

Eficácia *in vitro* de protetor solar multifuncional associado ao extrato glicólico de *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-Pro-Nóbis)

Rayan de Sousa Ferreira

Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira Pinto

André Rolim Baby

Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo

rayanferreira@usp.br

Objetivos

A considerar as propriedades da *Pereskia aculeata* Mill., este projeto almejou preparar e investigar a eficácia *in vitro* e fotoestabilidade de uma formulação protetora solar multifuncional associada ao extrato glicólico da referida planta, assim, os objetivos específicos são:

- Preparar e caracterizar o extrato glicólico de Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) por quantificação de flavonoides totais e atividade antioxidante *in vitro*.
- Preparar e avaliar a estabilidade preliminar de fotoprotetores contendo o referido extrato associado à avobenzona e ao metoxicinamato de octila.
- Determinar a eficácia fotoprotetora *in vitro* (fator de proteção solar, FPS, e comprimento de onda crítico) e a fotoestabilidade funcional das amostras por espectrofotometria de refletância difusa com esfera de integração e radiação UV artificial.

Métodos e Procedimentos

A planta *P. aculeata* Mill. foi coletada na Vila Andrade, Zona Sul da cidade de São Paulo, durante o mês de outubro de 2023. Após a

coleta, a planta foi preparada para o depósito da exsicata no herbário da Universidade Santo Amaro (UNISA), foi identificada sob o registro N°4653. Para a obtenção do extrato glicólico, foram pesados 50 gramas da droga vegetal, que foram adicionados a 500 mL de propilenoglicol a 50% em um Erlenmeyer. O extrato foi filtrado com papel filtro e armazenado em frasco de vidro âmbar.

Os flavonoides totais foram quantificados por espectrofotometria. A quantificação foi feita com base na reação dos flavonoides com cloreto de alumínio (AlCl₃) a 5%, e a leitura foi realizada a 425 nm. A quercetina foi utilizada como padrão de comparação (MARQUES, 2012).

A atividade antioxidante do extrato glicólico foi determinada pela capacidade do extrato de sequestrar o radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). O método consistiu na reação de volumes específicos do extrato com DPPH•, em temperatura ambiente e no escuro. Após o período, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro a 517 nm. A quercetina foi usada como controle positivo (OLIVEIRA, 2015). Para a preparação das amostras fotoprotetoras, foi utilizada uma emulsão do tipo óleo-em-água como veículo, contendo ou não o extrato glicólico de *P. aculeata*. Como filtros UV, foram empregados avobenzona e metoxicinamato de octila, conforme descrito por Martins (2018). A

composição qualitativa e quantitativa das amostras está detalhada na Tabela 1.

Ingredientes (INCI name)	Proporção % (p/p)		
	F01	F02	F03
Cetearyl Alcohol, Dicetyl Phosphate, Ceteth-10 Phosphate	6,0	6,0	6,0
BHT	0,05	0,05	0,05
Butyl Methoxydibenzoylmethane	5,0	5,0	5,0
Ethylhexyl Methoxycinnamate	10,0	10,0	10,0
Ethyl Alcohol	2,5	2,5	2,5
Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben	0,6	0,6	0,6
Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer	2,0	2,0	2,0
Aqua q.s.p.	100,0	100,0	100,0
<i>P. aculeata</i> Mill. extract	0,0	5,0	10,0

Tabela 1: Composição qualitativa e quantitativa (% p/p) das amostras fotoprotetoras.

As amostras preparadas foram submetidas à testes de estabilidade preliminares, incluindo o Teste da Centrifugação e o Teste do Estresse Térmico. Após, essas foram avaliadas macroscopicamente quanto ao aspecto, cor e odor, de acordo com as diretrizes da ANVISA (2008).

A eficácia fotoprotetora das amostras foi determinada *in vitro* por medição do Fator de Proteção Solar (FPS) e do comprimento de onda crítico, utilizando espectrofotometria de refletância difusa com esfera de integração (Labsphere® UV2000S Ultraviolet Transmittance Analyzer). As amostras foram aplicadas na forma de filme (1,3 mg/cm²) sobre placas de PMMA (25 cm², HD6, Heliplates®), e as medições de transmitância foram realizadas em intervalos de 1 nm, entre 290 e 400 nm, conforme descrito por Bispo (2021). Cada amostra foi analisada em triplicata. A fotoestabilidade das amostras foi avaliada em câmara Atlas Suntest®, e os dados espectrofotométricos obtidos após irradiação foram utilizados para calcular os parâmetros de eficácia fotoprotetora.

Resultados

O valor médio da absorbância do extrato foi igual a $0,806 \pm 0,062$, sendo o teor de flavonoides totais igual a $60,125 \mu\text{g/mL}$ ($0,6125 \text{mg EQ/g}$ de droga seca). Tomiak et al., 2023, encontraram teor de flavonoides totais de $76,10 \text{mg EQ/g}$ em um extrato preparado com álcool etílico 70% (v/v). Rodrigues, 2016, obteve teor de $4,98 \text{mg EQ/g}$ em um extrato aquoso. Giroto et al., 2022, apesar da obtenção do extrato com álcool etílico 70% (v/v), obteve valor de flavonoides totais igual a $1,76 \text{mg EQ/g}$. Na presente investigação, foi encontrado valor inferior de flavonoides totais para o extrato de *P. aculeata*, podendo ser explicado pelo solvente da extração, o propilenoglicol a 50%.

Concentração (%)	Atividade Antirradicalar
0,25	17,80%
0,5	40,95%
1,0	53,80%
2,0	82,00%
5,0	Sem possibilidade de quantificação

Tabela 2: Atividade antirradicalar avaliada por DPPH no extrato em diferentes concentrações.

