpurea L.*

As folhas de *S. purpurea* coletadas, foram destacadas manualmente, colocadas para secar, primeiramente em temperatura ambiente e posteriormente em estufa (55ºC) por 72 horas. Em seguida, foram trituradas em um triturador industrial, pesado e transferidas para um recipiente, onde foram embebidas com etanol na proporção 1:3. O recipiente foi lacrado e ficou em temperatura ambiente e protegido da luz por três dias. Posteriormente, o conteúdo do recipiente foi filtrado duplamente e após evaporação utilizando como auxilio a capela, se obteve o extrato.

Avaliação da atividade fotoprotetora UVA/UVB *in vitro* dos extratos

Para realização das análises espectrofotométrica foi necessário medir a absorção da formulação no intervalo de 290 a 400 nm. Após esse processo, foi feito o cálculo da razão das áreas sob a curva UVA em relação à UVB para determinar a proporção entre a absorbância na faixa do UVA e na faixa do UVB, conforme equação a seguir: (REFERÊNCIA)

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

A partir do resultado obtido por esta equação, ao protetor solar são conferidas estrelas classificando a sua ação anti-UVA, segundo descrição da tabela de relação do fator de proteção e eficiência UVA/UVB (BOOTS THE CHEMIST LTDA., 2008).

Tabela 1 - Relação do fator de proteção e eficiência UVA/UVB

Proteção Anti-UVA		
Razão UVA	**Estrelas**	**Descrição***
0,0 até < 0,2	-	Muito baixa
0,2 até < 0,4	*	Moderada
0,4 até < 0,6	**	Boa
0,6 até < 0,8	***	Superior
0,8 até < 0,9	****	Máxima
≥ 0,9	*****	Ultra

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

Avaliação da atividade fotoprotetora UVB in vitro dos extratos

Foram utilizadas as soluções com diferentes concentrações do extrato de *Spondias purpurea L.*, para medir a intensidade da luz em comprimentos de onda determinados entre 290 a 320 nm (espectro da região UVB), para determinação do FPS. Posteriomente será aplicada uma equação segundo Mansur, *et al.*, 1986, representada abaixo, utilizando ainda a constante EE (λ) . 2 . I (λ) instituída por Sayre *et al.* (1979).

$$FPS = FC \,.\sum_{290}^{320} .\ EE(\lambda)\ .\ 2\ .\ I(\lambda)\ .\ Abs(\lambda)$$

As amostras devem apresentar um FPS ≥ 6 para serem consideradas fotoprotetoras, segundo a RDC n º30 de 01 de junho de 2012 (BRASIL, 2012).

Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* dos extratos

Foi preparada soluções do extrato da *Spondias purpurea L.* em diferentes concentrações (100µg, 200µg, 300µg, 400µg, 500µg) e uma solução etanólica de DPPH (25µg/mL). Os controles positivos foram feitos utilizando o BHT e o ácido ascórbico, ambos preparados em concentrações e condições idênticas ao das amostras em análise. As soluções reagentes foram incubadas no escuro e a temperatura ambiente (25ºC) durante 30 min para que a reação ocorra. A redução do radical livre foi medida através da leitura da absorbância a 518 nm em e os resultados expressos em % de Sequestro do Radical Livre (%SRL) (BRAND-WILIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995 e PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999).

% SRL = 100 – {[(*Abs controle – Abs amostra*) x 100] / Abs *controle*}

Onde, *Abs amostra* = Absorbância da amostra e Abs *controle* = *Absorbância* do controle.

Obtenção da formulação de gel

Para preparação do gel serão utilizados Aristoflex AVC4 5%, Nipagim 0,15%, Nipazol 0,1%, Propilenoglicol 5%, Água qsp 100%. Onde, inicialmente, foram misturados o Nipagim e o Nipazol com qs de Propilenoglicol, e posteriormente ocorrerá a pulverização do polímero Aristoflex sob agitação moderada, até a formação de um gel cristalino. Em seguida foi adicionado o extrato de *Spondias purpurea L.* (FERREIRA; BRANDÃO; POLONINI, 2018).

