

Atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos: uma revisão sistemática de testes *in vitro*

Táilaine Nascimento de Castro¹, Milleno Dantas Mota¹, Edith Cristina Laignier Cazedey^{1,2*}

¹Programa de Pósgraduação em Ciências Farmacêuticas. Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Estado da Bahia, Rua Silveira Martins, 2555, Cabula, CEP 41150-000, Salvador, Bahia, Brasil.

²Núcleo de Pesquisa e Análise de Medicamentos (NuPAM), Departamento de Medicina, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo, 147, Ondina, CEP 40170-115, Salvador, Bahia, Brasil.

*Autora correspondente: edith.cazedey@ufba.br

Recebido: 18 de agosto de 2021

Revisado: 13 de outubro de 2021

Aceto: 15 de outubro de 2021

RESUMO

Introdução: os compostos fenólicos, devido a sua estrutura química, possuem a capacidade de absorver a energia ultravioleta e reduzir a formação de radicais livres. **Objetivo:** avaliar a atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos a partir da observação de resultados *in vitro* e verificar a importância do uso de modelos biológicos nessa perspectiva. **Metodologia:** foi realizada uma pesquisa de artigos publicados, na base de dados Pubmed, entre 2010 e 2020, que atendessem aos objetivos deste trabalho, 44 artigos foram selecionados. **Resultados:** os métodos instrumentais utilizados para avaliação da atividade fotoprotetora apresentaram boa correlação *in vivo* e mostram-se rápidos e eficazes na determinação do fator de proteção solar. Além desses, têm-se aplicado métodos biológicos para a avaliação de aspectos que não são mensurados por métodos físico-químicos, relacionado aos danos ao DNA, decorrentes da exposição solar. Para a avaliação da atividade antioxidante, o método do radical DPPH foi empregado em 92,6 % dos estudos analisados e foi observado que os antioxidantes podem incrementar a proteção solar e, ainda,

auxiliar na estabilidade de filtros solares sintéticos. **Conclusão:** os compostos fenólicos, especialmente aqueles com propriedades antioxidantes, podem ser utilizados como agentes fotoprotetores em formulações tópicas para reduzir os danos à pele induzidos pela radiação UV.

Palavras-chave: Protetores solares, compostos fenólicos, técnicas *in vitro*, ensaio biológico.

SUMMARY

Photoprotective and antioxidant activity of phenolic compounds: a systematic review of *in vitro* tests

Introduction: Phenolic compounds, due to their chemical structure, can absorb ultraviolet energy and reduce the formation of free radicals. **Aim:** To evaluate the photoprotective and antioxidant activity of phenolic compounds from the observation of *in vitro* results and to verify the importance of the use of biological models in this perspective. **Methodology:** A search for articles published in the Pubmed database was carried out between 2010 and 2020, which met the objectives of this work, 44 articles were selected. **Results:** According to the literature, the instrumental methods used to assess independent photoprotective activity, good correlation *in vivo*, and demonstrating rapid and effective determination of the sun protection factor. In addition to these, biological methods have been provided for the evaluation of aspects not measured by physical-chemical methods, related to DNA damage, resulting from sun exposure. For the evaluation of antioxidant activity, the DPPH radical method was registered in 92.6 % of published studies and it was observed that antioxidants can increase sun protection and also help in the stability of synthetic sunscreens. **Conclusion:** Phenolic compounds, especially with antioxidant properties, can be used as photoprotective agents in topical formulations to reduce skin damage induced by UV radiation.

Key-words: Sunscreens, phenolic compounds, *in vitro* techniques, biological assay.

RESUMEN

Actividad fotoprotectora y antioxidante de compuestos fenólicos: una revisión sistemática de ensayos *in vitro*

Introducción: los compuestos fenólicos, por su estructura química, tienen la capacidad de absorber la energía ultravioleta y reducir la formación de radicales libres. **Objetivo:** evaluar la actividad fotoprotectora y antioxidante de compuestos fenólicos a partir de la observación de resultados *in vitro* y comprobar la importancia del uso de modelos biológicos en esta perspectiva. **Metodología:** se realizó una búsqueda de artículos publicados en la base de datos Pubmed entre 2010 y 2020, que cumplieron con los objetivos de este trabajo, se seleccionaron 44 artículos. **Resultados:** los métodos instrumentales utilizados para evaluar la actividad fotoprotectora mostraron una buena correlación *in vivo* y demostraron ser rápidos y eficientes en la determinación del factor de protección solar. Además de estos, se aplicaron métodos biológicos para evaluar aspectos no medidos por métodos físico-químicos, relacionados con el daño en el ADN por exposición solar. Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizó el método radical DPPH en el 92,6% de los estudios analizados y se observó que los antioxidantes pueden aumentar la protección solar y también ayudar en la estabilidad de los protectores solares sintéticos. **Conclusión:** los compuestos fenólicos, especialmente aquellos con propiedades antioxidantes, pueden utilizarse como agentes fotoprotectores en formulaciones tópicas para reducir el daño cutáneo inducido por la radiación UV.

Palabras clave: Filtros solares, compuestos fenólicos, técnicas *in vitro*, ensayo biológico.

INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta (UV) representa uma estreita faixa do espectro eletromagnético, entre 200 e 400 nm, sendo dividida em UV-C (100-280 nm), UV-B (280-315 nm) e UV-A (315-400 nm) [1]. A exposição contínua a essa radiação é um dos fatores externos que mais contribui para a geração de radicais livres (RL), os quais, em excesso, provocam a desestabilização de biomoléculas e o desencadeamento de doenças como o câncer [2].

A exposição solar induz ao estresse oxidativo pela alta produção de RL e, posto que os mecanismos antioxidantes endógenos não conseguem suprimir de forma efetiva as

ações deletérias dessas espécies reativas, uma estratégia que fornece à pele mecanismos de defesa contra a radiação solar é a utilização de antioxidantes naturais [3]. Os antioxidantes naturais são substâncias exógenas que podem atuar de forma sinérgica com os mecanismos endógenos, de maneira a suprimir efetivamente as ações deletérias dos RL, neutralizando essas espécies reativas e protegendo a pele [4].

Sabe-se que o emprego de metabólitos secundários vegetais tem a capacidade de estabilizar os RL. Dentre eles, chama-se a atenção para os compostos fenólicos, por possuírem grupamentos cromóforos em sua estrutura. Estes compostos promovem a absorção da radiação em comprimentos de onda compatíveis aos raios UV, mostrando-se adequados para a composição dos filtros solares [5, 6]. Os compostos fenólicos, para além da potencialização da proteção da pele contra a radiação UV, possuem também ação antioxidante, anti-inflamatória e imunossupressora [7].

Uma estratégia atualmente muito utilizada para ampliar o espectro de ação e aumentar a fotoestabilidade de filtros solares é a utilização de extratos naturais, ricos em compostos fenólicos, devido a sua capacidade de agir contra os radicais livres e absorver os fótons UV [8]. A estrutura química desses compostos permite doação de elétrons ou átomos de hidrogênio à outras moléculas, devido à presença das ligações duplas, que promove a deslocalização mais ampla do elétron não pareado. O efeito de ressonância que ocorre quando a molécula é excitada é tido como um dos motivos que justificam a capacidade antioxidante desses compostos [9, 10].

Nessa perspectiva, o uso de filtros solares naturais representa a diminuição da concentração de filtros solares sintéticos em formulações fotoprotetoras [11], promovendo redução do risco de reações cutâneas adversas, as quais muitas vezes estão relacionadas às altas concentrações de filtros artificiais [5]; redução da formação de subprodutos de fotodegradação, gerados a partir da associação de filtros sintéticos com o intuito de aumentar o fator de proteção solar (FPS) [8] e, conseqüentemente, a diminuição do impacto ambiental pela menor quantidade de resíduos dos filtros e estabilizadores UV, que podem alcançar o mar e águas subterrâneas [12-14].

Ao avaliar o desenvolvimento de protetores solares, a Food and Drug Administration (FDA), agência que regula o registro, produção e consumo de cosmético nos EUA, exige a determinação *in vivo* para a avaliação da eficácia de um filtro solar. Nesse estudo é verificada a dose mínima de energia UV necessária para produzir eritema na pele desprotegida que representa o valor do FPS [15, 16]. Entretanto, uma vez que os testes *in vivo* envolvem o uso de animais e humanos e, conseqüentemente, aspectos relativos à ética e à custo operacional elevado, tais experimentos devem ser analisados e discutidos [17].

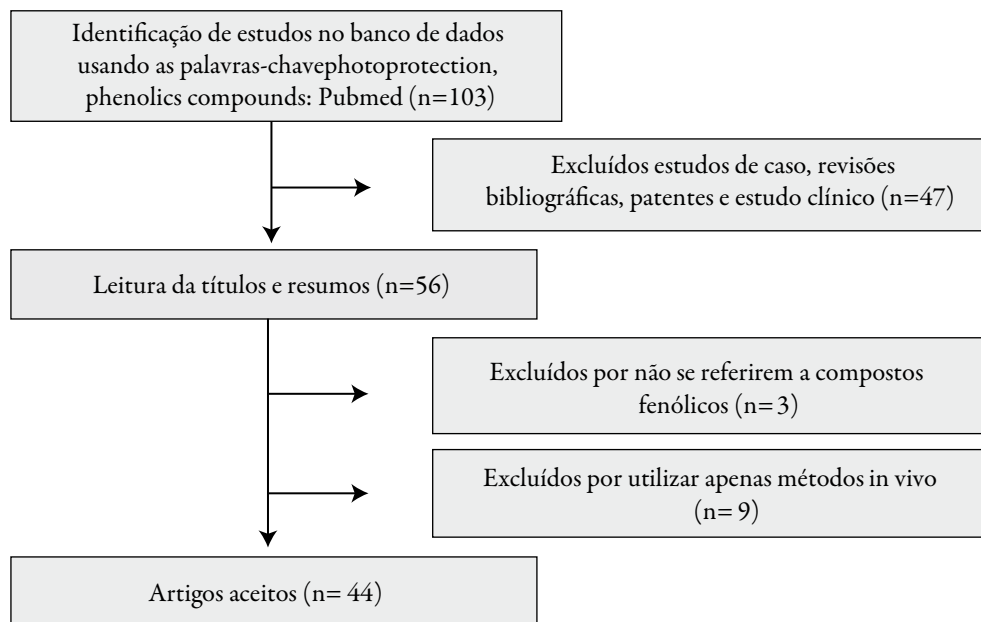
Em alternativa, os testes *in vitro*, os quais empregam a análise instrumental físico-química, são amplamente utilizados para triagem [18]. Os testes *in vitro* têm boa aceitação durante a fase de desenvolvimento do produto, pois apresentam boa correlação com os ensaios *in vivo*, são economicamente viáveis, rápidos, não invasivos, mais seguros e atendem o aspecto ético [8, 19, 20]. Além disso, muitos estudos vêm utilizando metodologias *in vitro* com modelos biológicos, nos quais culturas celulares e bactérias geneticamente modificadas são empregadas com o intuito de prever mecanismos de fotoproteção de inúmeros compostos, os quais frequentemente não podem ser preditos apenas pela análise instrumental [14, 21, 22].