A quercetina a 0,1%, utilizada como controle positivo, obteve atividade antirradicalar de 89,20% e o extrato a 2,0% de 82,00%. Silva et al., 2013, para a concentração de 20mg/mL , obtiveram atividade antirradicalar igual a 43,2%. Esta discrepância poderia estar relacionada com o método do ensaio de DPPH, que foi realizado com em diferentes condições (solvente metanol). Segundo Tomiak et al., 2023, a atividade antirradicalar do extrato de *P. aculeata* variou de 15 a 87% para o sequestro do DPPH, nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50mg/mL em diferentes métodos extrativos.

O extrato de *P. aculeata* no protetor solar aumentou o valor do FPS em 28,5% (35 -> 45) sem a irradiação (Tabela 3).

OPN 1 - 0% de extrato			
	FPS in vitro	Comprimento de onda crítico	Razão UVA/UVB
0 minutos	35	382	0,786
30 minutos	16	377	0,558
60 minutos	7	371	0,411
120 minutos	3	359	0,258
OPN 2 - 5% de extrato			
	FPS in vitro	Comprimento de onda crítico	Razão UVA/UVB
0 minutos	40	382	0,775
30 minutos	16	377	0,584
60 minutos	8	374	0,485
120 minutos	4	365	0,33
OPN 3 - 10% de extrato			
	FPS in vitro	Comprimento de onda crítico	Razão UVA/UVB
0 minutos	45	383	0,811
30 minutos	25	377	0,567
60 minutos	10	374	0,479
120 minutos	4	366	0,333

Tabela 3: FPS *in vitro*, comprimento de onda crítico e a razão UVA/UVB das formulações com avobenzona e metoxicinamato de octila em diferentes concentrações do extrato, nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos de irradiação.

Após os testes de estresse térmico e centrifugação, todas as amostras permaneceram estáveis, sem separação de fases ou mudança de cor, odor e textura.

Conclusões

Os resultados demonstraram que o extrato de *Pereskia aculeata* Mill. apresentou concentração de flavonoides totais igual a 60,125µg/mL e atividade antirradicalar entre 17 e 82%, aproximadamente, para o intervalo de concentração do extrato de 0,25 a 2,0%.

O extrato de *P. aculeata* no protetor solar aumentou sua eficácia, no entanto, sem a irradiação artificial. Estes resultados sugerem que *P. aculeata* poderia ser um ingrediente multifuncional natural e promissor. Estudos *ex vivo* e *in vivo* devem ser desenvolvidos para demonstrar sua atividade antioxidante e sua capacidade de aumentar a fotoproteção.

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que me apoiaram ao longo da realização deste trabalho. Primeiramente, agradeço à minha vizinha e amiga, Maria Cristina Paiva, que gentilmente forneceu a planta Ora-Pro-Nóbis, essencial para a condução desta pesquisa. Agradeço também aos meus pais, Valdineia Maria de Sousa Ferreira e Benedito Ferreira Sobrinho, por todo o suporte incondicional e por serem a base de tudo na minha vida.

À minha namorada, Beatriz Moura Nery Nogueira, agradeço por todo o amor, paciência e incentivo durante este período desafiador.

À minha colega e amiga, Beatriz Gonçalves Cezarino de Souza por ter iniciado comigo os estudos da planta Ora-Pro-Nóbis, contribuindo significativamente para o desenvolvimento desse trabalho.

Sou igualmente grato aos professores Tercio Elyan Azevedo Martins, Marcia Eugenia Del Llano Archondo, Icimone Braga de Oliveira, Robson Miranda da Gama e Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira Pinto, cujo apoio foi crucial em várias etapas deste trabalho.

Por fim, expresso minha sincera gratidão ao professor André Rolim Baby, cuja orientação foi fundamental para a concretização deste trabalho. Sem o seu conhecimento e suporte, este projeto não teria sido possível. Adicionalmente, agradeço ao CNPq e à FAPESP. A todos, meu muito obrigado.

Referências

ANVISA. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2a edição, revista – Brasília: ANVISA, 2008; BISPO, M. O. **Eficácia fotoprotetora do ácido rosmarinico associado a filtros UVA e UVB**. São Paulo: Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, 2021; GIROTTO, L. M.; OLIVEIRA, I. D.; SILVA, D. G.; PORCIUNCULA, B. D.A.; BARROS, B. C. B.; **Potencial antioxidante de folhas de ora-pro-nóbis**. Maringá: UEM, 2022; MARQUES, G. S.; MONTEIRO, R. P. M.; LEÃO,

W. F.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; ROLIM-NETO, P. J.; XAVIER, H. S.; SOARES, L. A. L. **Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonóides totais em folhas de Bauhinia forficata.** Quím Nova. 2012; 35(3):517-22; MARTINS, T.E.A. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação da formação de complexos de inclusão de rutina, avobenzona e p-metoxicinamato de octila na presença de ciclodextrinas.** São Paulo: Tese Doutorado Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, 2018; OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•.** 1. ed. Campinas: Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2015. 36-44 p. v. 17; RODRIGUES, A. S. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de Ora-Pro-Nóbis (Pereskia aculeata Mill.) e sua aplicação em mortadela.** Santa Maria: UFSM, 2016; TOMIAK, J.; CHIMANSKI, A. D. O.; RICARDO, L. L.; MASSAROLO, K. C. **Influência das formas de preparo da ora- pro-nóbis (pereskia aculeata) no teor de compostos bioativos.** Toledo: Contemporânea, 2023.