



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA – UNEB
PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS – PPGFARMA

DANIEL DE SOUZA BATISTA

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA
DO EXTRATO DE *Spilanthes acmella* E DE SUAS
FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

Salvador

2022

DANIEL DE SOUZA BATISTA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA
DO EXTRATO DE *Spilanthes acmella* E DE SUAS
FORMULAÇÕES COSMÉTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação *Stricto Sensu* Em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Edith Cristina Laignier Cazedey

Coorientador: Prof. Dr. Milleno Dantas Mota

Linha de Pesquisa: Linha 01 - Prospecção de Fármacos e Recursos Naturais

Salvador

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Biblioteca Professor **Edivaldo Machado Boaventura - UNEB – Campus I**

Bibliotecária: Célia Maria da Costa – CRB5/918

B333a

Batista, Daniel de souza

Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extrato de *Spilanthes acmella* e de suas formulações cosméticas / Daniel de Souza Batista. – Salvador, 2022.

114 f.

Orientador: Edith Cristina Laignier Cazedey.

Coorientador: Mileno Dantas Mota.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado da Bahia. Departamento Ciências da Vida. Campus I. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, 2022.

Contém referências e anexos.

1. Produtos Naturais (Farmacologia e Química). 2. Fator de proteção solar. 3. Fármacos e Medicamentos. 4. Cosméticos. 5. Protetores solares. 6. I. Cazedey, Edith Cristina Laignier. II. Mota, Mileno Dantas. III. Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências da Vida. Campus I. IV. Título.

CDD: 635.509811



UNEB
UNIVERSIDADE DO
ESTADO DA BAHIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

"AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DO EXTRATO DE
SPILANTHES ACMELLA E DE SUAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS"

DANIEL DE SOUZA BATISTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, em 28 de setembro de 2022, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:

Professor(a) Dr.(a) EDITH CRISTINA LAIGNIER CAZEDEY
Universidade Federal da Bahia - UFBA
Doutorado em Ciências Farmacêuticas
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Professor(a) Dr.(a) MILLENO DANTAS MOTA
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Biotecnologia
Universidade Federal da Bahia

Professor(a) Dr.(a) ERIKA MARIA DE OLIVEIRA RIBEIRO
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia

Professor(a) Dr.(a) NEILA DE PAULA PEREIRA
Universidade Federal da Bahia - UFBA
Doutorado em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal do Paraná

Dedicatória

Dedico à minha família que me ajudou em todas as etapas para conseguir alcançar esse sonho, ao meu pai que não vai poder estar aqui presencialmente para ver essa conquista acontecer e aos Jovens e principalmente os LGBTQ+ que sonham em seguir como pesquisadores, nós podemos!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família, que esteve comigo, auxiliando em cada passo do mestrado, desde o momento de ingressar, até hoje, na procura pelo jambu, e nos momentos de altos e baixos que passei, principalmente minha mãe que esteve comigo durante todo o processo e me ajudou a trilhar o caminho. Tia Bel, Jacy, Ada, Ide, Cecília, Cici, Mile, Tia dê, tio cláudio, vovô e vovó, Bruna, João, Luís, meu pai, que espero que acompanhe os meus próximos passos de onde estiver. Todo mundo que esteve comigo nessa caminhada e me botou para cima pra continuar, **MUITO OBRIGADO** pelo suporte durante a caminhada e eu lembro, valeu por tudo!

Obrigado as amizades que fiz durante a vivência em grande parte EAD junto ao grupo P&G e o de Biomas que passaram pelas adversidades assim como eu nessa caminhada turbulenta e foi extremamente importante conhecer e aprender com vocês! Lai, Luciano, Alê, Phydell, Abdon, Tai e Tai, obrigado pelas aulas extras antes ou depois das aulas, para me ajudar a entender o assunto que nunca havia visto por não ter tido a base da área de saúde na engenharia, valeu pela união pra gente conseguir fazer publicações juntos e foi daí que vou conseguir meu primeiro D.O.I, além das trocas de vivências. Saibam, foi muito importante ter aprendido com cada um de vocês individualmente ou no senso coletivo!