Este trabalho buscou, por meio de uma revisão sistemática da literatura, analisar os métodos *in vitro*, instrumentais ou modelos biológicos, empregados para determinar a atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos e dessa forma, contribuir com o processo de escolha de cada método.

METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa na base de dados Pubmed, em abril de 2020, de artigos publicados a partir de 2010. A figura 1 resume a metodologia empregada na seleção dos

Figura 1. Metodologia aplicada na seleção dos artigos.



artigos, com base nos critérios previamente definidos, procurando atender aos objetivos do trabalho. Desse modo, a partir das palavras-chave *photoprotection* e *phenolics compounds*, foram inclusos trabalhos nos quais abordavam métodos *in vitro* empregados na avaliação de compostos fenólicos presentes, ou isolados, em extratos de plantas, frutos e líquens. Os dados de patentes, estudos de caso, revisões bibliográficas, estudo clínico e trabalhos que utilizassem apenas métodos *in vivo* foram excluídos.

Avaliação da ação fotoprotetora: métodos *in vitro* instrumentais e biológicos

A proteção da pele contra os raios UV é sem dúvida necessária para minimizar o aparecimento de doenças. Em geral, os filtros solares são classificados em filtros orgânicos e inorgânicos. Os orgânicos, devido à sua estrutura química, agem através de um mecanismo químico, absorvendo os raios UV de alta energia, convertendo-os em uma radiação de baixa energia. Já os inorgânicos, agem pela formação de uma barreira física que protegem a pele através da reflexão e dispersão dos raios que incidem sobre as partículas, fazendo com que estes voltem ou se dispersem [23].

Assim, predominantemente, a eficácia dos filtros solares é avaliada a partir da determinação do FPS e, também, pelo escurecimento persistente do pigmento (PPD) *in vivo* [20]. Entretanto, a utilização de métodos instrumentais como metodologia *in vitro*, a exemplo da espectrofotometria, é bastante comum na triagem de filtros solares para o desenvolvimento de novos produtos [17].

A espectrofotometria de absorção molecular, na região do UV ou visível, baseia-se na capacidade que algumas substâncias têm de absorver luz e, portanto, consegue determinar a absorvidade de moléculas orgânicas, quando uma luz é incidida. Segundo a Lei de Lambert-Beer, a capacidade de absorção da luz é proporcional a concentração das moléculas e da espessura do meio atravessado, sendo a transmitância inversamente proporcional a absorvância [24]. A partir desses princípios são calculados os valores de absorvância e transmitância de filtros solares e, posteriormente, o FPS teórico.

Dentre os métodos espectrofotométricos empregados para a determinação do FPS, o estudo de Mansur *et al.* [24] mostra-se um dos mais utilizados, devido a simplificação e rapidez no cálculo do fator de proteção. A partir desse trabalho foi proposta a fórmula apresentado na equação 1, que se baseia na construção de uma curva de absorção de filtros solares dentro do espectro da radiação ultravioleta. Nessa proposta, multiplica-se os valores de absorvância dentro do espectro de 290 a 320 nm, com aumento de 5 em 5 nm, e o somatório do efeito eritematígeno final é multiplicado pelo fator de correção (FC) padrão 10, obtido a partir da determinação do FPS de um creme contendo 8% de homosalato (HMS), que é padronizado internacionalmente como valor de FPS 4.

Validando esse método, no trabalho de Mota *et al.* [25] foi observado que a alteração do veículo utilizado promove alteração no valor do fator de correção. Assim, utilizando uma amostra padronizada de HMS a 8 %, foi obtido o FC de 10,24.

$$FPS = FC + \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (\text{equação 1})$$

Em que: FC = fator de correção (= 10), estimado a partir da amostra que contém 8 % de salicilato de homomentila (homosalate); $EE(\lambda)$ = efeito eritematogênico da radiação solar a cada comprimento de onda (λ); $I(\lambda)$ = intensidade da radiação solar a cada comprimento de onda (λ); $Abs(\lambda)$ = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução da amostra a cada comprimento de onda (λ).

Ainda, no que se refere a metodologias instrumentais, Diffey e Robson [26] propuseram um método baseado em medições espectrofotométricas, o qual considera o espectro de transmitância. Para isso é aplicado o protetor solar em camada fina e homogênea em uma fita de Transpore[®], na faixa de 290 a 400 nm. Desse modo, aspectos como espalhamento, espessura e homogeneidade do protetor solar na placa e experiência do analista são fatores críticos que alteram os resultados do FPS [17]. Corroborando essa metodologia, em 2017, Cvetkovska *et al.* [17] realizaram um estudo que utilizou, além das fitas de Transpore[®] (método 1), placas de polimetilmetacrilato (PMMA) (método 2), como suporte para aplicação de uma quantidade de protetores solares comerciais, em diferentes viscosidade, valores de FPS e pressões de aplicação do produto. Ambos os métodos forneceram resultados reprodutíveis e ótima correlação *in vivo*.

A fórmula demonstrada na equação 2 foi utilizada por Cvetkovska *et al.* [17], baseado no trabalho de Diffey e Robson [26], para calcular o valor de FPS e poder comparar os resultados *in vitro* com o método *in vivo* e estabelecer a correção entres ambos.

$$FPS = \frac{\int_{\lambda=290 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} E(\lambda) I(\lambda) d(\lambda)}{\int_{\lambda=290 \text{ nm}}^{\lambda=290 \text{ nm}} E(\lambda) I(\lambda) 10^{-A} d(\lambda)} \quad (\text{equação 2})$$

Em que: $E(\lambda)$ = espectro de ação do eritema no comprimento de onda λ ; $I(\lambda)$ = irradiância espectral recebida da fonte de UV no comprimento de onda λ ; $A(\lambda)$ = absorvância monocromática da camada de produto de teste no comprimento de onda λ ; $d(\lambda)$ = passo do comprimento de onda (1 nm).

Além do FPS, outro parâmetro *in vitro* que pode ser analisado é o comprimento de onda crítico ($c\lambda$), o qual determina o espectro de ação do produto fotoprotetor na faixa de comprimento de onda de 290 a 400 nm [8]. Esse é o comprimento de onda em que a integral da área sob o espectro de absorção da amostra atinge 90% da absorção total [20]. O FDA considera esse parâmetro como instrumento para a avaliação da proteção UV-A e determina que para ser considerado protetor solar de amplo espectro o $c\lambda$ mínimo seja de 370 nm [8].

Segundo o estudo realizado por Polanini *et al.* [20], o fator de proteção UV-A (FPUV-A) foi obtido a partir da utilização dos resultados do seu FPS, pela técnica de transmitância difusa *in vitro*, por meio do cálculo da dose de irradiação (D), obtendo o PPD e a FPUV-A teóricos, calculado pela equação 3. Além disso, os pesquisadores ainda determinaram o $c\lambda$ e a relação UV-A/UV-B.

$$FPUV-A = \frac{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) X d\lambda}{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) X I(\lambda) X 10^{-A(\lambda) X C} X d\lambda} \quad (\text{equação 3})$$

Em que: $P(\lambda)$ é o espectro de ação PPD; $A(\lambda)$ é a absorvância monocromática média do produto de teste.

Como mostrado, a espectrofotometria apresenta-se como uma técnica bastante empregada para a determinação da fotoproteção e seus parâmetros. Dentre os artigos analisados, cerca de 82% utilizaram ensaios instrumentais, sendo que 69% seguiram a metodologia proposta por Mansur *et al.* [24] e 31% basearam-se no método de Diffey e Robson [26]. Essa ferramenta representou excelente ganho na obtenção dos valores de FPS de filtros solares, em razão da sua rapidez e simplicidade de execução, além da boa correlação dos resultados com testes *in vivo* [17, 27, 28] e, ainda, pela possibilidade de utilização de solventes não tóxicos, seguros para os operadores, reforçando a importância da química analítica verde [29].

Entretanto, não podemos deixar de pontuar as limitações dos métodos espectrofotométricos, principalmente, aquelas relacionadas à fatores extrínsecos. Esses fatores estão associados aos diferentes solventes nos quais os filtros solares são dissolvidos, à combinação e concentração dos filtros solares ativos, à interação do veículo com os componentes da formulação, ao pH e propriedades reológicas, ao tipo de espectrofotômetro utilizado e a rugosidade do substrato [19, 30].

O emprego de métodos biológicos, principalmente, de culturas de células dérmicas humanas ou de modelo murino, surge como uma proposta que vem sendo cada

vez mais explorada. Esses métodos ampliam o olhar sobre os danos causados à pele e como as substâncias naturais podem contribuir nesse processo [31]. Dentre os trabalhos analisados, 32 % utilizaram os métodos biológicos *in vitro* para avaliar a atividade fotoprotetora [5, 13, 20-23, 32-45], 7 desses trabalhos utilizaram tanto os métodos instrumentais quanto os métodos biológicos para essa finalidade [14, 32, 34, 36-39].