Avaliação da estabilidade preliminar das formulações

Para identificar as características da formulação, foram analisadas as propriedades organolépticas para detectar qualquer alteração relacionada ao visual, aspecto, cor e odor que possa vir a surgir na formulação, e classifica-las em: sem alteração; levemente modificada; intensamente modificada.

Os testes de pH e da centrifugação serão realizados a partir do ciclo gela-degela. Onde a formulação foi submetida a temperaturas padronizadas por período de 12 dias. O 1º dia corresponde às 48h após o preparo da formulação. As amostras foram submetidas a 4 ± 2ºC por 24 horas (Geladeira) e 45 ± 2ºC por 24 horas (Estufa) completando assim, um ciclo. As leituras foram realizadas antes do início do teste e no final do 6º ciclo (12 dias) (BRASIL, 2004).

A determinação dos valores de pH foi feita em temperatura ambiente, através da inserção do eletrodo diretamente na diluição aquosa das amostras na proporção de 1:10. Foram realizadas três avaliações obtendo-se a média (STULTZER, 2006).

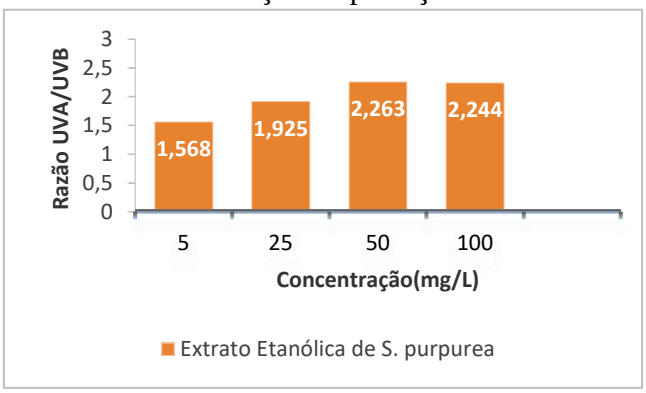
Para o teste de centrifugação foram utilizados tubos de ensaio cônicos, graduados para centrífuga, onde foram colocados 1,5g da formulação em triplicata, pesadas em balança semi-analítica e submetidas à centrifugação a 3.000 rpm por 30 minutos, a 25ºC (BRASIL, 2004).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Avaliação da atividade fotoprotetora UVA/UVB *in vitro* dos extratos

Os valores encontrados foram utilizados para calcular a razão das áreas sob a curva UVA em relação à UVB para determinar a proporção entre a absorbância na faixa do UVA e na faixa do UVB.

Gráfico 1 – Relação da proteção anti-UVA

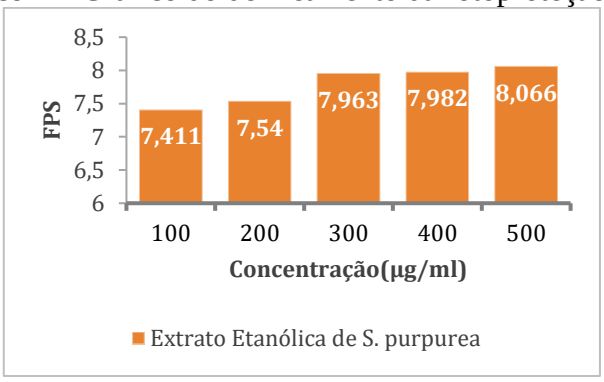


O resultado exposto no gráfico 1 acima, demonstram que o extrato em estudo possui uma ação classificada como ultra em relação a sua proteção contra radiação UVA, uma vez que todos os valores encontrados se mantiveram acima de 0,9. O que evidencia a existência do alto potencial fotoprotetor contra UVA do extrato de *Spondias purpurea L.*

Avaliação da atividade fotoprotetora UVB in vitro dos extratos

As medidas encontradas referente as leituras das soluções do extrato de *Spondias purpurea L.* em diferentes concentrações foram aplicados na equação de MANSUR, *et al.*, 1986, utilizada para determinar do FPS.

