



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

Letícia Falcai Ferrante

**DESENVOLVIMENTO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E DA
ATIVIDADE FOTOQUIMIOPREVENTIVA DE EMULSÕES
CONTENDO EXTRATO DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*
RADDI (ANACARDIACEAE)**

LETICIA FALCAI FERRANTE

**DESENVOLVIMENTO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E DA
ATIVIDADE FOTOQUIMIOPREVENTIVA DE EMULSÕES
CONTENDO EXTRATO DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*
RADDI (ANACARDIACEAE)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em
Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de
Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de
Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Regina Georgetti

LONDRINA
2026

F373d Ferrante, Letícia .

DESENVOLVIMENTO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E DA ATIVIDADE FOTOQUIMIOPREVENTIVA DE EMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI (ANACARDIACEAE) / Letícia Ferrante. - Londrina, 2026.
109 f.

Orientador: Sandra Regina Georgetti.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2026.

Inclui bibliografia.

1. Desenvolvimento de Formulações Tópicas - Tese. I. Regina Georgetti, Sandra. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. III. Título.

CDU 61

LETICIA FALCAI FERRANTE

**DESENVOLVIMENTO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E DA
ATIVIDADE FOTOQUIMIOPREVENTIVA DE EMULSÕES
CONTENDO EXTRATO DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*
RADDI (ANACARDIACEAE)**

Dissertação

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr^a Briani Gisele Bigotto

Prof^a Dr^a Renata Micheli Martinez

Londrina, 20 de fevereiro de 2026.

LETICIA FALCAI FERRANTE

**DESENVOLVIMENTO, ESTUDO DA ESTABILIDADE E DA
ATIVIDADE FOTOQUIMIOPREVENTIVA DE EMULSÕES
CONTENDO EXTRATO DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*
RADDI (ANACARDIACEAE)**

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof.^a Dr.^a Sandra Regina Georgetti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof.^a Dr.^a Renata Micheli Martinez
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dr.^a Briani Gisele Bigotto
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 20 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, porque sem Ele nada disso seria possível. Em segundo lugar, à minha família, em especial aos meus pais, Marcia Falcai e Luiz Carlos Ferrante, que mesmo distantes sempre se fizeram presentes e me deram forças para seguir até o final do mestrado. Um agradecimento especial também à minha madrinha Tania Cristina Falcai que nunca mediu esforços para o meu bem. Eu amo muito vocês.

Não poderia deixar de agradecer à minha orientadora, Prof^a Dr^a. Sandra Regina Georgetti que desde 2019 me acolheu e me ensinou tanto sobre a farmacotécnica. Obrigada por ter confiado em mim quando era Iniciante Científico e ter me dado essa pesquisa, que hoje se tornou meu mestrado.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, em especial à Beatriz, que sem ela tudo teria sido mais difícil. Obrigada Bia, por me ajudar em cada etapa e por me ensinar todos os dias. Você é uma profissional e tanto! Agradeço também a todos os ICs, mestrandos e doutorandos que passaram pela minha trajetória, contribuindo para o meu conhecimento.

E por fim, dedico esse mestrado à minha estrelinha, que em 2022 foi morar no céu, minha avó Cleonice Cavichioli. Esse título é nosso, vó! Eu te amo!

Muito feliz em mais uma etapa concluída, e obrigada a todos que contribuíram para esse mestrado ser finalizado.

Obrigada a todos!

FERRANTE, Letícia Falcai. **Desenvolvimento, estudo da estabilidade e da atividade fotoquimiopreventiva de emulsões contendo extrato de *Schinus terebinthifolius raddi* (anacardiaceae).** 2026. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2026.

RESUMO

A pele está continuamente exposta a fatores externos que favorecem a formação de radicais livres (RL), contribuindo para o estresse oxidativo e o envelhecimento precoce. Nesse contexto, compostos antioxidantes desempenham papel essencial na neutralização dessas espécies reativas, auxiliando na preservação da integridade cutânea. Os compostos bioativos presentes na *Schinus terebinthifolius* Raddi (pimenta aroeira), destacam-se por sua capacidade de proteção contra danos oxidativos, configurando esta planta como uma fonte promissora de substâncias de interesse para cuidados com a pele. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química do extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira (EA), seu mecanismo de ação antioxidante *in vitro*, seu fator de proteção solar (FPS) e atividade antimicrobiana. Adicionalmente, foram desenvolvidas formulações do tipo creme e gel-creme contendo o extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi, acrescidas de EA, as quais foram avaliadas quanto à estabilidade físico-química e funcional. Foram também avaliados a capacidade de permeação e retenção cutânea *in vitro* e capacidade inibir danos oxidativos gerados por Radiação Ultravioleta B (RUVB) *in vivo*. As formulações escolhidas F3 (creme) e F7 (gel creme) foram administradas no dorso dos animais, que receberam uma dose de radiação UVB de $4,14 \text{ J/cm}^2$. Após 12 h foi realizada a eutanásia dos animais e as peles foram retiradas para avaliação da eficácia das formulações adicionadas de extrato contra danos oxidativos e inflamatórios. As quantidades de polifenóis e de flavonoides encontradas no extrato foram de $227,77 \pm 0,67 \text{ mg/g}$ e $13,83 \pm 0,379 \text{ mg/g}$, respectivamente. Por UPLC–MS/MS, foram identificados a miricetina, isovitexina, luteolina-6-C-glicosídeo e isoquercitrina. Este extrato demonstrou ainda atividade antioxidante de forma concentração dependente para sequestro de diferentes radicais livres e inibição da peroxidação lipídica, além de forte poder redutor de ferro avaliado pelo método FRAP. EA apresentou atividade antimicrobiana e valor de FPS de $11,42 \pm 0,35$ e $10,85 \pm 0,19$, para extrato não irradiado e irradiado (UVB dose de $4,14 \text{ J/cm}^2$), respectivamente. F3 e F7 mantiveram suas características físico-químicas durante o estudo de estabilidade; porém, sob condições aceleradas de estabilidade $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}/75\% \text{ UR} \pm 5\% \text{ UR}$ por 6 meses (ANVISA, 2019), F3 permaneceu mais estável quando comparada à F7 sob as mesmas condições. Além disso, os resultados de retenção do EA a partir de F3 mostraram-se mais satisfatórios, quando comparado com F7. Em relação aos estudos *in vivo*, F3 e F7 adicionadas de EA foram capazes de inibir a formação de edema e o aumento da atividade da mieloperoxidase (MPO), enquanto nos parâmetros oxidativos GSH e ABTS, F3 apresentou melhor atividade. Assim, esses dados sugerem o potencial de utilização da formulação do tipo creme F3, contendo EA, para aplicação tópica, visando à atenuação dos efeitos associados à exposição à RUVB.

Palavras-chave: Antioxidante; Pimenta Rosa; Estresse Oxidativo; Formulações Semissólidas. FERRANTE, Letícia Falcai. **Development, stability study, and photochemopreventive activity of emulsions containing *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) extract.** 2026. Master's Degree Dissertation (Master in Pharmaceutical Sciences) – State University of Londrina, Londrina. 2026.

ABSTRACT

The skin is continuously exposed to external factors that promote the formation of free radicals (FR), contributing to oxidative stress and premature aging. In this context, antioxidant compounds play an essential role in neutralizing these reactive species, thereby helping to preserve skin integrity. The bioactive compounds present in *Schinus terebinthifolius* Raddi (Brazilian pepper tree) stand out due to their ability to protect against oxidative damage, making this plant a promising source of substances of interest for skin care applications. Thus, the aim of this study was to evaluate the chemical composition of the ethanolic extract from the leaves of Brazilian pepper tree (EA), its *in vitro* antioxidant mechanism of action, sun protection factor (SPF), and antimicrobial activity. In addition, cream and gel-cream formulations containing *Schinus terebinthifolius* Raddi extract, supplemented with EA, were developed and evaluated for their physicochemical and functional stability. The *in vitro* skin permeation and retention capacity were also assessed, as well as the ability to inhibit oxidative damage induced by ultraviolet B radiation (UVB) *in vivo*. The selected formulations, F3 (cream) and F7 (gel-cream), were applied to the dorsal region of the animals, which received a UVB radiation dose of 4.14 J/cm². After 12 h, the animals were euthanized, and the skin samples were collected to evaluate the efficacy of the extract-added formulations in attenuating oxidative and inflammatory damage. The total polyphenol and flavonoid contents in the extract were 227.77 ± 0.67 mg/g and 13.83 ± 0.379 mg/g, respectively. Using UPLC–MS/MS, myricetin, isovitexin, luteolin-6-C-glucoside, and isoquercitrin were identified. The extract also demonstrated concentration-dependent antioxidant activity for scavenging different free radicals and inhibiting lipid peroxidation, in addition to a strong ferric reducing capacity evaluated by the FRAP method. EA exhibited antimicrobial activity and SPF values of 11.42 ± 0.35 and 10.85 ± 0.19 for the non-irradiated and UVB-irradiated extracts (UVB dose of 4.14 J/cm²), respectively. Formulations F3 and F7 maintained their physicochemical characteristics throughout the stability study; however, under accelerated stability conditions (40 ± 2 °C / 75% ± 5% RH for 6 months), as recommended by ANVISA (2019), F3 remained more stable than F7 under the same conditions. Furthermore, the EA retention results from F3 were more satisfactory compared with F7. Regarding the *in vivo* studies, EA-loaded F3 and F7 were able to inhibit edema formation and the increase in myeloperoxidase (MPO) activity, while for the oxidative parameters GSH and ABTS, F3 showed superior performance. Therefore, these findings suggest the potential use of the cream-type formulation F3 containing EA for topical application, aiming to attenuate the effects associated with exposure to UVB radiation.

Keywords: Antioxidant; Pink Pepper; Oxidative Stress; Semisolid Formulations.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Representação esquemática das camadas da pele.....	21
Figura 2:	Espectro da radiação ultravioleta.....	22
Figura 3:	Representação esquemática da neutralização do radical livre pela atividade antioxidante.....	26
Figura 4:	Emulsão óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O)	27
Figura 5:	Instabilidade das emulsões.....	28
Figura 6:	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	29
Figura 7:	Compostos fenólicos da pimenta rosa. A: Galato de Metila; B: Ácido Elágico; C: Ácido Gálico; D: Catequina.....	30
Figura 8:	Representação esquemática da Célula de Franz.....	51
Figura 9:	Cromatograma obtido por UPLC–MS/MS (modo de ionização positivo) das folhas de pimenta aroeira.....	58
Figura 10:	Cromatograma obtido por UPLC–MS/MS (modo de ionização positivo) das folhas de pimenta aroeira.....	58
Figura 11:	Estruturas Químicas. A: Isovitexina; B: luteolina–6–C–glicosídeo; C: isoquercitrina.....	59
Figura 12:	Análise espectrofotométrica do extrato etanólico de aroeira em diferentes concentrações.....	60
Figura 13:	Análise espectrofotométrica do EA irradiado e não irradiado na concentração de 200µg/mL.....	62
Figura 14:	Habilidade doadora de átomo de hidrogênio ao radical estável DPPH do EA. As concentrações utilizadas no meio reacional foram de 0,025-1,6 µL/mL do extrato. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade.....	65
Figura 15:	Atividade sequestradora do radical ABTS pelo EA. As concentrações utilizadas no meio reacional foram de 1,0 a 0,0125 µL/mL do extrato. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade.....	66
Figura 16:	Atividade antioxidante por meio da inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema H ₂ O ₂ /luminol/HRP (<i>horseradish peroxidase</i>). (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade.....	69
Figura 17:	Atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema Xantina/Xantina oxidase.(A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade.....	70
Figura 18:	Atividade antioxidante por meio da Peroxidação Lipídica utilizando a gema do ovo. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade.....	71
Figura 19:	Análise visual das formulações semissólidas desenvolvidas (F1-F8)	75
Figura 20:	Centrifugação das formulações semissólidas desenvolvidas (F1-F8)	78
Figura 21:	Espalhabilidade (mm ²) das diferentes formulações tópicas adicionadas de extrato (*diferença estatisticamente significativa em comparação às demais formulações, p < 0,05)	79
Figura 22:	Avaliação da atividade antioxidante do extrato e das formulações contendo extrato: capacidade de sequestrar radical livre pelo ensaio de DPPH. *Diferença estatisticamente significativa em comparação com o extrato puro (p < 0,05)	80
Figura 23:	Avaliação da atividade antioxidante do extrato e das formulações contendo extrato: capacidade de sequestrar radical livre pelo ensaio de ABTS. *Diferença estatisticamente significativa em comparação com o extrato puro (p < 0,05)	82
Figura 24:	Análise das formulações creme (F3) aditivadas com extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> ou não, nos períodos 0 e 180 dias, armazenadas em diferentes condições após centrifugação. (A) Tempo 0, (B) 180 dias a 4°C, (C) 180 dias à temperatura ambiente (TA), (D) 180 dias a 40°C.....	85
Figura 25:	Análise das formulações gel-creme (F7) aditivadas com extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> ou não, nos períodos 0 e 180 dias, armazenadas em diferentes condições	

	após centrifugação. (A) Tempo 0, (B) 180 dias a 4°C, (C) 180 dias à temperatura ambiente (TA), (D) 180 dias a 40°C.....	85
Figura 26:	Espalhabilidade máxima obtida para F3 (A) e F7 (B) mantidas à temperatura ambiente (TA), 4°C e em condições aceleradas (40°C ±2°C / 75% UR)	87
Figura 27:	Estabilidade funcional do extrato puro (A), formulação creme F3 (B) e gel-creme F7 (C) contendo extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> , armazenados a 4°C, TA e 40°C/75% UR por 180 dias.....	88
Figura 28:	Porcentagens de redução do radical DPPH encontradas para as amostras no estudo de <i>sink conditions</i> . Os resultados representam a média de seis determinações ± EPM. Onde: Tp 25 µL — solução tampão fosfato pH 7,4 adicionada com quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação; Tp + ETOH 25 µL — solução tampão fosfato pH 7,4 com 10% de etanol adicionada com quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação; Tp 250 µL — solução tampão fosfato pH 7,4 adicionada com dez vezes a quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação; Tp + ETOH 250 µL — solução tampão fosfato pH 7,4 com 10% de etanol adicionada com dez vezes a quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação.....	90
Figura 29:	Retenção <i>in vitro</i> de compostos antioxidantes do extrato puro, F3 e F7 na pele de camundongos sem pelo. Porcentagem de redução do radical DPPH (A) e concentração correspondente de extrato (B), estimada para os estudos de retenção após 12 h de experimento ($p < 0,05$ comparado com extrato em propilenoglicol e F7)	92
Figura 30:	Avaliação da eficácia de F3 e F7 adicionadas de EA na diminuição da formação de edema induzido pela radiação UVB. O edema na pele foi determinado 12 h após o término da irradiação. As barras representam médias ± EPM de 2 experimentos separados, 5 camundongos por grupo, * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle não irradiado e ** $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle irradiado e formulação controle.....	94
Figura 31:	Avaliação da eficácia de F3 e F7 adicionadas de EA na diminuição da atividade da MPO induzida pela radiação UVB. As barras representam médias ± EPM de 2 experimentos separados, 5 camundongos por grupo, * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle não irradiado e ** $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle irradiado e formulação controle.....	95
Figura 32:	Avaliação da eficácia de F3 e F7 adicionadas de EA na inibição da depleção da capacidade antioxidante da pele induzida pela radiação UVB. (A) Níveis de GSH, (B) Capacidade sequestradora do radical ABTS e (C) Poder redutor de ferro pelo ensaio FRAP. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle não irradiado, ** $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle irradiado e # $p < 0,05$ em comparação com formulação controle.....	97

LISTA DE TABELA

Tabela 1:	Estimativa empregada no cálculo do fator de proteção solar por espectrofotometria (Mansur <i>et al.</i> , 1986) com um fator de correção igual a dez.....	37
Tabela 2:	Composição (%) das diferentes formulações semissólidas.....	45
Tabela 3:	Metabólitos anotados nos perfis cromatográficos obtidos por UPLC–MS/MS (modo de ionização positivo e negativo) de folhas de pimenta aroeira.....	59
Tabela 4:	Valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida ou fungicida mínima (CBM/CFM) do extrato de <i>S. terebinthifolius</i> (pimenta aroeira). A unidade de concentração é expressa em % (v/v).....	73
Tabela 5:	Valores de pH das diferentes formulações acrescida e não de extrato; $\pm$ média de 3 amostras por condição (n=3)	76
Tabela 6:	Análise macroscópica das formulações tópicas contendo extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> durante o período de 6 meses.....	84
Tabela 7:	Valores de pH da fórmula F3, com e sem extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> , armazenados em diferentes condições durante 6 meses.....	86
Tabela 8:	Valores de pH da fórmula F7, com e sem extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> , armazenadas em diferentes condições durante 6 meses.....	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABTS	2,2' azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazil
EA	Extrato Alcoólico da folha de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FPS	Fator de Proteção Solar
FRAP	Poder Antioxidante Redutor Férrico
F1	Formulação 1
F2	Formulação 2
F3	Formulação 3
F4	Formulação 4
F5	Formulação 5
F6	Formulação 6
F7	Formulação 7
F8	Formulação 8
GR	Glutathione Redutase
GSH	Glutathione Reduzida
HRP	Horseradish Peroxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
LPO	Peroxidação Lipídica
MPO	Mieloperoxidase
O ₂	Oxigênio Molecular Diatômico
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RNA	Ácido Ribonucleico
RUV	Radiação Ultravioleta
TPTZ	2,4,6 tripiridil-S-triazina
TRIS	Hidroximetil Aminometano
UVA	Radiação Ultravioleta A

UVB	Radiação Ultravioleta B
UVC	Radiação Ultravioleta C
XO	Xantina Oxidase

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1	Pele.....	19
2.2	Radiação Ultravioleta.....	22
2.3	Radicais Livres e Antioxidante.....	24
2.4	Emulsão.....	26
2.5	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	28
3.	OBJETIVO.....	31
3.1.	Objetivo Geral.....	31
3.2.	Objetivo Específico.....	32
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1.	Materiais.....	33
4.2.	Métodos.....	33
4.2.1.	Preparo do extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	33
4.2.2.	Caracterização química do extrato das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	34
4.2.2.1.	Determinação Do Teor De Polifenóis e Flavonoides Totais por método Colorimétrico.....	34
4.2.2.2.	Determinação Do Espectro De Absorção No UV.....	35
4.2.2.3.	Determinação <i>in vitro</i> Do Fator De Proteção Solar (FPS).....	35
4.2.2.4.	Avaliação da fotoestabilidade e Determinação <i>in vitro</i> do Fator de Proteção Solar (FPS).....	36
4.2.3.	Avaliação da capacidade antioxidante do EA por diferentes métodos <i>In Vitro</i>	37
4.2.3.1.	Determinação da atividade doadora de átomos de hidrogênio do extrato ao radical DPPH.....	37
4.2.3.2.	Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS.....	38
4.2.3.3.	Determinação da atividade antioxidante pelo poder de redução do ferro – FRAP.....	40
4.2.3.4.	Determinação da atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema H ₂ O ₂ /luminol/HRP (<i>horseradish peroxidase</i>)	40
4.2.3.5.	Determinação da atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema Xantina/Xantina oxidase.....	41
4.2.3.6.	Determinação da atividade antioxidante por inibição da peroxidação lipídica utilizando a gema do ovo.....	42
4.2.3.7.	Avaliação da atividade antibacteriana.....	43
4.2.3.7.1.	Cepas Microbianas.....	43
4.2.3.7.2.	Atividade Antibacteriana do Extrato: Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (BCM).....	43
4.2.3.7.3.	Atividade Antifúngica dos Extratos: Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	44
4.2.4.	Desenvolvimento das formulações tópicas acrescidas do extrato de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	45
4.2.5.	Análise das características físico-químicas das formulações tópicas.....	47
4.2.5.1.	Ensaio Organolépticos.....	47
4.2.5.2.	Análise do pH.....	47
4.2.5.3.	Teste de Centrifugação.....	47
4.2.5.4.	Teste de Espalhabilidade.....	48

4.2.6.	Avaliação antioxidante das formulações.....	48
4.2.6.1.	Determinação da atividade sequestradora do radical livre DPPH.....	48
4.2.6.2.	Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS.....	49
4.2.7.	Teste de Estabilidade.....	49
4.2.8.	Estudo de permeação e retenção cutânea <i>in vitro</i> com a célula de Franz.....	50
4.2.8.1.	Estudo de <i>Sink Conditions</i> para avaliação da atividade antioxidante nos estudos de retenção e permeação cutânea.....	50
4.2.8.2.	Avaliação da permeação e retenção cutânea <i>in vitro</i> em Célula de Franz.....	51
4.2.9.	Avaliação da eficácia antioxidante <i>in vivo</i>	52
4.2.9.1.	Animais experimentais.....	52
4.2.9.2.	Sistema e Fonte de Radiação UVB.....	52
4.2.9.3.	Protocolo Experimental de Avaliação do Potencial Terapêutico das formulações adicionadas de EA em camundongos.....	53
4.2.9.3.1.	Avaliação do edema cutâneo.....	53
4.2.9.3.2.	Atividade da Mieloperoxidase (MPO).....	54
4.2.9.3.3.	Determinação da Atividade Doadora de Elétrons ao Radical ABTS.....	54
4.2.9.3.4.	Avaliação do poder Antioxidante Redutor de Ferro (FRAP).....	55
4.2.9.3.5.	Avaliação dos níveis do Antioxidante Endógeno Glutathione Reduzida (GSH).....	55
4.2.10.	Análise Estatística.....	55
5.	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	56
5.1.	Caracterização química do extrato de <i>S. terebinthifolius raddi</i>	56
5.1.1.	Determinação do teor de polifenóis totais e flavonoides por método colorimétrico.....	56
5.2.	Avaliação da atividade fotoprotetora <i>in vitro</i>	59
5.2.1.	Determinação do Espectro de absorção do UV.....	59
5.2.2.	Avaliação da fotoestabilidade e Determinação <i>in vitro</i> do Fator de Proteção Solar.....	61
5.3.	Avaliação da capacidade antioxidante do EA por diferentes métodos <i>in vitro</i>	64
5.3.1.	Determinação da atividade doadora de átomos de hidrogênio do extrato ao radical DPPH.....	64
5.3.2.	Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS.....	65
5.3.3.	Determinação da atividade antioxidante pelo poder de redução do ferro-FRAP.....	67
5.3.4.	Determinação da atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema H ₂ O ₂ /luminol/HRP (<i>horseradish peroxidase</i>) e pelo sistema Xantina/Xantina oxidase (XO).....	68
5.3.5.	Determinação da atividade antioxidante por peroxidação lipídica utilizando a gema do ovo.....	70
5.4.	Avaliação da atividade antibacteriana.....	72
5.5.	Desenvolvimento das formulações.....	74
5.5.1.	Preparo das formulações tópicas acrescidas do EA.....	74
5.5.2.	Análise das características físico-químicas das formulações tópicas.....	75
5.5.2.1.	Ensaio organoléptico.....	75
5.5.2.2.	Análise do pH.....	76
5.5.2.3.	Teste de Centrifugação.....	77
5.5.2.4.	Teste de Espalhabilidade.....	78
5.5.3.	Avaliação antioxidante das formulações.....	80
5.5.3.1.	Determinação da atividade sequestradora do radical livre DPPH.....	80
5.5.3.2.	Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS.....	81
5.5.3.3.	Teste de Estabilidade.....	83
5.5.4.	Estudo de permeação e retenção cutânea <i>in vitro</i> com a célula de Franz.....	89
5.5.4.1.	<i>Sink Conditions</i>	89
5.5.4.2.	Permeação e Retenção Cutânea.....	91
5.5.5.	Eficácia <i>in vivo</i>	93

6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
7.	REFERÊNCIAS.....	99

1. Introdução

Os produtos para uso tópico desempenham um papel essencial no cuidado e na manutenção da pele, oferecendo benefícios que vão desde a hidratação e proteção até a melhora da aparência e da saúde cutânea (DOS SANTOS, 2025). Para compreender melhor a eficácia e a importância desses produtos, é fundamental conhecer a estrutura e as funções da pele, o maior órgão do corpo humano (XAVIER; GUARINIELLO; D'AMELIO, 2022).

A pele é responsável por aproximadamente 16% do peso corporal, é composta por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme, camada mais externa, é avascular e possui espessura variável, sendo mais espessa nas palmas das mãos e plantas dos pés (DOS SANTOS, 2025). Sua principal função é proteger contra agentes externos, sendo constituída por células epiteliais organizadas em cinco estratos: germinativo (ou basal), espinhoso, granuloso, lúcido e córneo (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019).

A derme, localizada abaixo da epiderme, é composta por tecido conjuntivo denso não modelado e varia em espessura de 0,6 mm a 3 mm. Essa camada é dividida em três regiões: papilar, composta por tecido conjuntivo frouxo; reticular, formada por tecido conjuntivo denso; e adventícia, que envolve anexos cutâneos como folículos pilosos, glândulas e vasos. A derme desempenha funções essenciais para a sustentação e nutrição da pele (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019).

A hipoderme, também chamada de tela subcutânea, é considerada um órgão endócrino e é constituída principalmente por adipócitos (DOS SANTOS, 2025). Suas funções incluem o armazenamento de energia, a proteção contra impactos, a regulação térmica e a modelagem corporal. Essa camada é crucial para a homeostase energética e para a proteção física do organismo (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019).

As formas farmacêuticas semissólidas, como cremes, loções e géis, são formuladas para interagir com essas camadas da pele de maneira específica. Elas devem ultrapassar a barreira física do estrato córneo — a camada mais superficial da epiderme — a fim de liberar ativos que promovem hidratação, reparo e proteção. Os sinais visíveis do envelhecimento são ocasionados pela produção de radicais livres (RL), tanto de forma endógena, por meio da oxidação de proteínas e do DNA ao longo do tempo, quanto de forma exógena, principalmente pela exposição à radiação ultravioleta (RUV). Esta última é considerada responsável por até 80%

dos primeiros sinais de envelhecimento, sendo um dos principais fatores ambientais prejudiciais à saúde cutânea (XAVIER et al., 2022; VERRI JR et al., 2012; DE SANTANA et al., 2022).

RL são moléculas ou átomos altamente reativos, que contêm um ou mais elétrons desemparelhados em suas órbitas. Essa instabilidade permite que interajam com diversos compostos biológicos, desempenhando funções oxidantes e redutoras (SILVA, 2017).

O estresse oxidativo ocorre devido ao desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade do organismo de neutralizá-las por meio de sistemas antioxidantes. Fatores como dietas pobres em antioxidantes, uso de medicamentos, poluição e processos inflamatórios podem agravar esse quadro, favorecendo o surgimento de diversas doenças (SILVA, 2017).

No cenário atual, observa-se um aumento significativo nos investimentos em formulações tópicas, acompanhado de uma maior conscientização dos consumidores quanto aos cuidados pessoais, o que leva à exigência por produtos de qualidade superior (MASCARENHAS-MELO et al., 2023). Nesse contexto, é fundamental que uma formulação para aplicação cutânea possua propriedades como proteção, limpeza e, sobretudo, hidratação.

As preparações farmacêuticas semissólidas, especialmente as emulsões, destacam-se por sua versatilidade, permitindo ação local ou penetração percutânea de fármacos, o que amplia sua aplicação clínica e terapêutica (SILVA et al., 2019; DO AMARAL et al., 2023). Cremes e géis-creme, por sua alta concentração de água, proporcionam leveza na aplicação e maior conforto sensorial (SILVA et al., 2019). Além disso, as emulsões são amplamente utilizadas na área farmacêutica por facilitarem a veiculação de ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis, reduzirem a irritabilidade dérmica de certos fármacos e serem bem aceitas pelos pacientes, principalmente pela facilidade de aplicação e remoção em casos de reações adversas (CASTELI et al., 2008; MILAN et al., 2007).

A indústria cosmética busca constantemente inovação, com foco em produtos naturais contendo compostos bioativos. Essa tendência está relacionada à sustentabilidade ambiental e à demanda por produtos menos agressivos quimicamente, capazes de promover uma pele mais saudável (DA SILVA et al., 2022).

Schinus terebinthifolius Raddi, popularmente conhecida como pimenta-rosa, pimenta aroeira ou aroeira-vermelha, é uma planta rica em compostos bioativos. Nativa da América

Central e do Sul, pertencente à família *Anacardiaceae*, está amplamente distribuída na costa brasileira. Essa espécie se destaca pelas propriedades cicatrizantes, antissépticas, antioxidantes, antibacterianas e anti-inflamatórias (REIS et al., 2023; CARVALHO et al., 2013). É amplamente utilizada na medicina tradicional para o tratamento de inflamações uterinas (AMORIM; SANTOS, 2003), cicatrização de feridas e úlceras (BACCHI, 1986; MARTÍNEZ et al., 1996; CARVALHO et al., 2013), além de apresentar propriedades antimicrobianas (SIDDQUI et al., 1995; GUERRA et al., 2000) e antioxidantes (EL-MASSRY et al., 2009; VELÁZQUEZ et al., 2003).

Apesar de extensas pesquisas a respeito da possível aplicação terapêutica do extrato das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, a investigação dos mecanismos de ação antioxidante e dos efeitos terapêuticos tópicos *in vivo* desta planta, adicionado em formas farmacêuticas emulsionadas, nos danos oxidativos cutâneos *in vivo*, ainda não foram investigados. Em adição, mediante a tendência globalizada de uso de extratos vegetais, aliado a um veículo de fácil aplicação, baixo custo e excelente aceitação do público consumidor, torna este trabalho um importante campo de estudo de um novo produto tópico contra danos fotooxidativos.

Assim, o projeto teve como objeto obter um extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira e analisar sua composição química, além da avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do extrato por diferentes métodos *in vitro*, fator fotoproteção solar (FPS) *in vitro* e atividade antimicrobiana. Em adição, foi realizado o desenvolvimento de diferentes formulações tópicas emulsionadas acrescidas de extrato e avaliado características físico-químicas, estabilidade acelerada e estudo de retenção cutânea *in vitro*. Ainda, o projeto avaliou o efeito terapêutico tópico *in vivo* de formulações selecionadas adicionadas de extrato contra o estresse oxidativo induzidos por RUVB.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Pele

No desenvolvimento de produtos tópicos, é fundamental compreender as camadas da pele, uma vez que diferentes ativos podem atingir distintas profundidades cutâneas. A pele, sendo o maior órgão do corpo humano, está diretamente exposta à RUV e a diversos agentes ambientais, fatores que contribuem para o envelhecimento precoce e podem levar ao desenvolvimento de doenças, como o câncer (DINIZ; TAVANO; OSTOLIN, 2024; BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019).

Representando aproximadamente 16% do peso corporal e sendo responsável por funções como proteção externa, regulação térmica, defesa imunológica, controle do fluxo sanguíneo e percepção sensorial, a pele é dividida em três camadas distintas: epiderme, derme e hipoderme (Figura 1) (BRITO FILHO, 2023; OLIVEIRA; AMORESE, 2024). A epiderme, camada mais externa, possui espessura entre 0,4 e 0,6 mm, podendo variar conforme a região do corpo, e tem como principal função proteger o organismo contra agentes externos (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019; OLIVEIRA; AMORESE, 2024).

A epiderme é composta por diferentes tipos celulares, incluindo melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, sendo os queratinócitos os mais abundantes (CIOL; CASTRO, 2019; OLIVEIRA; AMORESE, 2024). É nessa camada que ocorre a renovação celular, durante a qual os queratinócitos são produzidos, amadurecem e, posteriormente, são eliminados (OLIVEIRA; AMORESE, 2024).

A pele, enquanto maior órgão do corpo humano, exerce papel essencial como barreira protetora frente aos agentes do ambiente externo, como poluentes, toxinas e radiação. Essa barreira é composta por queratina, proteína produzida pelos queratinócitos. Estas células se originam a partir de células-tronco e são continuamente renovadas em um ciclo de aproximadamente 28 dias (CIOL; CASTRO, 2019; LIU et al., 2024).