Os ensaios biológicos empregados, categorizados na tabela 1, possibilitam determinar a viabilidade celular, fototoxicidade, genotoxicidade e quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelular, a partir da exposição de células a diferentes doses de radiação UV, por um determinado período [7, 35].

O estudo desenvolvido por Almeida *et al.* [21] demonstrou a potencial atividade fotoprotetora do extrato hidroetanólico das folhas de *Castanea sativa*, devido a sua capacidade antioxidante direta e indireta, que ativa o sistema antioxidante endógeno. Para isso, foi realizado o ensaio com o sal brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT) e o corante azul de tripano para avaliar a viabilidade celular. A ação protetora do extrato foi calculada a partir da contagem de células viáveis após exposição aos raios UV-A. A avaliação do dano ao DNA foi observada a partir do número de micronúcleos formados quando as células eram expostas à radiação e também pela quantificação da proteína NRF2 e de genes que codificam a expressão de enzimas que protegem o corpo de ROS intracelulares.

Bacarin *et al.* [44] usaram outra metodologia para avaliar a extensão de danos ao DNA celular. O teste Cometa consiste em eletroforese em gel de célula única, na qual as células, após serem expostas à radiação UV, são lisadas para exposição do material genético e incubadas em solução tampão alcalina para que haja o desenrolamento do DNA e a observação de suas zonas de quebra, a partir da utilização de soluções fluorescentes. É determinada, posteriormente, a porcentagem de DNA em cauda, demonstrando a capacidade de fotoreparo do extrato teste.

Ainda sobre a avaliação dos danos ao DNA, Hu *et al.* [35] observaram a capacidade de fotoreparo dos oxyresveratrol e kuwanon O, isolados das raízes de *Morus australis*. Nesse estudo foi constatado que o tratamento prévio com ambos compostos fenólicos, em queratinócitos epidérmicos humanos, conseguiram diminuir os níveis de CPD e 8-OHdG, reduzindo a oxidação que o DNA sofre quando exposto a radiação UV, resultando na proteção do material genético dessas células. A quantificação desses compostos danosos ao DNA foi realizada por imunoensaio enzimático.

Inúmeras metodologias podem ser utilizadas para a determinação da atividade antioxidante de extratos, utilizando cultura de células que sofreram irradiação UV. Hu *et al.* [35] utilizaram o peróxido de hidrogênio como indutor de ROS e a quantificação

Tabela 1. Ensaios biológicos empregados na avaliação da atividade fotoprotetora de extratos vegetais.

Material vegetal	Linhagem de células/murino	Tipo/dose de irradiação	Fotoproteção/viabilidade celular	Genotoxicidade	Outras atividades	Referência
Preparação da silimiarina e silibin	Fibroblastos	UV-A 7,5-10 J/cm ²	Ensaio de absorção de vermelho neutro	Ensaio cometa	Nível de ROS (H ₂ DCFDA)*; nível de GHS intracelular; atividade da caspase-3	[7]
Extrato do rizoma <i>Rheum rhaponticum</i>	Melanócitos epidérmicos humanos	UV-A e UV-B 75-1200 mJ/cm ²	Ensaio de sal de tetrazólio Quantificação da α -MSH	-	Nível de IL-1 α *, TNF- α ***	[4]
<i>Extrato de Holomitriopsis laevifoliae Leucobryum sp.</i>	Cultura de <i>Salmonella Typhimurium</i>	UV-A 0,7 – 20 mJ/cm ² de	-	-	Photo-Ames test	[14]
<i>Olea europaea L. Polypodium leucotomos</i> Resveratrol	Cultura de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	UV-A 20J·m ⁻² ·s ⁻¹ UV-B 1,2 J·m ⁻² ·s ⁻¹	Células viáveis após exposição das células ao UV por 140 min	-	-	[32]
Extrato do epicarpo da <i>Garcinia brasiliensis</i>	Fibroblasto humano	UV-B 0,060 – 0,500 J/cm ²	Ensaio de absorção de vermelho neutro	-	Atividade de MPO; Teste GHS; determinação da IL-1 β e TNF- α ***	[33]
Flavonoides: apigenina, naringenina e pinocembrin	Células renais de embrião humano (HEK-293); Cepas de <i>Escherichia coli</i> (PQ37)	UV-B 10-1000 J/m ²	Coloração azul de tripano	Ensaio cometa;	-	[34]

(Continue)

Material vegetal	Linhagem de células/murino	Tipo/dose de irradiação	Fotoproteção/viabilidade celular	Genotoxicidade	Outras atividades	Referência
Oxyresveratrol e kuwanon O a partir <i>Morus australis</i>	Queratinócitos humanos (HaCaT)	UV-A 4.32 J/cm ²	Ensaio <i>CellCounting Kit-8</i> (CCK-8)	Determinação do 8-OHdG; do estresse oxidativo celular; de CPD; expressão do p53	Produção de ROS induzido por H ₂ O ₂ ; quantificação de nitrosamina.	[35]
Polifenóis isolados	Queratinócitos humanos imortalizados e normais	UV-B + UV-A (0,1-3 J + 1-6 J/cm ²)	PrestoBlue; coloração fluorescente laranja de acridina e etidobrometo	-	-	[36]
Extrato de <i>Sanionia uncinata</i>	Cultura de <i>Salmonella Typhimurium</i>	UV-A 0,04 – 6,5 J/cm ²	-	-	Photo-Ames test	[39]
Extrato metanólico de <i>Fragaria X ananassa</i> , Duch	Fibroblasto humano	UV-A 275 kJ/m ²	Células viáveis após exposição das células ao UV-A por 60 min	-	Ensaio de apoptose; Nível de ROS (CellROX® Orange Reagent); taxa de consumo de oxigênio	[38]
Extrato de <i>Melissa Officialis</i> , L	Queratinócitos humanos (HaCaT)	UV-B 800 -1200 J/m ²	Ensaio de sal de tetrazólio	Ensaio cometa; Ativação H ₂ AX	-	[41]
Extrato aquoso de <i>Stryphnodendron adstringens</i>	Células mononucleares do sangue periférico	-	Ensaio de sal de tetrazólio	-	Nível ROS (H ₂ DCFDA)*; Avaliação da membrana mitocondrial; Atividade da caspase-3	[43]

*2', 7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato; ** Alfa-Interleutina-1; ***Fator de necrose tumoral alfa.

de nitrosamina, formada quando queratinócitos são expostos a radiação UV-A, para a avaliação a atividade fotoprotetora. Nos trabalhos de Svobodová *et al.* [7] e Baldívia *et al.* [43], foi empregado o 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (H₂DCFDA), indicador da formação de ROS. Também foi quantificado, por espectrofotometria, o nível de glutatona intracelular a partir da reação com ácido 2,2'-dinitro-5,5'-ditiobenzoico (DTNB) [7].

Os métodos biológicos descritos conseguiram avaliar a capacidade dos ativos em proteger as células e o DNA contra a radiação UV [22, 45]. Além disso, possibilitaram a elucidação do mecanismo de proteção e a influência que ROS possuem nos efeitos deletérios para as estruturas celulares [21].

Entretanto, o desenvolvimento e validação de bioensaios envolve diversos desafios, uma vez que ele visa demonstrar respostas de organismos vivos, a partir de técnicas *in vitro*. Dessa forma, para garantir a reprodutibilidade, precisão e acurácia é necessário conhecer, detalhadamente, o mecanismo que envolve e seu alvo de estudo, para estabelecer os pontos críticos que devem ser avaliados e controlados no decorrer do processo. Por esse motivo, características como: manutenção da viabilidade da cultura celular, reagentes utilizados, sensibilidade das técnicas, que envolvem comumente sinais colorimétricos, luminescentes ou fluorimétricos, devem ser constantemente analisadas [46].

Métodos *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante

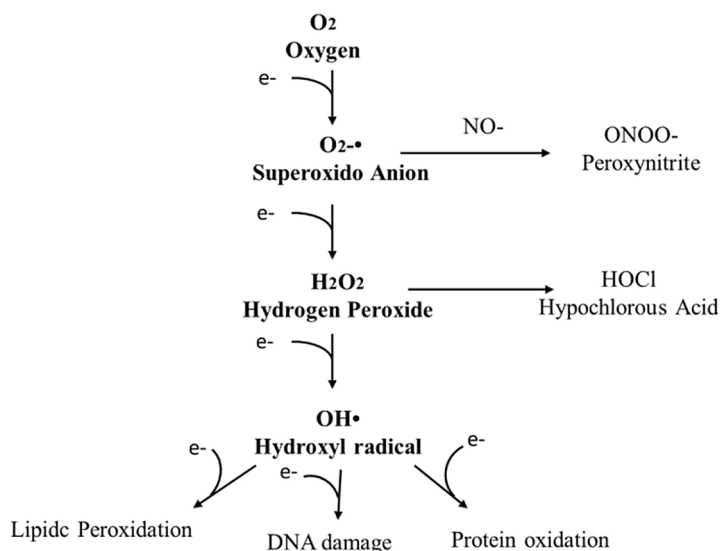
A exposição à radiação solar é responsável pela formação de RL. A interação entre os raios UV e espécies endógenas cromóforas como ácidos nucleicos, aminoácidos aromáticos, porfirinas, heme entre outras, geram moléculas instáveis e extremamente deletérias como os ROS e espécies reativas de nitrogênio (RON) [7]. A figura 2 demonstra como ocorre a formação, por exemplo, dos ROS.

O acúmulo dos RL provoca degradação de biomoléculas, oxidação dos lipídios presentes nas membranas celulares, indução do processo inflamatório, imunossupressão, além de danos extensos ao DNA [21], podendo ocasionar queimaduras, envelhecimento precoce e, no pior dos casos, câncer de pele, que, embora tenha causa multifatorial, tem na exposição excessiva à radiação UV um dos fatores agravantes a predisposição dessa patologia [43].