Na UFBA, Obrigado a Cinara que foi minha orientadora também diversas vezes no laboratório do NUPAM, me ajudando a passar pelas frustrações de experimento que não davam certo, Priscila que também tava comigo em diversos momentos, a galera do laboratório que em algum momento compartilhou o laboratório comigo e trocou uma ideia ou ensinou de alguma maneira algo novo, além de Jéssica que me ajudou um bocado quando passava por perrengues na UFBA, sempre sendo um hino e possibilitando me encontrar mesmo que perdido pelos corredores da UFBA.

Obrigado aos meus orientadores Edith Cristina Laignier Cazedey e Milleno Dantas Mota. Da forma de vocês, tentaram me ajudar como podiam. Pró Edith, valeu por ensinar que a faculdade pública é do povo e que a gente está na pesquisa para gerar conhecimento, mas também para devolver/compartilhar o conhecimento para e com a sociedade, e se a gente vive a pesquisa e academia, é porque realmente tem que ser por amor! Prof. Milleno, valeu por compartilhar seus conhecimentos sobre cosméticos, as indicações de leitura e troca de conhecimento nas terças na sua aula de farmacotécnica e nos outros momentos que podia tirar dúvida. Eles me deram ensinamentos que não tive antes e como amo cosmetologia, foi incrível poder aprender. Obrigado à CAPES pela bolsa de estudos, que durante essa pandemia me ajudou muito!

E obrigado a todes que estiveram nesse meu caminho e são tantos nomes que chega não cabe nesses agradecimentos! Vocês deixaram suas marcas nesse caminho e fico muito feliz de ter vivenciado esse momento da minha vida com vocês!

RESUMO

BATISTA, D. de S. **AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DO EXTRATO DE *Spilanthes acmella* E DE SUAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS** (dissertação). Salvador: Departamento de Ciências da Vida (DCV), Universidade do Estado da Bahia, 2022; 114p.

A indústria cosmética está se reinventando e o foco no estudo de extratos naturais vem crescendo. Agentes antioxidantes, componentes presentes nesses extratos, atuam contra o fotoenvelhecimento e o estresse oxidativo, também causados pela radiação solar. Os referidos agentes antioxidantes podem ser encontrados compondo formulações de protetores solares. As radiações solares podem acarretar neoplasias e mutações em células, o que pode ser o precursor do câncer de pele, assim como eritemas e ceratoses actínicas. A prevenção, com o uso tópico de protetor solar, pode mitigar tais problemas. Como forma de inovação, apresenta-se o uso dos extratos naturais em formulações cosméticas fotoprotetoras, o que implicará na diminuição da concentração de filtros orgânicos sintéticos. Neste trabalho, o extrato natural de *Spilanthes acmella* é estudado e avaliado no que se refere ao seu Fator de Proteção Solar (FPS), teor de fenólicos e flavonoides totais, sua toxicidade *in vitro* e estabilidade. Adicionalmente, realizou-se prospecção patentária de cosméticos com a presença do extrato de *S. acmella*. A partir dos testes realizados, constatou-se que o FPS das formulações estudadas, em diferentes concentrações, acrescidas de filtro solar sintético, apresentaram resultados de FPS entre 10 e 12. Os teores de fenólicos e flavonoides totais apresentaram resultados próximos aos descritos na literatura. O ensaio de toxicidade mostrou não haver irritabilidade em boa parte de suas amostras testadas. O ensaio de estabilidade evidenciou melhorias a serem realizadas na composição da base cosmética, entretanto, no geral, mostrou viabilidade de aplicação como formulação de filtro solar.

Palavras-chave: *Spilanthes acmella*; Fotoprotetor vegetal; Cosméticos; Fator de Proteção Solar

ABSTRACT

BATISTA, D. de S. **IN VITRO EVALUATION OF THE PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY OF *Spilanthes acmella* EXTRACTS AND FROM IT COSMETIC FORMULATIONS** (dissertation). Salvador: Department of Life Sciences, Bahia State University, 2021; 114p.