Imediatamente abaixo da epiderme, encontra-se a segunda camada da pele, denominada derme. A derme é composta por tecido conjuntivo e possui espessura que varia entre 0,6 e 3 mm, conforme a região do corpo (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019). Esta camada é subdividida em duas regiões distintas: a papilar e a reticular (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019; OLIVEIRA; AMORESE, 2024). Ambas as regiões contêm fibroblastos, miofibroblastos e células imunes, como macrófagos, linfócitos e mastócitos. Os fibroblastos são as células responsáveis pela síntese da matriz extracelular (MEC), composta por colágeno, proteoglicanos, glicosaminoglicanos e fibras elásticas, que contribuem para a integridade estrutural da derme (GRAHAM et al., 2019).

A camada mais profunda da pele, denominada hipoderme, é composta por tecido conjuntivo frouxo e adiposo. Sua principal função é permitir o deslizamento sobre as estruturas subjacentes, como os órgãos (CIOL; CASTRO, 2019; OLIVEIRA; AMORESE, 2024). A hipoderme é constituída por adipócitos, células responsáveis pela reserva energética, além de atuarem como isolante térmico para o corpo humano (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019).

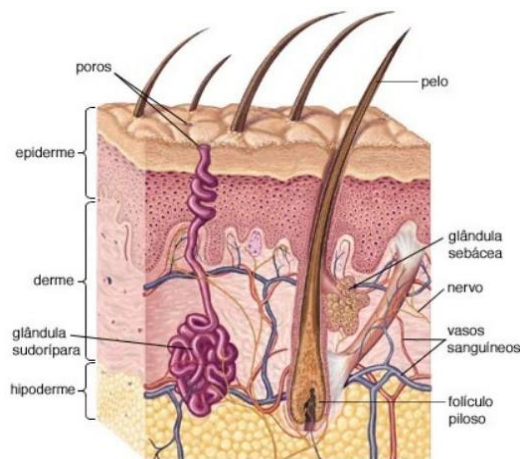


Figura 1. Representação esquemática das camadas da pele. Fonte: VILELA-MIRANDA, A. L. Sistema Tegumentar. Disponível em: <https://afh.bio.br/sistemas/tegumentar/1>.

Devido à exposição constante à RUV, a pele torna-se suscetível ao envelhecimento precoce. Esse processo decorre do estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade do organismo de neutralizá-las (LIU et al., 2024).

Normalmente, os antioxidantes desempenham o papel de neutralizar essas espécies reativas (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019; LIU et al., 2024), combatendo os radicais livres de diversas maneiras, como a eliminação direta das EROs, supressão do processo de oxidação e proteção contra danos ao DNA (IFEANYI, 2018; JESUMANI et al., 2020). Para ser considerado um antioxidante eficaz, a substância deve ser um bom doador de elétrons e, ao final do processo, é desejável que seja regenerada ou substituída. Isso é possível devido às características específicas de sua estrutura química, que apresenta duplas ligações conjugadas e ressonância, permitindo que, mesmo oxidado, o composto se mantenha estável e pouco reativo (LUSHCHAK, 2014; NIMSE; PAL, 2015).

Ademais, o uso de protetores ou bloqueadores solares como estratégia de proteção contra os danos causados pela exposição à RUV não é completamente eficaz na prevenção dos efeitos adversos foto-oxidativos, especialmente no caso de formulações contendo apenas filtros químicos, que não oferecem proteção adequada a longo prazo, considerando efeitos como o envelhecimento precoce e o câncer de pele (EL AANACHI et al., 2020). Nesse contexto, o uso de antioxidantes surge como uma alternativa promissora nas estratégias de fotoproteção (VICENTINI, 2009).

2.2. Radiação Ultravioleta

A pele estabelece uma relação intrínseca com a RUV (FURUKAWA, 2019), uma vez que é o principal órgão exposto a essa forma de radiação solar (SHUBAYR, 2023). Tal exposição pode acarretar diversos danos, incluindo queimaduras solares, envelhecimento precoce e aumento do risco de desenvolvimento de câncer de pele (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019; VICENTINI, 2009).

Para manter a pele mais saudável, é essencial a produção de melanina, um pigmento natural sintetizado pelo organismo humano, responsável pela coloração da pele, cabelos e unhas. A melanina é produzida em resposta à exposição à RUV, estando também indiretamente relacionada à síntese de vitamina D, substância de grande importância para a saúde, por seu papel na promoção da imunidade e no fortalecimento dos ossos (COSTA, et al., 2019). No entanto, o excesso dessa exposição pode ser prejudicial, devido à presença da RUV, a qual é subdividida em três tipos: ultravioleta A (UVA), ultravioleta B (UVB) e ultravioleta C (UVC) (TANG, et al., 2024).

A luz solar é composta por diferentes espectros, que se distinguem pelo comprimento de onda (λ) (FURUKAWA, 2019). Dentre esses espectros, os raios UVA e UVB conseguem penetrar em diferentes camadas da pele, enquanto a radiação UVC é bloqueada pela camada de ozônio, não atingindo a superfície terrestre (TANG, et al., 2024) (Figura 2).

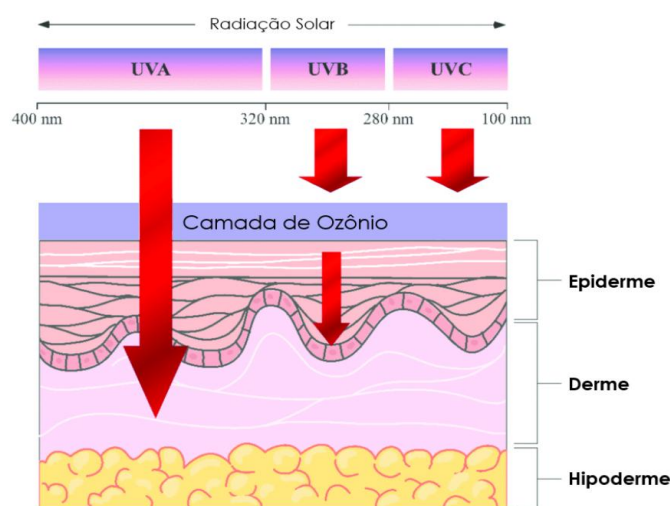


Figura 2. Espectro da radiação ultravioleta. Fonte: Amani, A.L.C., et al., 2021. Disponível em:<
https://www.researchgate.net/publication/355899248_Desvendando_Patologia_fatores_de_risco_no_cancer_de_cabeca_e_pescoco>

É conhecido que a pele é constituída por uma variedade de células, incluindo os melanócitos, os quais são responsáveis pela produção de melanina por meio do processo denominado melanogênese (TANG, et al., 2024). A melanina, por sua vez, exemplifica o

conceito de cromóforos, que são grupos químicos capazes de absorver tanto luz visível quanto ultravioleta e, subsequentemente, conferir cor a uma determinada molécula (TANG, et al., 2024).

Além da melanina, a pele contém outros grupos cromóforos, como DNA, RNA, proteínas e aminoácidos, os quais podem sofrer danos adversos em decorrência da exposição solar excessiva. Esses danos resultam no aparecimento de rugas, manchas escuras, perda de elasticidade e outras características associadas ao envelhecimento prematuro (COSTA, et al., 2019).

O fotoenvelhecimento é um dos principais efeitos prejudiciais resultantes da exposição crônica da pele à RUV (FURUKAWA, 2019). Esse processo é induzido por alterações cutâneas e é responsável por aproximadamente 90% de todas as mudanças visíveis associadas ao envelhecimento (SHARMA; DEEP; ABDULLAH, 2024). De forma aguda, os efeitos da RUV incluem eritemas, manchas, espessamento da epiderme e queimaduras. Já de forma crônica, os principais efeitos são o fotoenvelhecimento e o câncer de pele. Isso ocorre porque diversas estruturas da pele absorvem a radiação incidente, como melanina, DNA e RNA celulares, proteínas e aminoácidos aromáticos (BARNES et al., 2019; BERNARD; GALLO; KRUTMANN, 2019; LUCAS et al., 2019).

Tanto a radiação UVA quanto a UVB são consideradas fatores desencadeantes no processo de fotoenvelhecimento (KOSTYUK et al., 2018). A radiação UVA, por penetrar mais profundamente na derme, é considerada um importante contribuinte nesse processo, podendo interagir com queratinócitos epidérmicos e fibroblastos dérmicos. Representa mais de 95% da radiação UV que atinge a superfície terrestre (KOSTYUK et al., 2018). Já a radiação UVB é capaz de atravessar a epiderme e atingir a derme superior em menor proporção (CAVINATO; JANSEN-DÜRR, 2017). Mesmo em menor quantidade, a UVB causa danos cumulativos ao DNA e aumenta o estresse oxidativo, sendo considerada o componente mais prejudicial da luz solar para a pele (CAVINATO; JANSEN-DÜRR, 2017).

A radiação UVB gera grandes quantidades de RL e EROs, promovendo estresse oxidativo intracelular que danifica biomoléculas importantes como membranas celulares, fibronectina e DNA, levando à diminuição da função celular e ao afinamento da epiderme (PINNELL, 2003; KAMMEYER; LUITEN, 2015). Além disso, a UVB ativa a liberação de diversas células e mediadores inflamatórios, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a

interleucina-1 (IL-1), acelerando o processo de envelhecimento da pele. A exposição prolongada à RUVB pode causar alterações adversas como textura irregular, rugas, perda de elasticidade e hiperpigmentação, impactando negativamente a saúde e aparência cutânea (BUCAI et al., 2020; GROMKOWSKA-KĘPKA et al., 2021).

É inevitável que a pele esteja exposta à RUV. Por essa razão, diversas estratégias têm sido investigadas para mitigar seus efeitos prejudiciais, como o uso de filtros solares específicos, antioxidantes e outros mecanismos de defesa celular (TANG, et al., 2024).

O desenvolvimento de protetores solares tem ganhado destaque por sua função de proteção contra RUV, uma vez que esses produtos são capazes de absorver, refletir ou dispersar essa radiação (HEGDE, et al., 2024). Existe um grande debate entre pesquisadores quanto à escolha dos filtros utilizados, visto que alguns deles podem causar reações adversas, especialmente em pessoas com pele sensível (COSTA, et al., 2019; HEGDE, et al., 2024). Como alternativa, tem-se proposto a incorporação de extratos vegetais ricos em polifenóis, como os flavonoides (COSTA, et al., 2019), capazes tanto de filtrar a RUV quanto de atuar como antioxidantes (EL AANACHI et al., 2020).

Nesse contexto, além da escolha dos filtros e ativos fotoprotetores, torna-se fundamental avaliar quantitativamente a eficácia desses produtos frente aos efeitos biológicos da radiação ultravioleta. A radiação ultravioleta, especialmente a fração UVB, é a principal responsável pelo desenvolvimento do eritema e pelos danos diretos ao DNA celular (D'ORAZIO et al., 2024). O Fator de Proteção Solar (FPS) é o parâmetro utilizado para avaliar a eficácia de fotoprotetores na proteção contra a radiação UVB, sendo definido como a razão entre a dose mínima eritematosa em pele protegida e não protegida (ISO, 2024; SALIH et al., 2024). Dessa forma, valores mais elevados de FPS indicam maior capacidade do produto em reduzir a penetração da radiação UVB na pele, minimizando processos inflamatórios, estresse oxidativo e os efeitos deletérios associados à exposição solar.

2.3. Radicais Livres e Antioxidante

Com o passar do tempo, é natural que a pele comece a apresentar sinais de envelhecimento, como rugas, linhas finas e manchas. Esses sinais são amplamente influenciados por fatores internos e externos, incluindo exposição solar, poluição, tabagismo e hábitos de vida (DE SANTANA, et al., 2022; JOHNER; NETO, 2021).

Uma das principais causas do envelhecimento precoce é o estresse oxidativo, resultante do acúmulo de radicais livres, especificamente EROs, em desequilíbrio com os antioxidantes (MENDES; PEREIRA,; ANGELIS-PEREIRA, 2020).

Os radicais livres representam algumas das moléculas mais tóxicas produzidas no corpo humano, caracterizando-se por sua alta reatividade e instabilidade devido à presença de elétrons desemparelhados (PERUZZI, et al., 2015). Quando em estado desemparelhado, esses radicais atacam as células da epiderme, degradam os fibroblastos da derme, o que pode levar à perda de elasticidade e firmeza da pele. Esse processo pode causar danos ao DNA, proteínas, lipídios e carboidratos e, em casos mais graves, levar ao desenvolvimento de câncer de pele (JOHNER; NETO, 2021).

A principal fonte endógena de radicais livres são as mitocôndrias, onde ocorre a transferência de elétrons ao longo da cadeia transportadora, com o oxigênio atuando como aceitor final para a formação de água. No entanto, uma pequena fração desses elétrons podem escapar e reagir diretamente com o oxigênio, formando o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e outras EROs. Em grandes quantidades, essas espécies reativas podem comprometer funções biológicas essenciais das células (DA SILVA, et al., 2024).

Além disso, há um grupo de compostos semelhantes às EROs que também representam risco à saúde humana: as espécies reativas de nitrogênio (ERNs). Embora não causem danos diretos ao DNA, as ERNs podem interagir com radicais livres e afetar as bases nitrogenadas do DNA. Entre as principais ERNs, destacam-se o óxido nítrico (NO), o óxido nitroso (N_2O_3) e os nitritos (NO_2) (DA SILVA, et al., 2024).

Os antioxidantes exercem um papel fundamental como mecanismos de defesa do organismo contra os danos induzidos pelos radicais livres (Figura 3). Essas substâncias, presentes tanto de forma endógena quanto na dieta, atuam neutralizando as EROs e outros radicais livres, por meio da doação de elétrons, prevenindo, assim, danos celulares e moleculares (MANGELA; MARTINS, 2021).

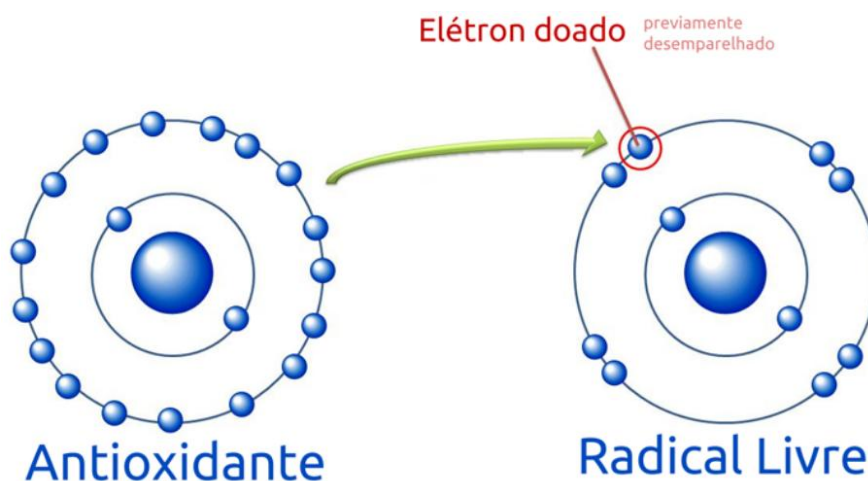


Figura 3. Representação esquemática da neutralização do radical livre pela atividade antioxidante. Fonte: Takashi, 2013. Disponível em: <<https://radicaislivres97.wordpress.com/2013/05/>>

O sistema antioxidante endógeno é composto, principalmente, pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione oxidase (GO), glutathione redutase (GR) e peroxirredoxinas (Prxs). Além disso, inclui antioxidantes não enzimáticos como ferritina, transferrina, melatonina, glutathione (GSH) e ácido úrico, que são moléculas de baixo peso molecular que protegem as células contra o estresse oxidativo por diferentes mecanismos, atuando de forma complementar aos sistemas enzimáticos. Em contraste, o sistema antioxidante exógeno, cuja maior parte provém da dieta, é composto por compostos fenólicos, vitamina C, vitamina E e carotenoides (MENDES; PEREIRA; ANGELIS-PEREIRA, 2020).

Atualmente, há uma variedade de modalidades disponíveis para melhorar a condição do envelhecimento da pele, focando nos mecanismos subjacentes de dano celular e molecular. Entre essas opções, o tratamento com antioxidantes tópicos se destaca como uma abordagem não invasiva que visa diretamente os danos causados pelos radicais livres oxidativos, frequentemente exacerbados pela exposição aos raios solares. Os antioxidantes ajudam a neutralizar os radicais livres gerados pela RUV, protegendo assim contra os efeitos prejudiciais do fotoenvelhecimento (DE SANTANA et al., 2022).

2.4. Emulsão

Emulsões são amplamente utilizadas como forma farmacêutica semissólida e abrangem uma variedade de produtos destinados ao cuidado e à estética da pele, cabelos e maquiagem. Emulsões são sistemas complexos compostos por pelo menos duas fases líquidas imiscíveis entre si, sendo uma geralmente à base de água (fase aquosa) e a outra à base de óleo ou lipídios

(fase oleosa) (DE CASTRO; DA CUNHA RIBEIRO; DE FREITAS, 2019). Esses sistemas são estabilizados por emulsificantes que reduzem a tensão superficial entre as fases, permitindo que pequenas gotículas da fase dispersa permaneçam uniformemente dispersas na fase contínua (ALVES, 2018).

As emulsões podem ser classificadas de acordo com a natureza hidrofílica ou lipofílica de sua fase externa. Em emulsões água em óleo (A/O), a fase interna é aquosa e a externa é oleosa, com as gotículas de água dispersas no óleo. Já em emulsões óleo em água (O/A), a fase dispersa é composta por gotículas de óleo dispersas na fase aquosa. Essas propriedades permitem às emulsões melhorarem a estabilidade, a aplicação e as propriedades sensoriais dos produtos finais, sendo amplamente empregadas em várias indústrias, como cosméticos, alimentos, farmacêutica e tintas (ALVES, 2018; PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015).

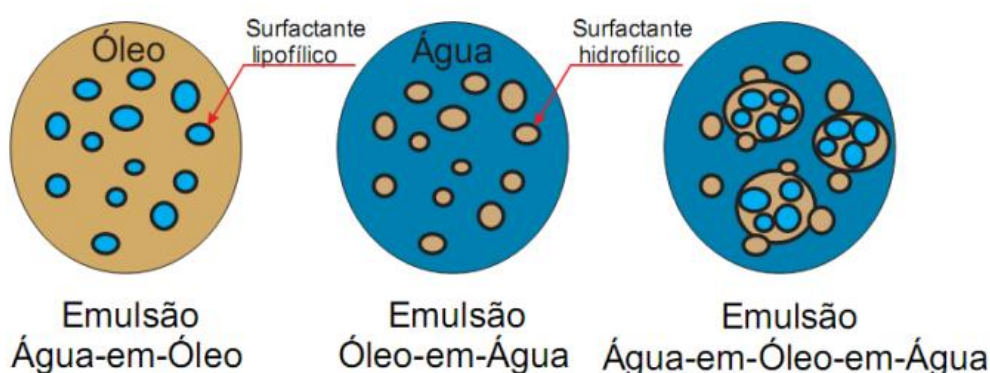


Figura 4. Emulsão óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O). Fonte: ZUCATELLI et al., 2015.

Para uma devida aplicação nas diferentes áreas, é essencial que as formulações passem por um período de estabilidade físico-química para garantir a qualidade, segurança e eficácia do produto. A estabilidade pode ser influenciada por fatores externos, como calor, umidade, luz e pH, bem como por fatores internos, como excipientes e materiais de embalagem. Além disso, é possível obter características detalhadas do produto sob diferentes condições de temperatura (DO ROSÁRIO et al., 2021).

Durante o teste de estabilidade, é possível verificar se a formulação permanece estável ou não. Alguns processos de instabilidade podem ocorrer, como cremação, floculação, separação de fases e coalescência, intensificando a desestabilização das emulsões (Figura 5) (DE SOUZA NUNES; BORGES; DE FARIA, 2019).

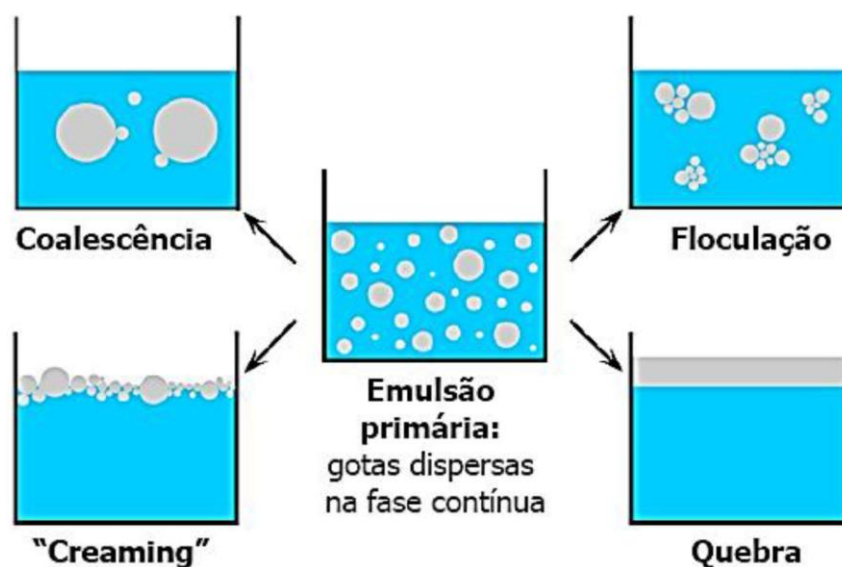


Figura 5. Instabilidade das emulsões. Fonte: PEREIRA, Luciano José Barreto; GARCIA-ROJAS, Edwin Elard. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. *Ciência Rural*, v. 45, n. 01, p. 155-162, 2015.

A definição dos parâmetros a serem analisados nos estudos de estabilidade pode variar conforme o critério do formulador (MENDONÇA, 2009). No entanto, é prática comum incluir a avaliação de características organolépticas (como aparência, coloração, odor e, quando pertinente, sabor), propriedades físico-químicas (como pH, viscosidade e, eventualmente, o acompanhamento de determinados componentes da formulação) e aspectos microbiológicos (BRASIL, 2019).

A realização desses estudos é essencial, uma vez que permite verificar por quanto tempo o produto preserva suas características físico-químicas dentro dos limites estabelecidos (BRASIL, 2019). Assim, durante a fase de desenvolvimento, produtos semissólidos, como emulsões, devem ser submetidos a testes de estabilidade, com o objetivo de determinar seu prazo de validade, o tempo de uso após a abertura e as condições ideais de armazenamento (MENDONÇA, 2009).

2.5. *Schinus terebinthifolius* Raddi

A pimenta aroeira ou aroeira-vermelha, conhecida cientificamente como *Schinus terebinthifolius* Raddi (Figura 6), é uma planta nativa da América do Sul, especialmente encontrada em regiões como Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, e pertence à família botânica Anacardiaceae (DA ROCHA et al., 2019; ROSAS; CORREA; DAS GRAÇAS HENRIQUES, 2019).

A pimenta aroeira contém uma variedade de compostos bioativos que contribuem significativamente para seu potencial de exploração e suas múltiplas aplicações (DA ROCHA et al., 2019). Os frutos desta planta são amplamente utilizados como condimentos na culinária, enquanto suas folhas e cascas têm sido tradicionalmente empregadas na medicina popular. A aroeira exibe uma notável versatilidade, sendo valorizada tanto por suas qualidades gastronômicas quanto por potenciais aplicações medicinais, destacando-se como um recurso importante em contextos culinários e terapêuticos (DA ROCHA et al., 2020).

No geral, as pimenteiras têm despertado interesse na comunidade científica devido às suas propriedades antioxidantes, compostos que protegem as células contra os danos causados por radicais livres, moléculas instáveis produzidas pelo corpo durante processos metabólicos e por fatores externos, como poluição e radiação UV (COSTA et al., 2019).

A casca, as sementes e as folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi recebem grande destaque na medicina devido à sua composição rica em antioxidantes e compostos fenólicos, desempenhando um papel vital no combate ao estresse oxidativo (CARNEIRO, 2022). A composição fitoquímica da aroeira-vermelha varia conforme diversos fatores, com destaque para a presença de metabólitos secundários (DA ROCHA et al., 2020).



Figura 6. *Schinus terebinthifolius* Raddi. Fonte: Unirio. Disponível em: <https://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/schinus-terebinthifolia-raddi>

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários encontrados em plantas, incluindo a *Schinus terebinthifolius* Raddi, caracterizados por conterem um ou mais anéis aromáticos com grupos hidroxila ligados (CARNEIRO, 2022). De acordo com CARNEIRO (2022), a aroeira contém compostos fenólicos como galato de metila, ácido elágico, flavonoides, ácido gálico e catequina.

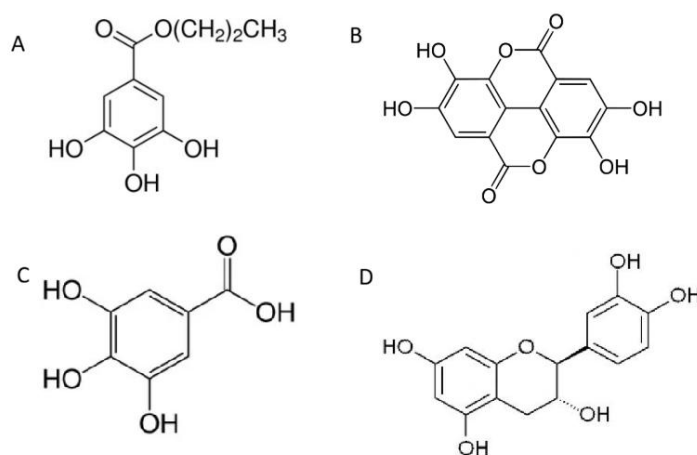


Figura 7. Compostos fenólicos da pimenta rosa. A: Galato de Metila; B: Ácido Elágico; C: Ácido Gálico; D: Catequina. Fonte: CARNEIRO, Tuânia Soares., 2022

Esses compostos desempenham papéis importantes na defesa da planta e na interação com o meio ambiente. Flavonoides como a quercetina podem ser encontrados em altas concentrações e são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (DE OLIVEIRA RIBAS et al., 2006).

Mediante os efeitos nocivos que a RUV proporciona na pele, os extratos que apresentam flavonoides em sua composição, em virtude das propriedades antioxidantes e fotoprotetoras são utilizados, visando uma proteção completa ou um possível incremento nos valores de fator de proteção solar (FPS) de uma formulação (MUKHERJEE et al., 2011; DONGLIKAR et al., 2016).

A pele humana abriga um ecossistema microbiano complexo, composto por bactérias, fungos, vírus e outros microrganismos que coexistem com o hospedeiro e participam da manutenção da homeostase cutânea, proteção contra agentes externos e regulação da resposta imune local. A composição e diversidade dessas comunidades variam de acordo com fatores

intrínsecos (tipo de pele, produção sebácea) e extrínsecos (ambiente, uso de em formulações tópicas), influenciando diretamente a saúde e a fisiologia da pele (LEE, et al., 2025).

O equilíbrio da microbiota cutânea é fundamental para a integridade da barreira biológica, visto que alterações nestas comunidades, processo chamado disbiose, estão associadas a diversas condições dermatológicas, como acne, dermatite atópica e inflamações cutâneas. Tais alterações envolvem deslocamentos na abundância de microrganismos comensais e aumento de patógenos oportunistas, o que pode comprometer a função imunológica da superfície cutânea (XAVIER SOUZA, et al., 2025).

De acordo com DE OLIVEIRA RIBAS et al. (2006), foi realizada uma análise morfo-histológica da *Schinus terebinthifolius* Raddi, que revelou a presença de taninos nas folhas e cascas, os quais contribuem para a atividade adstringente da planta e são eficazes na precipitação de proteínas. Essa característica justifica o uso tradicional da aroeira-pimenteira em tratamentos tópicos para feridas e inflamações.

Além disso, foram identificados ácidos fenólicos, como o ácido gálico e o ácido elágico (Figura 7), que são potentes antioxidantes e desempenham um papel crucial na proteção das células contra o estresse oxidativo (DE OLIVEIRA RIBAS et al., 2006).

Ademais, *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) integra a lista de 12 fitoterápicos contemplados pela Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), composta por espécies vegetais padronizadas que apresentam evidências de segurança e eficácia (BRASIL, 2024). Seu uso ocorre por meio de formas farmacêuticas como gel e óvulo vaginal, com ação cicatrizante, anti-inflamatória e antisséptica tópica, sendo indicada para o tratamento de afecções ginecológicas (SILVA et al., 2022).

Apesar de estudos utilizando modelos clássicos de inflamação terem sido utilizados para avaliarem o efeito anti-inflamatório de *Schinus terebinthifolius* (ROSAS et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2023), não há relatos na literatura de estudos realizados com extrato etanólico das folhas desta planta, adicionados em forma farmacêutica emulsificada, contra danos oxidativos gerados pela RUVB. Portanto, o estudo da aplicabilidade da pimenta aroeira na fotoquimioprevenção é de grande relevância clínica e carece ainda de investigação científica.

3. Objetivo

3.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e os mecanismos de ação antioxidante *in vitro* e atividade antimicrobiana, bem como desenvolver formulações semissólidas tipo creme e gel-creme acrescidas do extrato etanólico com vistas à utilização como fotoquimiopreventivo.

3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar quimicamente o extrato etanólico das folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi (EA);
- Identificar os metabólitos secundários presentes no extrato por LC-MS/MS;
- Avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro*;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato por diferentes métodos *in vitro* como: sequestro de radicais livres pelo ensaio DPPH, capacidade redutora de ferro pelo método FRAP, inibição da quimioluminescência gerada pelos sistemas H_2O_2 /luminol/HRP e xantina/xantina oxidase, e inibição da peroxidação lipídica utilizando a gema de ovo como modelo biológico;
- Avaliar a sensibilidade dos microrganismos frente ao extrato por disco-difusão em ágar (antibiograma) e determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), das seguintes cepas de referência: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Candida albicans* ATCC 10231;
- Desenvolver diferentes formulações semissólidas acrescidas de extrato;
- Avaliar as características farmacotécnicas e manutenção da atividade antioxidante das diferentes formulações acrescidas de extrato para seleção das emulsões com potencial de uso;
- Realizar estudos de estabilidade acelerada das emulsões selecionadas (características físico-químicas e atividade sequestradora do radical DPPH);
- Realizar estudo de retenção cutânea *in vitro* de compostos com atividade antioxidante presentes no extrato a partir das formulações;

- Avaliar a atividade antioxidante *in vivo* das emulsões contra danos cutâneos oxidativos induzidos por RUVB em camundongos sem pelo.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

Etanol P.A.; Metanol (grau HPLC); Água purificada; Reagente de Folin–Ciocalteu; Ácido gálico; Quercetina; Catequina; Carbonato de sódio (Na_2CO_3); Cloreto de alumínio (AlCl_3); 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH); 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS); Persulfato de potássio; Trolox®; 2,4,6-tripiridil-S-triazina (TPTZ); Cloreto férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); Ácido acético; Acetato de sódio; Luminol; Peróxido de hidrogênio (H_2O_2); Horseradish peroxidase (HRP); Xantina; Xantina oxidase; Ácido tricloroacético (TCA); EDTA; 5,5'-ditiobis(ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB); TRIS (hidroximetil aminometano); Fosfato monossódico; Fosfato dissódico; Cloreto de sódio (NaCl); Dimetilsulfóxido (DMSO); Hidróxido de sódio (NaOH); Ácido clorídrico (HCl); Caldo Mueller–Hinton; Ágar Mueller–Hinton; Caldo Sabouraud Dextrose; Ágar Sabouraud Dextrose; Tampão fosfato de potássio; Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB); Orto-dianisidina; Cloreto de potássio (KCl); Tampão acetato; Glutathione reduzida (GSH).