A exposição solar é um dos fatores externos que ocasiona a ativação do sistema de defesa da pele formado, principalmente, por enzimas e antioxidantes endógenos, responsáveis pela proteção. Um dos primeiros eventos que ocorre após a exposição ao sol é a pigmentação da pele. A pigmentação acontece porque há a ativação melanogênica e de enzimas, como tirosinase e tirosina quinase, as quais promovem a síntese de melanina. Essa

proteína é responsável pela coloração e proteção da pele, posto que absorve parte da energia transmitida pelos raios solares e ativa citocinas pró-inflamatórias que desencadeiam uma cascata de reações no organismo. O processo de pigmentação da pele é especialmente estimulada após a exposição à radiação UV-B, por atingir as camadas mais superficiais [4]. Paralelamente à exposição da pele aos raios UV e à formação de RL, há o estabelecimento do estresse oxidativo que propicia a produção e ativação de antioxidantes enzimáticos, como superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase, assim como, antioxidantes endógenos não-enzimáticos, capazes de neutralizar ROS e RON, protegendo as células e outras biomoléculas da oxidação [4]. Especialmente a glutathione, antioxidante não-enzimático, consegue inativar os RL pela doação de elétrons e também é um cofator de vários antioxidantes endógenos, tornando-se peça-chave para a eficiência no processo de proteção do organismo [42].

Figura 2. Geração de espécies reativas de oxigênio.



Fonte: adaptado do trabalho de Chen *et al.* [47].

A atividade antioxidante pode ser avaliada utilizando metodologias *in vitro* e *in vivo*. Em geral, os testes *in vitro* avaliam a capacidade de inibição de enzimas e a redução de radicais livres [43].

A figura 3 apresenta os ensaios *in vitro* realizados para a determinação da ação antioxidante em produtos de origem natural, a partir dos 32 estudos selecionados. Dentre os métodos empregados observa-se que: 93,8 % ($n=30$) dos estudos utilizaram o método radical *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-a,a-diphenyl-bpicrylhydrazyl* (DPPH) [6, 10-13,

20, 25, 26, 35-37, 45-62]; 28,1 % (n=9) o radical *2,20-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid* (ABTS) [38, 40, 41, 54, 55, 59, 60]; 15,62 % (n= 5) o ensaio de peroxidação lipídica [4, 10, 54, 61, 62]; 12,5 % (n=4) o ensaio do poder redutor-antioxidante férrico (FRAP) [38, 40, 57, 60]; 9,375 (n= 3) o ensaio de branqueamento de β -caroteno [9, 56, 63]; 6,25 % (n= 2) o ensaio da capacidade total antioxidante (TAC) [38, 40]; 6,25 % (n= 2) ensaio da capacidade de absorção de radical de oxigênio (ORAC) [57, 61]; 6,25 % (n= 2) o ensaio de fosfomolibidênio [40, 60]; e 3,13 % (n= 1) o ensaio de fotoquimiluminescência [57].

Além disso, observou-se que 50 % dos estudos utilizaram dois ou mais métodos associados para a avaliação antioxidante. Em geral, o ensaio do radical DPPH era associado a outro método. de acordo com alguns autores [18, 64], para a garantia de resultados mais fiéis quanto a atividade antioxidante é necessário a utilização de dois ou mais modelos. A comparação entre os resultados obtidos melhora a capacidade de prever a atividade antioxidante *in vitro* dos compostos.

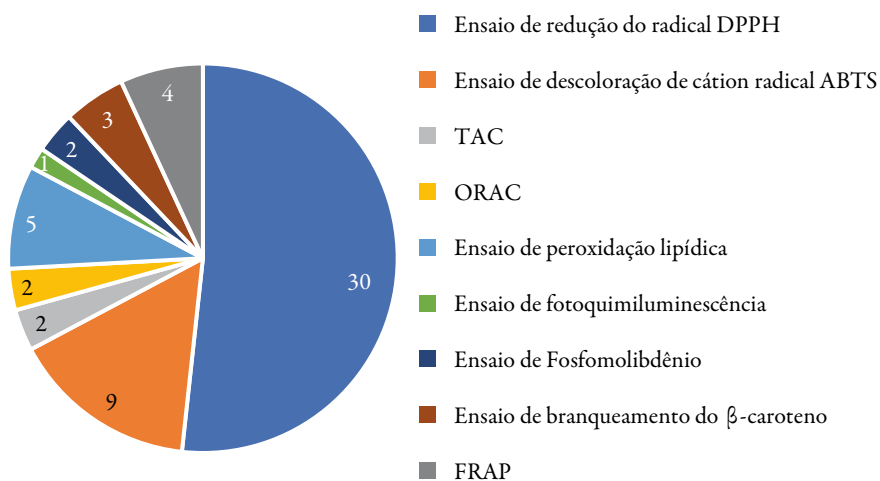


Figura 3. Frequência e métodos *in vitro* utilizados para a determinação da ação antioxidante em produtos de origem natural. DPPH: radical *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-a, a-diphenyl-bpicrylhydrazyl*; ABTS: radical *2,20-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid*; TAC: ensaio da capacidade total antioxidante; ORAC: ensaio da capacidade de absorção de radical de oxigênio; FRAP: ensaio do poder redutor-antioxidante férrico.

Quando se discutem os métodos *in vitro* que avaliam a capacidade antioxidante de um composto, podemos encontrar ensaios que se baseiam na transferência de um único elétron (SET) ou ainda, ensaios que conseguem medir a transferência de átomos de hidro-

gênio (HAT). Dentro de cada grupo, temos diversos ensaios que possuem o mesmo mecanismo de ação, diferindo entre si, quanto a sua cinética de reação, assim como em relação as vantagens e desvantagens que cada um apresenta. O ensaio SET engloba, a determinação do conteúdo fenólico total (TPC), radical livre DPPH, poder antioxidante redutor férrico (FRAP), o ensaio de redução de cobre (CUPRAC) e o radical livre ABTS. Já o ensaio HAT, abrange os testes que aferem a capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC), a oxidação de lipídeos e o parâmetro antioxidante de captura total de radicais (TRAP) [65].

O ensaio que utiliza o radical DPPH é um método bastante difundido, devido, principalmente, ao seu baixo custo e rapidez, automatização, reprodutibilidade e estabilidade. Nesse método, tem-se a presença de um agente antioxidante, ocasionando uma conversão de cor, do violeta para o amarelo claro, e sua concentração é medida por meio da espectrofotometria [64]. Deste modo, quanto maior for a intensidade da descoloração, maior a atividade antioxidante do agente testado.

No entanto, algumas problemáticas são encontradas na utilização dessa metodologia. O uso de concentrações variadas de DPPH, incubação, volume de amostra, sistemas de solventes e interferência do pH na determinação da concentração inibitória para atingir 50% do efeito máximo (IC50), além da tendência não linear entre a concentração de antioxidante e DPPH com a eliminação de ROS, são problemas que podem ocorrer. Para isso, é necessário que haja padronização dessas condições para garantir a precisão do teste. de acordo com Tan e Lim [65], condições que podem contornar algumas dessas problemáticas seriam a utilização de 50 μM de DPPH; ambiente com pouca luz ou ao abrigo da luz; metanol como solvente para amostras menos polares ou metanol tamponado para aquelas mais polares; o padrão recomendado é o ácido ascórbico por ter um cinética de reação similar ao DPPH.

Em estudo feito por Mansur *et al.* [18], foi apontado uma outra limitação para o ensaio do DPPH. Esse ensaio, em geral, não é realizado para avaliar a atividade antioxidante de uma formulação, uma vez que, nem todos os componentes da formulação serão completamente solubilizados e, dessa forma, interfeririam nas medições espectrofotométricas. Portanto, seu uso fica mais restrito a análise de compostos isolados.

O método que utiliza o radical ABTS é similar ao teste feito com o DPPH. O ABTS é oxidado por radicais peróxil ou outros oxidantes, na presença de peróxido de hidrogênio, gerando um radical intensamente colorido, o qual é determinado por espectrofotometria [66]. Esse radical apresenta algumas vantagens, a exemplo da solubilidade em solventes aquosos e orgânicos, ampliando a possibilidade de avaliar compostos lipofílicos e hidrofílicos; tem estabilidade em ampla faixa de pH, e não é afetado por for-

ças iônicas. Porém, este método apresenta algumas limitações, entre elas a demora em alcançar o ponto final da reação que ocorre entre o radical e o produto teste, gerando muitas vezes valores da capacidade antioxidante inferiores e falseados; esse método deve ser, quase sempre, associado a outros métodos, pois não consegue quantificar com precisão a capacidade antioxidante sozinho, visto que não considera as taxas de reação [65, 66].

A capacidade dos compostos fenólicos em reduzir completamente os íons de ferro é utilizada no ensaio *Ferric Reducing-Antioxidant Power* (FRAP), para estimar a atividade antioxidante. Neste ensaio, é usado o complexo amarelo férrico de tripiridiltria-zina (Fe (III) -TPTZ), o qual sofre redução, formando o complexo azul ferroso de tripiridiltria-zina (Fe (II) -TPTZ). A partir da coloração azul que é observada, emprega-se a espectrofotometria para quantificar o poder de redução. O FRAP tem como vantagens, a simplicidade, rapidez, baixo custo, robustez e a possibilidade de automação. Entretanto, problemas como, a quebração desses complexos quando é utilizado extratos de alimentos e a taxa reacional lenta, a qual resulta em reações incompletas, podem ocorrer e limitar o poder antioxidante de determinada substância [66].