The cosmetic industry is reinventing itself and the focus on the study of natural extracts is growing. Antioxidant agents, components present in these extracts, act against photoaging and oxidative stress, also caused by solar radiation. Said antioxidant agents can be found in sunscreen formulations. Solar radiation can cause neoplasms and mutations in cells, which can be the precursor of skin cancer, as well as erythema and actinic keratoses. Prevention, with the topical use of sunscreen, can mitigate such problems. As a form of innovation, the use of natural extracts in photoprotective cosmetic formulations is presented, which will imply a decrease in the concentration of synthetic organic filters. In this work, the natural extract of *Spilanthes acmella* is studied and evaluated in terms of its Sun Protection Factor (SPF), total phenolic and flavonoid content, its in vitro toxicity and stability. Additionally, a patent prospection of cosmetics was carried out with the presence of *S. acmella* extract. From the tests carried out, it was found that the SPF of the formulations studied, in different concentrations, plus synthetic sunscreen, showed SPF results between 10 and 12. The levels of phenolics and total flavonoids showed results close to those described in the literature. The toxicity test showed no irritability in most of the samples tested. The stability test showed improvements to be made in the composition of the cosmetic base, however, in general, it showed feasibility of application as a sunscreen formulation.

Keywords: *Spilanthes acmella*; Vegetable sunscreen; cosmetics; Solar protection factor

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
EQ	Equivalente de Quercetina
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
FDA	Food and Drugs Administration
FPS	Fator de Proteção Solar
HET-CAM	Hen's Egg Test - Chorioallantoic Membrane
IV	Infravermelho
MC	Câncer de pele Melanoma
MCA	Membrana Corioalantoide
M	Molar
NMC	Câncer de pele Não Melanoma
OMS	Organização Mundial da Saúde
PABA	Ácido para-aminobenzoico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-Visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura básica das camadas da pele	22
Figura 2 -	Estratos epidérmicos	23
Figura 3 -	Estimativa de novos casos de câncer de pele não melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo	28
Figura 4 -	Estimativa de mortos por câncer de pele não melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo	29
Figura 5 -	Estimativa de novos casos de câncer de pele melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo	29
Figura 6 -	Estimativa de mortos por câncer de pele melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo	30
Figura 7 -	Compostos fotoprotetores: (a) salicilato de homomentila; (b) 2-etil-hexilmethoxicinamato	31
Figura 8 -	Mecanismo de ação do cinamato a partir da deslocalização de seus elétrons	32
Figura 9 -	Representação da parte aérea da <i>Spilanthes acmella</i>	34
Figura 10 -	Estrutura molecular do espilantol	36
Figura 11 -	Esquema de espectro duplo feixe	39
Figura 12 -	Curva de calibração do ácido gálico	53
Figura 13 -	Curva de calibração da quercetina	54
Figura 14 -	Ovo de controle positivo aos 5 minutos	56
Figura 15 -	Ovo de controle negativo no momento inicial	56
Figura 16 -	Ovo de controle negativo aos 5 minutos	56
Figura 17 -	Ovo da amostra 1 no momento inicial	57
Figura 18 -	Ovo da amostra 1 aos 5 minutos	57

Figura 19 -	Ovo da amostra 2 no momento inicial	58
Figura 20 -	Ovo da amostra 2 aos 5 minutos	58
Figura 21 -	Ovo da amostra 3 no momento inicial	58
Figura 22 -	Ovo da amostra 3 aos 5 minutos	58
Figura 23 -	Ovo da amostra 4 no momento inicial	59
Figura 24 -	Ovo da amostra 4 aos 5 minutos	59
Figura 25 -	Ovo da amostra 5 no momento inicial	60
Figura 26 -	Ovo da amostra 5 aos 5 minutos	60
Figura 27 -	Ovo da amostra 6 no momento inicial	60
Figura 28 -	Ovo da amostra 6 aos 5 minutos	60
Figura 29 -	Formulações controle, C1, C2 e C3, após 12 meses em temperatura ambiente controlada	62
Figura 30 -	Formulação da amostra A1, visão frontal (a), aérea (b). Formulação A2, visão frontal (c), aérea (d). Formulação A3, visão frontal (e), aérea (f)	64
Figura 31 -	Formulações de amostra A4, A5 e A6, visão frontal (a), aérea (b)	65
Figura 32 -	Valores de FPS obtidos para as amostras	67
Figura 33 -	Simulações de composições no DSM Sunscreen optimizer (a) e BASF (b)	68
Figura 34 -	Valores de FPS obtidos para as amostras ao passar de 28 dias	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Unidade de Comprimento de Onda para Várias Regiões Espectrais	37
------------	---	----