4.2. Métodos

4.2.1. Preparo do extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi

As folhas de *Schinus terebinthifolius* foram coletadas nas coordenadas geográficas latitude 23°32'59" N e longitude 51°19'74" W. O extrato foi preparado no Laboratório de Fitoquímica e Biomoléculas, pertencente ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, de acordo com o protocolo estabelecido por CAVALHER-MACHADO et al. (2008), com as devidas adaptações.

Inicialmente, as folhas foram desidratadas em estufa a 40 °C durante 24 horas e, em seguida, trituradas em um moinho de facas. O material vegetal triturado foi submetido a um processo de maceração exaustiva e estática, utilizando-se um solvente na proporção de 1:5 m/v (matéria vegetal/etanol P.A.), à temperatura ambiente, por um período de 12 dias, com troca do solvente no sexto dia. Após o término da extração, a solução foi filtrada e o volume final reduzido à metade por meio de um evaporador rotatório (SisGen – Cadastro nº AA52989).

O rendimento foi determinado com base na massa total de planta fresca utilizada e na massa seca da planta, conforme descrito na Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = m \text{ total planta fresca} / \text{massa planta} \quad \text{Equação 1}$$

4.2.2. Caracterização química do extrato das folhas de *S. terebinthifolius*

4.2.2.1. Determinação do teor de polifenóis e flavonoides totais por método colorimétrico

A quantificação do teor de polifenóis totais no extrato de *Schinus terebinthifolius* (EA) foi realizada por meio do método colorimétrico, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e ácido gálico como padrão, conforme descrito por KUMAZAWA et al. (2004) e GEORGETTI et al. (2006). Para a análise, o EA foi diluído na proporção de 1:500 em água purificada, sendo que uma alíquota de 0,5 mL foi misturada com 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Para evitar interferências cromáticas da amostra, foi utilizado um controle de cor, composto por 0,5 mL da amostra, 0,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após incubação por 1 hora à temperatura ambiente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 760 nm. As amostras foram analisadas em triplicata, e o conteúdo total de polifenóis foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg GAE/g), utilizando a curva padrão preparada com ácido gálico (GEORGETTI et al., 2006).

A curva padrão para a determinação dos polifenóis totais foi construída utilizando ácido gálico como padrão, conforme o método de Folin-Ciocalteu. Soluções de ácido gálico em diferentes concentrações (4-24 µg/mL) foram preparadas por diluição em solvente apropriado e submetidas ao mesmo procedimento analítico empregado para as amostras. Após o desenvolvimento da reação, a absorbância foi determinada em espectrofotômetro, e a curva foi obtida a partir da correlação entre a absorbância e a concentração de ácido gálico. A linearidade do método foi avaliada por regressão linear, apresentando coeficiente de correlação (R^2) de 0,9998. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg GAE/g) (SINGLETON; ROSSI, 1965; GEORGETTI et al., 2006).

Para a determinação do teor de flavonoides totais no extrato de *S. terebinthifolius*, foi empregado o método descrito por GEORGETTI et al. (2006). Nesta análise, a amostra foi preparada a partir de uma diluição do EA na proporção de 1:25 em etanol a 80%. Alíquotas de 0,5 mL da amostra foram misturadas com 0,5 mL de $AlCl_3$ a 2%, preparado em etanol a 80%.

O branco consistiu em 0,5 mL de etanol a 100% e 0,5 mL de AlCl_3 a 2%. Para eliminar interferências cromáticas da amostra, foi realizado um controle de cor utilizando 0,5 mL do extrato etanólico e 0,5 mL de etanol a 80%. Após incubação por 1 hora à temperatura ambiente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 420 nm. O ensaio foi conduzido em triplicata, e o conteúdo de flavonoides foi expresso em mg de equivalentes de quercetina por grama de amostra (mg QCE/g), utilizando a curva padrão preparada com quercetina (8-28 $\mu\text{g/mL}$).

A curva foi construída pela correlação entre a absorbância e a concentração de quercetina, apresentando coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,9932. (CHANG et al., 2002; GEORGETTI et al., 2006).

4.2.2.2. Análises por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa

As análises cromatográficas foram realizadas em UltiMate 3000 Sistema UHPLC (Thermo Scientific, Estados Unidos da América) no Instituto de Química da UNESP na cidade de Araraquara-SP, com uma coluna UHPLC Kinetex de fase reversa C_{18} (1,7 mm x 50 x 2,1 mm). O espectrômetro de massa Q-TOF (Bruker Daltonics, Alemanha) equipado com fonte ESI foi utilizado como detector. A temperatura da fonte foi de 200°C, utilizando gás nitrogênio como nebulizador na pressão de 2 bar e tensão capilar de 4.200 V.

Pesou-se 1 mg da amostra, sendo esta massa solubilizada em 1 mL de acetonitrila: água (1:1 v/v). Esta mistura foi centrifugada, sendo o sobrenadante injetado no cromatógrafo de fase líquida. Anteriormente a cada injeção, as amostras foram introduzidas em cartucho de SPE (*Solid Phase Extraction*) de fase estacionária C_{18} , sendo adicionalmente filtradas em membranas de 0,22 microns.

A fase móvel empregada foi água (A) e acetonitrila (B), ambas acidificadas com 0,1% de ácido fórmico (v/v). Como método de eluição, um gradiente de 15 a 100% de B em 35 min foi aplicado, na vazão de 1 mL min^{-1} . O volume de injeção foi 4 μL . As análises no espectrômetro de massa foram realizadas no modo de ionização positivo e negativo, na faixa de 50–1200 Daltons, aplicando o modo auto ($n = 3$). Os resultados foram adquiridos na extensão (d) e convertidos para mzML no software Data Analysis. Posteriormente, os dados cromatográficos foram processados no MZmine (versão 2.53).

4.2.2.3. Avaliação da Atividade Fotoprotetora *in vitro*

O ensaio foi realizado utilizando o extrato seco, obtido após o processo de rotaevaporação seguido de liofilização. Para a determinação do comprimento de onda máximo (λ máx.) e da absorbância máxima (A máx.), os extratos secos foram diluídos em álcool etílico absoluto P.A., alcançando as concentrações de 40, 70, 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ (m/V). Em seguida, foi realizada uma varredura espectrofotométrica entre os comprimentos de onda de 200 a 400 nm, utilizando uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm, com o objetivo de verificar a absorção nas regiões ultravioleta A e B (UVA e UVB). O álcool etílico absoluto P.A. foi utilizado como branco (CASONI, et al., 2024).

4.2.2.4. Avaliação da fotoestabilidade e determinação *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS)

A fotoestabilidade do extrato foi avaliada por medida espectrofotométrica das soluções dos extratos irradiados e não irradiados na região do UV (280 a 400nm) (SHAATH, 2010). Uma alíquota de 1g de extrato seco foi aplicado de forma homogênea em uma placa de petri com área 9,62 cm^2 para posterior exposição à RUVB. As amostras foram submetidas a uma dose de radiação de 4,14 J/cm^2 . A fonte de luz utilizada foi uma lâmpada fluorescente UVB modelo PHILIPS TL/12 40W RS (Medical Holand). Esta fonte de luz emite radiação na faixa de comprimento de onda (λ) de 270 a 400 nm, com pico máximo de emissão em torno de 313 nm (CAMPANINI ARTIGO). Após, os extratos irradiado e não irradiado foram diluídos em etanol PA na concentração de 0,2mg/mL. Os perfis de absorção das soluções de extrato irradiados e não irradiados foram comparados.

Para a determinação *in vitro* do FPS, a amostra foi preparada como descrito acima, e foi utilizado o método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur et al., 1986. As soluções do extrato foram lidas em espectrofotômetro de 290 a 320nm a cada 5 nm.

O FPS foi calculado conforme a Equação 2:

$$FPS = FC \times 290 \sum 320 EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \quad \text{Equação 2.}$$

O fator de correção (FC) é igual a 10; $EE(\lambda)$ representa o efeito eritematogênico da radiação solar em cada comprimento de onda λ ; $I(\lambda)$ refere-se à intensidade da luz solar no comprimento de onda λ ; $Abs(\lambda)$ corresponde à leitura espectrofotométrica da absorbância da

amostra em cada comprimento de onda. Nas análises, o álcool etílico P.A foi utilizado como branco, enquanto o metoxicinamato de octila foi empregado como controle positivo.

Tabela 1: Estimativa empregada no cálculo do fator de proteção solar por espectrofotometria (Mansur *et al.*, 1986) com um fator de correção igual a dez.

λ (nm)	EE (λ) x I (λ) valores relativos
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda (λ); I (λ) = intensidade de luz solar no comprimento de onda (λ).

Fonte: Próprio Autor, 2026.

A soma das absorbâncias obtidas de 290 a 320nm foram estabelecidas de acordo com a Tabela 1.

4.2.3. Avaliação da capacidade antioxidante do EA por diferentes métodos *in vitro*

4.2.3.1. Determinação da atividade doadora de átomos de hidrogênio do extrato ao radical DPPH

A atividade antioxidante do EA foi investigada com base em sua capacidade de neutralizar radicais livres, utilizando o método de doação de átomos de hidrogênio ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Esse método, amplamente reconhecido na literatura científica, permite avaliar a eficácia antioxidante do extrato (GEORGETTI *et al.*, 2006).

As amostras foram diluídas em etanol P.A., resultando em concentrações finais no meio reacional variando de 0,025 $\mu\text{L/mL}$ a 1,6 $\mu\text{L/mL}$ de EA. Cada alíquota foi então combinada com um meio reacional composto por 1 mL de tampão acetato (0,1 M, pH 5,5), 1 mL de etanol

P.A. e 0,5 mL de solução etanólica de DPPH a 250 µM. A interação entre o extrato e o DPPH foi monitorada por espectrofotometria, medindo-se a variação da absorbância após período 15 minutos de incubação à temperatura ambiente (GEORGETTI et al., 2006).

A análise foi rigorosamente controlada por diversos parâmetros, incluindo um branco e um controle de cor, para assegurar a precisão dos resultados. O branco continha apenas tampão acetato e etanol, enquanto o controle de cor incluía tampão acetato, etanol e a amostra, sem DPPH. Adicionalmente, foi preparado um controle positivo, contendo a solução de DPPH sem a presença da amostra, indicando o nível máximo de radicais livres presentes. Após a incubação, as leituras de absorbância foram realizadas no comprimento de onda de 517 nm, permitindo quantificar a redução dos radicais livres e, consequentemente, a eficácia antioxidante do extrato.

Esse método fornece uma avaliação robusta da capacidade antioxidante, sendo fundamental para a caracterização de substâncias com potencial bioativo (GEORGETTI et al., 2006).

O ensaio foi realizado em triplicata. Para o cálculo da capacidade doadora de átomos de hidrogênio (%) das amostras, utilizou-se a Equação 3:

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = 100 - \left(\frac{Aa - Acc}{Ac \pm} \times 100 \right) \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

Aa: absorbância da amostra

Acc: absorbância do controle de cor

Ac: absorbância do controle positivo.

4.2.3.2. Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS

A metodologia *in vitro* baseada no radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) é amplamente utilizada para avaliar a capacidade antioxidante de diferentes substâncias. Esse método destaca-se pela sua eficácia em medir a habilidade de compostos antioxidantes em neutralizar radicais livres, sendo aplicável tanto a extratos naturais quanto a alimentos e compostos sintéticos. A técnica fundamenta-se na capacidade dos antioxidantes de reduzir o radical ABTS^{•+} à sua forma estável e não reativa, permitindo a quantificação precisa da atividade antioxidante sob condições controladas de laboratório

(CASTRO; MOTA; CAZEDEY, 2022; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2005). Referências como a de Castro, Mota e Cazedey (2022) atestam a robustez desse método, amplamente reconhecido na comunidade científica.

O protocolo utilizado na análise foi adaptado a partir da metodologia descrita por Sánchez-González et al. (2005). A solução de ABTS foi preparada em meio aquoso, com o radical $ABTS^{\bullet+}$ sendo gerado por meio da reação entre uma solução de ABTS a 7 mM e persulfato de potássio a 2,45 mM. Após a reação, a solução foi mantida em frasco âmbar, sob refrigeração, por pelo menos 16 horas, garantindo a estabilidade do radical para as medições subsequentes. Antes do uso, a solução de ABTS foi diluída em etanol P.A., devido a solubilidade do extrato ser melhor, até que a absorbância a 730 nm atingisse o valor de 0,7, tornando-a adequada para a análise da atividade antioxidante.

Na etapa de construção da curva de dose-resposta, foram adicionadas alíquotas de 50 μ L do EA, previamente diluído em etanol P.A., a 1,0 mL da solução de ABTS diluída. As concentrações finais do extrato no meio reacional variaram de 1,0 a 0,0125 μ L/mL. Após 6 minutos de incubação à temperatura ambiente, a mudança na absorbância foi medida a 730 nm, utilizando um espectrofotômetro. O etanol P.A. foi utilizado como branco para garantir a precisão das medições. Além disso, foi preparado um controle positivo sem o extrato, para estabelecer um ponto de referência, enquanto um controle de cor foi realizado utilizando uma solução de persulfato de potássio diluída em tampão fosfato 20 mM (pH 7,4) e 50 μ L das amostras. Todas as medições foram realizadas em triplicata, assegurando a reprodutibilidade e a confiabilidade dos resultados obtidos.

Para calcular a capacidade de transferência de elétrons (%) das amostras, utilizou-se a Equação 4:

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = 100 - \left(\frac{Aa - Acc}{Ac \pm} \times 100 \right) \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

Aa: absorbância da amostra

Acc: absorbância do controle de cor

Ac: absorbância do controle positivo.

4.2.3.3. Determinação da atividade antioxidante pelo poder de redução do ferro – FRAP

O princípio fundamental do ensaio FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) baseia-se na capacidade dos antioxidantes presentes na amostra de reduzir o complexo férrico-tripiridil-triazina (Fe^{3+} -TPTZ) à sua forma ferrosa (Fe^{2+} -TPTZ) em ambiente ácido. Esse processo resulta em uma mudança na cor da solução, que passa de azul para azul claro, sendo essa alteração quantificada espectrofotometricamente em um comprimento de onda específico (CASTRO; MOTA; CAZEDEY, 2022; Martinez et al., 2020). A capacidade redutora do extrato foi avaliada utilizando-se o padrão Trolox, um análogo hidrossolúvel da vitamina E, como referência (Martinez et al., 2020).

O reagente FRAP foi preparado combinando-se 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM em ácido clorídrico (HCl) 40 mM, 2,5 mL de cloreto férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 20 mM e 25 mL de tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), sendo a mistura incubada a 37 °C por 30 minutos antes do uso. Para a análise, alíquotas de 10 µL do padrão Trolox, nas concentrações de 4,00; 8,00; 10,00; 12,50; 16,00 e 20,00 µM ou do EA na diluição de 5 µL/mL foram adicionadas a 90 µL de água deionizada e 900 µL do reagente FRAP. As amostras foram incubadas a 37 °C por 30 minutos, e a absorbância foi medida a 595 nm. O branco foi constituído por 100 µL de água ou 90,0 µL de água deionizada e 10,0 µL de etanol com 900 µL do reagente FRAP. Os ensaios foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em µMol/LTrolox/µL/mL de amostra.

4.2.3.4. Determinação da atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema H_2O_2 /luminol/HRP (*horseradish peroxidase*)

O princípio básico envolve a reação entre HRP e H_2O_2 para gerar radicais livres, que são altamente reativas (Equação 5):

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = 100 - \left(\frac{A_a}{A_{c\pm}} \times 100 \right) \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

Aa: absorbância da amostra

Ac: absorbância do controle positivo.

Neste processo, a HRP catalisa a decomposição do H_2O_2 , formando espécies reativas intermediárias. Quando um substrato luminescente, como o luminol, é adicionado ao sistema, ele é oxidado pelas espécies reativas geradas, resultando na emissão de luz. A intensidade da

quimioluminescência emitida é proporcional à quantidade de radicais livres presentes (FONSECA, 2007).

A mistura reacional foi preparada imediatamente antes da análise contendo: 380 µL de tampão fosfato (KH₂PO₄ 0.1 M; NaOH 0,1 M pH 7,4) e 10 µL de luminol (concentração no meio reacional 1,13.10⁻⁴). Para o preparo da curva dose-resposta foi adicionado ao meio reacional 10 µL de diluições de extrato, de forma que a concentrações finais em cada tubo foram de 0,000175 µL/mL a 0,006 µL/mL. No momento da leitura adicionou-se H₂O₂ (concentração final no meio reacional de 5.10⁻⁵ M) e solução HRP (concentração final no meio reacional 0,2 UI/mL) para iniciar a reação. A leitura foi realizada em luminômetro a 25°C. Foi preparado um controle contendo 10 µL do diluente da amostra, no qual a quimiluminêscia observada equivale a 100%. (Fonseca 2007). A atividade antioxidante por quimiluminescência foi calculada utilizando a equação 6.

$$\% \text{ atividade antioxidante} = \left[1 - \left(\frac{\text{quimiluminescência da amostra}}{\text{quimiluminescência do controle}} \right) \right] \times 100\% \quad \text{Equação 6}$$

4.2.3.5. Determinação da atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema Xantina/Xantina oxidase

O método antioxidante baseado em quimioluminescência utilizando xantina e xantina oxidase é uma técnica empregada para avaliar a capacidade antioxidante de substâncias. Esse método baseia-se na produção de radicais livres por meio da reação enzimática da xantina oxidase com a xantina e na subsequente detecção da quimioluminescência emitida (FONSECA, 2007).

Primeiramente, a xantina, um substrato, é oxidada pela enzima xantina oxidase, gerando superóxido (O₂•⁻) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como subprodutos. Estas espécies são altamente reativas e podem causar danos celulares (Equação 7):

Xantina Oxidase



Para detectar a quimioluminescência, um agente luminescente, como o luminol, é adicionado à reação. Esse composto emite luz quando oxidado na presença de radicais livres. A intensidade da luz emitida é diretamente proporcional à quantidade de radicais livres gerados e pode ser medida utilizando um luminômetro (FONSECA, 2007).

As amostras de EA foram diluídas com etanol PA de forma que as concentrações finais em cada tubo foram de 0,0005 $\mu\text{L/mL}$ a 0,0240 $\mu\text{L/mL}$ no meio reacional. O controle positivo foi preparado com 400 μL de tampão glicina 0,1 M (pH 9,4), 150 μL de xantina (6 mM em Tampão glicina), 10 μL de etanol absoluto P.A., 10 μL de luminol (0,6 M) e 100 μL da solução de xantina oxidase (20UI/mL) resfriada em gelo. O meio reacional contendo as amostras foi preparado de forma semelhante ao controle positivo, substituindo-se os 10 μL de etanol pelas diferentes concentrações de amostra, antes da adição do luminol. A leitura foi realizada no luminômetro a 25 °C (FONSECA, 2007). Após a leitura dos resultados, a porcentagem de atividade sequestradora do ânion superóxido foi determinada utilizando a equação 6.

4.2.3.6. Determinação da atividade antioxidante por inibição da peroxidação lipídica utilizando a gema do ovo.

A gema do ovo é rica em lipídios, especialmente fosfolipídios e colesterol, que são suscetíveis à peroxidação lipídica quando expostos a radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ENDERLE; DENARDIN, 2017). Dessa forma, a determinação do conteúdo de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada para quantificar o nível de peroxidação lipídica, sendo a gema de ovo homogeneizada usada como substrato rico em lipídios (Guimarães et al., 2010). A capacidade do extrato para inibir a lipoperoxidação (LPO) foi determinada, conforme protocolo descrito por Nascimento et al., (2016), com algumas modificações.

Uma emulsão (20%) com gema de ovo em tampão fosfato 20 mM, pH 7,4, foi preparada após banho ultrassom e agitação mecânica por 10 minutos cada. Em seguida, 1 mL dessa emulsão foi misturada com 100 μL de extrato em diferentes concentrações, correspondendo à concentração final no ensaio de 10 a 0,3 $\mu\text{L/mL}$, em etanol por 3 minutos em vórtex e, posteriormente por 10 minutos em ultrassom. Foi realizado um controle positivo contendo 1 mL da emulsão lipídica e 100 μL de água purificada e, também, um branco contendo 1 mL da emulsão e 100 μL de etanol.

A LPO foi induzida adicionando-se ao meio reacional 100 μL de solução de sulfato de ferro (0,07 M). O meio reacional foi incubado por 30 minutos a 37°C. Após o período de incubação, 500 μL das amostras foram centrifugadas com 1000 μL de ácido tricloroacético (15%) por 25 minutos, a 3600 rpm a temperatura ambiente, e 500 μL do sobrenadante foram misturados com 500 μL de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,67%. A mistura foi aquecida a 95°C

durante 30 minutos. Após o resfriamento, as absorbâncias foram determinadas a 532 nm em espectrofotômetro. A porcentagem de inibição da peroxidação lipídica foi determinada comparando os resultados dos compostos testes com controle não tratado com os extratos. Os testes foram realizados em triplicata.

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = 100 - \left(\frac{Aa - Acc}{Ac \pm} \times 100 \right) \quad \text{Equação 8}$$

4.2.3.7. Avaliação da atividade antibacteriana

4.2.3.7.1. Cepas Microbianas

O efeito antimicrobiano do EA foi investigado frente a quatro espécies de microrganismos. Para cada espécie, foram testadas uma cepa de referência ATCC® (*American Type Culture Collection*) aos antimicrobianos convencionais da coleção microbiológica do Laboratório de Bacteriologia Clínica e Aplicada da Universidade Estadual de Londrina (Departamento de Microbiologia/Centro de Ciências Biológicas). As cepas de referência foram as seguintes: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Candida albicans* ATCC 10231. As cepas bacterianas estão estocadas a 4°C em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) suplementado com 20% (v/v) de glicerol. Já a levedura está esticada em *Sabouraud Dextrose*. Para realização dos ensaios, os microrganismos foram reativados; as amostras bacterianas foram cultivadas por 24 h a 37°C em BHI caldo, e as leveduras foram cultivadas a 37°C por 48 h em placas de *petri* com meio *Sabouraud*.

4.2.3.7.2. Atividade Antibacteriana do Extrato: Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (BCM)

A determinação de CIM do EA frente as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e o fungo *Candida albicans* foram realizadas por micro diluição em caldo, de acordo com CLSI (2018). Foram testadas pelo menos oito concentrações de extrato (0,19 %; 0,39 %; 0,78 %; 1,56 %; 3,13 %; 6,25 %), com fator de diluição 2, que foram preparadas em *Müeller-Hinton* (MH) caldo. Colônias bacterianas crescidas em meio MH ágar foram ressuspensas em salina (NaCl 0,85% m/v) até atingir turbidez equivalente ao padrão 0.5 de McFarland, que corresponde a aproximadamente 1.5×10^8 Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). Em seguida, essa suspensão foi diluída 1:100 em MH caldo. Um volume de 0,05 mL da bactéria 1:100 foi inoculado nos poços de microplaca em poliestireno já contendo 0,05

mL do extrato nas concentrações definidas para o teste. Desta forma, o inóculo bacteriano inicial do ensaio foi de 5×10^5 UFC/mL. Após 24h de incubação a 37°C da microplaca, a CIM foi determinada como a menor concentração de extrato que inibiu o crescimento bacteriano detectado, visualmente detectado pela ausência de turbidez. Caldo MH sozinho e contendo o extrato foram testados como controles de esterilidade. As bactérias inoculadas em caldo MH sem extrato foram testadas como controle de viabilidade celular. O ensaio foi realizado em triplicatas e em repetições.

Para determinação de CBM do extrato o conteúdo dos poços contendo tratamento com CIM e concentrações superiores foi subcultivado em MH ágar por 24h. A CBM foi definida com a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento de $\geq 99,9\%$ das bactérias, conforme o National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999).

Após 24 h de tratamento, o conteúdo dos poços foi subcultivado em ágar nutriente, visto que o EA é verde intenso e interfere na análise de turbidez que é rotineira a metodologia de MIC.

4.2.3.7.3. Atividade Antifúngica dos Extratos: Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A determinação de CIM do extrato contra levedura foi realizada por micro diluição em caldo, de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2017). De forma similar ao ensaio bacteriológico, foram testadas pelo menos oito concentrações de extrato, com fator de diluição 2, que foi preparado em caldo RPMI-MOPS [*Roswell Park Memorial Institute* – Solução tampão MOPS (Ácido 3-morfolinopropano 1-sulfônico)]. Colônias fúngicas crescidas em ágar *Sabouraud* dextrose foram ressuspensas em salina (NaCl 0,85%, m/v) até atingir a turbidez equivalente ao padrão McFarland, que corresponde a aproximadamente 1.5×10^6 UFC/mL de células fúngicas. Em seguida, essa suspensão foi diluída 1:100 em RPMI-MOPS, seguida por diluição 1:20 no mesmo meio, resultando em densidade fúngica de 5×10^2 UFC/mL a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL. Um volume de 0,1mL da levedura diluída 1:20 foi inoculado em poços de microplaca em poliestireno já contendo 0,1mL do extrato nas concentrações definidas para o teste. Após 48 h de incubação a 37°C, a CIM foi determinada como a menor concentração de extrato que inibiu o crescimento fúngico, detectado visualmente pela ausência de turbidez. RPMI-MOPS sozinho e contendo o extrato foram testados como controle de viabilidade fúngica e levedura celular. O ensaio foi realizado em triplicata e em três repetições.

Após 48 h de tratamento, o conteúdo dos poços foi subcultivado em ágar nutriente, visto que o extrato da folha de pimenta-rosa é verde intenso e interfere na análise de turbidez que é rotineira a metodologia de MIC

Para a determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM), o conteúdo dos poços correspondentes à CIM e às concentrações superiores do extrato foi subcultivado em ágar Sabouraud e incubado por 48 horas. A CFM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de reduzir a zero a contagem de colônias em ágar, sendo avaliadas as concentrações de 3,13; 6,25 e 12,50 % (v/v), conforme metodologia preestabelecida por Pankey et al. (2014).

4.2.4. Desenvolvimento das formulações tópicas acrescidas do extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi

Emulsões semissólidas, como cremes e géis cremes, são amplamente empregadas em produtos farmacêuticos por sua capacidade de atuar como veículos eficientes para a liberação controlada de fármacos na pele, promovendo adequada espalhabilidade e estabilidade físico-química (Otto *et. al.*, 2009). As propriedades coloidais desse sistema, como tamanho e distribuição das gotículas e viscosidade, exercem papel determinante na taxa de liberação e permeação cutânea dos ativos (OTONI; AZEREDO, 2023). Dessa forma, foram desenvolvidas formulações tópicas com diferentes conteúdos lipídicos, acrescidas ou não do EA. A composição de cada formulação está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição (%) das diferentes formulações semissólidas (m/m).

Componentes	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Lanette_N®	12	10	-	-	2	2	-	-
Polawax®	-	-	12	15	-	-	2	2
Aristoflex AVC® (dispersão 5%)	-	-	-	-	20	-	20	-
Natrosol®	-	-	-	-	-	2	-	2
Propilenoglicol	6	6	6	6	6	6	6	6
TACC	5	5	5	5	5	5	5	5

Extrato	5	5	5	5	5	5	5	5
Conservax	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Água purificada	Qsp 100	Qsp 100	Qsp 100	Qsp 100	Qsp 100	Qsp 100	Qsp 100	Qsp 100

Lanette N®: Cetearyl Alcohol (and) Sodium Cetearyl Sulfate; Polawax®: Cetearyl Alcohol (and) Polysorbate 60; Aristoflex AVC®: Co-Polímero do Ácido Sulfônico Acriloildimetiltaurato e Vinilpirrolidona Neutralizado; Natrosol®: hidroetilcelulose; Conserwax®: methylparaben, ethylparaben, propylparaben, phenoxyethanol

As formulações com alto teor lipídico, como os cremes, foram preparadas utilizando cera autoemulsionante não iônica, especificamente Polawax® (composta por álcool cetoestearílico e derivado polioxietileno de ácido graxo de sorbitano 200E), e cera aniônica, como Lanette® (composta por álcool cetoestearílico e sulfato de cetearil sódico). Para as formulações com menor teor lipídico, como os géis cremes, foram empregadas as mesmas ceras autoemulsionantes, porém estabilizadas com diferentes coloides hidrofílicos, incluindo o aniônico Aristoflex® AVC (copolímero de ácido acriloldimetiltaurato de sódio e vinilpirrolidona) e o não iônico Natrosol® (hidroxietilcelulose).

Todas as formulações foram suplementadas com propilenoglicol como umectante, Conservax® como sistema conservante, triglicerídeos de ácidos cáprico e caprílico (TACC) como emoliente, e água purificada como veículo. As preparações foram realizadas utilizando o método de inversão de fases. As fases aquosa e oleosa foram aquecidas separadamente até atingirem a temperatura de 75,0 °C. Em seguida, a fase aquosa foi adicionada à fase oleosa sob agitação mecânica contínua por 20 minutos, até que a mistura atingisse a temperatura ambiente. Após um período de no mínimo de 24 horas, o extrato foi incorporado às formulações na concentração de 5%, conforme o protocolo estabelecido.

O pH das formulações foi ajustado, com uma diluição de AMP (2-amino-2-metil-1-propanol) 1:10, para aproximadamente 5,5, visando garantir a compatibilidade com a pele (RASCHE, 2014). Subsequentemente, formulações acrescidas e não de extrato foram armazenadas em pote de fundo falso de polietileno e submetidas a testes de caracterização físico-química para avaliar suas propriedades e assegurar a qualidade final do produto.

4.2.5. Análise das características físico-químicas das formulações tópicas

Para determinar a(s) formulação(ões) mais adequada(s) ao propósito estabelecido, foram realizados ensaios para avaliar as características físico-químicas dos diferentes veículos semissólidos, acrescidos ou não de EA. Foram avaliadas características organolépticas, pH, centrifugação e espalhabilidade, além da atividade antioxidante por meio do sequestro de radicais livres.

4.2.5.1. Ensaios organolépticos

A avaliação macroscópica das formulações foi realizada 24 horas após incorporação do extrato nas formulações previamente preparadas. Os aspectos observados incluíram alterações na cor, odor, consistência e separação de fases (Mai a, Badra, 1992). A análise macroscópica é uma técnica de avaliação visual e física utilizada para examinar características perceptíveis a olho nu de uma substância, material ou produto (DE ALMEIDA, Bruna Rafaela Silva et al., 2024).

4.2.5.2. Análise do pH

A determinação do pH das formulações, foi realizada utilizando-se um potenciômetro digital da marca Mettler®, previamente calibrado com soluções tampão padrão. As leituras foram feitas à temperatura ambiente, e as amostras foram dispersas numa diluição de 1:10 em água purificada (GEORGETTI et al., 2006). Os testes foram realizados em triplicata.

4.2.5.3. Teste de centrifugação

A estabilidade das formulações foi avaliada por centrifugação, submetendo-se 2 g de cada amostra, pesadas em tubos de centrífuga cônicos e graduados, à centrifugação a 3200 rpm por 30 minutos. Em seguida, foi observada a ocorrência de separação de fases, o que pode indicar instabilidade da emulsão (GEORGETTI et al., 2006). Os testes foram realizados em triplicata.

4.2.5.4. Teste de Espalhabilidade

A espalhabilidade refere-se à capacidade de um componente de se expandir sobre uma superfície, sendo baseada na resistência ao movimento forçado. O índice de espalhabilidade é definido como a área de espalhamento na pele (mm²) em função da força aplicada sobre o produto (minutos) (BORGHETTI; KNORST, 2006).

Para a avaliação, uma lâmina de vidro foi posicionada sobre um papel milimetrado, no qual foi marcado o ponto central. Em seguida, 0,5 g de cada amostra foi colocado no centro da lâmina, e outra lâmina de peso determinado foi suavemente posicionada sobre a amostra. Após 1 minuto, o diâmetro do círculo (mm) formado pela amostra espalhada foi medido com uma régua. O procedimento foi repetido em intervalos de 1 minuto, adicionando-se pesos aferidos de 2, 4 e 10 g sobre a lâmina de vidro. O mesmo procedimento foi realizado para as formulações sem extrato. O teste foi conduzido à temperatura ambiente e em triplicata.