O ensaio de fotoquimiluminescência fundamenta-se na geração do radical livre superóxido, a partir da excitação óptica de um fotossensibilizador, como por exemplo o luminol. Esse teste tem como vantagens a não utilização de um agente oxidante e de altas temperaturas para gerar radicais livres, é rápido e bastante sensível. No entanto, existe uma baixa correlação dos seus resultados com outros ensaios como, por exemplo, ORAC e FRAP, além de dificuldade de interpretação dos resultados, por não se ter conhecimento do mecanismo reacional completo [66]. Esses fatores, podem justificar sua baixa utilização na prática laboratorial, conforme demonstra esta revisão.

O teste de branqueamento do β -caroteno tem como mecanismo a inibição da descoloração de carotenoides, quando exposto a luz ou devido à presença radicais peróxil. Nesse teste o ácido linoleico é oxidado pelos radicais livres presentes no meio, estimulado pelo *2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride* (AAPH) ou peróxido de hidrogênio. Os subprodutos formados iniciam a autooxidação do β -caroteno [64]. Este é um método rápido e com uma abordagem cinética que elava a precisão na triagem de agentes antioxidantes, porém, a descoloração do β -caroteno pode acontecer por várias vias e dificultar a interpretação dos resultados. Desse modo, tem-se buscado utilizar o carotenoide crocina, que tem absorvância extremamente forte na faixa do visível e sofre branqueamento apenas sob o ataque deperóxil [66].

Outra forma de avaliar quantitativamente a capacidade antioxidante de um composto natural é o teste do complexo de fosfomolibdênio. Esse método baseia-se na redução do

molibdênio, em pH ácido, formando um complexo verde, fosfato de molibdênio, mensurado por espectroscopia UV [64]. Devido à sua simplicidade e aos reagentes baratos, esse método torna-se uma alternativa para avaliação da capacidade antioxidante total [67].

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A radiação UV consegue penetrar na pele humana em diferentes proporções, dependendo do seu comprimento de onda e energia. Sabe-se que 95-99% dos raios que atingem a pele são do tipo UV-A, o qual tem maior capacidade de penetração nas células [7]. A radiação UV-A é capaz de gerar mais estresse oxidativo e causar dez vezes mais a peroxidação lipídica [6], induzir à formação de dímeros de pirimidina de ciclobutano (CPD) na camada basal e o acúmulo de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), sendo potencialmente capaz de gerar danos genéticos e mutações nas camadas mais profundas da epiderme [35]. É também nessa região energética que os filtros solares demonstram maior instabilidade [6].

Os raios UV-B atingem principalmente as camadas mais superficiais da pele, sua penetração é menor, se comparado aos fótons UV-A, no entanto, são mais deletérios, passíveis de causar, além de queimaduras solares e inflamação, alterações no ciclo celular, provocando o surgimento de câncer [22]. Quanto aos raios UV-C, em sua grande maioria, são absorvidos pela camada de ozônio e, portanto, não atingem a terra [35].

Desse modo, de acordo com os estudos *in vitro* selecionados, apresentados nas Tabelas 1 e 2, foi possível observar que as atividades fotoprotetora e antioxidante dos compostos fenólicos estão relacionadas com a concentração de fenólicos totais e os tipos de compostos fenólicos presentes nos extratos vegetais. Estruturalmente, essas atividades biológicas dos compostos fenólicos, cuja estrutura básica é demonstrada na Figura 4, relacionam-se com o alto peso molecular e alto grau de hidroxilação no anel aromático, influenciam nos resultados obtidos, pois relacionam-se com a capacidade de doar elétrons e poder antioxidante [43].

Nesse cenário, os extratos naturais elencados na tabela 2 com função de proteção solar e antioxidante apresentaram elevadas concentrações desses compostos [6-8, 11, 13, 19, 26, 35, 36, 38, 44, 50, 57-59, 61, 67] e, conseqüentemente, maiores valores de FPS. Entre esses estudos citados, constatou-se que 82% dos extratos, também apresentaram ação antioxidante, associada a fotoproteção.

Tabela 2. Relação de plantas e frutos contendo compostos fenólicos que apresentaram ação fotoprotetora e antioxidante a partir de métodos instrumentais utilizados na literatura.

Nome da planta	Solvente	Compostos fitoquímicos	Principais efeitos**	Métodos	Referência
<i>Nephelium lappaceum L.</i>	Etanol + água	Flavonoides Taninos	FS	Método de Mansur	[1]
<i>Amburana cearenses;</i> <i>Aspidosperma cuspa;</i> <i>Aspidosperma pyriformium;</i> <i>Croton sonderianus;</i> <i>Curatella americana;</i> <i>Dimorphandra gardneriana;</i> <i>Lippia microphylla;</i> <i>Luebea paniculata</i>	Etanol	Compostos fenólicos Flavonoides	FN; A	Método de Diffey e Robson DPPH	[5]
<i>Marcetiataxifolia</i>	Etanol	Flavonoides	FN; A	Método de Mansur; DPPH	[6]
<i>Chusquea bambusoides;</i> <i>Chusquea capituliflora;</i> <i>Aulonemia aristulata;</i> <i>Chusquea meyeriana;</i> <i>Merostachys pluriflora.</i>	Etanol + água	Flavonoides Compostos fenólicos	FS; A	Método de Diffey e Robson; DPPH	[8]
<i>Schinus terebinthifolius R.</i>	Etanol + água	Compostos fenólicos	FN; A	Método de Mansur; DPPH, peroxidação lipídica	[9]
Polifenóis isolados	-	Flavonoides Estilbenos Derivados ácido hidroxicinâmico	FN; A	Método de Diffey e Robson; peroxidação lipídica	[10]
<i>Spondias purpurea L.</i>	Metanol	Compostos fenólicos Flavonoides	FN; A	Método de Mansur; DPPH	[11]
<i>Euphorbia tirucalli L.</i>	Etanol + água	Compostos fenólicos Flavonoides	FN; A	Método de Mansur; DPPH	[12]
<i>Vitisvinifera L.</i>	Etanol + água	Flavonoides	FS; A	Método de Diffey e Robson; DPPH	[13]

(Continue)

Nome da planta	Solvente	Compostos fitoquímicos	Principais efeitos**	Métodos	Referência
<i>Holomitriopsis laevifolia</i> ; <i>Leucobryum sp.</i>	Água Metanol Etanol	Compostos fenólicos Flavonoides	FN; FS; A	Método de Mansur; DPPH	[14]
<i>Bauhinia microstachya</i> var. <i>massambabensis</i> Vaz	Água + acetona Água + etanol	Flavonoides	FS	Método de Mansur	[18]
Análogos sintéticos do Resveratrol	-	Polifenóis	FN*	Método de Diffey e Robson	[20]
<i>Olea europaea L.</i> <i>Polypodium leucotomos</i> Resveratrol	-	Polifenóis Flavonoides	FS; A	Método de Diffey e Robson; DPPH	[32]
<i>Garcinia brasiliensis</i>	Etanol	Flavonoides Compostos fenólicos	A	DPPH	[33]
Flavonoides isolados	-	Apigenina Pinocembrin	FN	Método de Mansur	[34]
Polifenóis isolados	-	Resveratrol Chalcone Ácido trans- Ferulico Silibinin Taxifolin Verbascoside	FN	Método de Mansur	[36]
<i>Fragaria X ananassa D.</i>	Metanol	Polifenóis Flavonoides	A	Método de Mansur; ABTS; FRAP; DPPH	[38]
<i>Sanionia uncinata</i>	Etanol Etanol + água Metanol	Compostos fenólicos Flavonoides	FN; FS; A	Método de Mansur; DPPH	[39]
<i>Capnophyllum peregrinum (L.)</i>	Metanol	Flavonoides Compostos fenólicos	FN; A	Método de Mansur; DPPH, ABTS, FRAP e teste de fosfomolib- dênio	[40]
<i>Melissa Officinalis, L</i>	-	Compostos fenólicos	A	ABTS; ORAC	[41]

(Continue)

Nome da planta	Solvente	Compostos fitoquímicos	Principais efeitos**	Métodos	Referência
<i>Aniba canelilla</i> ; <i>Brosimum acutifolium</i> ; <i>Dalbergia monetária</i> ; <i>Caesalpinia pyramidalis</i> ; <i>Arrabidaea chica</i> ; <i>Aspidosperma nitidum</i>	Etanol + água	Flavonoides	FN*; A	Método de Diffey e Robson; DPPH	[49]
<i>Boerhavia difusa</i> L.; <i>Momordica charantia</i> L.	Etanol	Compostos fenólicos	FN; A	Método de Mansur; DPPH	[50]
<i>Erythrina velutina</i> W.	Etanol + água	Alcaloides, Flavonoides Terpenos	FN; A	Método de Mansur; DPPH	[53]
<i>Elaeis guineenses</i> J.	-	Betacaroteno Compostos fenólicos	FN; A	Método de Mansur; DPPH, ABTS	[55]
<i>Sorbus torminalis</i>	Metanol	Compostos fenólicos	A	DPPH, ABTS, peroxidação lipídica	[54]
<i>Schinopsis brasiliensis</i> E.	Etanol	Compostos fenólicos Flavonoides Taninos	FN; A	Método de Mansur; DPPH, peroxidação lipídica	[56]
<i>Moringa oleifera</i>	Etanol Água Metanol	Compostos fenólicos Flavonoides	A	Método de Diffey e Robson; DPPH, ORAC, FRAP e Fotoquimiluminescência	[57]
<i>Morus alba</i> L. <i>Rubus idaeus</i> L.	Etanol + água	Flavonoides	FN; A	Método de Diffey e Robson; DPPH	[58]
<i>Própolis vermelha</i>	Etanol + água	Flavonoides	FN; A	Método de Mansur; DPPH, ABTS	[59]
<i>Spondias purpúrea</i> L.	Hexano	Compostos fenólicos Flavonoides	A	Método de Mansur; DPPH, ABTS, FRAP e teste de fosfomolibdênio	[60]

(Continue)

Nome da planta	Solvente	Compostos fitoquímicos	Principais efeitos**	Métodos	Referência
<i>Baccharis antioquiensis</i>	Metanol Acetato de etila	Flavonoides	FN; A	Método de Diffey e Robson; DPPH; peroxidação lipídica	[61]
<i>Própolis vermelha</i>	Etanol + água	Flavonoides	FN; A	Método de Mansur; DPPH, peroxidação lipídica	[62]
<i>Encholirium spectabile</i>	Etanol Metanol Acetato de etila Hexano Cloro-fórmio	Compostos fenólicos Flavonoides	FN; A	Método de Mansur; DPPH, peroxidação lipídica	[63]
<i>Spondias tuberosa</i>	Metanol + água	Taninos	A	DPPH	[68]
<i>Byrsonima sericea</i>	Etanol Água	Taninos Heterósides digitálicos	-	Método de Mansur	[69]
<i>Psidium guajava</i>	Etanol + água	Compostos fenólicos Flavonoides	FS; A	Método de Diffey e Robson; DPPH	[70]
Subprodutos dos grãos de café	-	Flavonoides Compostos fenólicos	FS	Método de Diffey e Robson	[71]

Legenda: não relatado (n.r.), filtro UV natural (FN), antioxidante (A), fotoproteção sinérgica (FS).