Gráfico 2 – Gráfico do delineamento da fotoproteção UVB



Os resultados obtidos apresentados no gráfico 2, se mantiveram todos acima de 6, ou seja, valores favoráveis de FPS, conferindo ao extrato analisado, fotoproteção contra radiações UVB .

Avaliação da atividade antioxidante in vitro dos extratos

Preparou-se uma solução de DPPH (25ug/ml) e uma solução de 0,02g do extrato de *S. L.* em 10ml. Em seguida, foram feitas diluições em diferentes concentrações da solução do extrato (100µg, 200 µg, 300 µg, 400µg, 500µg), onde foi retirado de cada diluição 2,5ml e acrescentado 1ml da solução de DPPH, mantendo-se em temperatura ambiente e sob proteção da claridade por 30 min, em seguida foram feitas as leituras no espectrômetro na absorbância de 518nm e em sequência calculou-se a porcentagem do Sequestro do Radical Livre (%SRL) que estão expressos na tabela 2 abaixo.

Tabela 2 – Atividade antioxidante.

	% SRL				
	100 µg/mL	**200 µg/mL**	**300 µg/mL**	**400 µg/mL**	**500 µg/mL**
Extrato	94,581 ± 0,406	90,980 ± 0,085	89,706 ± 0,000	86,078 ± 0,085	81,817 ± 0,000
BHT	83,872 ± 0,085	72,500 ± 0,148	44,274 ± 0,000	35,490 ± 0,085	31,764 ± 0,000
AA	59,830 ± 0,105	75,862 ± 0,000	78,523 ± 0,105	77,676 ± 0,000	78,463 ± 0,105

Como pode ser visto na tabela 2 , o extrato de *Spondias purpurea L.* demonstrou possuir uma atividade antioxidante bastante significativa, expondo valores acima de 80%.

Obtenção da formulação de gel

A formulação em gel foi feita através da mistura de 10ml de extrato de *Spondias purpurea* em 100g de base gel Aristoflex adquirido em uma farmácia de manipulação de Feira de Santana, até sua total incorporação e homogeneização. Para formulação do gel padrão, utilizou-se 100g da base gel Aristoflex incorporado a 10ml de FPS.

Avaliação da estabilidade preliminar das formulações

Características organolépticas: foi observado que durante os ciclos que houve uma constante perda de água, o que resultou no visível ressecamento e diminuição na viscosidade da formulação em gel com extrato. A coloração também sofreu interferências, passou de amarelo levemente amarronzado para um marrom claro acinzentado. Quanto ao odor, a formulação se manteve inodora. Já a formulação gel padrão, submetida as mesmas condições, só apresentou alterações referentes ao ressecamento e a diminuição na viscosidade, como pode ser visto na tabela 3 representada abaixo.

Tabela 3 - Resultados dos aspectos organolépticos da amostra da formulação em gel contendo extrato de *Spondias purpurea* analisados durante o período de 12 dias.

DIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
COR	I	I	I	LM	LM	EM	LM	EM	LM	LM	LM	EM
ODOR	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
ASPECTO	I	I	LM	LM	LM	EM	LM	EM	LM	LM	LM	LM

Legendas: (I) Inalterado; (LM) Leve modificação; (EM) Elevada modificação. Adaptado de: Zocoler *et al*., 2019; Buhler e Ferreira, 2008.

Durante os 12 dias, o resultado das medições diárias do pH, foi que tanto a formulação do gel com extrato, quanto a formulação do gel padrão, se mantiveram com o pH=5,0. Já o este da centrifugação, mostrou que ambas as formulações, gel com extrato e a gel padrão, permaneceram inalteradas durante o processo.