Os resultados foram expressos em função da espalhabilidade da amostra em relação ao peso aplicado, conforme a equação (8) (BORGHETTI; KNORST, 2006; ISAAC et al., 2008).

$$E_i = d^2 \cdot \pi / 4 \quad (2) \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

E_i = espalhabilidade da amostra para um determinado peso i (mm^2);

d = diâmetro médio (mm).

4.2.6. Avaliação antioxidante das formulações

4.2.6.1. Determinação da atividade sequestradora do radical livre DPPH

As formulações foram submetidas à avaliação da atividade antioxidante por meio do teste de determinação da capacidade sequestradora do radical livre DPPH, conforme descrito no método do item 4.2.3.1. O preparo do extrato puro e das formulações adicionadas de extrato foram ajustados com base no valor de IC_{50} previamente determinado para o extrato utilizado.

Para tanto, 200 μL de extrato foi diluído em balão volumétrico de 10 mL com etanol PA e 1 g das emulsões foram dispersas sob agitação mecânica com 5 mL do mesmo solvente, e posteriormente, submetidas a centrifugação a 3200 rpm por 15 minutos. Para avaliar a capacidade sequestradora do radical DPPH, 50 μL , do extrato e de diferentes formulações, foram adicionados ao meio reacional alcançando uma concentração de 0,4 $\mu\text{L/mL}$. A mudança na absorbância foi medida após 15 minutos de incubação à temperatura ambiente. O controle positivo consistiu em 1,0 mL de tampão acetato 0,1 M (pH 5,5) e 1,5 mL de etanol, enquanto o controle negativo incluiu 50,0 μL de etanol absoluto P.A. no meio reacional de DPPH, além de um controle adicional com 100,0 μL da formulação sem extrato. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.6.2. Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS

As formulações foram avaliadas quanto à atividade antioxidante por meio do teste de determinação da capacidade doadora de elétrons ao radical ABTS, conforme descrito no item 4.2.3.2 do método. O preparo do extrato puro e das formulações adicionadas de extrato foram ajustados com base no IC50 previamente determinado para o extrato utilizado.

Assim, 120 µL/mL de extrato foi dissolvido com 10mL de etanol P.A em balão volumétrico de 10mL e, posteriormente, realizou-se uma diluição 1:2. Já as formulações aditivadas e não de extrato, o preparo ocorreu pela dispersão de 1,2g de cada formulação em 10 mL de solvente em agitador mecânico. Subsequentemente, as amostras foram submetidas a centrifugação a 3200rpm por 15 minutos. Para avaliação da atividade sequestradora do radical ABTS, 50 µL das amostras foram adicionadas ao meio reacional alcançando uma concentração de extrato de 0,3 µL/mL. Após 6 minutos de incubação à temperatura ambiente realizou-se as leituras das absorbâncias a 730 nm. Também foram feitos controles positivos utilizando-se etanol e as formulações sem o extrato. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.2.7. Teste de Estabilidade

As formulações e extrato puro foram armazenadas a 4 °C, TA e 40 °C $\pm$ 2°C/75% UR $\pm$ 5% UR por 6 meses (RDC N° 318, 2019,). Em intervalos de tempo determinados (0 horas, 30, 60, 90 e 180 dias) alíquotas foram coletadas e analisadas quanto à estabilidade físico-química e funcional. As formulações foram armazenadas em potes de polipropileno bem fechados, com o volume acondicionado correspondendo a um terço da capacidade da embalagem, para permitir possíveis trocas gasosas ao longo dos 180 dias de armazenamento.

Os parâmetros avaliados incluíram análise macroscópica para observar mudanças visíveis na aparência das formulações, conforme o tópico 4.2.6.1., centrifugação (tópico 4.2.6.3.) para verificar a estabilidade física da emulsão, determinação do pH (tópico 4.2.6.2.), espalhabilidade (tópico 4.2.6.4.) e a atividade antioxidante (método DPPH) para avaliar a manutenção das propriedades funcionais do produto frente a diferentes condições de armazenamento (tópico 4.2.7.1.).

4.2.8. Estudo de permeação e retenção cutânea *in vitro* com a célula de Franz

4.2.8.1. Estudo de *Sink Conditions* para avaliação da atividade antioxidante nos estudos de retenção e permeação cutânea

O teste de *sink conditions* é um método utilizado em estudos de liberação e/ou permeação de ativos, especialmente em experimentos *in vitro* como os realizados na célula de Franz (Figura 9). Este teste visa garantir que o meio receptor, onde o ativo é liberado, mantenha uma concentração constante e alta o suficiente para dissolver completamente a substância sem que sua concentração se torne limitante para a liberação (FONSECA, 2007).

É muito importante determinar a solubilidade do ativo previamente a um estudo de liberação e/ou permeação cutânea, pois a solução receptora utilizada nestes experimentos deve ser capaz de solubilizar todo ativo que sofrer difusão por uma membrana de forma que ela não sature e seja um fator limitante nestes experimentos (BROUNAUGH & COLLIER, 1993).

Para avaliar a capacidade da solução receptora em solubilizar uma quantidade dez vezes maior do ativo presente na formulação, foi conduzido um experimento específico. Foi adicionado à solução receptora um volume equivalente a dez vezes a quantidade de extrato (EA) contida em 0,5 g da formulação (250 µL), além da quantidade correspondente a 0,5 g da formulação (25 µL). Essas quantidades foram solubilizadas nas soluções receptoras utilizadas nos experimentos de retenção e permeação cutânea. Duas soluções receptoras foram testadas: tampão fosfato 20 mM (pH 7,4) e tampão fosfato 0,1 M com 10% de etanol P.A. Estas soluções foram agitadas por barra magnética por 1 hora e mantidas a 33°C (que corresponde a temperatura fisiológica da pele) por um banho circulante que envolvia as células de Franz (Figura 8). A determinação da “*Sink conditions*” foi realizada pela medida da capacidade antioxidante das amostras. Para esta avaliação, utilizou-se o método de atividade doadora de H⁺ ao radical DPPH, item 4.2.3.1. As porcentagens de inibição do sistema pelas amostras diluídas em solução receptora foram comparadas com a porcentagem de inibição causada pelas amostras diluídas em solução hidroalcoólica 10% e alcoólica. O teste foi realizado com 5 repetições e os resultados foram expressos pela média ± EPM.

4.2.8.2. Avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* em Célula de Franz

As formulações foram avaliadas quanto à capacidade de permear ou reter os compostos presentes no extrato (EA) na pele de camundongos sem pelo (SOUZA, 2014). O experimento de retenção cutânea foi conduzido utilizando a pele, previamente preparada por imersão em solução salina por aproximadamente 20 minutos. Após esse período, a pele foi cuidadosamente preparada, removendo-se gordura e vasos sanguíneos com o auxílio de uma lâmina (VILELA, 2010). Posteriormente, uma porção de pele foi acondicionada entre o compartimento doador e

receptor da célula de Franz, de forma que o estrato córneo foi mantido em contato com a formulação e a derme em contato com a solução receptora. Os ensaios foram conduzidos utilizando células de Franz modificadas (Figura 8), com 1,77 cm² de área de difusão e com compartimento para solução receptora de 10 mL. A solução receptora utilizada foi solução tampão fosfato de potássio 20 mM, pH 7,4, previamente degaseificada.

A solução receptora permaneceu sob agitação (500 rpm) por uma barra magnética e foi mantida a 33°C por um banho circulante que envolve as células (VILELA, 2010). Seis células de difusão foram utilizadas nos experimentos, sendo que quatro células foram utilizadas com formulações com ativo e duas delas com formulações placebo. Desta forma, a solução receptora das formulações placebo foi utilizada como referência nos ensaios analíticos. Foram utilizados 500 mg de cada formulação em cada célula de difusão (FONSECA, 2007). Ademais, realizou-se experimento no qual foi utilizado a quantidade de extrato relativo a 0,5g de formulação, ou seja, uma alíquota de 25µL de extrato foi misturado em 475 µL de propilenoglicol e espalhado na pele contida em quatro células e em duas foi adicionado 500 µL de propilenoglicol.



Figura 8. Representação esquemática da Célula de Franz. Fonte: SILVA et. al., 2010.

Para verificar a retenção de compostos antioxidantes presentes no extrato na pele do animal, após 12 horas a pele foi removida da célula, brevemente limpa com algodão embebido em soro fisiológico e, com o auxílio do Turrax (Tissue-Tearor (Biospec 985370)), triturada em (2 mL) etanol 50%. As amostras foram centrifugadas (Baby I Fanem 206-BL, São Paulo, Brasil) por 20 minutos a 3200 rpm, e o sobrenadante foi utilizado para realizar o teste de atividade antioxidante (DPPH), conforme descrito no tópico 4.2.3.1.

A quantificação da atividade antioxidante determinada por sequestro de radical DPPH das amostras de pele e soluções receptoras foi realizada utilizando curva padrão, que relaciona a % de DPPH reduzido *versus* concentração de extrato no meio reacional. (GULCIN, Í.; ALWASEL, S. H., 2023).

4.2.9. Avaliação da eficácia antioxidante *in vivo*

4.2.9.1. Animais experimentais

Foram utilizados camundongos sem pelo da linhagem HRS/J, de ambos os sexos, adultos e com peso de 20 a 30 g. Os camundongos foram mantidos no Biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina com temperatura controlada de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo claro/escuro de 12 horas e com livre acesso a água e ração. Os experimentos foram realizados conforme as normas da Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Londrina (registro Of. CIRC. CEUA sob o nº 102/2020, processo nº 039.2020).

4.2.9.2. Sistema e Fonte de Radiação UVB

A fonte de luz utilizada nos experimentos para indução de estresse oxidativo nos camundongos foi uma lâmpada UVB fluorescente modelo PHILIPS TL/12 40W RS (MEDICAL-HOLANDA). A lâmpada emite radiação na faixa de 270 a 400nm com pico máximo de emissão em torno de 313 nm. A dose de radiação utilizada para indução foi de $4,14 \text{ J/cm}^2$ (CAMPANINI et al., 2013). A lâmpada foi instalada em uma caixa retangular de madeira com capacidade para 6 caixas de polipropileno padrão de 30 x 19,5 x 13 cm, desenvolvida especificamente para esse fim. Os camundongos foram distribuídos aleatoriamente e sobre eles foi colocada uma tela que garante a exposição total do dorso dos animais a luz RUV. Durante toda a irradiação foi realizado o rodízio das caixas para assegurar igual dose de irradiação nos animais, pois pode ocorrer variações de emissão de luz ao longo da lâmpada (VILELA, 2010).

4.2.9.3. Protocolo Experimental de Avaliação do Potencial Terapêutico das formulações adicionadas de EA em camundongo

Os camundongos foram alocados aleatoriamente em 6 grupos experimentais contendo 6 animais cada:

- (1) Grupo não irradiado;

- (2) Grupo irradiado;
- (3) Grupo irradiado e tratado com F3 (creme);
- (4) Grupo irradiado e tratado com F3+EA;
- (5) Grupo irradiado e tratado com formulação F7 (gel-creme);
- (6) Grupo irradiado e tratado com F7+EA;.

Os animais receberam tratamento tópico de 0,5 g das diferentes formulações, aplicadas diretamente na região dorsal (aproximadamente 24,5 cm²) com o auxílio de um pincel. A aplicação foi realizada em quatro momentos: 12 horas antes da irradiação, 6 horas antes, imediatamente antes e imediatamente após a exposição à radiação UVB. Após 12 horas da última aplicação, os animais foram submetidos a eutanásia com 5% de isofurano e amostras de pele da região dorsal foram coletadas 12h após a irradiação para realização dos testes da atividade da MPO, FRAP, ABTS e EDEMA (CAMPANINI et al., 2013; MARTINEZ et al., 2015; SAITO et al., 2018).

4.2.9.3.1. Avaliação do edema cutâneo

A exposição da pele à radiação ultravioleta (UV) desencadeia um processo inflamatório, que inclui um aumento na permeabilidade vascular. Esse fenômeno permite o extravasamento de fluidos para o espaço intersticial da epiderme, causando o desenvolvimento de edema (ANSARY et al., 2021).

A fim de avaliar a eficácia das formulações contendo EA na redução do edema induzido pela radiação UVB, a espessura da pele foi quantificada de maneira indireta, por meio da comparação de peso entre os diferentes grupos controles e tratados. Para garantir a padronização na coleta de amostras, utilizou-se um molde para a remoção de uma área constante de pele da região dorsal de cada animal, sendo as amostras subsequentes pesadas em balança analítica de precisão. Os resultados foram expressos em gramas de pele (AFAQ et al., 2005, IVAN et al., 2014).

4.2.9.3.2. Atividade da Mieloperoxidase (MPO)

Neste método, a MPO catalisa a oxidação do substrato o-dianisidina, resultando em um composto colorido que é quantificado espectrofotometricamente a 540 nm. A dosagem da MPO permite estimar o número de neutrófilos presentes nas amostras de pele, expressos em neutrófilos totais por miligrama de tecido (CASAGRANDE et al., 2006).

As amostras de pele dos animais (cerca de 30 mg) foram trituradas em 400 µL de tampão fosfato de potássio 0,05 M (pH 6,0) contendo 0,5% de brometo de hexadeciltrimetil amônio (HTAB), utilizando o homogeneizador Tissue-Tearor (Biospec®). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 16.100 g por 2 minutos a 4°C. Para a reação colorimétrica, foram adicionados 30,0 µL do sobrenadante de cada amostra juntamente com 200 µL de uma solução contendo 10% de tampão fosfato 50 mM (pH 6,0), 0,167mg/mL de orto-dianisidina e 0,015% de H₂O₂ em água deionizada. Após 20 minutos de reação, a atividade da MPO foi medida a 450 nm (Asys Expert Plus, Biochrom) e os resultados foram comparados com uma curva padrão de neutrófilos com concentração conhecida, sendo expressos como número de neutrófilos por miligrama de pele (CASAGRANDE et al., 2006).

4.2.9.3.3. Determinação da Atividade Doadora de Elétrons ao Radical ABTS

As amostras de pele, pesando aproximadamente 30 mg, foram coletadas de diferentes grupos experimentais e transferidas para microtubos contendo 400 µL de solução de KCl a 1,15%. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas utilizando o triturador Tissue-Tearor (Biospec) e centrifugadas a 1.000 g por 10 minutos a 4 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi cuidadosamente separado e utilizado nas análises subsequentes.

A solução de ABTS foi preparada como descrito no item 4.2.3.2. Em seguida, a solução ABTS foi diluída em tampão fosfato até atingir a absorvância de 0,7 a 0,8 em 730 nm. Para a reação, foram adicionadas alíquotas de 7,0 µL do sobrenadante de cada amostra e 200,0 µL da solução de ABTS diluída. O branco foi composto apenas de tampão fosfato. Após 6 min. de reação, foi realizada a leitura em 730 nm (EnSpire, Perkin Elmer). Uma curva padrão foi realizada com diferentes concentrações de trolox (0,039 a 40 nmol) e os resultados foram expressos em nmol equivalente de trolox/mg de pele (KATALINIC et al., 2005; MARTINEZ et al., 2015).

4.2.9.3.4. Avaliação do poder Antioxidante Redutor de Ferro (FRAP)

As amostras de pele, com peso aproximado de 30 mg, foram coletadas de diferentes grupos experimentais e acondicionadas em microtubos contendo 400 µL de solução de KCl a 1,15%. Após a coleta, as amostras foram homogeneizadas utilizando um triturador Tissue-Tearor (Biospec), garantindo uma mistura uniforme. Em seguida, os microtubos foram submetidos à centrifugação a 1.000 g por 10 minutos a 4 °C. Para a reação foram utilizadas 30,0 µL do sobrenadante do homogenato das amostras e 150,0 µL de reagente FRAP

previamente preparado como descrito no item 4.2.3.3. O branco foi composto por tampão fosfato e a pele. Após 6 minutos de reação, foi realizada a leitura em 730 nm (EnSpire, Perkin Elmer). Uma curva padrão foi realizada com diferentes concentrações de trolox (0,02 a 20,0 nmol) e os resultados foram expressos em nmol equivalente de trolox/mg de pele (KATALINIC et al., 2005; MARTINEZ et al., 2015).

4.2.9.3.5. Avaliação dos níveis do Antioxidante Endógeno Glutathiona Reduzida (GSH)

As amostras de pele (aproximadamente 0,1g) foram diluídas (1:4) em EDTA 0,02M e trituradas utilizando o Tissue-Tearor (Biospec 985370). Ao homogenato foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) 50% na proporção de 1:0,2 de EDTA e TCA, respectivamente. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 2.700 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi retirado e recentrifugado a 2.700 g por mais 15 minutos a 4°C. O sobrenadante final foi retirado para análise. O ensaio foi conduzido utilizando 50 µl do sobrenadante da amostra, 100 µl de tampão Tris 0,4 M pH 8,9 e 5µl de uma solução de DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico)) a 1,9 mg/mL em metanol. Após incubação por 5 minutos, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro (EnSpire, Perkin Elmer) a 405 nm. A curva padrão foi elaborada com concentrações variando entre 0 e 150 µM de GSH, permitindo a quantificação dos resultados, que foram expressos em µM de GSH por miligrama de pele (SRINIVASAN et al., 2007; FORTE, 2012).

4.2.10. Análise Estatística

As concentrações do extrato que inibem o processo oxidativo *in vitro* em 50% (IC50) foram calculadas utilizando o software GraphPad Prism®, versão 9.00 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA), utilizando uma curva hiperbólica e apresentadas pela média ± erro padrão da média (EPM) de mensurações feitas em triplicata de cada concentração e foram representativas de três experimentos separados. Os resultados *in vivo* foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) com um fator seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey e apresentados pela média ± EPM de mensuração feitas com 6 animais em cada grupo por experimento. Os resultados foram representativos de 2 experimentos separados e foram considerados significativamente diferentes para $p < 0,05$.

5. Resultado e Discussão

5.1. Caracterização química do extrato de *S. terebinthifolius* Raddi

5.1.1. Determinação do teor de polifenóis totais e flavonoides por método colorimétrico

A pimenta rosa ou aroeira pimenteira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) tem se destacado devido à crescente demanda por ingredientes naturais e sustentáveis, especialmente na indústria cosmética, onde suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas são altamente valorizadas (ARAÚJO et al., 2025). Além disso, o uso da planta na medicina tradicional está sendo redescoberto, enquanto suas aplicações na gastronomia moderna, devido a seus sabores únicos e propriedades conservantes, estão em ascensão. Esta planta é notável por sua versatilidade e utilidade, apresentando uma rica composição química que inclui óleos essenciais, flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, os quais conferem diversas propriedades farmacológicas e terapêuticas (CARNEIRO, 2022).

Os compostos antioxidantes presentes na aroeira desempenham um papel crucial na neutralização de radicais livres, contribuindo para a prevenção de danos oxidativos em células e tecidos, além de oferecer proteção contra o envelhecimento precoce e diversas doenças crônicas associadas ao estresse oxidativo (RODRIGUES et al., 2024). Os principais responsáveis por essa atividade antioxidante são os flavonoides e compostos fenólicos, como quercetina, kaempferol e miricetina, conhecidos por suas potentes propriedades antioxidantes (CARNEIRO, 2022). Além disso, ácidos fenólicos, como ácido gálico, ácido elágico e ácido ferúlico, estão presentes em concentrações consideráveis, juntamente com taninos e saponinas, que também contribuem para as propriedades terapêuticas e funcionais da aroeira (KIM et al., 2021).

No presente estudo, buscou-se determinar os teores de polifenóis e flavonoides totais utilizando espectrofotometria, com os cálculos baseados no conteúdo de sólidos totais do extrato analisado (32,6 mg/mL). A quantificação dos polifenóis totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como padrão. O teor de polifenóis totais foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de amostra, apresentando coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,9998. A quantidade de polifenóis totais encontrada no extrato foi de $227,77 \pm 0,67$ mg GAE/g de extrato.

A quantificação dos flavonoides totais também foi realizada por espectrofotometria, utilizando quercetina como padrão, uma vez que este é um dos flavonoides mais comuns em

plantas e forma complexo com AlCl_3 que absorve no comprimento de onda de 420 nm (RODRIGUES et al., 2024). A curva padrão de quercetina (QCE) apresentou coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,9932, e o teor de flavonoides totais determinado foi de $13,83 \pm 0,379$ mg QCE/g de extrato.

Costa et al., 2015, realizaram extração das folhas de aroeira utilizando etanol como solvente pelos métodos de soxhlet e maceração e obtiveram o conteúdo de polifenóis totais de aproximadamente 90 e 70 mg GAE/g extrato, respectivamente. Em estudo realizado por Chaithep et al., 2025, foi avaliado o conteúdo de polifenóis e flavonoides totais de extratos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi preparados usando três técnicas de extração. Os resultados encontrados utilizando como solvente etanol 50% variaram de $58,40 \pm 3,72$ a $668,56 \pm 11,52$ mg GAE/g extrato e de $141,31 \pm 2,59$ a $2629,92 \pm 112,61$ mg QCE/100g extrato, respectivamente. No presente estudo, o teor de polifenóis totais foi aproximadamente **três vezes superior** ao maior valor relatado por Chaithep et al. (2025). Esse resultado demonstra que o método de extração empregado e/ou as condições experimentais adotadas favoreceram uma maior eficiência na recuperação de compostos fenólicos.

El-Massry et al. (2009) avaliaram a composição química de extratos etanólico e de diclorometano obtidos de folhas frescas de cultivares de *Schinus terebinthifolius* do Egito. Os principais compostos fenólicos identificados no extrato etanólico foram ácido cafeico (5,07 mg/100 mg de extrato), ácido cumárico (1,64 mg) e ácido siríngico (1,59 mg). Silva et al. (2017) caracterizaram do extrato metanólico liofilizado das folhas, sete compostos previamente conhecidos, incluindo um esteroide, sitosterol-3-O -glucopiranosídeo; dois derivados do ácido gálico, 1,2,3,4,6-penta-O-galoil- glucopiranosídeo (1) e metil galato (2); e os quatro flavonoides a seguir: robustaflavona (3), quercetina (4), quercetrina (5) e luteolina (6) de *S. terebinthifolius*. Ceruks et al. (2007) encontraram como constituintes fenólicos polares das folhas de pimenta aroeira, o galato de etila, galato de metila, quercitrina, miricetrina e miricetina.

Nesta pesquisa, a partir dos cromatogramas obtidos por UPLC–MS/MS nos modos de ionização positivo e negativo (Figuras 9 e 10), foram identificados quatro compostos nas folhas da pimenta aroeira, conforme detalhado na Tabela 3 e ilustrado nas Figura 11. Os flavonoides identificados são amplamente descritos em diversas frutas, como acerola, bem como em caules e folhas de diferentes espécies vegetais, incluindo a própria pimenta aroeira. A presença desses compostos está fortemente associada a atividades antioxidantes e funções adaptativas das plantas frente a estresses abióticos, corroborando relatos anteriores (ABBAS et al., 2022;

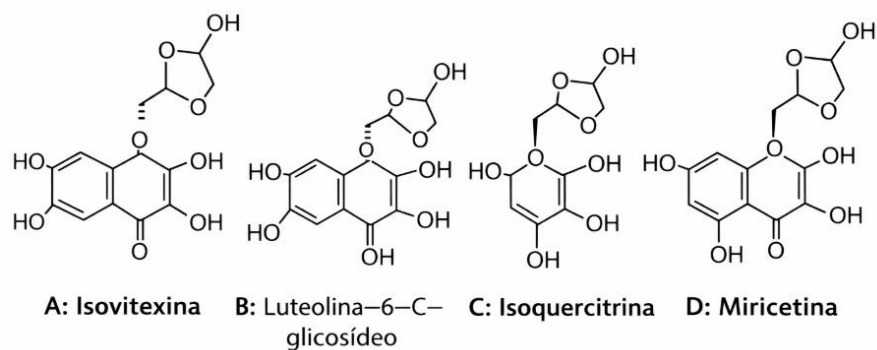
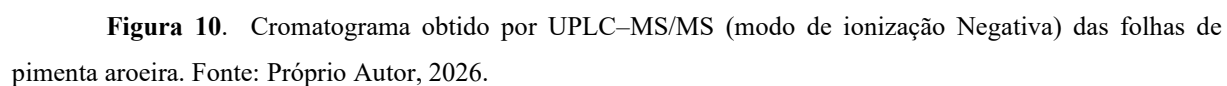
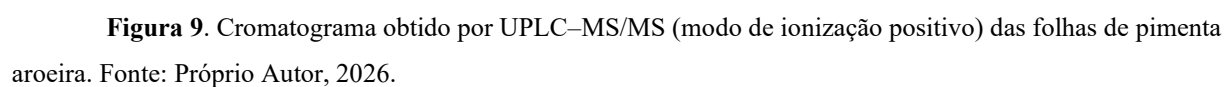


Figura 11. Estruturas Químicas. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Tabela 3. Metabólitos anotados nos perfis cromatográficos obtidos por UPLC–MS/MS (modo de ionização positivo e negativo) de folhas de pimenta aroeira.

N. º	Íon (m/z)	Massa exata	Erro (ppm)	Íon	Fórmula	Fragmentos	Classe	Metabólito	Referência
1	319,0458	319,0453	1,66	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₁ O ₈	317, 315	Flavonoide	Miricetina	(Cao et al. 2020)
2	415,1038	415,1029	2,38	[M+H ₂ O] ⁺	C ₂₁ H ₁₉ O ₉	283, 255	Flavonoide	Isovitexina	(Wang et al., 2024)
3	447,0917	447,0927	-2,23	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	445	Flavonoide	Luteolina-6-C-glicosídeo	–
4	463,0862	463,0876	-3,02	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	301	Flavonoide	Isoquercitrina	–

5.2. Avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro*

5.2.1. Determinação do Espectro de absorção do UV

A determinação do espectro de absorção é uma etapa crucial para avaliar a interação dos compostos com a RUV e entender suas propriedades fotoprotetoras (KARIM; ALHARBI, 2024). Neste estudo, foram analisadas amostras em diferentes concentrações (40 µg/mL a 200 µg/mL) para investigar a variação da absorbância no espectro UV (Figura 14). O comportamento da absorção na faixa de comprimentos de onda entre 280 e 315 nm, correspondente à radiação UVB, foi de particular interesse, dada sua relevância para a proteção contra danos solares (LIYAN, et al., 2023) e para os posteriores testes *in vivo* realizados no presente trabalho.

De acordo com Bobin et al. (1994), que analisaram 100 extratos vegetais distintos, a eficácia de um produto natural como fotoprotetor está diretamente relacionada à sua composição química e, conseqüentemente, à sua capacidade de absorver a RUV. Considerando a escassez de estudos acerca da planta selecionada para esta pesquisa, iniciou-se a avaliação da atividade fotoprotetora por meio da determinação da absorbância do extrato etanólico (EA) através da varredura espectrofotométrica.

É amplamente aceito que plantas que apresentam absorção na região UV possuem em sua composição moléculas ativas que mimetizam os filtros químicos sintéticos (BOBIN, et al., 1994; RANCAN, et al., 2002). Conforme demonstrado na Figura 12, o EA obtido em todas as

concentrações testadas exibiu picos de absorção significativos nas regiões UVA, UVB e UVC. Ademais, conforme observado na Figura 12, o EA apresentou uma área sob a curva com boa intensidade espectral, indicando um potencial elevado de absorção da RUV. Esses resultados sugerem que o EA apresenta uma composição química complexa, contendo diferentes moléculas bioativas (BOBIN, et al., 1994; SOUZA, et al., 2005; VIOLANTE, et al., 2008).

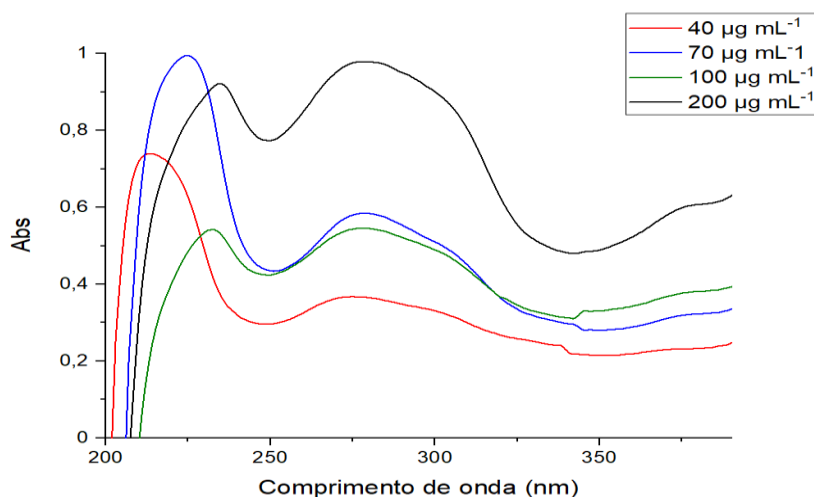


Figura 12. Análise espectrofotométrica do extrato etanólico de aroeira em diferentes concentrações.
Fonte: Próprio Autor, 2026.

Ademais, a partir dos dados apresentados na Figura 12, observa-se que as amostras exibem um comportamento de absorção diretamente proporcional à concentração dos compostos. Este aumento da absorbância com a elevação da concentração é esperado, uma vez que uma maior quantidade de material no meio promove uma maior interação com a radiação UV, resultando em uma absorção mais intensa. A amostra de maior concentração (200 µg/mL) apresentou a absorbância máxima na faixa de 280 a 315 nm, o que coincide com a região do espectro UVB, a qual é especialmente importante para a proteção solar devido ao seu impacto potencial na pele humana (LIYAN, et al., 2023).

A presença de um pico de absorbância de 0,629 a 400 nm para a amostra de 200 µg/mL indica que, além de absorver de forma eficiente na região UVB, o composto mantém uma capacidade residual de absorção mesmo em comprimentos de onda maiores, o que pode sugerir uma possível proteção contra os danos causados pela radiação UVA. A menor concentração (40 µg/mL), por outro lado, apresentou uma absorbância significativamente menor (0,197 a 400 nm), demonstrando que, embora ainda absorva radiação UV, sua eficiência fotoprotetora é reduzida quando comparada às concentrações mais altas.

5.2.2. Avaliação da fotoestabilidade e Determinação *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS)

A análise da Figura 13, referente à absorção espectral, demonstra que a amostra submetida à irradiação apresentou um comportamento de absorção superior em comparação com a amostra não irradiada. A maior absorbância observada na amostra irradiada pode ser explicada pela ativação ou modificação estrutural dos compostos em decorrência da exposição à RUVB, o que potencializou a capacidade dessas moléculas de interagir com a radiação UV. Esse fenômeno já foi reportado em estudos que investigam os efeitos da radiação UV sobre substâncias bioativas, nos quais a irradiação pode promover alterações na conformação molecular, resultando em aumento da absorbância (DIFFEY, 1991; GONÇALVES et al., 2019).

Além disso, estudos anteriores evidenciaram que a exposição à radiação UV pode induzir modificações estruturais em compostos naturais, levando à formação de novos cromóforos responsáveis pela absorção da luz, o que pode conferir um aprimoramento no potencial fotoprotetor dos extratos analisados (PARK et al., 1998; OCHOA et al., 2019).

Observou-se ainda um aumento na absorbância a partir de 340 nm em ambas as amostras, sendo esse efeito mais pronunciado na amostra irradiada. Este comportamento é particularmente relevante, pois indica que, além da eficiente absorção na região UVB, as amostras irradiadas também apresentam absorção residual significativa na faixa UVA. Embora a radiação UVA seja menos energética que a UVB, ela está associada a efeitos cumulativos na pele, como envelhecimento precoce e indução de reações fotoquímicas que geram radicais livres (PICKART; THOMPSON, 2015).