*Apenas o extrato *Dalbergia monetária* apresentou FPS igual ou superior a 6,0.

**O critério utilizado na classificação da atividade fotoprotetora foi baseado no que é preconizado pelo FDA, na qual determina que o FPS 2 como valor mínimo para um filtro solar em produtos acabados[16]. Desse modo, os trabalhos que tiveram extratos com FPS igual ou maior que 2, foram considerados Filtros UV naturais (FN), aqueles que tiveram a capacidade de incrementar o FPS na presença de um filtro solar sintético foram considerados como apresentando fotoproteção sinérgica (FS).

Dentre os principais grupos de compostos fenólicos, ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos e taninos, observa-se em sua estrutura básica, um anel aromático contendo uma ou mais hidroxilas [10] (figura 5). Tem sido constantemente levantada a hipótese que a capacidade antioxidante dos fenólicos está diretamente relacionada com

o número de hidroxilas livres [69]. Nessa perspectiva, espera-se que compostos com maior capacidade de doar elétrons, apresentem maior atividade antioxidante.

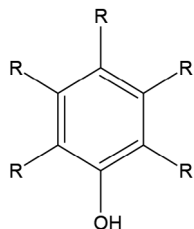


Figura 4. Estrutura química básica dos compostos fenólicos

Para Stevanato *et al.* [10], ao avaliar a ação fotoprotetora dos estilbenos, flavonoides e derivados do ácido hidroxicinâmico, além da alta capacidade de absorção UV desses compostos, as diferenças na estrutura molecular e na massa, corroboram com diferentes valores de absorvância molar e comprimento de onda máximo, confirmando que essas características devem ser levadas em consideração ao determinar a eficácia da molécula em proteger ou não a pele da luz solar [10].

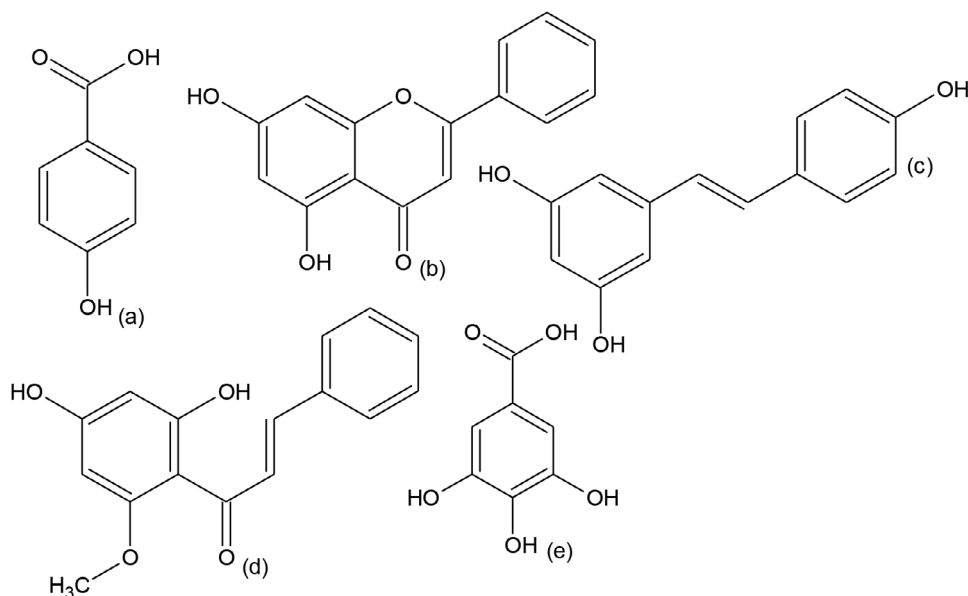


Figura 5. (a) Estrutura química básica dos ácidos fenólicos, (b) flavonoides, (c) estilbenos, (d) lignanose e (e) taninos.

Diferentemente, alguns extratos contendo compostos fenólicos em sua composição ou ainda, que apresentaram capacidade de absorção UV, não tiveram atividade fotoprotetora significativa. Foram encontrados 3 trabalhos (8,3 %) [53, 57, 71], nos quais os extratos botânicos não conseguiram alcançar FPS maior que 6,0, tendo baixo potencial como filtros solares naturais. Segundo Ramos *et al.* [53], a intensidade de proteção solar que um extrato pode oferecer, depende da quantidade de grupos cromóforos, do intervalo de absorção, da concentração e comprimento de onda. Isso justifica o fato de que nem todos os extratos que possuem compostos fenólicos em sua composição apresentam boa atividade fotoprotetora.

Foi observado que 28 % dos trabalhos selecionados apresentaram extratos vegetais com capacidade de incrementar a ação fotoprotetora [1, 10, 12, 13, 17, 35, 41, 72, 73]. Esse incremento foi evidenciado a partir do aumento do FPS, quando os extratos foram associados aos filtros solares sintéticos. Isso está relacionado efeito sinérgico de muitos compostos naturais, é uma proposta interessante a ser explorada.

Diante da perspectiva de desenvolvimento de produtos voltados à fotoproteção tópica, é possível identificar problemáticas no que diz respeito a garantia da eficácia de um fotoprotetor [57]. Segundo Baldisseretto *et al.* [57], embora os filtros solares sejam úteis, eles não conseguem proteger a pele de modo integral e, sugere ainda, que as causas para isso são a incorreta aplicação, a proteção incompleta e a toxicidade de filtros sintéticos. Assim, durante o desenvolvimento do produto fotoprotetor, deve-se atentar a questões relacionadas ao surgimento de sensibilização dérmica, fotoirritação, fotoestabilidade e compatibilidade de filtros solares, que são problemas que afetam diretamente na aceitabilidade do produto por parte do consumidor e, conseqüentemente, sua utilização adequada, além da sua eficiência [13, 14, 22].

Outra questão relevante, refere-se a fotoestabilidade que é de grande importância, pois além de delinear a eficácia da ação requerida, ela mensura, também, a segurança dos filtros solares, posto que a instabilidade reduz a capacidade de fotoproteção e pode gerar compostos de degradação com potencial de toxicidade. Um exemplo é o *Butyl-methoxydibenzoylmethane*, filtro orgânico sintético UV-A, considerado instável, pois é degradado em aproximadamente 50 a 90% após 60 min de exposição aos raios UV [13], sofrendo tautomerização e, em conseqüência, perdendo sua eficácia, para além de gerar produtos da fotodegradação [8].

Sendo assim, ao avaliar os métodos empregados na avaliação das atividades de fotoproteção e antioxidante, observa-se métodos tradicionalmente aplicados, os quais apresentam limitações que já foram estabelecidas ao longo do tempo. No entanto, ainda existe a necessidade de estudos que aumentem a performance dessas técnicas, que esta-

beleçam sua correlação com métodos *in vivo*, pois isso garante maior precisão, exatidão e reprodutibilidade, que validem os resultados encontrado, podendo representar um avanço nos requisitos de registros de produtos fotoprotetores.

Ao passo que, os modelos biológicos podem ser considerados alternativas para presumir *in vitro*, de forma mais detalhada e consistente, o que ocorre a nível biológico, visto que é possível identificar e traçar mecanismos de ação das substâncias. Portanto, a associação de métodos instrumentais e biológicos deve ser estimulada, a fim de aumentar a qualidade das análises realizadas.

CONCLUSÃO

A partir dos estudos analisados, conclui-se que os compostos fenólicos, em especial os flavonoides, possuem potencial ação fotoproteção e antioxidante, uma vez que, plantas e frutos com elevadas concentrações destes compostos podem promover a defesa do organismo contra os danos causados pelos raios ultravioleta. Assim, a utilização de produtos naturais, ricos dessas substâncias, revela-se uma estratégia interessante para melhoria na proteção solar.

A utilização de métodos instrumentais, baseados nos princípios da absorvância e transmitância molecular, deve ser bastante encorajada, pois apresenta correlação *in vivo* e permite realizar a triagem de filtros solares, economizando tempo e recursos.