Tabela 2 –	Formulação da base cosmética	46
Tabela 3 –	Pontuação das alterações geradas pelos efeitos observados na membrana corioalantóide do ovo	48
Tabela 4 –	Classificação do potencial de irritabilidade gerado pelo HET-CAM	49
Tabela 5 –	Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda.	50
Tabela 6 –	Características organolépticas e suas possíveis classificações	51
Tabela 7 –	Absorvâncias obtidas para análise da concentração de fenólicos totais para a <i>S. acmella</i>	53
Tabela 8 –	Absorvâncias obtidas para análise da concentração de flavonoides totais	55
Tabela 9 -	Características organolépticas do controle 1, 2 e 3	62
Tabela 10 -	Características organolépticas das amostras 1, 2 e 3	63
Tabela 11 -	Características organolépticas das amostras 4, 5 e 6	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Classificação de Fitzpatrick de fototipos de pele	16
Quadro 2 –	Método do “ABCDE”.	26

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 01. Cálculo de FPS	Pg. 49
Equação 02. Equação da reta da curva de calibração do ácido gálico	Pg. 53
Equação 03. Equação da reta da curva de calibração da quercetina	Pg. 55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Pg. 16
2. JUSTIFICATIVA.....	Pg. 19
3. OBJETIVOS.....	Pg. 20
3.1 OBJETIVOS GERAIS	Pg. 20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	Pg. 20
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	Pg. 21
4.1 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E RADICAIS LIVRES	Pg. 21
4.2 PELE.....	Pg. 21
4.2.1 Epiderme	Pg. 21
4.2.2 Melanina	Pg. 23
4.2.3 Alterações Cutâneas Promovidas Pela Radiação UV	Pg. 24
4.2.3.1 Queimadura Solar	Pg. 24
4.2.3.2 Fotoenvelhecimento	Pg. 25
4.2.3.3 Ceratose Actínica	Pg. 25
4.2.3.4 Câncer de Pele.....	Pg. 26
4.3 FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTES	Pg. 31
4.3.1 Ativos Naturais Fotoprotetores e Antioxidantes	Pg. 33
4.3.1.1 <i>Spilanthes acmella</i>	Pg. 33
4.3.2 Métodos de Determinação do Fator de Proteção Solar	Pg. 36
4.4 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.....	Pg. 37
4.5 ESTUDOS DE ESTABILIDADE.....	Pg. 39
4.6 COSMÉTICOS E O PANORAMA ECONÔMICO ATUAL.....	Pg. 41
4.7 MERCADO DE COSMÉTICOS NATURAIS	Pg. 42
5. MATERIAIS E MÉTODOS	Pg. 43
5.1 MATERIAL VEGETAL.....	Pg. 43

5.2	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	Pg. 43
5.3	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	Pg. 44
5.4	DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES	Pg. 44
5.5	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS	Pg. 44
5.6	AValiação DA TOXICIDADE DA FORMULAÇÃO	Pg. 48
5.7	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)	Pg. 49
5.8	ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA E DE PRATELEIRA	Pg. 50
5.9	PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE PATENTES DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS COM A PRESENÇA DE <i>Spilanthes Acmella</i>	Pg. 51
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	Pg. 52
6.1	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	Pg. 52
6.2	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS	Pg. 52
6.3	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES	Pg. 54
6.4	AValiação DA TOXICIDADE DA FORMULAÇÃO	Pg. 55
6.5	ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA E DE PRATELEIRA	Pg. 61
6.6	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)	Pg. 67
6.7	PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE PATENTES DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS COM A PRESENÇA DE <i>Spilanthes Acmella</i>	Pg. 70
7.	CONCLUSÕES	Pg. 88
	REFERÊNCIAS.....	Pg. 89
	ANEXOS	Pg. 96