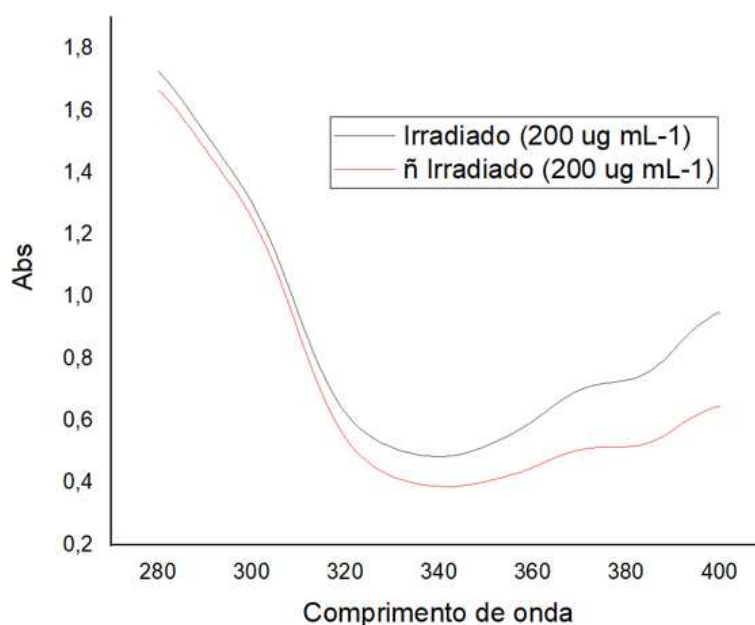


Figura 13. Análise espectrofotométrica do extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira (EA) irradiado e não irradiado na concentração de 200 µg/mL. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Ademais, os resultados indicam que o extrato não irradiado apresenta propriedades de absorção relevantes. Esse comportamento pode estar associado à presença de compostos antioxidantes e fotoprotetores no extrato, capazes de absorver e dissipar a energia da luz UV de forma eficaz, protegendo as camadas mais superficiais da pele. Estudos anteriores sugerem que diversos extratos botânicos apresentam moléculas que atuam como filtros UV naturais, absorvendo a radiação e prevenindo danos oxidativos (KARIM; ALHARBI, 2020; DIFFEY, 1991).

Em adição, a amostra não irradiada apresentou uma queda de absorbância em aproximadamente 340 nm, seguida por um aumento em comprimentos de onda maiores. Este perfil pode estar relacionado à transição dos compostos presentes no extrato para uma região menos eficiente na absorção de UV. No entanto, a presença de um aumento da absorbância em comprimentos de onda maiores sugere que os compostos mantêm atividade residual de absorção em comprimentos de onda mais longos, possivelmente na região do UVA. Estudos sobre fotoproteção e comportamento de absorção UV indicam que alguns compostos vegetais, como polifenóis, são capazes de absorver tanto na faixa do UVB quanto na do UVA, o que amplia sua aplicação como ingredientes fotoprotetores (KARIM; ALHARBI, 2020).

Esse aumento na absorbância pode ser atribuído à geração de produtos de degradação ou à reorganização dos compostos ativos no extrato, que começam a interagir de maneira

diferente com a luz UV (Park, Yong Kun et al., 1998). A faixa de comprimento de onda entre 280 e 315 nm é especialmente significativa, pois abrange a radiação UVB, que desempenha um papel fundamental na proteção solar (LIYAN, et al., 2023).

Com base nos resultados do espectro de absorção do extrato, que evidenciaram sua capacidade de absorver radiação, especialmente na faixa UVB (280–320 nm) e também na UVA (320–400 nm), procedeu-se à determinação do FPS e à aplicação da metodologia de fotoquimioproteção, a fim de avaliar se o extrato apresentaria não apenas a capacidade de absorver radiação UVB, mas também de reduzir o estresse oxidativo.

O FPS, estimado por espectrofotometria, é uma medida essencial para avaliar a eficácia de um filtro solar ou de uma substância em estudo. Esse valor é obtido por meio da análise da altura, largura e localização da curva de absorção do produto dentro do espectro UV (Mansur et al., 1986). Embora a avaliação do FPS seja realizada por meio de testes *in vitro*, estudos demonstram que essa metodologia apresenta boa correlação com testes *in vivo* (MANSUR, et al., 1986; ERRARLI, 2007; VIOLANTE, et al., 2008). Essa correlação é atribuída à relação entre a absorbância da substância em análise, o efeito eritematogênico da radiação e a intensidade luminosa em comprimentos de onda específicos, compreendidos entre 290 e 320 nm, correspondentes à região UVB do espectro.

O FPS determinado para o extrato irradiado e não irradiado, na concentração de 0,2 mg/mL, foi de $11,42 \pm 0,35$ e $10,85 \pm 0,19$, respectivamente. Esses valores estão de acordo com a Resolução nº 30, de 1º de junho de 2012, da ANVISA (Anvisa, 2012), que define fotoprotetor como qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com o objetivo de protegê-los contra a radiação UVB e UVA por meio da absorção, dispersão ou reflexão da radiação, devendo apresentar FPS mínimo de 6. Esses resultados podem ser relacionados ao elevado teor de polifenóis totais presentes no extrato (STEVANATO, et al., 2014).

Além disso, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as amostras, indicando que o extrato, mesmo após exposição aos níveis de RUVB utilizados, não apresentou alterações relevantes em seu valor de FPS.

Estudos como o de Medina et al. (2015) também avaliaram o FPS de extratos vegetais, como o de *Byrsonima sericea*, cujos valores variaram entre 0,68 e 1,44. De forma semelhante, extratos de cajueiro (*Anacardium occidentale*) foram investigados quanto ao potencial

fotoprotetor e antioxidante. Extratos obtidos por maceração com soluções etanol/água nas proporções de 70:30 (v/v) e 50:50 (v/v), seguidos de secagem por *spray drying*, apresentaram FPS de 6,37 e 6,07, respectivamente (NASCIMENTO, et al., 2017).

Aguayo-de-Castro et al. (2021) verificaram que o extrato aquoso de folhas de *Campomanesia sessiliflora*, obtido tanto por infusão quanto por maceração, resultou em valores de FPS de 9,98 e 6,74, respectivamente. Esses dados reforçam a variação nos valores de FPS entre diferentes espécies vegetais e métodos de extração, destacando a importância de avaliar individualmente cada extrato para determinar seu potencial fotoprotetor e sua adequação para uso em formulações tópicas.

5.3. Avaliação da capacidade antioxidante do EA por diferentes métodos *in vitro*

5.3.1. Determinação da atividade doadora de átomos de hidrogênio do extrato ao radical DPPH

Os métodos mais amplamente utilizados para a determinação da atividade antioxidante baseiam-se em análises espectrofotométricas que envolvem mecanismos de transferência de átomos de hidrogênio e de elétrons (KOTHA et al., 2024). Esses mecanismos são essenciais para avaliar a capacidade dos antioxidantes em neutralizar radicais livres, prevenindo danos oxidativos em células e tecidos. Entre esses métodos, destaca-se o ensaio com o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), amplamente empregado devido à sua simplicidade, rapidez e sensibilidade. O método DPPH mede a capacidade de uma substância em doar hidrogênio para o radical, provocando uma mudança na coloração da solução. Essa alteração é quantificada por espectrofotometria, permitindo estimar a atividade antioxidante do composto em estudo (GULÇIN; ALWASEL, 2023).

As análises foram realizadas utilizando o valor de IC₅₀, que representa a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres presentes na amostra. Esse valor é um indicador crítico da eficácia do extrato como agente antioxidante. A figura 14 A obtida ilustra a relação entre a concentração da substância (µL/mL) e a porcentagem de DPPH reduzido, permitindo visualizar como a variação da concentração influencia a capacidade de neutralização dos radicais livres (GULÇIN; ALWASEL, 2023).

Os resultados indicaram que a capacidade de doação de átomos de hidrogênio ao radical DPPH pelo EA foi dependente da concentração. O extrato apresentou relação linear na faixa de

0,025 a 0,4 $\mu\text{L/mL}$, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,9969 (Figura 14 B). A atividade máxima, observada na concentração de 0,8 $\mu\text{L/mL}$, foi de 79,99%, atingindo um platô e resultando em valor de IC_{50} de 0,33 $\mu\text{L/mL}$ (Figura 14 A). De acordo com Firmo et al. (2015), quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior sua atividade antioxidante. Assim, concentrações mais elevadas, associadas a menores valores de absorbância, indicam maior consumo de DPPH e sugerem correlação positiva entre a atividade antioxidante e o conteúdo de polifenóis (RIGOTTI, et al., 2016).

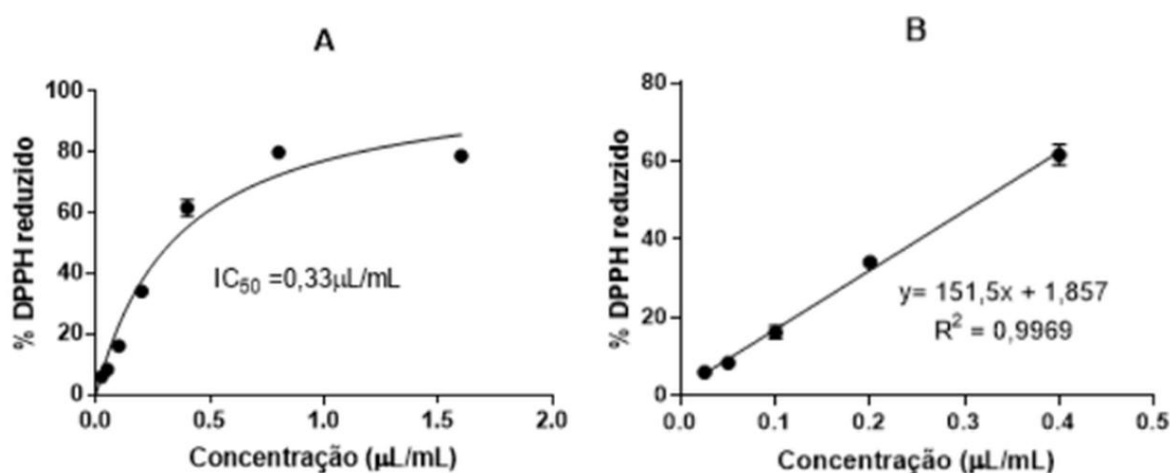


Figura 14. Habilidade doadora de átomo de hidrogênio ao radical estável DPPH do extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira (EA). As concentrações utilizadas no meio reacional foram de 0,025-1,6 $\mu\text{L/mL}$ do extrato. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade. Fonte: Próprio Autor, 2026.

A equação da linha de regressão obtida foi $y = 151,5x + 1,857$, com coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9969$), indicando forte correlação linear positiva entre a concentração do extrato e a porcentagem de radicais DPPH neutralizados. O elevado valor de R^2 (99,69%) evidencia que a variação na concentração da substância explica quase toda a variação observada na atividade antioxidante, demonstrando a eficácia do extrato avaliado como agente sequestrador de radicais livres (SOUZA, 2015).

Estudos prévios reforçam o potencial antioxidante de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Segundo Degaspari et al. (2004) relataram 53% de atividade antioxidante nos frutos. Já o estudo de Silva et al. (2019) apresentou um valor de 24% para o fruto da pimenta-rosa. Esses achados sugerem que diferentes partes da planta exibem atividades antioxidantes distintas, mas todas demonstram potencial relevante, sendo candidatas promissoras para formulações com propriedades protetoras contra o estresse oxidativo.

5.3.2. Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS

A metodologia ABTS avalia a capacidade antioxidante de compostos por meio da redução do radical catiônico ABTS⁺. Esse radical é gerado pela reação do ABTS com persulfato de potássio, resultando em uma solução de coloração azul-esverdeada intensa, que apresenta absorvância máxima em 734 nm (SHALABY; SHANAB, 2013).

Os antioxidantes presentes nas amostras testadas interagem com os radicais ABTS⁺, neutralizando-os e, conseqüentemente, reduzindo a coloração da solução. Essa mudança de coloração, medida espectrofotometricamente, reflete a eficácia antioxidante dos compostos, uma vez que a diminuição da absorvância é proporcional à capacidade dos antioxidantes em neutralizar radicais livres (CANO et al., 2023).

A análise da atividade antioxidante da substância em estudo foi realizada por meio da correlação entre sua concentração ($\mu\text{L/mL}$) e a porcentagem de ABTS reduzido, conforme a Figura 15. A. A equação da linha de regressão, $y = 145,6x + 7,433$, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9993 (Figura 15.B), demonstra forte correlação linear positiva entre essas variáveis. Isso sugere que a substância possui um efeito significativo na redução do ABTS, indicando elevada capacidade antioxidante.

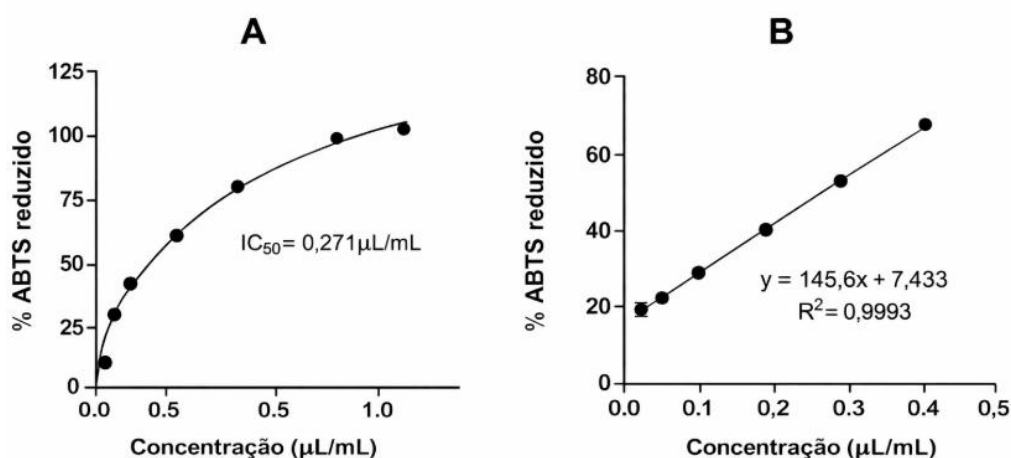


Figura 15. Atividade sequestradora do radical ABTS pelo extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira (EA). As concentrações utilizadas no meio reacional foram de 1,0 a 0,0125 $\mu\text{L/mL}$ do extrato. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade. Fonte: Próprio Autor, 2026.

A capacidade sequestradora do radical ABTS pelo EA foi concentração-dependente, conforme os resultados obtidos. Observou-se atividade próxima de 100% na concentração de 0,8 $\mu\text{L/mL}$, atingindo um platô, e um valor de IC_{50} de 0,271 $\mu\text{L/mL}$ (Figura 15.A). A linearidade para o extrato apresentou-se entre 0,025 e 0,4 $\mu\text{L/mL}$ (Figura 15.B). Em estudo

realizado com extrato obtido de folhas secas da aroeira e metanol como solvente, apresentou potencial sequestrador de radical livre ABTS. Os autores utilizaram concentrações do extrato que variaram de 5 a 250 µg/mL, alcançando um % de inibição de $86,94 \pm 2,04$ (da Silva et al., 2017). Bendaoud et al., 2010, verificou que o óleo essencial extraído dos frutos de aroeira também apresentou atividade sequestradora de radical ABTS, com um valor de $IC_{50} 24 \pm 0,8$ mg/L.

MASCARENHAS-MELO et al., 2023 realizaram a avaliação da atividade sequestradora do radical ABTS do extrato etanólico de folhas *Azadirachta indica* (neem), uma planta que possui como constituintes químicos flavonoides e ácidos fenólicos. O extrato de neem apresentou um potencial de redução de ABTS com valor de IC_{50} de 3,82 µL/mL. Este resultado demonstra que o extrato etanólico de folhas de pimenta aroeira apresentou cerca de 14 vezes menor valor de extrato para reduzir em 50% o radical ABTS.

5.3.3. Determinação da atividade antioxidante pelo poder de redução do ferro – FRAP

A atividade antioxidante também pode ser avaliada pelo ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), que mede a capacidade dos antioxidantes em reduzir o íon ferro. O método FRAP é um teste padrão que quantifica a capacidade dos antioxidantes de reduzir o complexo férrico $[Fe^{3+}-(TPTZ)_2]^{3+}$, de coloração amarela, à sua forma reduzida $[Fe^{2+}-(TPTZ)_2]^{2+}$ em meio ácido. A absorbância é medida a 595 nm, e os resultados são comparados com um padrão antioxidante, que neste estudo foi o Trolox (MARTINEZ, et al., 2020).

O Trolox, também conhecido como ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, é um análogo hidrossolúvel da vitamina E, com elevado poder redutor, o que possibilita a construção de uma curva padrão para comparação (Bursal et al., 2019). Os resultados são apresentados em equivalentes de Trolox, utilizando-o como referência para a solução antioxidante analisada. Valores mais altos indicam maior capacidade de redução do Fe^{3+} e uma equivalência mais próxima ao padrão Trolox (SHIVAKUMAR. KUMAR, 2018).

O cálculo dos resultados foi baseado na curva padrão de Trolox, que apresentou coeficiente de determinação (R^2) de 0,9913. O poder redutor do extrato analisado foi de $1,32 \pm 0,04$ µM Trolox/µL/mL de amostra. Estudos realizados por Nogueira-Artiaga et al. (2019) determinaram a atividade antioxidante de extratos aquosos de três tipos diferentes de pistache (*Pistacia integerrima*, *Pistacia terebinthus* e *Pistacia atlantica*), com valores de 1,37; 1,32 e

1,27 μM Trolox/ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Ambos os estudos indicam que os extratos vegetais apresentam promissora atividade antioxidante redutora pelo método FRAP.

5.3.4. Determinação da atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema H_2O_2 /luminol/HRP (*horseradish peroxidase*) e pelo sistema Xantina/Xantina oxidase (XO)

Nos últimos anos, a quimioluminescência tem sido uma técnica amplamente utilizada por pesquisadores para identificar e quantificar a atividade antioxidante de extratos naturais, devido à sua alta sensibilidade e eficiência (SRIVASTAVA, et al., 2016). Não há relatos, até o presente momento, na literatura a respeito da avaliação do extrato etanólico das folhas de pimenta-aroeira utilizando este tipo de metodologia antioxidante *in vitro*. Mediante o exposto, o presente trabalho propôs realizar a análise antioxidante do extrato obtido por meio de dois métodos de avaliação por quimioluminescência.

A enzima HRP catalisa a oxidação de diversas moléculas, como o luminol, na presença de peróxido de hidrogênio. Apesar de essa reação não ser completamente compreendida, acredita-se que o esquema de reação envolva a oxidação do luminol por um complexo entre o oxidante e a peroxidase, produzindo um radical luminol (GEORGETTI, et al., 2003). Esse radical passa por reações subsequentes que resultam na formação de um endoperóxido, o qual se decompõe em um diânion 3-aminofalato eletronicamente excitado que emite luz ao retornar ao estado basal. A adição de compostos à solução quimioluminescente pode levar ao aumento ou à inibição da emissão de luz (MARQUELE, et al., 2005). A redução dessa emissão pode ser considerada uma medida da atividade antioxidante da substância adicionada (GEORGETTI, et al., 2003).

Neste trabalho, os resultados, expressos em concentração do extrato *versus* % de inibição (Figura 16 A), demonstraram atividade concentração-dependente do extrato em inibir a produção de radicais livres pela enzima HRP, uma vez que a atividade aumenta proporcionalmente ao nível de concentração do extrato. A linearidade da reação apresentou-se entre 0,00035 e 0,004 $\mu\text{L/mL}$, com R^2 de 0,9707 (Figura 16 B). A atividade máxima encontrada foi de 96,58% para uma concentração de 0,004 $\mu\text{L/mL}$, alcançando posteriormente um platô. Ademais, foi obtido um valor de IC_{50} de 0,002 $\mu\text{L/mL}$ (Figura 16 A).

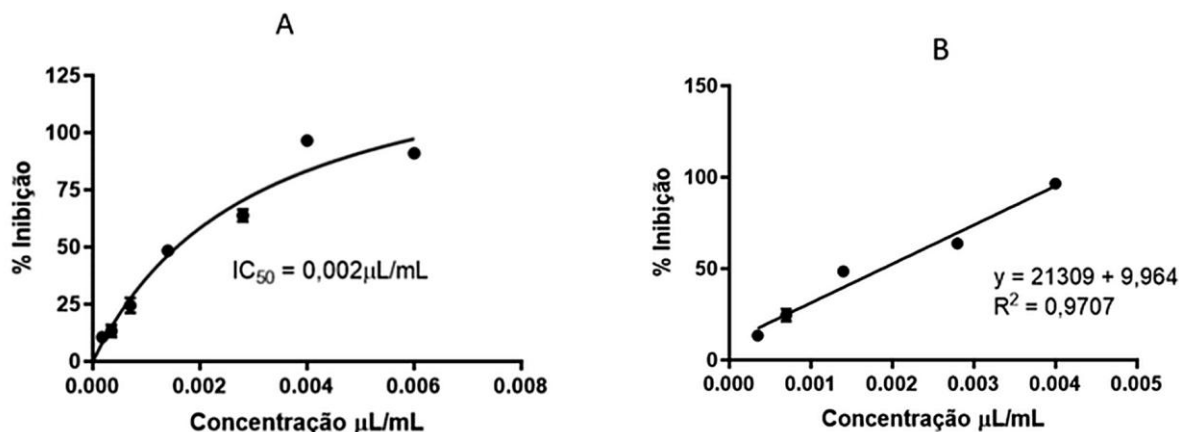


Figura 16. Atividade antioxidante por meio da inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema H_2O_2 /luminol/HRP (*horseradish peroxidase*). (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Um estudo com extrato de caju demonstrou uma concentração de 8,63 mg/mL para alcançar 50% de inibição dos radicais livres (IC₅₀), inibindo a quimioluminescência catalisada pela HRP de maneira dose-dependente, evidenciando sua efetividade na remoção de radicais livres (ERCURIO; WAGEMAKER; MAIA CAMPOS, 2017).

No estudo realizado por Melo et al. (2021) com o extrato de *Cordia verbenacea*, observou-se uma capacidade significativa de inibir a luminescência, indicando atividade antioxidante eficaz, com um IC₅₀ de 0,286 µg/mL. A comparação com o controle positivo, quercetina, que apresentou IC₅₀ de 0,043 µg/mL, confirma a relevância da atividade antioxidante do extrato, embora seja inferior à do controle padrão.

A técnica de quimioluminescência mediada pela xantina oxidase é amplamente utilizada para a detecção e quantificação de EROs, como o radical superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). De acordo com Girotti et al. (2000), essa técnica tem sido frequentemente empregada para o mesmo fim, demonstrando sua relevância na análise de EROs em diferentes contextos experimentais.

A inibição da quimioluminescência catalisada pela XO pelo extrato de aroeira, evidenciada por um valor de IC₅₀ de 0,008 µL/mL que em relação a sólidos totais é 0,26 µg/mL calculado por meio da equação 5, demonstra a elevada capacidade antioxidante desse extrato vegetal (Figura 17A). A linearidade da reação para o extrato apresentou-se entre 0,0005 e 0,018 µL/mL, com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9614 (Figura 17B). A maior atividade, de 75,10%, foi registrada na concentração de 0,0240 µL/mL.

Essa inibição sugere que compostos bioativos presentes no extrato de aroeira, como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos, desempenham papel crucial na supressão dos radicais livres, especialmente o radical superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), produzidos durante a oxidação de substratos como a hipoxantina.

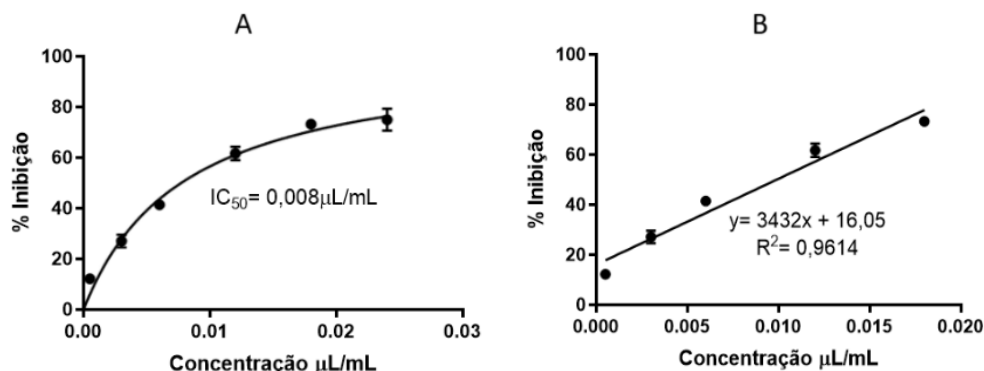


Figura 17. Atividade antioxidante por inibição da quimioluminescência gerada pelo sistema Xantina/Xantina oxidase. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade. Fonte: Próprio Autor, 2026.

O baixo valor de IC₅₀ também indica que, em pequenas concentrações, o extrato é capaz de exercer efeito significativo sobre a atividade da XO, possivelmente inibindo a enzima diretamente ou sequestrando as EROs formadas. Isso sugere que o mecanismo de ação antioxidante do extrato de aroeira pode atuar tanto de maneira preventiva, impedindo a formação de radicais livres, quanto de forma direta, neutralizando-os após sua formação (FONSECA, 2010).

Estudos anteriores realizados por Marquele et al. 2005, avaliaram o potencial antioxidante do extrato etanólico (EEP) e do extrato glicólico (GEP) de própolis. Os valores de IC₅₀ calculados no sistema H_2O_2 /luminol/HRP para EEP e GEP foram de 0,22 e 0,24 μL/mL, respectivamente. No sistema xantina/luminol/XOD, os valores de IC₅₀ encontrados para EEP e GEP foram ambos de aproximadamente 0,005 μL/mL. Portanto, pode-se verificar que os compostos antioxidantes presentes no extrato de pimenta aroeira possuem alta capacidade de neutralizar os radicais livres formados em ambas as metodologias de quimioluminescência empregas no estudo.

5.3.5. Determinação da atividade antioxidante por peroxidação lipídica utilizando a gema do ovo

Na determinação da atividade antioxidante por peroxidação lipídica utilizando a gema de ovo, o principal objetivo foi avaliar o potencial antioxidante do extrato de *Schinus*

terebinthifolius em prevenir a oxidação dos lipídios presentes (MAFRA *et.al.*,1999). A gema de ovo, rica em lipídios, é altamente suscetível ao processo de oxidação quando exposta a agentes oxidantes, o que a torna um modelo eficiente para estudos de atividade antioxidante. A presença de compostos antioxidantes pode retardar ou inibir essa oxidação, protegendo as estruturas lipídicas da degradação (LOBO, 2010).

Ao introduzir agentes antioxidantes nas amostras contendo gema de ovo, espera-se uma redução significativa na formação de produtos de peroxidação lipídica, comparada ao grupo controle sem antioxidante (LOBO, 2010).

Assim, a atividade antioxidante no presente estudo também foi analisada pela metodologia de inibição da produção de TBARS, utilizada para quantificar a peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica é definida como os danos biológicos causados por radicais livres, formados sob estresse oxidativo (SILVA *et al.*, 2012).

A Figura 18A destaca o valor de $IC_{50} = 3,362 \mu\text{L/mL}$, que representa a concentração necessária para inibir 50% da LPO. Ademais, observa-se que a inibição foi concentração-dependente, com uma atividade máxima de 83% para a amostra de $10 \mu\text{L/mL}$. A linearidade do extrato apresentou-se entre 0,3 e $5,0 \mu\text{L/mL}$ (Figura 18B).

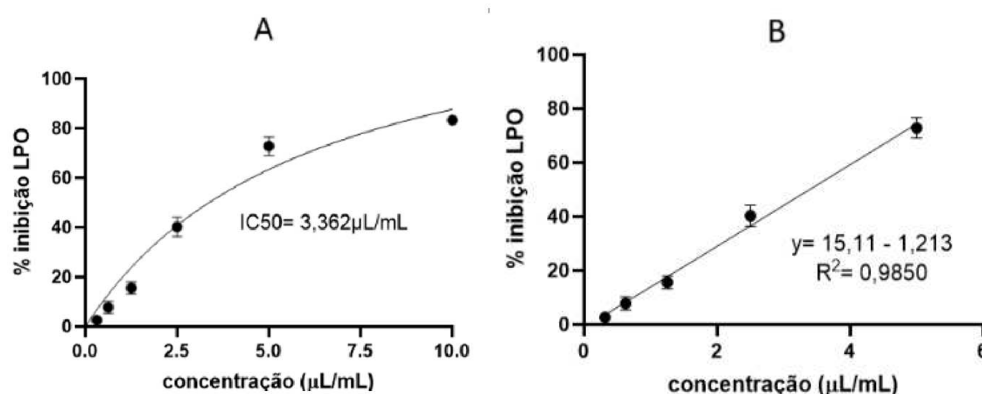


Figura 18. Atividade antioxidante por meio da Peroxidação Lipídica utilizando a gema do ovo. (A) Curva concentração-resposta. (B) Linearidade. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Os resultados mostraram que o extrato de *Schinus terebinthifolius* apresentou uma atividade antioxidante significativa, conforme evidenciado pela redução da peroxidação lipídica nas amostras tratadas com o extrato em comparação às amostras controle (100% de LPO) (MAFRA; ABDALLA; COZZOLINO, 1999). O aumento na concentração do extrato

resultou em uma maior capacidade de inibir a oxidação lipídica, sugerindo uma relação dose-dependente no sistema avaliado.

Em outro estudo, foi verificado que o extrato das folhas de *S. terebinthifolius* obtido com etanol como solvente apresentou atividade antioxidante superior aos extratos metanólico e diclorometano (ELI-MASSYR, et al., 2019). Além disso, os autores também observaram forte correlação entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos. Além disso, outros estudos confirmam a relação entre a quantidade de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (SCHERER et al., 2013; ZHANG et al., 2013; LEMOS et al., 2015).

A atividade antioxidante do *Schinus terebinthifolius* pode ser explicada pela sua capacidade de neutralizar radicais livres e outras espécies reativas que iniciam e propagam a peroxidação dos lipídios (MAFRA et al., 1999; SILVA et al., 2012).

De forma geral, o extrato apresentou atividade antioxidante expressiva, com valores de IC_{50} (expressos em massa, a partir do teor de sólidos totais do extrato) de 11,88 $\mu\text{g/mL}$ (DPPH), 9,72 $\mu\text{g/mL}$ (ABTS), 0,072 $\mu\text{g/mL}$ (HRP), 0,288 $\mu\text{g/mL}$ (XO) e 120,96 $\mu\text{g/mL}$ (LPO), indicando perfil dose-dependente e alta eficiência principalmente nos ensaios mediados por enzimas. Para efeito de comparação com padrões, a literatura mostra que o ácido gálico pode apresentar IC_{50} de $\sim 1,03 \mu\text{g/mL}$ no ensaio ABTS (em condições específicas de teste), evidenciando que, embora o padrão puro seja mais potente como esperado, o extrato apresenta desempenho relevante considerando tratar-se de uma matriz complexa com mistura de compostos bioativos

5.4. Avaliação da atividade antibacteriana

O Brasil é um país com rica biodiversidade, incluindo muitas espécies de plantas tropicais amplamente utilizadas na medicina tradicional (DE ARAÚJO, et al., 2019; VALENÇA, et al., 2015). O uso de plantas medicinais ou fitoterápicos como alternativa terapêutica foi incluído em 2006 por meio da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006b). Além disso, vale ressaltar que a espécie *Schinus terebinthifolius* está presente na Lista Nacional de Espécies de Interesse do Sistema Único de Saúde – RENISUS (2009) (BRASIL, 2009). A Farmacopeia Brasileira recomenda a decocção de *S. terebinthifolius* para uso como anti-inflamatório natural (Santos et al., 2002). Estudos farmacológicos com extratos obtidos das folhas têm relatado propriedades

antioxidantes, antialérgicas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antiulcerosas, além de propriedades cicatrizantes (NETO, et al., 2006; MACHADO, et al., 2008; GOMES, et al., 2010; CARVALHO, et al., 2012; ULIANA, et al., 2016).