Já a utilização de métodos biológicos é uma alternativa pertinente para avaliar os efeitos mais profundos que a radiação UV pode desencadear na pele humana, uma vez que permite avaliar os danos ao DNA, a viabilidade celular e a inativação ou ativação de enzimas relacionadas ao mecanismo da apoptose entre outros aspectos, que somados aos dados obtidos com a utilização dos métodos instrumentais de avaliação da fotoproteção e da atividade antioxidante, conseguem prever as atividades biológicas e identificar possíveis compostos naturais que podem ser empregados na indústria cosmética e farmacêutica como filtros solares, antioxidantes e até antitumorais.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores não relatam nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. M. Dantas-Mota, A.N. da Boa-Morte, L.C.R. Cerqueira e Silva, F.A. Chinalia, Sunscreen protection factor enhancement through supplementation with Rambutan (*Nephelium lappaceum*L) ethanolic extract, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **205**, 111837 (2020).
2. D.H. McDaniel, J.M. Waugh, L.I. Jiang, T.J. Stephens, A. Yaroshinsky, C. Mazur, M. Wortzman, D.B. Nelson, Evaluation of the antioxidant capacity and protective effects of a comprehensive topical antioxidant containing water-soluble, enzymatic, and lipid-soluble antioxidants, *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, **12**(4), 46-53 (2019).
3. E. Gregoris, G.P. Pereira-Lima, S. Fabris, M. Bertelle, M. Sicari, R. Stevanato, Antioxidant properties of Brazilian tropical fruits by correlation between different assays, *Biomed. Res. Int.*, **2013**, 132759 (2013).
4. J.P.S. Silveira, L.N. Seito, S. Eberlin, G.C. Dieamant, C. Nogueira, M.C.V. Pereda, *et al.*, Photoprotective and antioxidant effects of Rhubarb: Inhibitory action on tyrosinase and tyrosine kinase activities and TNF- α , IL-1 α and α -MSH production in human melanocytes, *BMC Complement. Altern. Med.*, **13**, 49 (2013).
5. A.R. Nunes, A.L.M. Rodrigues, D.B. de Queiróz, I.G.P. Vieira, J.F.C. Neto, J.T.C. Junior, *et al.*, Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **189**, 119-123 (2018).
6. S.C.C. Costa, C.B. Detoni, C.R.C. Branco, M.B. Botura, A. Branco, *In vitro* photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations, *Braz. J. Pharmacogn.*, **25**(4), 413-418 (2015).
7. A. Rajnochová-Svobodová, E. Gabrielová, L. Michaelides, P. Kosina, A. Ryšavá, J. Ulrichová, *et al.*, UVA-photoprotective potential of silymarin and silybin, *Arch. Dermatol. Res.*, **310**(5), 413-424 (2018).
8. K.B. Wróblewska, A.R. Baby, M.T. Grombone-Guaratini, P.R.H. Moreno, *In vitro* antioxidant and photoprotective activity of five native Brazilian bamboo species, *Ind. Crops Prod.*, **130**, 208-215 (2019).
9. M.K. Bulla, L. Hernandez, M.L. Baesso, A.C. Nogueira, A.C. Bento, B.B. Bortoluzzi, *et al.*, Evaluation of photoprotective potential and percutaneous penetra-

- tion by photoacoustic spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius* Raddi extract, *Photochem. Photobiol.*, **91**(3), 558-566 (2015).
10. R. Stevanato, M. Bertelle, S. Fabris, Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **69**, 71-77 (2014).
 11. R.V. Silva, S.C.C. Costa, C.R.C. Branco, A. Branco, *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation, *Ind. Crops Prod.*, **83**, 509-514 (2016).
 12. J.F.F.Orlanda, V.V. Vale, Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae), *Rev. Bras. Plantas Med.*, **17**, 730-736 (2015).
 13. A. Hubner, F. Sobreira, A.V. Neto, C.A.S. de Oliveira-Pinto, M.F. Dario, I.E.C. Díaz, *et al.*, The synergistic behavior of antioxidant phenolic compounds obtained from winemaking waste's valorization, increased the efficacy of a sunscreen system, *Antioxidants (Basel)*, **8**(11), 530 (2019).
 14. A.S. Fernandes, J.L. Mazzei, H. Evangelista, M.R.C. Marques, E.R.A. Ferraz, I. Felzenszwalb, Protection against UV-induced oxidative stress and DNA damage by Amazon moss extracts, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **183**, 331-341 (2018).
 15. Brasil, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº 30 de 01 de junho de 2012, *Diário da República Federativa do Brasil*, 1-8, 2012.
 16. US Food and Drug Administration, *Sunscreen drug products for over-the-counter human use: proposed rule*, [Internet]. Vol. 84, Federal Register, 2019, URL: <https://www.federalregister.gov/documents/2019/02/26/2019-03019/sunscreen-drug-products-for-over-the-counter-human-use>. Acesso em outubro, 2020.
 17. A.D. Cvetkovska, S. Manfredini, P. Ziosi, S. Molesini, V. Dissette, I. Magri, *et al.*, Factors affecting SPF *in vitro* measurement and correlation with *in vivo* results, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **39**(3), 310-319 (2017).
 18. M.C.P.P. Mansur, S.G. Leitão-Reis, C. Cerqueira-Coutinho, A.B. Vermelho, R.S. Silva, O.A.F. Presgrave, *et al.*, *In vitro* and *in vivo* evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts, *Rev. Bras. Farmacogn.*, **26**(2), 251-258 (2016).

19. M.A. Khan, Sun protection factor determination studies of some sunscreen formulations used in cosmetics for their selection, *J. Drug Deliv. Therap.*, **8**(5-s), 149-151 (2018).
20. H.C. Polonini, L.L. Lima, K.M. Gonçalves, A.M.R. Do Carmo, A.D. Da Silva, N.R.B. Raposo, Photoprotective activity of resveratrol analogues, *Bioorg. Med. Chem.*, **21**(4), 964-968 (2013).
21. I.F. Almeida, A.S. Pinto, C. Monteiro, H. Monteiro, L. Belo, J. Fernandes, *et al.*, Protective effect of *C. sativa* leaf extract against UV mediated-DNA damage in a human keratinocyte cell line, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **144**, 28-34 (2015).
22. T. Baccarin, M. Mitjans, D. Ramos, E. Lemos-Senna, M.P. Vinardell, Photoprotection by *Punica granatum* seed oil nanoemulsion entrapping polyphenol-rich ethyl acetate fraction against UVB-induced DNA damage in human keratinocyte (HaCaT) cell line, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **153**, 127-136 (2015).
23. L.T.N. Ngoc, V.V. Tran, J.-Y. Moon, M. Chae, D. Park, Y.-C. Lee, Recent trends of sunscreen cosmetic: An update review, *Cosmetics*, **6**(4), 64 (2019).
24. J.d.S. Mansur, M.N.R. Breder, M.C.d'A. Mansur, R.D. Azulay, Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria, *An. Bras. Dermatol.*, **61**(3), 121-124 (1986).
25. M.D. Mota, R.Y.S. Costa, A.a.a. Silva-Guedes, L.C.R. Cerqueira e Silva, F.A. Chinalia, Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **201**, 111639 (2019).
26. B.L. Diffey, J. Robson, A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **40**(3), 127-133 (1989).
27. M. Hupel, N. Poupart, E.A. Gall, Development of a new *in vitro* method to evaluate the photoprotective sunscreen activity of plant extracts against high UV-B radiation, *Talanta*, **86**(1), 362-371 (2011).
28. S.I. Yang, S. Liu, G.J. Brooks, Y. Lanctot, J.V. Gruber, Reliable and simple spectrophotometric determination of sun protection factor: A case study using organic UV filter-based sunscreen products, *J. Cosmet. Dermatol.*, **17**(3), 518-522 (2018).

29. A.d.S.T. Cardoso, S.S. Santos, C.V. Silva, E.C.L. Cazedey, Green analytical methods for isosorbide dinitrate determination by UV spectrophotometry and stability indicating HPLC-PDA, *Braz. J. Health Rev.*, **3**(3), 5153-5161 (2020).
30. P. Buso, M. Radice, A. Baldisserotto, S. Manfredini, S. Vertuani, Guidelines for the development of herbal-based sunscreen, In: P.F. Builders (editor), *Herbal Medicine* [Internet], IntechOpen, London, 2017, [cited 2020, April 10]. URL: <https://www.intechopen.com/chapters/58422> doi: 10.5772/intechopen.72712
31. A.P. Schuch, M.C.S. Moraes, T. Yagura, C.F.M. Menck, Highly sensitive biological assay for determining the photoprotective efficacy of sunscreen, *Environ. Sci. Technol.*, **48**(19), 11584-11590 (2014).
32. A.C.P. Da Silva, J.P. Paiva, R.R. Diniz, V.M. Dos Anjos, A.B.S.M. Silva, A.V. Pinto, *et al.*, Photoprotection assessment of olive (*Olea europaea* L.) leaves extract standardized to oleuropein: *In vitro* and *in silico* approach for improved sunscreens, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **193**, 162-171 (2019).
33. S.A. Figueiredo, F.M.P. Vilela, C.A. Da Silva, T.M. Cunha, M.H. Dos Santos, M.J.V. Fonseca, *In vitro* and *in vivo* photoprotective/photochemopreventive potential of *Garcinia brasiliensis* epicarp extract, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **131**, 65-73 (2014).
34. A. García-Forero, D.A. Villamizar-Mantilla, L.A. Núñez, R.E. Ocazonez, E.E. Stashenko, J.L. Fuentes, Photoprotective and antigenotoxic effects of the flavonoids apigenin, naringenin and pinocembrin, *Photochem. Photobiol.*, **95**(4), 1010-1018 (2019).
35. S. Hu, F. Chen, M. Wang, Photoprotective effects of oxyresveratrol and kuwanon O on DNA damage induced by UVA in human epidermal keratinocytes, *Chem. Res. Toxicol.*, **28**(3), 541-548 (2015).
36. V. Kostyuk, A. Potapovich, A.R. Albuhaydar, W. Mayer, C. de Luca, L. Korkina, Natural substances for prevention of skin photoaging: Screening systems in the development of sunscreen and rejuvenation cosmetics, *Rejuvenation Res.*, **21**(2), 91-101 (2018).
37. S. Skrovankova, D. Sumczynski, J. Mlcek, T. Jurikova, J. Sochor, Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**(10), 24673-24706 (2015).