CONCLUSÃO

A análise relacionada a atividade antioxidante demonstrou resultados positivo do extrato etanólico de *Spondias purpurea L*. Fato que pode ser explicado pela composição das *Spondias purpurea L.*, caracterizadas por conter elevadas quantidades de compostos fenólicos, conhecidos por conferir ação antioxidante a substancia.

Em relação a atividade fotoprotetora, também foram obtidos bons resultados, em relação a proteção contra UVA, a *Spondias purpurea L.*, segundo os experimentos, mostrou possuir uma ultra proteção a esse tipo de radiação. Já sobre a proteção contra UVB, apesar se favoráveis, os resultados não foram tão altos. Importando ao extrato uma maior proteção contra UVA quando comparada com a proteção contra UVB.

Os testes de estabilidade demonstraram que a formulação possui uma boa estabilidade, no entanto, existe alguns aspectos, relacionados a temperatura e armazenamento, que necessitam ser considerados e reparados para que a conservação do produto seja satisfatória, uma vez que, em condições que tenham uma variância de temperatura muito alta, a formulação acaba sofrendo alterações em suas características organolépticas.

REFERÊNCIAS

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **ANVISA**. Brasília, 2004.

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

BOOTS THE CHEMIST LTD. The revised guidelines to the practical measurement of UVA/UVB ratios according to the Boots star rating system. **The Boots Co. PLC**, Notthingham; 2008.

FERREIRA, A.de O.; BRANDÃO, M. A. F.; POLONINI, H. C. **Guia Prático da Farmácia Magistral**. 5. Ed. v. 1, São Paulo: Pharmabooks, jan. 2018.

MANSUR, J. S. *et al*. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. v. 3, n. 61, p.121-124, 1986.

MARTINS, L. P. *et al*. Desenvolvimento de Frutos de sirigueleira (Spondias Purpurea L.). **Rev. Bras. Frutic**., Jaboticabal - SP, v. 25, n. 1, p. 11-14, abr. 2003.

MELO, L. da M. E. A relação dos consumidores com o protetor solar. Revista estética em movimento, Belo Horizonte - MG, v.1, 2018.

MIGUEL, L. M. Tendências do uso de produtos naturais nas indústrias de cosméticos da França. **Revista Geográfica de América Central**, Heredia, v.2, p. 1-15, 2011

PORTILHO, L. Pesquisa diz que 70% dos brasileiros não usam filtro solar todo dia e 80% não sabem quanto aplicar. **BBS**. 2018. Disponível em: https://www.segs.com. br/saude/ 99582-pesquisa-diz-que-70-dos-brasileiros-nao-usam-filtro-solar-todo-dia-e-80-nao-sabem-quanto-aplicar.html. Acesso em: 7 mar. 2020.

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, p. 337-341, 1999.

SAYRE, R. M. *et al*. Comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreening formulas. **Photochemistryand Photobiology**. v. 29, p. 559-565, 1979.

SILVA, L. L.do N. *et al*. Raios ultravioletas e sua relação com o câncer de pele as causas e como tratar. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 6, nov. 2019.

STULTZER, H. K.; GONÇALVES, M.R.; FERREIRA, M. P. Loção Infantil para assaduras. **Cosm. Toil**., v.18,, p.90-93, 2006.

TOFETTI, M. H. de F. C.; OLIVEIRA, V. R. A importância do uso do filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. **Investigação**, Franca, v. 6, n. 1, jan./abr. 2006.

WHARTON, J. R.; COCKERELL, C. J. The sun: a friend and enemy. **Clinics in Dermatology**, [s.l.], v. 16, n. 4, p.415-419, jul./ago. 1998. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/S0738-081X(98)00014-5>. Acesso em: 21 mar. 2020.

WOLF, R. D. *et al.* Sunscreens. **Clinics in Dermatology**, [s.l.], 4 ed., v. 19, n. 4, p. 452-459, jul./ago. 2001. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/S0738-081X(01)00190-0>. Acesso em: 21 mar. 2020.