Os ensaios de determinação de concentração inibitória mínima (CIM) mostraram que o extrato obtido apresentou efeito contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e o fungo *Candida albicans*, conforme apresentado na Tabela 4. O extrato de pimenta aroeira foi fungicida e bactericida para todas as cepas testadas, uma vez que foi encontrado o valor de concentração bactericida ou fungicida mínima (CBM/CFM). Como demonstrado na Tabela 4, os menores valores de CIM e CBM do extrato frente a *C. albicans* indicam que esse microrganismo é o mais sensível em comparação às outras espécies testadas. Ademais, observa-se que *S. aureus* foi mais sensível do que as bactérias Gram-negativas em relação ao extrato.

Tabela 4. Valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida ou fungicida mínima (CBM/CFM) do extrato de *S. terebinthifolius* (pimenta aroeira). A unidade de concentração é expressa em % (v/v).

	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
CIM	0,78	3,13	6,25	0,19
CBM ou CFM	6,25	6,25	12,50	3,13

Mediante o exposto, o extrato testado apresentou alto potencial de inibição para *C. albicans*, e dentre as bactérias testadas, *S. aureus* e *P. aeruginosa* mostraram maior sensibilidade ao extrato de pimenta aroeira.

El-Massry et al. (2009) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos obtidos das folhas de *S. terebinthifolius*, utilizando como solventes etanol e diclorometano, além de avaliar a atividade do óleo essencial extraído da planta. Os microrganismos testados foram as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e os fungos *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus* e *Candida albicans*. Os autores verificaram que todas as amostras apresentaram atividade inibitória variando entre 0,55 e 0,85 mg/ml contra os microrganismos utilizados. Contudo, observaram que o extrato de diclorometano apresentou maior inibição do

crescimento das cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus* e *Candida albicans*. O óleo essencial e o extrato etanólico apresentaram atividade moderada.

Além disso, os autores relataram baixa atividade de todas as amostras contra *E. coli*, assim como observado em nosso estudo com o extrato etanólico. Mencionam que essa menor atividade pode ser atribuída aos lipopolissacarídeos presentes na membrana externa das bactérias Gram-negativas, que as tornam inerentemente resistentes a agentes externos, como corantes hidrofílicos, antibióticos e tensoativos (NEGI; JAYAPRAKASH, 2003).

5.5. Desenvolvimento de formulação

5.5.1. Preparo das formulações tópicas corporal acrescidas do EA

Para o desenvolvimento de produtos tópicos, é essencial iniciar com um estudo detalhado de suas características físico-químicas e funcionais, conforme indicado por Georgetti et al. (2006). Esse estudo fornece as informações necessárias para garantir a qualidade e segurança do produto. Neste contexto, foram elaborados diferentes veículos semissólidos para a incorporação do extrato de *Schinus terebinthifolius*, com o objetivo de oferecer uma alternativa aos produtos tópicos tradicionais, caracterizados por sua fácil preparação e baixo custo.

Foram preparadas oito bases para a incorporação do extrato, conforme descrito na Tabela 2, das quais quatro foram cremes formulados com duas concentrações distintas de uma base autoemulsionante aniônica (Lanette®) e de uma base não iônica (Polawax®). Adicionalmente, foram preparados quatro géis-cremes utilizando as mesmas bases autoemulsionantes, porém variando o polímero, entre um aniônico (Aristoflex AVC®) e um não iônico (Natrosol®). Todas as bases, adicionadas ou não de extrato, foram empregadas nos estudos para fins de comparação.

Mediante estudos anteriores realizados pelo grupo de trabalho (CAMPANINI, et al., 2013, MARTINEZ, et al., 2020) e dos resultados encontrados nas diferentes metodologias de atividade antioxidante *in vitro* do EA, foi adicionado nas formulações tópicas desenvolvidas uma concentração de 5% do ativo vegetal.

O estudo farmacotécnico preliminar visou analisar a compatibilidade entre os diversos componentes das formulações e o extrato. Assim, após 24 horas da manipulação das diferentes

bases e 48 horas após a incorporação do extrato, todas as formulações, com e sem extrato, foram avaliadas conforme os parâmetros estabelecidos: análise visual, pH, centrifugação, espalhabilidade e atividade antioxidante.

5.5.2. Análise das características físico-químicas das formulações tópicas

5.2.2.1. Ensaio organolépticos

Todas as diferentes bases tópicas apresentaram-se estáveis visualmente, ou seja, sem indicações de instabilidade física (separação de fases), assim como sem alteração da consistência, que permaneceu característica de emulsões creme e gel-creme. A coloração variou de branco (ausência de extrato) a verde, conforme a concentração de 5% do ativo vegetal (Figura 10). O odor apresentou-se característico da presença do extrato.

A concentração de 5% do extrato vegetal foi selecionada por representar um equilíbrio entre eficácia biológica, estabilidade físico-química e aceitabilidade sensorial da formulação. Concentrações nessa faixa são amplamente empregadas em formulações tópicas contendo extratos vegetais, pois permitem a incorporação de quantidade suficiente de ativos para promover efeito biológico, sem comprometer a estabilidade, o pH, a viscosidade e as características organolépticas do produto. Além disso, diretrizes regulatórias e técnicas recomendam que, durante o desenvolvimento de produtos farmacêuticos tópicos, sejam avaliadas concentrações que garantam desempenho e estabilidade ao longo do prazo de validade (BRASIL, 2019; RIBEIRO; BARROS, 2015; ANSEL et al., 2011).

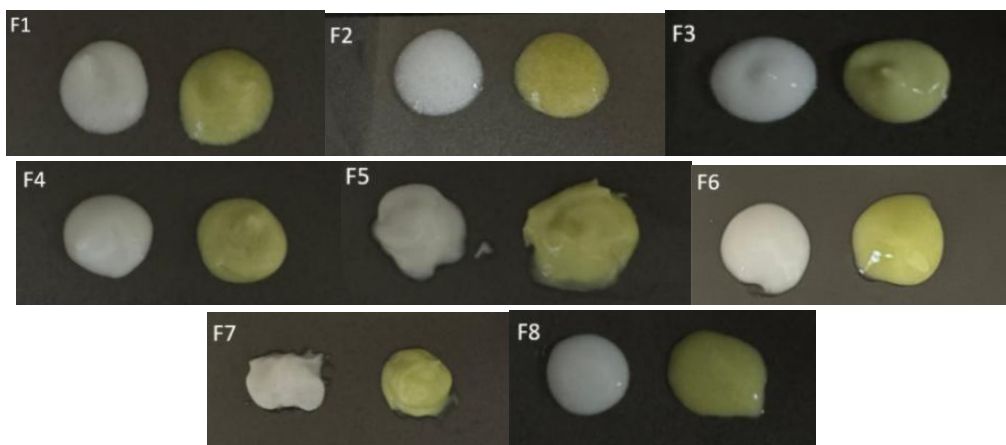


Figura 19. Análise visual das formulações semissólidas desenvolvidas (F1-F8). Fonte:Próprio Autor, 2026.

A análise organoléptica revelou que as formulações testadas apresentam características adequadas e estáveis para uso diário, com aspectos visuais e olfativos dentro dos parâmetros esperados. A variação observada nas tonalidades de verde entre as diferentes formulações pode ser um indicativo da influência das matérias-primas, como emulsificantes e espessantes, na cor final do produto, ainda que essas variações sejam sutis e não comprometam a aceitação do produto.

5.5.2.2. Análise do pH

O pH das diferentes formulações, com ou sem a adição do extrato, permaneceu dentro dos limites de segurança estabelecidos (Tabela 5) e apresentou valores compatíveis com o pH fisiológico da pele, de 5,5 a 6,5 (LUKIC; PAVICIC; STANCIULESCO, 2021). Isso contribui para a redução dos riscos de impacto na pele e para a obtenção de um produto mais estável e seguro para o uso. O pH da pele, que varia conforme a região do corpo e a idade, é considerado levemente ácido no estado fisiológico, o que auxilia na proteção da superfície cutânea contra bactérias e fungos. Valores mais baixos de pH podem estar associados ao surgimento de irritações dérmicas cumulativas (LEKNARDI, 2002).

Além disso, as secreções da pele apresentam uma capacidade tamponante significativa, uma propriedade importante, pois o uso inadequado de produtos tópicos pode alterar o pH, expondo a pele a diversos agentes agressores, especialmente microrganismos (LEKNARDI, 2002).

Assim, as variações nos valores de pH observadas entre as diferentes formulações semissólidas podem ser consideradas normais, já que estão dentro da faixa ideal para formulações tópicas (Tabela 5).

Tabela 5. Valores de pH das diferentes formulações acrescida e não de extrato; $\pm$ média de 3 amostras por condição (n=3)

Formulações	pH (base)	pH (com extrato)
F1	5,84 $\pm$ 0,006	5,38 $\pm$ 0,007
F2	5,86 $\pm$ 0,007	5,86 $\pm$ 0,006

F3	5,96±0,01	5,68±0,047
F4	5,85±0,008	5,5±0,019
F5	5,17±0,007	5,5±0,052
F6	5,7±0,005	5,49±0,008
F7	5,3±0,033	5,05±0,015
F8	6,5±0,006	5,27±0,025

5.5.2.3. Teste de Centrifugação

Em conformidade com a RDC N° 318, 2019, o teste de centrifugação consiste em uma atuação da força da gravidade sobre os produtos, fazendo com que em seu interior haja uma movimentação das partículas. A 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 sedimento compacto (*caking*) e coalescência, entre outras.

As amostras foram centrifugadas em temperatura, tempo e velocidade padronizados. Com a realização desse teste, objetivou-se em um curto espaço de tempo, avaliar possíveis instabilidades físicas que podem atingir as formulações. Após a realização do mesmo, os resultados obtidos não demonstraram sinal de separação de fases, não havendo assim indícios de instabilidade (ISAAC, et al., 2008) em nenhuma das formulações acrescidas ou não de extrato (Figura 20).

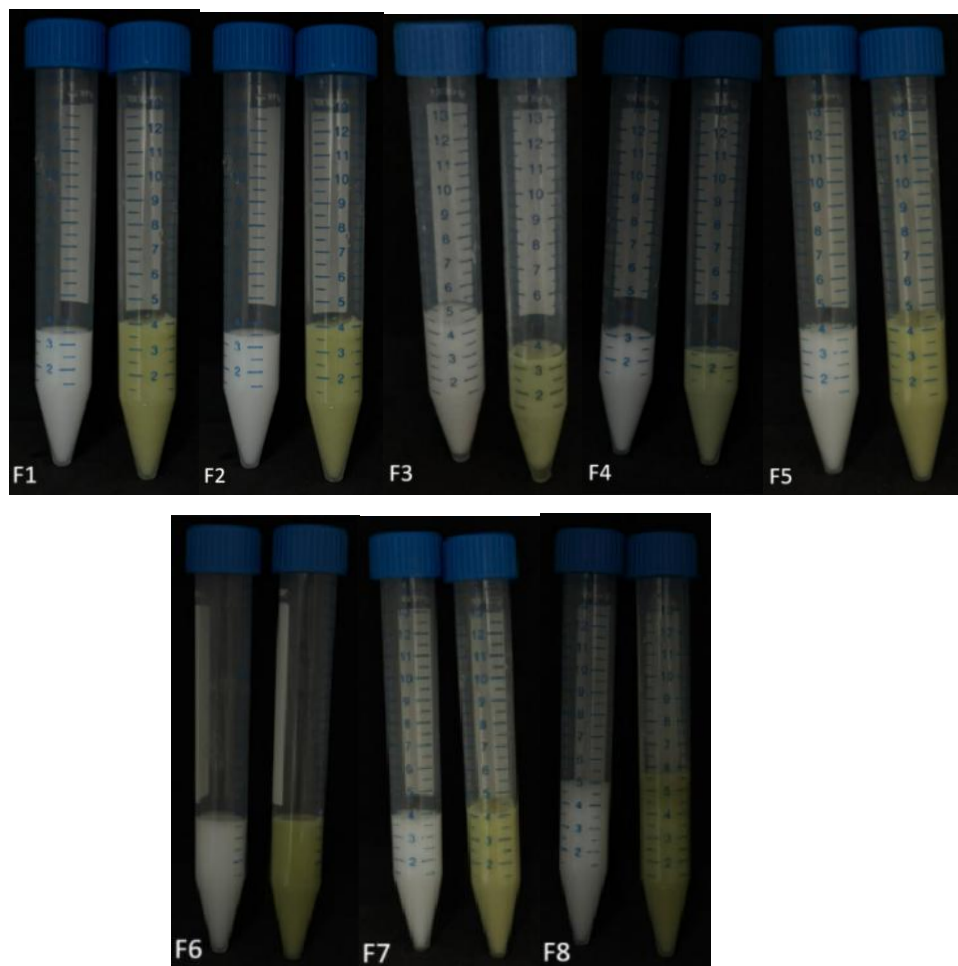


Figura 20. Centrifugação das formulações semissólidas desenvolvidas (F1-F8). Fonte: Próprio Autor, 2026.

5.5.2.4. Teste de espalhabilidade

A capacidade de uma formulação de se espalhar quando submetida a uma força específica é avaliada por meio do teste de espalhabilidade, que busca simular as condições de esforço necessárias para sua aplicação sobre a pele. Esse parâmetro está diretamente relacionado à viscosidade da formulação (SPELLMEIER, 2005). Do ponto de vista sensorial e de eficácia, as características de espalhamento de uma emulsão sobre a pele são de grande importância (ISAAC, et al., 2008; SANTOS, et al., 2021).

Neste trabalho, a determinação da consistência por espalhabilidade foi usada como opção para avaliar a capacidade de expansão das formulações estudadas sobre uma superfície em função do peso aplicado. Os resultados obtidos no estudo de espalhabilidade demonstraram que todas as formulações apresentaram boa espalhabilidade, um quesito que corresponde a uma

das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica (MARTINS, et al., 2008).

Os valores de espalhabilidade obtidos para as diferentes formulações, cremes e géis-cremes adicionados de extrato, em função do maior peso aplicado, estão representados nas Figuras 21A e 21B, e revelam que as formulações cremes demonstraram maior espalhabilidade e, portanto, menor viscosidade do que os géis-cremes incorporados com o ativo vegetal. Isso pode ser explicado pela presença de maior componente de material graxo, que proporciona maior emoliência e deslizamento à emulsão (PEREIRA, et al., 2020). Ademais, foi observado que, independentemente do tipo e da concentração da base autoemulsionante, não houve diferença estatística entre os cremes (Figura 21A). Contudo, podemos verificar que os valores encontrados de espalhabilidade para as bases autoemulsionantes na mesma concentração são mais próximos entre si (Figura 21A).

Além disso, observou-se que a composição dos ingredientes na formulação de gel-creme apresentou maior impacto nas características de espalhamento, sendo que a formulação F8, preparada com Polawax® e Natrosol®, demonstrou maior valor de espalhabilidade, sendo estatisticamente diferente das outras formulações de gel-creme (Figura 21B). Adicionalmente, as bases das formulações (sem adição do extrato) também foram avaliadas, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas em relação às formulações correspondentes.

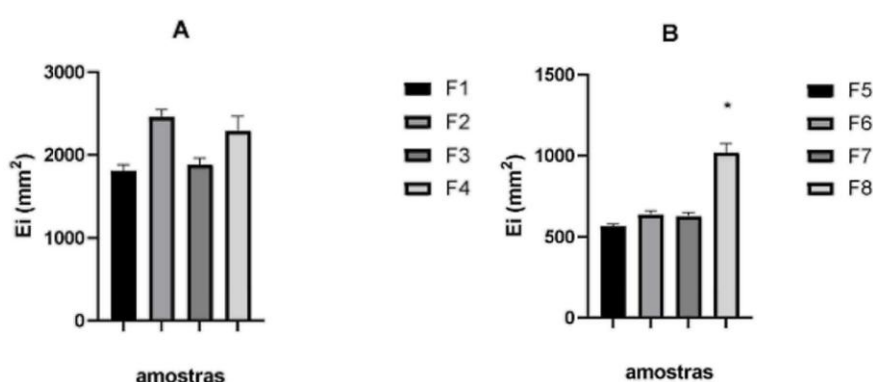


Figura 21. Espalhabilidade (mm²) das diferentes formulações tópicas adicionadas de extrato (*diferença estatisticamente significativa em comparação às demais formulações, $p < 0,05$). Fonte: Próprio Autor, 2026.

A espalhabilidade é um fator essencial para a eficácia e aceitação de produtos tópicos, pois influencia diretamente a uniformidade da aplicação e a satisfação do consumidor. Produtos com baixa espalhabilidade podem comprometer a distribuição uniforme do princípio ativo,

impactando negativamente a experiência do usuário e reduzindo a aceitação do produto (FAVERO, 2017).

5.5.3. Avaliação antioxidante das formulações

5.5.3.1. Determinação da atividade sequestradora do radical livre DPPH

As moléculas ativas presentes nos extratos possuem propriedades químicas e características físicas que devem ser consideradas no desenvolvimento de formulações farmacêuticas. Além disso, formas farmacêuticas semissólidas, devido às suas propriedades coloidais, influenciam na biodisponibilidade dos fármacos (MARQUELE, et al., 2007). Nesse sentido, é importante utilizar formulações com diferentes proporções de lipídios e conteúdo aquoso para avaliar a atividade antioxidante de ativos provenientes de extratos vegetais (CAMPANINI, et al., 2014).

Como as substâncias ativas presentes no extrato podem interagir com o veículo, a verificação da manutenção da atividade antioxidante do extrato incorporado às formulações tópicas torna-se relevante, pois qualquer interação pode influenciar na solubilidade dos componentes, na sua difusão pelo veículo e na partição do veículo para a pele (GEORGETTI, et al., 2004). Ademais, os componentes das formulações podem interferir nos ensaios *in vitro* (MARQUELE, et al., 2005; GEORGETTI, et al., 2006).

Além disso, a complexidade das formulações pode levar à interação entre seus componentes e os métodos de análise da atividade antioxidante, comprometendo a precisão dos resultados. Essa questão ressalta a importância de considerar a matriz da formulação ao avaliar a atividade antioxidante de compostos bioativos, especialmente quando se utilizam métodos não específicos (MARQUELE, et al., 2005).

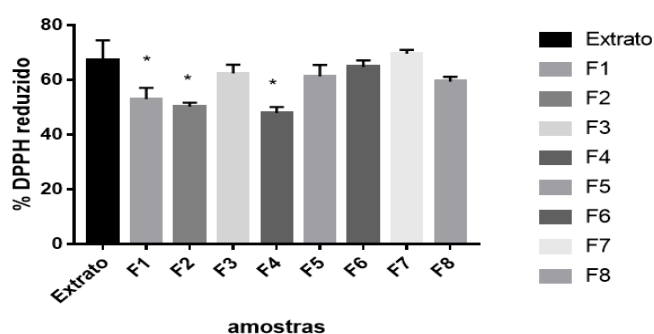


Figura 22. Avaliação da atividade antioxidante do extrato e das formulações contendo extrato: capacidade de sequestrar radical livre pelo ensaio de DPPH. *Diferença estatisticamente significativa em comparação com o extrato puro ($p < 0,05$). Fonte: Próprio Autor, 2026.

Mediante os resultados apresentados na Figura 22, observou-se que somente as formulações com maior conteúdo lipídico (cremes) apresentaram diferenças estatisticamente significativas em comparação ao extrato puro. Ressalta-se que foi realizada a comparação entre o extrato puro e as formulações contendo o extrato, com o objetivo de avaliar se as bases utilizadas exerceram influência sobre a atividade antioxidante do ativo incorporado.

Dentre elas, destacam-se as formuladas com a base autoemulsionante aniônica Lanette®, em ambas as concentrações utilizadas, de 10% e 12%. Por outro lado, com a base não iônica Polawax®, somente a formulação na qual foi utilizada maior concentração desse excipiente (F4) apresentou atividade sequestradora de DPPH estatisticamente diferente em relação ao extrato puro. Esses resultados podem estar relacionados a possíveis interações entre componentes antioxidantes presentes no extrato e a carga aniônica da cera Lanette®, enquanto a diminuição da atividade observada com a cera não iônica Polawax® pode estar relacionada à maior quantidade utilizada na fórmula (15%), possibilitando maior interação com ativos de menor polaridade, como os terpenos observados pelo CCD (dados não mostrados).

Em concordância, todas as formulações manipuladas com menor conteúdo lipídico (géis-cremes), independentemente dos tipos de excipientes utilizados, não apresentaram diminuição estatisticamente significativa em relação ao extrato puro (Figura 22). Portanto, neste ensaio, observou-se que, independentemente do tipo de base autoemulsionante e do polímero utilizado para preparo das formulações em géis-cremes, não houve redução da atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH (Figura 22).

5.5.3.2. Determinação da atividade sequestradora do radical ABTS

No ensaio de sequestro do radical livre ABTS, verificou-se um comportamento diferente em relação à atividade antioxidante do extrato após sua incorporação nas diferentes bases. Neste ensaio, observou-se uma diminuição da atividade no creme Lanette® somente na menor concentração utilizada (10%) e em todas as formulações de géis-cremes, ou seja, com menor conteúdo lipídico e independentemente do tipo de base autoemulsionante e polímero utilizados (Figura 23). Ressalta-se que foi realizada a comparação entre o extrato puro e as formulações

contendo o extrato, com o objetivo de avaliar se as bases utilizadas exerceram influência sobre a atividade antioxidante do ativo incorporado.

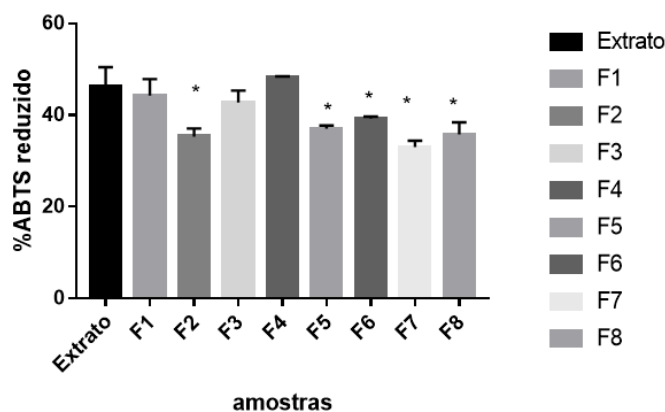


Figura 23. Avaliação da atividade antioxidante do extrato e das formulações contendo extrato: capacidade de sequestrar radical livre pelo ensaio de ABTS. *Diferença estatisticamente significativa em comparação com o extrato puro ($p < 0,05$). Fonte: Próprio autor, 2026.

Portanto, pode-se sugerir que as propriedades coloidais das formulações de géis-cremes utilizadas podem promover interações com os componentes do extrato responsáveis pela capacidade de doar elétrons para o cátion radical ABTS. Além disso, a interferência de componentes da formulação pode ocorrer no desenvolvimento das reações envolvidas nos métodos antioxidantes, podendo haver possível inibição dessa atividade por esses componentes. Isso levanta preocupações quanto às formulações, uma vez que uma das tarefas mais desafiadoras na avaliação de formulações tópicas é lidar com a presença de compostos que podem causar interferência quando se utiliza um método não específico (MARQUELE, et al., 2005).

Em estudo realizado por Campanini et al. (2014), com formulações creme e gel-creme aditivadas com extrato de *Pimenta pseudocaryophyllus*, observou-se manutenção da capacidade de sequestrar o radical DPPH, enquanto nos ensaios FRAP e ABTS ocorreu uma diminuição da atividade do extrato após sua incorporação nas formulações.

Esses resultados corroboram a importância da escolha adequada dos veículos semissólidos para a preservação da atividade antioxidante de extratos naturais. Conforme discutido na literatura, a estabilidade e a eficácia de compostos antioxidantes em formulações de uso tópico podem ser afetadas por fatores como a polaridade dos componentes da base, interações físico-químicas e o conteúdo lipídico da formulação (FAVERO, 2017; GEORGETTI, et al., 2006; MARQUELE, et al., 2005).

Mediante dados da literatura supracitados e dos resultados das características farmacotécnicas e da atividade antioxidante das diferentes formulações tópicas (F1–F8), foram escolhidas a formulação creme F3 e o gel-creme F7, que apresentam a mesma base auto emulsionante na sua composição, bem como a metodologia de DPPH para os estudos subsequentes de estabilidade e retenção *in vitro*, uma vez que todas as formulações de géis-cremes avaliadas (F5-F8) no ensaio de ABTS apresentaram uma redução da atividade comparadas com o extrato puro.

5.5.3.3. Teste de Estabilidade

As formas farmacêuticas semissólidas emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, preparadas pela mistura de dois ou mais líquidos imiscíveis, estabilizadas pela presença de um agente emulsionante, que reduz a tensão interfacial (PIANOVSKI, et al., 2008). Assim, os excipientes utilizados no desenvolvimento de emulsões possuem fundamental importância para atingir a estabilidade cinética, pois apresentam funções essenciais como solubilizar, diluir, emulsificar, estabilizar e conservar. Os excipientes devem apresentar características como inércia, toxicidade nula, compatibilidade com os demais excipientes e com o ativo, além de reprodutibilidade lote a lote (FRAZOL; REZENDE, 2015; COSTA, et al., 2021). Cada componente, ativo ou não, pode influenciar na estabilidade da formulação, assim como fatores relacionados ao processo de fabricação, armazenamento e transporte (ANVISA, 2004).

São considerados fatores intrínsecos aqueles relacionados à adição de qualquer componente que possa alterar a estabilidade da formulação, incluindo incompatibilidades físicas e químicas, como variações de pH, reações de oxi-redução e hidrólise, além de interações entre os componentes e com o material da embalagem. Os fatores extrínsecos que influenciam a estabilidade incluem materiais de embalagem, processo de fabricação, condições ambientais e de transporte (ANVISA, 2004).

Plantas desempenham papel relevante como fonte de produtos naturais biologicamente ativos com importância cosmética e dermatológica (CHERUBIM et al., 2019). A presença de extratos naturais em formulações tópicas caracteriza os produtos tópicos, que são amplamente utilizados, exigindo caracterização e consideração de aspectos relacionados à estabilidade física e química. Assim, a avaliação da estabilidade física e química dos produtos tópicos torna-se um

parâmetro fundamental para a aplicação do produto (ISAAC, et al., 2008; DEUSCHLÉ, et al., 2015).

A análise das características organolépticas permite detectar modificações macroscópicas e sensoriais das formulações em relação ao tempo zero, indicando possíveis instabilidades físico-químicas, como separação de fases, precipitação e turvação. Essa avaliação é realizada por meio dos sentidos humanos, como aspecto, cor, odor, sabor e tato, possibilitando rápida avaliação das características do produto (ANVISA, 2007; BORGES, 2019). Além disso, fornece parâmetros para aceitação do produto pelo consumidor (ANVISA, 2004).

Ao analisar sensorialmente as propriedades de cor, odor e aspecto das formulações F3 e F7, armazenadas em diferentes condições ao longo de 180 dias (Tabela 6), as amostras demonstraram-se visualmente estáveis, sem modificações no odor e mantendo a consistência característica inicial. Após 180 dias de estocagem nas diferentes condições de temperatura, as formulações base mantiveram odor e cor esbranquiçada, característicos da base Polawax®, enquanto as formulações aditivadas mantiveram odor e coloração características do extrato incorporado.

Tabela 6. Análise macroscópica das formulações tópicas contendo extrato de *Schinus terebinthifolius* durante o período de 6 meses em temperatura ambiente, temperatura 4°C e temperatura 40°C.

Formulações	Cor ¹	Odor	Aspecto ²
F3	LE	Característico	SA
F7	LE	Característico	SA

LE: levemente esverdeado; SA: sem alterações.

Conforme a RDC N°318 (2019), o teste de centrifugação submete os produtos à força centrífuga, promovendo a movimentação das partículas internas. Esse procedimento simula o aumento da gravidade e antecipa possíveis instabilidades, como precipitação, separação de fases, formação de sedimento compacto (*caking*) e coalescência. Assim, a estabilidade de uma emulsão é entendida como o tempo até a percepção visual da separação de suas fases, podendo variar de minutos a anos (FRAZOL; REZENDE, 2015).

As amostras foram centrifugadas sob condições padronizadas de temperatura, tempo e velocidade, com o objetivo de avaliar rapidamente potenciais instabilidades físicas e químicas nas formulações. Observou-se que as formulações F3 e F7, com ou sem extrato, armazenadas em diferentes condições e avaliadas nos diferentes tempos de amostragem, não apresentaram sinais de instabilidade após o teste de centrifugação, mantendo sua estrutura inicial. Abaixo está demonstrado a estabilidade física, após teste de centrifugação, das formulações nos períodos 0 e 180 dias (Figuras 26 e 27).

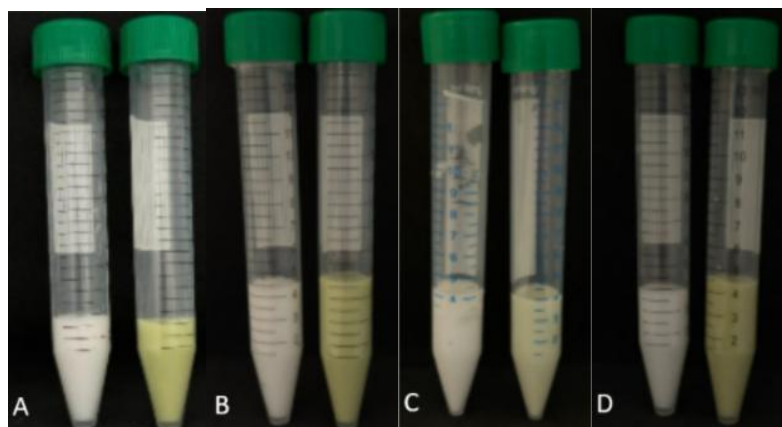


Figura 24. Análise das formulações creme (F3) aditivadas com extrato de *Schinus terebinthifolius* ou não, nos períodos 0 e 180 dias, armazenadas em diferentes condições após centrifugação. (A) Tempo 0, (B) 180 dias a 4°C, (C) 180 dias à TA, (D) 180 dias a 40°C. Fonte: Próprio Autor, 2026.

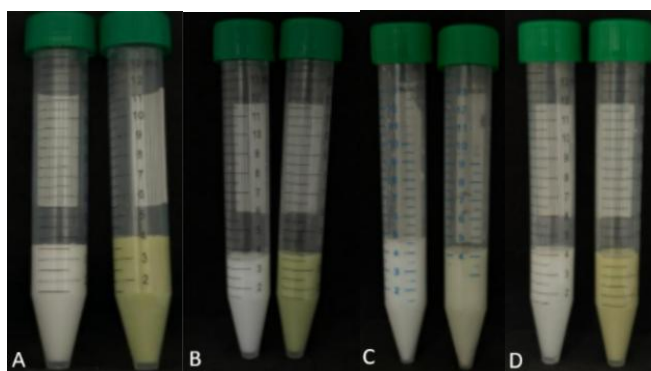


Figura 25. Análise das formulações gel-creme (F7) aditivadas com extrato de *Schinus terebinthifolius* ou não, nos períodos 0 e 180 dias, armazenadas em diferentes condições após centrifugação. (A) Tempo 0, (B) 180 dias a 4°C, (C) 180 dias à TA, (D) 180 dias a 40°C. Fonte: Próprio Autor, 2026.