38. M. Gasparrini, T.Y. Forbes-Hernandez, S. Afrin, P. Reboredo-Rodriguez, D. Cianciosi, B. Mezzetti, *et al.*, Strawberry-based cosmetic formulations protect human dermal fibroblasts against UVA-induced damage, *Nutrients*, **9**(6), 605 (2017).
39. A.S. Fernandes, J.L. Mazzei, C.G. Oliveira, H. Evangelista, M.R.C. Marques, E.R.A. Ferraz, *et al.*, Protection against UV-induced toxicity and lack of mutagenicity of Antarctic *Sanionia uncinata*, *Toxicology*, **376**, 126-136 (2017).
40. M. Lefahal, N. Zaabat, R. Ayad, E. Makhloufi, L. Djarri, M. Benahmed, *et al.*, *In vitro* assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and photoprotective activities of crude methanolic extract of aerial parts of *Capnophyllum peregrinum* (L.) Lange (Apiaceae) growing in Algeria, *Medicines (Basel)*, **5**(2), 26 (2018).
41. A. Pérez-Sánchez, E. Barrajon-Catalán, M. Herranz-López, J. Castillo, V. Micol, Lemon balm extract (*Melissa officinalis*, L.) promotes melanogenesis and prevents UVB-induced oxidative stress and DNA damage in a skin cell model, *J. Dermatol. Sci.*, **84**(2), 169-177 (2016).
42. A. Smerilli, S. Balzano, M. Maselli, M. Blasio, I. Orefice, C. Galasso, *et al.*, Antioxidant and photoprotection networking in the coastal diatom *Skeletonema marinoi*, *Antioxidants*, **8**(6), 154 (2019).
43. D.d.S. Baldivia, D.F. Leite, D.T.H. de Castro, J.F. Campos, U.P. Dos Santos, E.J. Paredes-Gamero, *et al.*, Evaluation of *in vitro* antioxidant and anticancer properties of the aqueous extract from the stem bark of *Stryphnodendron adstringens*, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**(8), 2432 (2018).
44. T. Baccarin, E. Lemos-Senna, Potential application of nanoemulsions for skin delivery of pomegranate peel polyphenols, *AAPS PharmSciTech*, **18**(8), 3307-3314 (2017).
45. C.M. Batista, A.V.F. Alves, L.A. Queiroz, B.S. Lima, R.N.P. Filho, A.A.S. Araújo, *et al.*, The photoprotective and anti-inflammatory activity of red propolis extract in rats, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **180**, 198-207 (2018).
46. R. Camacho-Sandoval, E.N. Sosa-Grande, E. González-González, A. Tenorio-Calvo, C.A. López-Morales, M. Velasco-Velázquez, *et al.*, Development and validation of a bioassay to evaluate binding of adalimumab to cell membrane-anchored TNF α using flow cytometry detection, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **155**, 235-240 (2018).

47. L.Chen, J.Y.Hu, S.Q.Wang, The role of antioxidants in photoprotection: A critical review, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **67**(5), 1013-1024 (2012).
48. A.R.A. Da Silva, S.M. de Moraes, M.M. Mendes-Marques, D.F. de Oliveira, C.C. Barros, R.R. de Almeida, *et al.*, Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of two Spondias species from Northeastern Brazil, *Pharm. Biol.*, **50**(6), 740-746 (2012).
49. F.J. Martins, C.A. Caneschi, J.L.F. Vieira, W. Barbosa, N.R.B. Raposo, Antioxidant activity and potential photoprotective from Amazon native flora extracts, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **161**, 34-39 (2016).
50. R. Guimarães de Sousa, A.D. da Silva-Lima, E. Neves de Lima, Incremento da atividade fotoprotetora e antioxidante de cosméticos contendo extratos vegetais da caatinga, *Braz. J. Nat. Sci.*, **3**(1), 225-230 (2020).
51. A. Lohani, A.K. Mishra, A. Verma, Cosmeceutical potential of geranium and calendula essential oil: Determination of antioxidant activity and in vitro sun protection factor, *J. Cosmet. Dermatol.*, **18**(2), 550-557 (2019).
52. A.K. Mishra, A. Mishra, P. Chattopadhyay, Herbal cosmeceuticals for photoprotection from ultraviolet B radiation: A review, *Trop. J. Pharm. Res.*, **10**(3), 351-360 (2011).
53. R. Guimarães-Ramos, J. Feitosa-Moura, V. Da Silva-Lima, R. Da Conceição-Santos, A. Macário de Oliveira, L.A.L. Soares, Estudo comparativo da composição fitoquímica, citotoxicidade e potencias antioxidante e fotoprotetor da casca e folha de *Erythrina velutina*, *Braz. J. Develop.*, **6**(6), 33140-33158 (2020).
54. M.A. Olszewska, *In vitro* antioxidant activity and total phenolic content of the inflorescences, leaves and fruits of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz, *Acta Pol. Pharm. Drug Res.*, **68**(6), 945-953 (2011).
55. V. Dal-Prá, F.C. Lunelli, R.G. Vendruscolo, R. Martins, R. Wagner, A.P. Lazzaretti, *et al.*, Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from palm pressed fiber with high antioxidant and photoprotective activities, *Ultrason. Sonochem.*, **36**, 362-366 (2017).
56. S.R.G. de Lima-Saraiva, F.G.d.S. Oliveira, R.G. de Oliveira Junior, C. de Sousa-Araújo, A.P. de Oliveira, A.G.M. Pacheco, *et al.*, Chemical analysis and evaluation of antioxidant, antimicrobial, and photoprotective activities of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Anacardiaceae), *Sci. World J.*, **2017**, ID 1713921 (2017).

57. A. Baldisserotto, P. Buso, M. Radice, V. Dissette, I. Lampronti, R. Gambari, *et al.*, *Moringa oleifera* leaf extracts as multifunctional ingredients for “natural and organic” sunscreens and photoprotective preparations, *Molecules*, **23**(3), 664 (2018).
58. L.C. Cefali, J.G. Franco, G.F. Nicolini, J.A. Ataíde, P.G. Mazzola, *In vitro* antioxidant activity and solar protection factor of blackberry and raspberry extracts in topical formulation, *J. Cosmet. Dermatol.*, **18**(2), 539-544 (2019).
59. W.A.d.S. Almeida, A.d.S. Antunes, R.G. Penido, H.S.d.G. Correa, A.M.d. Nascimento, A.L. Andrade, *et al.*, Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas, *Braz. J. Pharmacogn.*, **29**(3), 373-380 (2019).
60. C.L.F. de Almeida, S.A. Brito, T.I. de Santana, H.B.A. Costa, C.H.R. de Carvalho Júnior, M.V. Da Silva, *et al.*, *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae): Antioxidant and antiulcer activities of the leaf hexane extract, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2017**, ID 6593073 (2017).
61. J.C. Mejía-Giraldo, R. Winkler, C. Gallardo, A.M. Sánchez-Zapata, M.A. Pueras-Mejía, Photoprotective potential of *Baccharis antioquiensis* (Asteraceae) as natural sunscreen, *Photochem. Photobiol.*, **92**(5), 742-752 (2016).
62. A.D. Permana, R.N. Utami, A.J. Courtenay, M.A. Manggau, R.F. Donnelly, L. Rahman, Phytosomal nanocarriers as platforms for improved delivery of natural antioxidant and photoprotective compounds in propolis: An approach for enhanced both dissolution behaviour in biorelevant media and skin retention profiles, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **205**, 111846 (2020).
63. R.G. de Oliveira, G.R. Souza, A.L. Guimarães, A.P. de Oliveira, A.C. Silva-Morais, E.C. Da Cruz-Araújo, *et al.*, Dried extracts of *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae) present antioxidant and photoprotective activities *in vitro*, *J. Young Pharm.*, **5**(3), 102-105 (2013).
64. M.N. Alam, N.J. Bristi, M. Rafiquzzaman, Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity, *Saudi Pharm. J.*, **21**(2), 143-152 (2013).
65. J.B.L. Tan, Y.Y. Lim, Critical analysis of current methods for assessing the *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of plant extracts, *Food Chem.*, **172**, 814-822 (2015).

66. A. Karadag, B. Ozcelik, S. Saner, Review of methods to determine antioxidant capacities, *Food Anal. Methods*, **2**(1), 41-60 (2009).
67. P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E, *Anal. Biochem.*, **269**, 337-341 (1999).
68. T.A. de Sousa-Araújo, V.T.N. de Almeida e Castro, E.L.C. de Amorim, U.P. de Albuquerque, Habitat influence on antioxidant activity and tannin concentrations of *Spondias tuberosa*, *Pharm. Biol.*, **50**(6), 754-759 (2012).
69. C.O. Medina, B.O. Louchard, T. Gonçalves, Análise espectrofotométrica da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos das folhas de *Byrsonima sericea*, *Rev. Cienc. Farm. Basic. Aplic.*, **36**(3), 391-398 (2015).
70. L.P.G. Milani, N.O.S. Garcia, M.C. Morais, A.L.S. Dias, N.L. Oliveira, E.C. Conceição, Extract from byproduct *Psidium guajava* standardized in ellagic acid: additivation of the *in vitro* photoprotective efficacy of a cosmetic formulation, *Braz. J. Pharmacogn.*, **28**(6), 692-696 (2018).
71. J. Marto, L.F. Gouveia, B.G. Chiari, A. Paiva, V. Isaac, P. Pinto, *et al.*, The green generation of sunscreens: Using coffee industrial sub-products, *Ind. Crops Prod.*, **80**, 93-100 (2016).
72. T.B.S. Catelan, L. Gaiola, B.F. Duarte, C.A.L. Cardoso, Evaluation of the *in vitro* photoprotective potential of ethanolic extracts of four species of the genus *Campomanesia*, *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.*, **197**, 111500 (2019).
73. D.M. Kasote, S.S. Katyare, M.V. Hegde, H. Bae, Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications, *Int. J. Biol. Sci.*, **11**(8), 982-991 (2015).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

T. Nascimento de Castro, M. Dantas-Mota, E.C. Laignier-Cazedey, Atividade fotoprotetora e antioxidante de compostos fenólicos: uma revisão sistemática de testes *in vitro*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **51**(2), 557-588 (2022). <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v51n2.97604>