	Anexo A. ANEXO A – Artigo de submissão em Revista de Estrato Qualis A	Pg. 96
--	--	--------

1. INTRODUÇÃO

O cuidado com a proteção cutânea, por meio da utilização de protetor solar, devido aos males que a radiação ultravioleta (UV) pode causar, auxilia na diminuição de um dos tipos de câncer que mais acomete a população, o câncer de pele. De acordo com dados obtidos pelo *Cancer Today* (2020) e *Cancer Tomorrow* (2020), que são advindos da Organização Mundial da Saúde (OMS), 7,9% dos novos casos de câncer mundialmente notificados foram de pele (melanoma e não melanoma). A estimativa é de que até 2040, o número de casos tenha um aumento médio de 56% em ambos os tipos de câncer. Isso ocorre, pois cada vez mais a camada de ozônio, que filtra parte da radiação que chega na superfície terrestre, vem sofrendo danos, o que faz aumentar a intensidade de radiações UV (FAVORETO; GILBERT, 2010; PINHO et al., 2014).

Com isso, estudos sobre os tipos de pele e os filtros solares disponíveis no mercado torna-se necessário. A análise dos diversos tons de pele possibilita entender de que forma a radiação solar influencia no bronzeamento ou queimadura causada pelo sol e auxilia no estabelecimento de estratégias para a prevenção e cuidado. De acordo com a classificação de Fitzpatrick de fototipagem de pele, discutida por Gupta e Sharma (2019), tons de pele mais claros, classificados como I, II e III, que representam peles indo de tons branco a negro claro, tem maior probabilidade à queimadura do que ao bronzeamento, quando estão expostas ao sol. Tal situação não ocorre quando comparados aos tons de pele IV, V e VI, que possuem menor probabilidade de desenvolver queimaduras e maior chances de bronzeamento. A classificação de Fitzpatrick está esquematizada no Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação de Fitzpatrick de fototipos de pele.

Fototipo de pele de Fitzpatrick	Tom de pele	Reação da pele
I	Branca	Sempre queima, nunca bronzeia
II	Branca	Normalmente queima, bronzeia com dificuldade
III	Negra clara	queimadura leve, bronzeado médio

IV	Negra moderada	Queima pouco, bronzeia com facilidade
V	Negra escura	Raramente queima, sempre bronzeia
VI	Preta	Não queima, totalmente pigmentada

Fonte: Adaptado de Gupta e Sharma, 2019.

Por bastante tempo os filtros orgânicos foram a única opção de proteção da pele contra radiações ultravioletas, a exemplo do ácido para-aminobenzoico. Um inconveniente dessas formulações, com altas concentrações de filtros sintéticos, é a maior chance de gerar irritação cutânea. Com o passar do tempo, novos filtros foram desenvolvidos, como o salicilato de homomentila, que apresentava menores índices de irritação. Entretanto, a ciência sempre tem espaço para inovações e, com isso, a inserção de agentes antioxidantes advindos de extratos de frutos e plantas se tornaram uma oportunidade a ser explorado (BALOGH *et al.*, 2011; SOUZA, 2019). Estes extratos, com ação antioxidante, são compostos por moléculas com anéis aromáticos, como fenólicos, que auxiliam no combate aos radicais livres formados na pele, os quais ocasionam o fotoenvelhecimento (ZAHIN *et al.*, 2021).

A inserção de extratos naturais em formulações cosméticas vem para atender a uma demanda da população que, cada vez mais, exige matérias-primas naturais na composição de seus produtos, o que tornou necessária a reformulação dos cosméticos que não contemplavam este tipo de proposta, mais sustentável. Essa mudança influencia, principalmente, na pesquisa de aplicação dos ativos naturais. Extratos naturais cujos componentes que são agentes antioxidantes tornam-se objetos de estudo para auxiliar no cuidado da pele, ajudando a diminuir o efeito do fotoenvelhecimento e na atuação da fotoproteção. O tomate e jambu são exemplos de fruto e planta, respectivamente, que apresentam ação de combate ao fotoenvelhecimento, pela presença de seus agentes antioxidantes (DEMARNE *et al.* 2008; SOPYAN *et al.*, 2017; SOUZA, 2019; FERRARI *et al.*, 2007).