O pH das formulações está intimamente associado à estabilidade dos componentes, bem como à eficácia e segurança do produto, uma vez que alterações podem modificar as características físico-químicas, influenciando estabilidade, biodisponibilidade e biocompatibilidade (ANVISA, 2004). Além disso, as formulações tópicas devem possuir pH

próximo ao da pele (5,5 a 6,5), garantindo compatibilidade e minimizando irritações (ANSEL, 2011). Os valores de pH obtidos para F3 e F7, com ou sem extrato de *S. terebinthifolius*, se mantiveram compatíveis com o pH fisiológico da pele durante todo o período de análise nas diferentes condições de armazenamento (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7. Valores de pH da fórmula F3, com e sem extrato de *Schinus terebinthifolius*, armazenadas em diferentes condições durante 6 meses.

Intervalo	4°C (base/ativo)	TA (base/ativo)	40°C (base/ativo)
0 horas	5,79±0,01 / 5,49±0,01	5,79±0,01 / 5,49±0,01	5,79±0,01 / 5,49±0,01
48 horas	5,46±0,03 / 5,52±0,02	5,48±0,05 / 5,67±0,005	5,48±0,005 / 5,42±0,01
7 dias	5,53±0,01 / 5,42±0,04	5,66±0,02 / 5,25±0,04	5,47±0,01 / 5,25±0,02
20 dias	5,89±0,06 / 5,91±0,04	6,15±0,05 / 5,53±0,05	5,58±0,09 / 5,43±0,03
30 dias	5,64±0,02 / 5,44±0,03	5,94±0,04 / 5,53±0,08	5,98±0,05 / 5,32±0,03
60 dias	5,65±0,01 / 5,63±0,02	5,47±0,005 / 5,08±0,01	5,47±0,005 / 5,04±0,04
90 dias	5,79±0,005 / 5,51±0,01	5,66±0,005 / 5,97±0,01	5,82±0,02 / 5,78±0,05
180 dias	5,62±0,02 / 5,56±0,03	5,59 ±0,03/ 5,54±0,01	5,52±0,03 / 5,55±0,05

(*) Média de 3 amostras por condição (n=3),

Tabela 8. Valores de pH da fórmula F7, com e sem extrato de *Schinus terebinthifolius*, armazenadas em diferentes condições durante 6 meses.

Intervalo	4°C (base/ativo)	TA (base/ativo)	40°C (base/ativo)
0 horas	5,39±0,01 / 5,64±0,03	5,39±0,01 / 5,64±0,03	5,39±0,01 / 5,64±0,03
48 horas	5,32±0,005 / 5,49±0,03	5,16±0,02 / 5,42±0,03	5,46±0,01 / 5,41±0,02
7 dias	5,25±0,02 / 5,33±0,02	5,35±0,02 / 5,45±0,04	5,52±0,02 / 5,31±0,01
20 dias	5,74±0,1 / 5,88±0,1	5,51±0,02 / 5,40±0,01	5,67±0,02 / 5,54±0,01
30 dias	5,37±0,01 / 5,43±0,01	5,38±0,005 / 5,24±0,03	5,30±0,02 / 5,19±0,02
60 dias	5,42±0,03 / 5,47±0,01	5,34±0,02 / 5,06±0,05	5,41±0,01 / 5,19±0,01
90 dias	5,45±0,02 / 5,57±0,005	5,43±0,03 / 5,13±0,02	5,67±0,01 / 5,37±0,01
180 dias	5,62±0,05 / 5,56±0,03	5,59±0,02/ 5,54±0,01	5,52±0,05 / 5,55±0,03

(*) Média de 3 amostras por condição (n=3),

O teste de espalhabilidade possibilita identificar possíveis alterações na consistência das formulações (BORGHETTI; KNORST, 2006; BORGES, 2019). No presente estudo, avaliou-se a espalhabilidade das formulações F3 e F7 incorporadas com extrato e estocadas em diferentes condições de temperatura.

Na Figura 26 observa-se o comportamento da espalhabilidade média (Ei) das formulações no dia zero e após 180 dias de armazenamento nas três condições avaliadas. Os resultados demonstraram que, para F3 e F7, não houve diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) ao longo do estudo, mesmo sob condições de temperatura acelerada e refrigeração, mantendo a capacidade de espalhamento, o que indica adequação para aplicação cutânea.

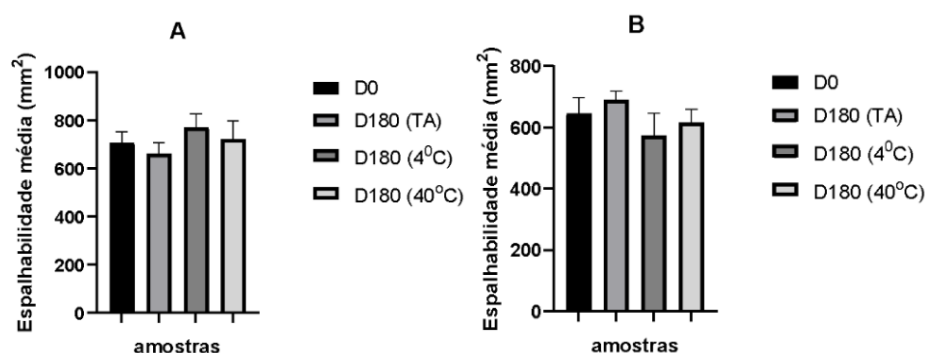


Figura 26. Espalhabilidade máxima obtida para F3 (A) e F7 (B) mantidas à temperatura ambiente (TA), 4°C e em condições aceleradas (40°C $\pm$ 2°C / 75% UR). Fonte: Próprio Autor, 2026.

Visando à propriedade antioxidante do extrato de *S. terebinthifolius*, este foi incorporado às formulações para prevenir a ação da RUV sobre a pele, que resulta em danos cutâneos como o fotoenvelhecimento, um conjunto complexo de alterações histológicas, funcionais e clínicas detectadas prematuramente em áreas frequentemente expostas à RUV (HAN; CHIEN, KANG, 2014), levando à diminuição das capacidades fisiológicas e protetoras das células (GILCHREST, 2013). A incorporação de ativos antioxidantes, especialmente naturais, é alvo de grande interesse pela sua capacidade de proteger ou reverter os efeitos da RUV (KOSTYUK, et al., 2018).

Para analisar a estabilidade funcional das formulações aditivadas com o extrato, mantidas por 180 dias em 4°C, TA e 40 $\pm$ 2°C/75 $\pm$ 5% UR, utilizou-se o método DPPH, que avalia a capacidade do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) de receber um elétron do extrato para manter sua estabilidade (CAMPANINI, et al., 2013).

Assim, realizou-se análise comparativa da capacidade antioxidante entre os tempos zero (T0) e 180 (T180) dias para o extrato puro e as formulações. Observou-se que as condições de armazenamento e os componentes das formulações influenciaram a atividade antioxidante. O extrato manteve sua capacidade doadora de elétrons aos radicais DPPH, permanecendo estável em todas as condições (Figura 27).

A atividade sequestradora no tempo zero para EA, F3 e F7 foi de $60,14 \pm 1,06$, $52,10 \pm 0,198$ e $49,38 \pm 0,47$, respectivamente. Após 180 dias, as formulações armazenadas a 4°C , mantiveram sua capacidade sequestradora de radical livre. Enquanto, na condição de $40 \pm 2^\circ\text{C}/75 \pm 5\% \text{ UR}$, a F3 apresentou uma atividade de $47,63\% \pm 0,50$ e F7 de $35,73 \pm 0,44$, correspondendo a uma perda de aproximadamente 8,6% e 27,6%, respectivamente. Na temperatura ambiente, F3 manteve a estabilidade funcional ($55,70\% \pm 1,2$), enquanto a F7 que apresenta menor conteúdo lipídico em sua composição apresentou uma atividade de $38,93\% \pm 1,35$, que caracteriza uma diminuição de atividade de cerca de 21%. Diante desses resultados, para a realização dos ensaios subsequentes, incluindo os testes in vivo, as formulações foram mantidas sob armazenamento a 4°C .

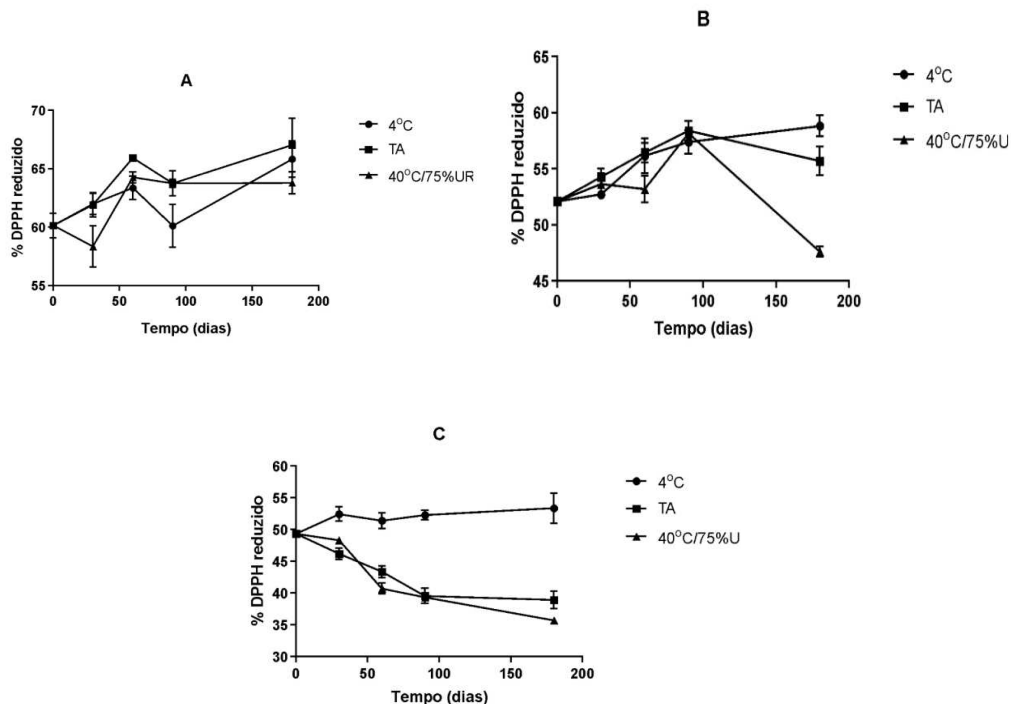


Figura 27. Estabilidade funcional do extrato puro (A), formulação creme F3 (B) e gel-creme F7 (C) contendo extrato de *Schinus terebinthifolius*, armazenados a 4°C , TA e $40^\circ\text{C}/75\% \text{ UR}$ por 180 dias. Fonte: Próprio Autor, 2026.

As reduções observadas podem ser explicadas pelas reações de hidrólise comuns em formulações com maior teor aquoso (ANVISA, 2004), que podem causar degradação dos componentes ativos (WATERMAN, et al., 2005; CAMPANINI et al., 2013). Isso sugere que a formulação F7, com maior conteúdo aquoso, teve maior degradação sob condições drásticas, resultando na diminuição da capacidade antioxidante. Georgetti et al., 2008, verificaram por meio do teste de inibição da peroxidação lipídica, uma perda acima de 20%, da atividade antioxidante do extrato adicionado em formulação tanto em formulação creme como em gel creme, após período de 180 dias em condição acelerada de temperatura. Campanini et al., 2013, observaram uma perda da atividade antioxidante de formulação gel creme adicionada de extrato de *Pimenta pseudocaryophyllus* três vezes maior que da formulação creme em condição acelerada de estocagem.

5.5.4. Estudo de permeação e retenção cutânea *in vitro* com a célula de Franz

5.5.4.1. *Sink Conditions*

O método de *sink conditions* refere-se a uma abordagem experimental na qual a concentração do composto de interesse é mantida suficientemente baixa para evitar a saturação da solução, garantindo que o composto seja continuamente removido do local de aplicação. Isso é fundamental para obter dados precisos sobre as taxas de liberação e permeação, pois impede a acumulação do composto na superfície e simula melhor as condições reais de absorção através da pele. Manter o meio receptor em fluxo constante e livre de saturação permite uma avaliação mais eficaz da eficiência de diferentes formulações, como cremes, géis e soluções, no que diz respeito à liberação e permeação do princípio ativo (WANG et al., 2019; HIGUCHI, 1960).

A célula vertical do tipo Franz (Figura 28) apresenta um compartimento doador e outro receptor, este último preenchido com uma solução receptora capaz de criar uma condição de não saturação do sistema dinâmico, designada como condição *sink* (SILVA et al., 2009). Portanto, a avaliação das condições *sink* foi realizada para garantir que durante o ensaio de retenção/permeação *in vitro* do extrato de pimenta rosa fossem mantidas essas condições ao longo do experimento. Isso assegura que a difusão no sentido contrário não ocorra e que a solubilidade não seja fator limitante na taxa de liberação ou fluxo durante o experimento (OECD, 2004).

Neste estudo, a solução tampão fosfato pH 7,4 foi empregada com o intuito de mimetizar as condições fisiológicas da pele e solução de tampão fosfato pH 7,4 acrescidas de 10% de

etanol foram utilizadas para avaliar a necessidade do emprego do solvente para alcançar a condição *sink*.

Para verificar se a solução utilizada é capaz de solubilizar o extrato presente em 500 mg de formulação (F3 e F7), foi utilizada a atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH como forma de quantificar o extrato solubilizado, uma vez que a baixa solubilização dos constituintes do extrato pode levar à redução da atividade antioxidante (FONSECA, 2010).

Após as devidas diluições, as concentrações de extrato de pimenta rosa contidas em 500 mg de extrato (25 μ L) e em dez vezes mais (250 μ L), adicionadas em solução receptora tampão fosfato, demonstraram 39,65% $\pm$ 0,69 e 42,42% $\pm$ 0,83 de redução do radical DPPH•, respectivamente. Essas mesmas concentrações de extrato diluídas em solução tampão fosfato com 10% de etanol demonstraram 41,39% $\pm$ 0,30 e 40,46% $\pm$ 0,94 de redução do radical DPPH, respectivamente (Figura 28)

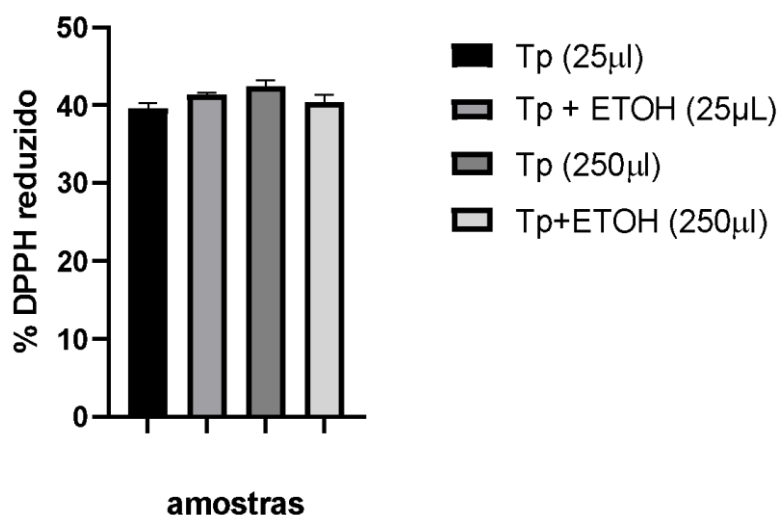


Figura 28. Porcentagens de redução do radical DPPH encontradas para as amostras no estudo de *sink conditions*. Os resultados representam a média de seis determinações $\pm$ EPM. Onde: Tp 25 μ L — solução tampão fosfato pH 7,4 adicionada com quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação; Tp + ETOH 25 μ L — solução tampão fosfato pH 7,4 com 10% de etanol adicionada com quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação; Tp 250 μ L — solução tampão fosfato pH 7,4 adicionada com dez vezes a quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação; Tp + ETOH 250 μ L — solução tampão fosfato pH 7,4 com 10% de etanol adicionada com dez vezes a quantidade de extrato contida em 500 mg de formulação. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Após a análise estatística (Figura 28), foi verificado que as amostras não apresentam diferença significativa, indicando a possibilidade do uso do tampão fosfato pH 7,4 como meio receptor para estudos de retenção/permeação *in vitro*, devido à sua capacidade em solubilizar adequadamente os componentes antioxidantes do extrato.

5.5.4.2. Permeação e Retenção Cutânea

A permeação de compostos bioativos na pele e sua retenção nas diferentes camadas cutâneas é um aspecto crucial no desenvolvimento de formulações cosméticas e terapêuticas (BUTKEVICIUTE et al., 2022). Para estudos de penetração *in vitro* através da pele, considera-se ideal o uso de pele humana como modelo. Contudo, a baixa disponibilidade desse material, assim como a dificuldade e os custos para armazenamento, além de questões relacionadas à viabilidade do modelo, torna seu uso limitado (BABY et al., 2008). Nesse contexto, o protocolo utilizado na presente análise foi adaptado a partir da metodologia descrita por Sánchez-González et al. (2005).

A pele de camundongos sem pelos tem sido utilizada em estudos de penetração cutânea (ROPKE et al., 2002; MARQUELE, et al., 2007). A principal vantagem na utilização desses animais está no fato de serem de pequeno porte, de fácil manuseio e de custo relativamente baixo. A ausência de pelos mimetiza a pele humana e, por não ser necessária a remoção dos pelos, evita-se o risco de danos ao tecido cutâneo (GODIN; TOUITOU, 2007).

Assim, o estudo de permeação e retenção na pele de camundongos sem pelo foi conduzido por 12 horas. Para a quantificação do extrato que permeou e permaneceu retido na pele íntegra, utilizou-se como ferramenta a atividade antioxidante da solução obtida após a permeação e retenção na epiderme/derme. Para isso, foram aplicadas curvas analíticas construídas a partir da relação entre a concentração de extrato e a porcentagem de redução do radical DPPH, previamente determinadas em função da área de contato. Foram comparadas amostras de extrato puro equivalente à concentração adicionada a 0,5 g nas formulações, dissolvido em 500 µL de propilenoglicol, com as formulações F3 e F7.

Na avaliação da permeação cutânea do extrato puro e do extrato incorporado nas formulações, não foi possível quantificar o extrato permeado. Isso pode ter ocorrido devido à quantidade permeada ser muito pequena ou inexistente. Além disso, para a avaliação da

atividade antioxidante pelo método do DPPH, há diluição da amostra, já que apenas 200 μL da solução receptora é adicionada a 2,5 mL da solução de DPPH (0,08%).

No ensaio de retenção, todas as quantidades de extrato retidas na epiderme/derme foram detectáveis pelo método.

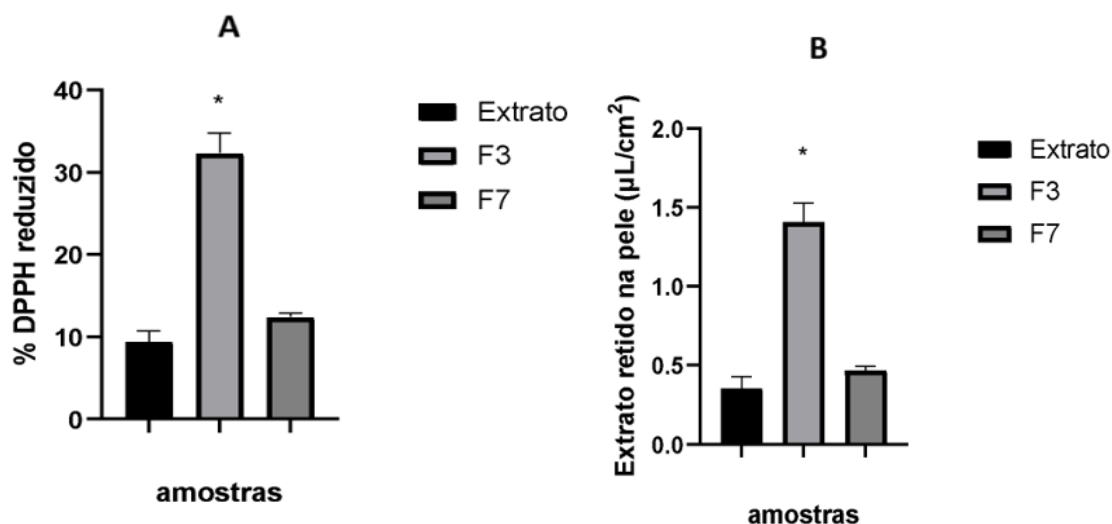


Figura 29. Retenção *in vitro* de compostos antioxidantes do extrato puro, F3 e F7 na pele de camundongos sem pelo. Porcentagem de redução do radical DPPH (A) e concentração correspondente de extrato (B), estimada para os estudos de retenção após 12 h de experimento ($p < 0,05$ comparado com extrato em propilenoglicol e F7). Fonte: Próprio Autor, 2026.

A partir da análise da porcentagem de DPPH reduzido, foram obtidos valores de $9,4\% \pm 1,34$ para o extrato puro em propilenoglicol, $32,35\% \pm 2,47$ para F3 e $12,42\% \pm 0,49$ para F7, correspondendo a $0,35 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, $1,4 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ e $0,47 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, respectivamente (Figura 29). Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre a retenção do extrato puro e da formulação F7, enquanto F3 apresentou retenção cerca de quatro vezes maior que o extrato puro e três vezes maior que F7.

Esse comportamento foi corroborado por Barry (2002), que relatou o efeito oclusivo dos cremes na retenção de substâncias na pele. A maior retenção no creme pode ser atribuída aos emolientes, que formam uma barreira semipermeável, aumentando o tempo de contato do ativo com a epiderme e, conseqüentemente, facilitando sua absorção e retenção (BARRY, 2002).

De forma semelhante, Singh e Singh (2011) discutem o impacto dos excipientes na penetração cutânea, enfatizando que formulações mais viscosas, como os cremes, oferecem maior oclusão, prolongando a exposição do ativo à pele e favorecendo sua retenção. O presente

estudo confirma esses achados, mostrando que o creme, em comparação ao gel-creme e ao extrato puro, promoveu maior retenção de extrato de *Schinus terebinthifolius* na pele. Além disso, Obata et al. (2010) também verificaram que formulações em gel tendem a apresentar menor capacidade de retenção devido à sua estrutura mais leve e menos oclusiva, o que está em consonância com os resultados obtidos para o gel-creme neste experimento.

5.5.5. Eficácia *in vivo*

Os sinais observados na pele após exposição ao sol incluem inflamação, caracterizada por eritema, edema e calor, além de elevação dos níveis de prostaglandinas e leucotrienos. A homeostase cutânea pode ser alterada após a exposição à radiação UV, diminuindo os sistemas antioxidantes e aumentando as espécies oxidantes. Além da inflamação, espécies reativas na pele podem ser geradas, e, como resultado, o sistema imunológico diminui sua capacidade de eliminar células alteradas (MATSUMURA; ANANTHASWAMY, 2004). Diante disso, e considerando a flora rica em plantas medicinais com atividades antioxidantes, fotoprotetoras e antienvelhecimento cutâneo, tem-se como alternativa a utilização de extratos vegetais para a inibição do estresse oxidativo (CAMPANINI et al., 2014; TAKAYAMA et al., 2022; MARTINEZ et al., 2020).

No contexto da *Schinus terebinthifolius*, além dos usos populares (COSTA, 2011; GAZZANEO et al., 2005; PAGANI et al., 2014), existem estudos que confirmam o potencial farmacológico da espécie (BENDAOU et al., 2010; EL-MASSRY et al., 2009; MOUSTAFA et al., 2007; SILVA et al., 2017).

Em nosso trabalho, verificou-se que o extrato obtido das folhas da *S. terebinthifolius* (EA) apresentou um conteúdo relevante de polifenóis e flavonoides totais, além da identificação dos flavonoides miricetina, isovitexina, luteolina-6-C-glicosídeo e isoquercitrina. Ademais, demonstrou-se o potencial antioxidante do extrato por diferentes metodologias *in vitro*.

Dessa forma, foi avaliada a capacidade do extrato incorporado nas formulações desenvolvidas F3 e F7 em reduzir danos oxidativos induzidos pela exposição à RUVB, por meio da eficiência em proteger a pele, inibindo a formação de edema e a secreção de MPO, bem como a depleção da capacidade antioxidante pelos métodos de GSH, ABTS e FRAP.

A RUVB pode causar eventos agudos, com aumento da permeabilidade vascular induzida por mediadores inflamatórios, resultando em exsudação, dilatação vascular, aumento

do fluxo sanguíneo, eritema, calor, migração e acúmulo de neutrófilos na lesão (CEZAR et al., 2019).

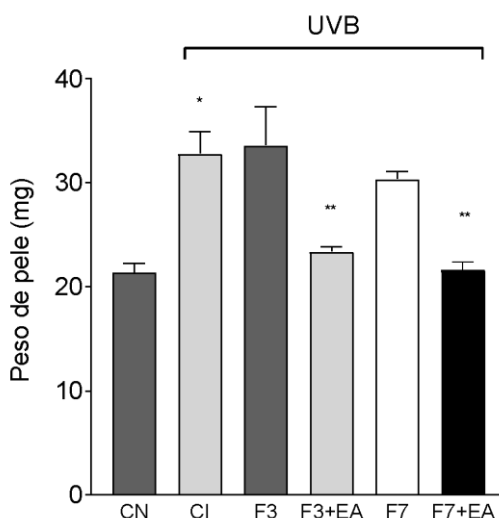


Figura 30: Avaliação da eficácia de F3 e F7 adicionadas de extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira EA na diminuição da formação de edema induzido pela radiação UVB. O edema na pele foi determinado 12 h após o término da irradiação. As barras representam médias $\pm$ EPM de 2 experimentos separados, 5 camundongos por grupo, * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle não irradiado e ** $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle irradiado e formulação controle. Legenda: CN (Controle não irradiado); CI (Controle Irradiado); F3 (Creme base); F3+EA (Creme acrescido com extrato); F7 (Gel creme base); F7+EA (Gel creme acrescido com extrato).

Fonte: Próprio Autor, 2026.

A irradiação por RUVB na dose de $4,14 \text{ J/cm}^2$ promoveu um aumento significativo de aproximadamente 35% no peso da pele em relação ao grupo controle não irradiado, evidenciando a indução de edema cutâneo. O tratamento tópico com ambas as formulações contendo o extrato de aroeira (EA) mostrou-se eficaz na atenuação desse efeito inflamatório, reduzindo o edema a níveis semelhantes aos do controle não irradiado (Figura 30). Esses resultados demonstram a capacidade das formulações em prevenir ou reverter o edema induzido pela radiação UVB, indicando um efeito anti-inflamatório tópico significativo.

A eficácia observada está em concordância com estudos prévios, como o de Fedel-Miyasato et al. (2014), que demonstraram a inibição da formação de edema induzido por óleo de cróton na orelha de ratos tratados com extrato metanólico das folhas de *S. terebinthifolius*. De forma semelhante, Formagio et al. (2011) relataram que o óleo essencial obtido dos frutos dessa espécie foi capaz de inibir o edema na pleurisia induzida por carragenina em

camundongos, reforçando o potencial anti-inflamatório da planta e corroborando os resultados obtidos no presente estudo.

A MPO desempenha um papel importante no sistema imunológico inato e pode ser usada como marcador da presença de neutrófilos ou inflamação (CAMPANINI et al., 2013). Os resultados mostraram que a RUVB induziu um aumento de aproximadamente 80% na atividade de MPO na pele dos animais irradiados não tratados e dos animais não irradiados tratados com F3 e F7 base. Corroborando com os resultados encontrados no edema, tanto a formulação creme (F3) quanto a gel creme (F7) adicionadas de extrato foram capazes de reduzir a atividade da MPO para o nível do grupo não irradiado (Figura 31).

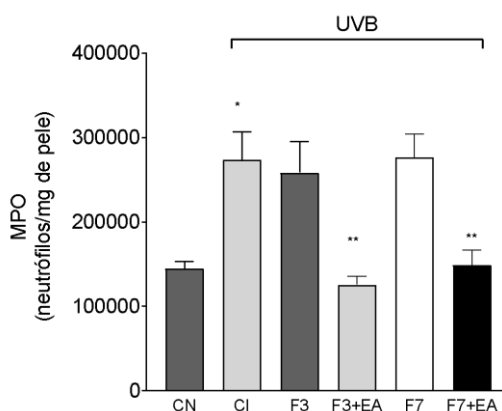


Figura 31. Avaliação da eficácia de F3 e F7 adicionadas de extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira (EA) na diminuição da atividade da MPO induzida pela radiação UVB. As barras representam médias $\pm$ EPM de 2 experimentos separados, 5 camundongos por grupo, * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle não irradiado e ** $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle irradiado e formulação controle. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Os resultados confirmam o potencial do extrato de pimenta-aroeira na redução do processo inflamatório induzido por RUVB, relacionado à presença de compostos bioativos com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Esses compostos atuam modulando mediadores inflamatórios e reduzindo o estresse oxidativo, principal mecanismo de dano causado pela RUVB (MELO JÚNIOR et al., 2000; BALOGH, 2011).

A exposição à RUVB afeta os antioxidantes da pele (CAMPANINI et al., 2014; IVAN et al., 2018; TAKAYAMA et al., 2022). Antioxidantes como ascorbato, glutathione (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase e ubiquinol são esgotados em todas as camadas após exposição à RUVB. Estudos *in vitro* (células de pele) e *in vivo* (pele de camundongos) mostraram que o dano da radiação UV na pele ocorre por meio da produção de EROS e redução das defesas antioxidantes intrínsecas (MCARDLE et al., 2002).

No estudo de SHINDO et al. (1993), foram comparados os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos na epiderme e derme e suas respostas à luz ultravioleta em camundongos sem pelos. Após a irradiação, as atividades da catalase epidérmica e dérmica e da SOD diminuíram significativamente. Alfa-tocoferol, ubiquinol 9, ubiquinona 9, ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico e GSH reduzido diminuíram na epiderme e na derme em 26% a 93%, enquanto o GSH oxidado apresentou aumento não significativo. Os autores concluíram que a luz UV é mais prejudicial às defesas antioxidantes da epiderme do que da derme.

O presente estudo avaliou a eficácia *in vivo* da F3 e F7 adicionadas de extrato na inibição da depleção da capacidade antioxidante da pele de camundongos sem pelo exposta à RUVB (Figuras 32A-C).

Os resultados demonstraram que a RUVB induziu uma diminuição de aproximadamente 77,85% dos níveis de GSH na pele dos animais irradiados não tratados. Ambas as formulações adicionadas de EA inibiram a depleção do antioxidante endógeno, mantendo níveis semelhantes ao grupo controle (não irradiado) (Figura 32A). Observou-se também que houve uma diminuição estatisticamente significativa da capacidade antioxidante total da pele avaliada pelos testes de ABTS e FRAP (Figuras 32B e C).

Neste estudo, os níveis de GSH nos grupos CN (controle não irradiado) e formulações adicionadas de 5% de EA (irradiados e tratados) foram significativamente maiores do que o grupo irradiado (CI), porém somente o grupo irradiado e tratado com F3 aditivado de EA demonstrou ser estatisticamente diferente da sua formulação controle. A administração tópica do veículo F7 e da formulação contendo EA levou a uma inibição da depleção dos níveis de GSH em cerca de 41% e 65%, respectivamente, em comparação com o controle irradiado (CI) ($p < 0,05$) (Figura 32A). Apesar de não apresentar diferença significativa do grupo tratado com F7 adicionado de extrato com grupo tratado com sua respectiva base, estes resultados demonstraram que a presença do extrato na base proporcionou um aumento de cerca de 24% nos níveis de GSH, possivelmente devido à atividade antioxidante dos componentes fitoquímicos presentes no ativo vegetal incorporado na formulação gel-creme.

A figura 32B demonstra que somente a formulação creme adicionada de 5% de EA foi capaz de inibir a depleção da capacidade sequestradora de radical ABTS na pele de camundongos expostos a RUVB quando comparado com grupo irradiado não tratado e irradiado e tratado com F3. Entretanto, a aplicação tópica da F3 (creme) e da F7 (gel creme)

contendo EA não demonstrou efetividade contra a depleção do poder redutor de ferro após exposição a RUVB (Figura 32C).

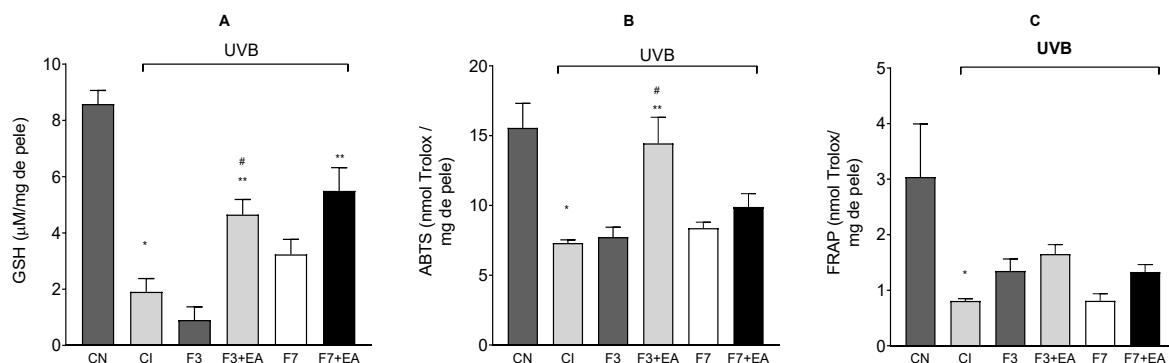


Figura 32. Avaliação da eficácia de F3 e F7 adicionadas de extrato etanólico das folhas de pimenta aroeira (EA) na inibição da depleção da capacidade antioxidante da pele induzida pela radiação UVB. (A) Níveis de GSH, (B) Capacidade sequestradora do radical ABTS e (C) Poder redutor de ferro pelo ensaio FRAP. * $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle não irradiado, ** $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle irradiado e # $p < 0,05$ em comparação com formulação controle. Fonte: Próprio Autor, 2026.

Os resultados demonstram que a diminuição significativa da capacidade antioxidante na pele de camundongos evidencia o impacto negativo do estresse oxidativo gerado pela RUVB, sugerindo a ativação de processos oxidativos prejudiciais à integridade celular (MARTINS; SILVA; PEREIRA, 2019; FUJIMURA, 2014). A aplicação tópica de EA adicionada às formulações sugere que os compostos bioativos presentes, como polifenóis e flavonoides, desempenham papel relevante contra danos fotooxidativos.

A formulação creme (F3) demonstrou desempenho superior à formulação gel creme (F7) nos resultados de eficácia antioxidante *in vivo*, possivelmente devido à maior retenção de compostos antioxidantes na pele observada no estudo *in vitro*. Estudos com *Azadirachta indica* também corroboram que formulações com maior conteúdo lipídico apresentam maior eficácia antioxidante *in vivo* (MARTINEZ et al., 2020).

6. Considerações Finais

O presente estudo investigou o potencial antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, com foco no desenvolvimento de formulações semissólidas, como cremes e gel-cremes, para uso tópico no combate aos danos oxidativos induzidos pela RUV. Os resultados obtidos evidenciam a viabilidade do uso desse extrato em produtos para aplicação cutânea, com contribuições importantes tanto na área científica quanto na inovação tecnológica de formulações tópicas.

O extrato de *Schinus terebinthifolius* Raddi demonstrou um elevado teor de compostos bioativos, como polifenóis e flavonoides, sendo identificados por UPLC–MS/MS os flavonoides miricetina, isovitexina, luteolina-6-C-glicosídeo e isoquercitrina. A avaliação do potencial antioxidante do ECV *in vitro* demonstrou atividade sequestradora de radicais livres, redutora de ferro e inibidora da peroxidação lipídica. Ademais, o extrato apresentou potencial absorção no espectro de UVB, relevante valor FPS *in vitro* mesmo após exposição a RUVB e potencial atividade antimicrobiana.

Foi verificado que componentes das formulações semissólidas podem interferir no ensaio antioxidante *in vitro* utilizado. Entretanto, a atividade antioxidante do EA pode ser avaliada com sucesso nas formulações por meio do método de DPPH.

Quanto aos estudos de estabilidade físico-química avaliados para as formulações escolhidas F3 (creme) e F7 (gel creme), ambas mantiveram boas características em todas as condições de estocagem, porém F3 foi mais estável em temperatura acelerada na estabilidade funcional avaliada pelo ensaio de DPPH. Ainda, verificou-se que F3 apresentou maior retenção de compostos bioativos com capacidade antioxidante na pele de camundongos sem pelo.

Os resultados *in vivo* demonstraram que o tratamento com ambas as formulações foi eficaz na melhora dos parâmetros inflamatórios (edema e inibição da MPO), enquanto nos parâmetros oxidativos, a F3 apresentou melhor potencial, corroborando os resultados de retenção *in vitro*. Apesar de fortes evidências do efeito fotoquimioprotetor do extrato de pimenta aroeira, estudos adicionais são necessários para melhor esclarecer os mecanismos de ação deste efeito.

O presente estudo fornece uma base sólida para novas investigações e inovações no desenvolvimento de formulações tópicas terapêuticas, especialmente aquelas que aliem eficácia antioxidante, sustentabilidade e segurança cutânea. Nesse contexto, destaca-se a utilização de métodos alternativos, como o ensaio HET-CAM (*Hemmung des Erythem- und Test der Chorioallantoismembran*), amplamente empregado para a avaliação do potencial de irritação e toxicidade de substâncias, incluindo produtos tópicos. Esse método utiliza o ovo de galinha fertilizado, cuja membrana corioalantóica é altamente vascularizada e capaz de mimetizar a conjuntiva ocular humana, representando uma alternativa ética e eficaz aos testes em animais. Ademais, a utilização de *Schinus terebinthifolius*, uma espécie amplamente distribuída no Brasil, contribui para a valorização da biodiversidade local, oferecendo uma abordagem ecológica e promissora para o desenvolvimento de produtos voltados à fotoproteção e ao cuidado da pele.

7. Referências

ALVES, Karen Lorryne da Mata. Desenvolvimento e avaliação de estabilidade preliminar de emulsões cosméticas utilizando nanopartículas lipídicas sólidas de muru muru (*Astrocaryum murumuru*) e ucuúba (*Virola surinamensis*). 2018.

ALVES, Karen Lorryne da Mata. Desenvolvimento e avaliação de estabilidade preliminar de emulsões cosméticas utilizando nanopartículas lipídicas sólidas de muru muru (*Astrocaryum murumuru*) e ucuúba (*Virola surinamensis*). 2018.

AMORIM, N. T.; MARCÍLIO, M. R.; RAISER, A. L.; GLUSCZAK, L.; ANDRIGHETTI, C. R.; RIBEIRO, E. B.; VALLADÃO, D. M. S. Desenvolvimento, estudo da estabilidade e da potencial atividade antioxidante de emulsão cosmética contendo extrato glicólico de lichia (*Litchi chinensis* Sonn). *Revista SODEBRAS*, v. 10, n. 113, p. 62–67, 2015.

ANSEL, H. C.; ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

BARNES, P. W. et al. Ozone depletion, ultraviolet radiation, climate change and prospects for a sustainable future. *Nature Sustainability*, v. 2, n. 7, p. 569–579, 2019.

BENDAOUD, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, J. P.; CAZAUX, S.; BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. *Journal of Food Science*, v. 75, p. 466–472, 2010.

BERNARD, J. J.; GALLO, R. L.; KRUTMANN, J. Photoimmunology: how ultraviolet radiation affects the immune system. *Nature Reviews Immunology*, v. 19, n. 11, p. 688–701, 2019.

BERNARDO, Ana Flávia Cunha; SANTOS, Kamila dos; SILVA, Débora Parreiras da. Pele: alterações anatômicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. *Revista Saúde em Foco*, v. 1, n. 11, p. 1221–1233, 2019.

BIOTECHNOLOGY. *Biotechnology*, v. 29, out. 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: ANVISA, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estudos de estabilidade de medicamentos. Guia nº 28/2019, versão 1. Brasília, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 318, de 6 de novembro de 2019. Dispõe sobre os critérios para a realização de estudos de

estabilidade de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação de Medicamentos Essenciais 2022. Brasília, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME 2024. Brasília: Ministério da Saúde, 2024.

BRITO FILHO, Gervásio Evangelista. Histologia, variações fenotípicas e modificações cutâneas: um enfoque teórico-prático para o ensino médio. 2023.

BRONAUGH, R. L.; COLLIER, S. W. In vitro methods for measuring skin permeation. In: ZATZ, J. L. Skin permeation: fundamentals and application. Wheaton: Allured Publishing Corporation, 1993. p. 93–111.

BUCAI, V.; GOLD, M. H.; ANDRIESSEN, A. Low molecular weight heparan sulfate containing facial skin care for reducing inflammation and restoring aged-skin homeostasis. Journal of Cosmetic Dermatology, v. 19, n. 8, p. 1851–1856, 2020.

BUTKEVICIUTE, A. et al. Dermal penetration studies of potential phenolic compounds ex vivo and their antioxidant activity in vitro. Plants, v. 11, n. 15, p. 1901, 2022.

CARNEIRO, Tuânia Soares. Compostos fenólicos em cascas, sementes e óleo da pimenta rosa obtido por prensagem a frio: estudo da bioacessibilidade da casca. 2022.

CARVALHO, M. G. et al. Schinus terebinthifolius Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, p. 158–169, 2013.

CARVALHO, R. N. et al. Procedimento de determinação da dureza e pegajosidade de arroz polido cozido em texturômetro. 2015.

CASONI, Dorina et al. Feasibility of UV–Vis spectroscopy combined with pattern recognition techniques to authenticate medicinal plant material. Journal of Analytical Science and Technology, v. 15, p. 17, 2024.

CASTRO, Marice Aparecida Ferreira; DA CUNHA RIBEIRO, Daniel; DE FREITAS, Rodrigo Randow. Análise bibliométrica sobre o uso de ultrassom em emulsões do tipo óleo em água (O/A). Research, Society and Development, v. 8, n. 1, 2019.

CASTRO, Tailaine Nascimento de; MOTA, Milleno Dantas; CAZEDEY, Edith Cristina Laignier. Atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos: uma revisão sistemática de testes in vitro. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, v. 51, n. 2, p. 557–588, 2022.

CAVALHER-MACHADO, Simone Campos et al. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves. *International Immunopharmacology*, v. 8, n. 11, p. 1552–1560, 2008.

CAVINATO, M.; JANSEN-DÜRR, P. Molecular mechanisms of UVB-induced senescence of dermal fibroblasts and its relevance for photoaging of the human skin. *Experimental Gerontology*, v. 94, p. 78–82, 2017.

CHAITHEP, Tanakarn; MUANGSANGUAN, Anantaya; CASTAGNINI, José Manuel; **et al.** *Comparative study on antioxidant potential of Schinus terebinthifolius extracts prepared by conventional extraction, accelerated solvent extraction, and pulsed electric field method. Molecules*, v. 30, n. 17, p. 3589, 2025. doi:10.3390/molecules30173589.

CHIYOKURO, G. C. et al. Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Grewia carpinifolia* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 185, p. 144–150, 2016.

COSTA, Cinara Oliveira D'Sousa; RIBEIRO, Paulo Roberto; LOUREIRO, Maria Beatriz; SIMÕES, Rosiane Cristina; DE CASTRO, Renato Delmondez; FERNANDEZ, Luzimar Gonzaga. *Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of extracts prepared from different tissues of Schinus terebinthifolius Raddi that occurs in the coast of Bahia, Brazil. Pharmacognosy Magazine*, v. 11, n. 43, p. 607–614, 2015.

D'ORAZIO, J. A.; JARRETT, S.; AMARO-ORTIZ, A.; SCOTT, T. UV radiation and the skin: mechanisms of damage and protection strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 3, p. 1452, 2024. DOI: 10.3390/ijms25031452.

DA ROCHA, Paola dos Santos et al. Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 220, p. 36–46, 2019.

DA SILVA, Erika Matias et al. Antioxidantes naturais: uma abordagem sobre a inserção no mercado cosmético. *Natureza Online*, v. 20, n. 1, p. 37–48, 2022.

DA SILVA, Thaís Toledo et al. Benefícios da utilização dos antioxidantes na prevenção e tratamento do envelhecimento cutâneo causado pelo estresse oxidativo. *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa*, v. 40, n. especial, p. 204–222, 2024.

DE ALMEIDA, Bruna Rafaela Silva et al. Otimização da formulação de um perfume capilar. *Cuadernos de Educación y Desarrollo*, v. 16, n. 1, p. 28–50, 2024.

DE CARVALHO VICENTINI, Fabiana Testa Moura. Efeito fotoquimioprotetor de quercetina incorporada em microemulsão contra os danos na pele causados pela radiação ultravioleta. 2009.

DE CARVALHO VICENTINI, Fabiana Testa Moura. Efeito fotoquimioprotetor de quercetina incorporada em microemulsão contra os danos na pele causados pela radiação ultravioleta. 2009.

DE CASTRO, Marice Aparecida Ferreira; DA CUNHA RIBEIRO, Daniel; DE FREITAS, Rodrigo Randow. Análise bibliométrica sobre o uso de ultrassom em emulsões do tipo óleo em água (O/A). *Research, Society and Development*, v. 8, n. 1, p. e881514, 2019.

DEGÁSPARI, Cláudia Helena; WASZCZYNSKYJ, Nina; DOS SANTOS, Ricardo José. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). 2004.

DE OLIVEIRA RIBAS, Marina et al. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. *Revista Odonto Ciência*, v. 21, n. 53, p. 245–252, 2006.

DE SANTANA, Taize Matilde et al. O uso da vitamina A, vitamina C e vitamina E na prevenção do envelhecimento da pele. *Revista Científica de Estética e Cosmetologia*, v. 2, n. 1, p. E0692022-1–9, 2022.

DE SOUZA NUNES, Walesska; BORGES, Lara Aguiar; DE FARIA, Janaína Teles. Avaliação do potencial de estabilização de carboximetilcelulose em formulação modelo de emulsão do tipo O/A. *Simpósio de Engenharia de Alimentos (SIMEALI)*, 3., 2019.

DINIZ, J. A.; TAVANO, O. L.; OSTOLIN, T. L. V. D. P. Bioactive substances in food and their actions on anti-aging skin: a narrative review. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 11, p. e526111133879, 2022.

DO AMARAL, Alexandra Aparecida et al. Desenvolvimento de formulação de uso tópico baseada em uma inovação incremental contendo o princípio ativo ibuprofeno. *Revista JRG de Estudos Acadêmicos*, v. 6, n. 13, p. 2333–2345, 2023.

DO ROSÁRIO, Marcelino Santos et al. Estudo de estabilidade de emulsão cosmética com potencial de creme hidratante para o tratamento da xerose cutânea utilizando o óleo de babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.). *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 3, p. 29552–29570, 2021.

DOS SANTOS, Rauanny Pinheiro. Tratamentos convencionais e inovadores para melasma e envelhecimento da pele. *Revista FOCO*, v. 18, n. 6, p. e8783, 2025.

EL AANACHI, Soukaina et al. Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective and antimicrobial effects of *Pelargonium graveolens*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 29, p. 101819, 2020.

EL-MASSRRY, K. F.; EL-GHORAB, A. H.; SHAABAN, H. A.; SHIBAMOTO, T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p. 5265–5270, 2009.

ENDERLE, Jefferson; DENARDIN, Elton Gasparotto. *C. nutans*: atividade antioxidante frente às espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico. 2017.

EVALUATION of anti-inflammatory, immunomodulatory, chemopreventive and wound healing potentials from *Schinus terebinthifolius* methanolic extract. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 24, p. 565–575, 2014.

FONSECA, Y. M. Desenvolvimento de formulações tópicas contendo extrato de própolis verde: estudos de estabilidade, liberação, permeação e retenção cutânea. 2007. 169 p.

FONSECA, Y. M. et al. Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 127, p. 596–601, 2010.

FORTE, Ana Luiza Scarano Aguilera. Avaliação do potencial fotoquimioprotetor do extrato de *Protium heptaphyllum* em gel tópico. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo.

FURUKAWA, Juliana Yuka. Radiação ultravioleta, infravermelha, visível e artificial: impactos biológicos na pele. 2019. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo.

GAZZANEO, L. R. S.; LUCENA, R. F. P.; ALBUQUERQUE, U. P. Knowledge and use of medicinal plants by local specialists. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 1, p. 1–9, 2005.

GEORGETTI, S. R. et al. Spray drying of soybean extract: effects on chemical properties and antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, v. 41, n. 8, p. 1521–1527, 2008.

GEORGETTI, S. R. Prevention of UVB radiation-induced oxidative stress in mice by topical administration of *Azadirachta indica*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 41, p. 1–14, 2020.

GEORGETTI, S. R.; CASAGRANDE, R.; VICENTINI, F. T. M. C.; VERRI JR., W. A.; FONSECA, M. J. V. Evaluation of the activity of soybean extract in topical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 64, p. 99–106, 2006.

GRAHAM, H. K. et al. Human skin: composition, structure and visualisation methods. In: LIMBERT, G. (ed.). *Skin biophysics*. Cham: Springer, 2019.

GROMKOWSKA-KĘPKA, K. J. et al. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 20, n. 11, p. 3427–3431, 2021.

GUIMARÃES, A. G. et al. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, v. 107, n. 6, p. 949–957, 2010.

GULCIN, İ.; ALWASEL, S. H. DPPH radical scavenging assay. *Processes*, v. 11, n. 8, art. 2248, 2023.

HEGDE, A. R.; KUNDER, M. U.; NARAYANASWAMY, M. et al. Avanços em formulações de protetores solares: integrando nanocarreadores polifenólicos e nanotecnologia para proteção UV aprimorada. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 31, p. 38061–38082, 2024. HEGDE, S. M.; MANJUNATH, K.; RAMESH, A. Recent advances in sunscreen formulations and evaluation of sun protection factor. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 23, n. 4, p. 1256–1270, 2024. DOI: 10.1111/jocd.16084.

HERNANDEZ, M. I. et al. Antioxidant activity of natural extracts and their cosmetic applications. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 40, n. 3, p. 267–275, 2018.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 24444:2024 — Cosmetics — Sun protection test methods — In vivo determination of the sun protection factor (SPF). Geneva: ISO, 2024.

JESUMANI, Valentina et al. Comparative study on skin protection activity of polyphenol-rich extract and polysaccharide-rich extract from *Sargassum vachellianum*. *PLoS One*, v. 15, n. 1, e0227308, 2020.

JOHNER, Kenia; NETO, Cláudio Fernando Goelzer. Análise dos fatores de risco para o envelhecimento da pele: aspectos nutricionais. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 4, n. 3, p. 10000–10018, 2021.

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. *Ageing Research Reviews*, v. 21, p. 16–29, 2015. DOI: 10.1016/j.arr.2015.01.001.

KOSTYUK, Vladimir et al. Natural substances for prevention of skin photoaging: screening systems in the development of sunscreen and rejuvenation cosmetics. *Rejuvenation Research*, v. 21, n. 2, p. 91–101, 2018.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, v. 84, p. 329–339, 2004.

LEE, C. H.; MIN, M.; JIN, S. S.; SIVAMANI, R. K. Skin microbiome shifts in various dermatological conditions. *Journal of Clinical Medicine*, v. 14, n. 17, p. 6137, 2025.

LIU, Tao et al. Oroxylin A ameliorates ultraviolet radiation-induced premature skin aging by regulating oxidative stress via the Sirt1 pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 171, p. 116110, 2024.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, v. 4, n. 8, p. 118–126, 2010.

LUCAS, R. M. et al. Human health in relation to exposure to solar ultraviolet radiation under changing stratospheric ozone and climate. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 18, n. 3, p. 641–680, 2019.

LUKIC, Maja; PAVICIC, Ivana; STANCIULESCO, Simona-Denisa. Towards optimal pH of the skin and topical formulations. *Cosmetics*, v. 8, n. 3, p. 69, 2021.

LUSHCHAK, Volodymyr I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, v. 224, p. 164–175, 2014.

MANGELA, Talicia; MARTINS, Adrianna. Benefícios da vitamina C na pele. *Enciclopédia Biosfera*, v. 18, n. 35, 2021.

MANSUR, J. de S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. D.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 61, n. 3, p. 121–124, 1986.

MASCARENHAS-MELO, Filipa et al. Inorganic nanoparticles in dermopharmaceutical and cosmetic products: Properties, formulation development, toxicity, and regulatory issues. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 192, p. 25-40, 2023.

MARTINEZ, R. M.; PINHO-RIBEIRO, F. A.; STEFFEN, V. S.; CAVIGLIONE, C. V.; VIGNOLI, J. A.; BARACAT, M. M.; GEORGETTI, S. R.; VERRI JR., W. A.; CASAGRANDE, R. *Hesperidin methyl chalcone inhibits oxidative stress and inflammation in a mouse model of ultraviolet B irradiation-induced skin damage*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 148, p. 145-153, jul. 2015. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.03.030.

MARTINEZ, R. M.; SOUZA, C. R.; MELO, C. P. B.; BARACAT, M. M.; ARAKAWA, N. S.; DUARTE, J. C.; VERRI JR., W. A.; CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S. R. Prevention of UVB radiation-induced oxidative stress in mice by topical administration of *Azadirachta indica* (neem) extract. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 41, e633, 2020. DOI: 10.4322/2179-443X.0633.

MATSUMURA, Y.; ANANTHASWAMY, H. N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 195, p. 298–308, 2004.

MENDES, Ana Paula Alves; PEREIRA, Rafaela Corrêa; ANGELIS-PEREIRA, M. C. Estresse oxidativo e sistemas antioxidantes: conceitos fundamentais sob os aspectos da nutrição e da ciência dos alimentos. *Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos*, v. 2, p. 296–312, 2020.

MENDONÇA, C. C.; SILVA, I. C. L.; RODRIGUES, K. A.; CAMPOS, M. A. L.; MEDEIROS, M. C. M.; CASTELI, V. C.; FERRARI, M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P. Emulsões O/A contendo cetoconazol 2,0%: avaliação da estabilidade acelerada e estudos de liberação in vitro. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, Curitiba, 2009.

NASCIMENTO, A. L. C. et al. Atividade antioxidante do extrato aquoso de noni em diluente para congelamento de sêmen ovino. *Boletim da Indústria Animal*, Nova Odessa, v. 73, n. 1, p. 68–73, 2016. DOI: 10.17523/bia.v73n1p68.

NATIONAL COMMITTEE ON CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Documento M26-A. Wayne, PA, 1999.

NIMSE, Satish Balasaheb; PAL, Dilipkumar. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, v. 5, n. 35, p. 27986–28006, 2015.

NÓBREGA, H. N. et al. Atividade antimicrobiana in vitro de produtos antissépticos por meio de técnica time kill. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 72, n. 3, p. 226–233, 2013.

OLIVEIRA, Fernanda Tainara Lemes; AMORESE, Roberta Chaves Penco. Massagem modeladora no tratamento da adiposidade localizada. *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa*, v. 40, n. especial, p. 36–49, 2024.

OLIVEIRA, Franciane Marquele. Desenvolvimento de formulações tópicas fotoquimioprotetoras contendo extrato de própolis: estudos de estabilidade, permeação e retenção cutânea in vitro e de eficácia in vivo. 2007. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

OTONI, Caio Gomide; AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro de. Nanoemulsões poliméricas. In: *Nanotecnologia aplicada a polímeros*. São Paulo: Blucher Open Access, 2023. p. 171–196.

OTTO, A. et al. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 31, n. 1, p. 1–19, 2009.

PAGANI, A. A. C.; SOUZA, A. L. G.; SOUZA, D. S.; BATISTA, R. A.; XAVIER, A. C. R.; PAGANI, G. D. Quantification of bioactive compounds of pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *International Journal of Engineering and Innovative Technology*, v. 4, p. 37–41, 2014.

PAIVA, L. F. de; FERREIRA, F. L. P.; MIRANDA, I. L.; REIS, T. C. Atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) e *Schinus molle* L. (Anacardiaceae). *Revista Fitos*, v. 18, p. 1718, 2024. DOI: 10.32712/2446-4775.2024.1718.

PANKEY, G. et al. Time-kill assay and Etest evaluation for synergy with polymyxin B and fluconazole against *Candida glabrata*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 58, n. 10, p. 5795–5800, 2014.

PEREIRA, Luciano José Barreto; GARCIA-ROJAS, Edwin Elard. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. *Ciência Rural*, v. 45, n. 1, p. 155–162, 2015.

PERUZZI, Maiara Fabiana et al. Avaliação da atividade antioxidante pela inibição da peroxidação lipídica e quelação de íon ferro de extratos metanólicos de *Azadirachta indica* (neem). *Blucher Biochemistry Proceedings*, v. 1, n. 2, p. 17–19, 2015.

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. Use of pequi oil (*Caryocar brasiliense*) in cosmetic emulsions: development and evaluation of physical stability. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 44, n. 2, 2008.

PINNELL, S. R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 48, n. 1, p. 1–19, 2003.

RASCHE, Willian D. Formulação e análise de gel-creme hidratante facial. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade do Vale do Taquari (Univates), 2014.

REIS, Mysrayn Yargo de Freitas Araújo et al. Pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil: phytochemical composition and cytotoxic activity. *Natural Product Research*, p. 1–7, 2023.

REJUVENATION RESEARCH. Natural substances for prevention of skin photoaging. v. 21, n. 2. Mary Ann Liebert, 2018.

RIBEIRO, A. M.; KHURY, E.; GOTTARDI, D. Validação de testes de estabilidade para produtos cosméticos. In: Congresso Nacional de Cosmetologia. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 1996. v. 10, p. 349–375.

ROCHA, Paola dos Santos da et al. Diversity, chemical constituents and biological activities of endophytic fungi isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Microorganisms*, v. 8, n. 6, p. 859, 2020.

ROSAS, E. C.; CORREA, L. B.; HENRIQUES, M. G. Chapter 28 — Anti-inflammatory properties of *Schinus terebinthifolius* and its use in arthritic conditions. In: *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*. p. 489–505, 2019.

SALIH, H.; PSOMADAKIS, C.; GEORGE, S. M. Sunscreens: a narrative review. *Skin Health and Disease*, v. 4, n. 6, p. e432, 2024. DOI: 10.1002/ski2.432.

SÁNCHEZ-GONZALEZ, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SAURA-CALIXTO, F. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry*, Barking, v. 90, p. 133–139, 2005.

SHARMA, Raghu Rai; DEEP, Aakash; ABDULLAH, Sheikh Tasduq. Herbal products as skincare therapeutic agents against ultraviolet radiation-induced skin disorders. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, v. 13, n. 1, p. 100500, 2022.

SHINDO, Y.; WITT, E.; PACKER, L. Antioxidant defense mechanisms in murine epidermis and dermis and their responses to ultraviolet light. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 100, n. 3, p. 260–265, 1993.

SHUBAYR, Nasser. Phytochemicals properties of herbal extracts for ultraviolet protection and skin health: A narrative review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, v. 16, n. 4, p. 100729, 2023.

SILVA, Fábio Vinícius Ferreira et al. Desenvolvimento e controle de qualidade de um gel-creme antiacneico a base do óleo da *Copaífera officinalis* L. (copaíba). *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, n. 30, p. e974, 2019.

SILVA, Gabriella Guimarães; OLIVEIRA, Paulo Henrique de; OLIVEIRA, Danilo Ribeiro de. Fitoterápicos disponíveis na RENAME e aquisição pelo SUS: uma contribuição para análise da PNPMF. *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 4, p. 465–478, 2022.

SILVA, José Alexsandro da et al. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 31, n. 3, p. 201–210, 2010.

SILVA, Marciane M. da; IRIGUCHI, Edna K. K.; KASSUYA, Candida Aparecida L.; VIEIRA, Maria do Carmo; FOGLIO, Mary Ann; CARVALHO, João Ernesto de; RUIZ, Ana Lúcia T. G.; SOUZA, Kely de P.; FORMAGIO, Anelise S. N. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 27, p. 445–452, 2017.

SILVA, Marília Grasielly de Farias. Estudo da atividade antioxidante e citotóxica do extrato etanólico, frações e tinturas comerciais de *Solidago chilensis* Meyen e *Schinus terebinthifolius* Raddi obtidos na Região Metropolitana do Recife-PE. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SILVA, O. A.; ALMEIDA, A. A. C.; CARVALHO, R. B. F.; NETO, J. D. N.; SOUSA, D. P.; FREITAS, R. M. Potencial antioxidante in vitro do (–)- α -terpineol. *Revista de Biologia e Farmácia*, v. 8, n. 3, p. 140–152, 2012.

SOUZA, Rebeca Oliveira. Avaliação in vitro e in vivo da atividade fotoquimioprotetora da fração de *Byrsonima crassifolia* e (+)-catequina contra os danos induzidos pela radiação UVB. 2015. 138 f. Tese (Doutorado em Medicamentos e Cosméticos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

SRINIVASAN, S.; BHAMIDIPATI, P. A.; SUBRAMANIAN, A. et al. Determination of glutathione levels using 5,5'-Dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) in biological samples. *Journal of Clinical and Experimental Pharmacology*, v. 29, n. 2, p. 108–115, 2007.

T.L.C. CEZAR; R.M. MARTINEZ; C. DA ROCHA; C.P.B. MELO; D.L. VALE; S.M. BORGHI; V. FATTORI; J.A. VIGNOLI; D. CAMILIOS-NETO; M.M. BARACAT; S.R. GEORGETTI; W.A. VERRI; R. CASAGRANDE. Treatment with maresin 1, a docosahexaenoic acid-derived pro-resolution lipid, protects skin from inflammation and oxidative stress caused by UVB irradiation. *Scientific Reports*, v. 9, p. 1–14, 2019.

TAKAYAMA, K. S. et al. Rosmarinus officinalis extract-loaded emulgel prevents UVB irradiation damage to the skin. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 94, n. 4, e20220145, 2022.

TANG, Xiaoyou et al. Current insights and future perspectives of ultraviolet radiation (UV) exposure: Friends and foes to the skin and beyond the skin. *Environment International*, p. 108535, 2024.

VAZ, Mirela Mara de Oliveira Lima Leite. A quimioluminescência na quantificação da penetração de componentes antioxidantes do extrato de açaí na pele. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Medicamentos e Cosméticos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

VERRI JR, Waldiceu A. et al. Flavonoids as anti-inflammatory and analgesic drugs: mechanisms of action and perspectives in the development of pharmaceutical forms. *Studies in Natural Products Chemistry*, v. 36, p. 297–330, 2012.

VILELA, F. M. P. Avaliação da segurança in vivo de filtros solares em formulação fotoprotetora. 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

VITORINO, Carla et al. Design of a dual nanostructured lipid carrier formulation based on physicochemical, rheological, and mechanical properties. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 15, n. 10, 2013.

XAVIER, Flávia Silva; GUARINIELLO, Marcelo Prodossimo; D'AMELIO, Monica Tais Siqueira. Desenvolvimento e análise de gel-creme hidratante contendo óleo de coco e óleo de palma. *Revista Ensaios Pioneiros*, v. 6, n. 1, 2022.

XAVIER-SOUZA, J. F.; SIQUEIRA, R. A. G. B.; MOREIRA, B. S.; BARBOSA, S. G.; MARIANO, E. S. N.; MARINOTTI, L. I. et al. Understanding the impact of the skin microbiome on dermatological assessments and therapeutic innovation. *Dermato*, v. 5, n. 4, p. 21, 2025.

ZANIN, S.; MIGUEL, M.; CHIMELLI, M.; DALMAZ, A. Parâmetros físicos no estudo da estabilidade das emulsões. *Visão Acadêmica*, v. 2, p. 47–58, 2001.

ZUCATELLI, Pedro Junior et al. Injeção de emulsões e seu impacto na produção de petróleo. In: 14th International Congress of the Brazilian Geophysical Society & EXPOGEF, Rio de Janeiro, Brazil, 3–6 August 2015. Brazilian Geophysical Society, 2015. p. 776–781.