A *Spilanthes acmella*, também conhecida como jambu, planta de clima tropical encontrada principalmente no Norte brasileiro, em especial, no Pará, assim como no Norte da Austrália, África e Índia têm recebido especial atenção. O jambu é uma

hortaliça herbácea usada em comidas típicas paraenses, a exemplo do tacacá e pato no tucupi (DISTRITO FEDERAL, 2017). Nos últimos anos, o estudo dessa planta vem se intensificando, o que se deve, especialmente, às suas características anestésica, antifúngica, antibacteriana, afrodisíaca, dentre outras. Neste estudo, destaque especial é dado à sua atividade antioxidante, o que pressupõe a possibilidade de seu uso em formulações cosméticas, como a de fotoprotetores, posto que o jambu apresenta compostos capazes de absorver a radiação UV (DUBEY *et al.*, 2013; SRINATH; LAKSMI, 2014; BORGES, 2012).

2. JUSTIFICATIVA

O estudo de novas tecnologias e insumos, principalmente aquelas com enfoque em ativos naturais, composições veganas e livre de crueldade tornaram-se essenciais, devido a maior conscientização criada pelas gerações a partir da *millennial*, também conhecida como Y, de pessoas nascidas entre os anos 1980 e 1995. Essa parcela populacional apresenta uma preocupação de usar produtos que não agridam a pele, o ambiente em que vivem, assim como os animais usados para a verificação destes produtos, fomentando um ideal mais sustentável, ou também conhecido como verde, assim como livre de crueldade. Conseqüentemente, a reformulação dos produtos tornou-se mandatória para o mercado, bem como aflorou a consciência ambiental das indústrias cosméticas (AMBERG; FOGARASSY, 2019).

Com a diminuição da camada de ozônio, resultado dos altos níveis de poluição no planeta, as taxas de câncer de pele vêm subindo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, estima-se um aumento de 83% de casos de câncer não-melanoma até o ano de 2040 (OMS, 2020). Felizmente, essa patologia pode ser amenizada por meio de métodos paliativos, como a proteção da pele com o uso de filtro solar, o qual minimiza os efeitos oxidativos dos raios UV-A e UV-B.

Em formulações de protetores solares a diminuição de insumos sintéticos melhora a sua composição, tornando-os menos agressivos à pele (MOTA et al., 2019), para além de abarcar um nicho de mercado mais restritivo, como já citado. Com isso, o uso de extratos de plantas e frutos, como o jambu, torna-se uma alternativa, para a qual deve-se realizar a verificação da aplicabilidade, por meio de estudos de eficácia e segurança da formulação proposta acrescida de insumo natural, como realizado neste projeto.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vitro* o potencial fotoprotetor dos extratos de *Spilanthes acmella* e de suas formulações cosméticas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar os teores de fenólicos presentes nos extratos de *S. acmella*;
- Desenvolver formulações cosméticas aditivadas com os extratos de *S. acmella*;
- Avaliar a estabilidade das composições cosméticas propostas;
- Avaliar o Fator de Proteção Solar (FPS) das formulações cosméticas desenvolvidas contendo os extratos de *S. acmella*;
- Verificar o possível incremento no FPS de formulações cosméticas contendo um filtro solar orgânico sintético acrescido de extratos de *S. acmella*;
- Avaliar a toxicidade *in vitro* das formulações contendo extratos naturais de *S. acmella*.

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E RADICAIS LIVRES

A literatura descreve três tipos de faixas de radiações ultravioleta (UV), a radiação UV-A, que se encontra entre 400 a 315 nm, a radiação UV-B, entre 315 a 280 nm e a radiação UV-C, entre 280 a 100 nm. Dentre elas, a radiação UV-B afeta as camadas superficiais da pele, causando queimaduras por efeito da sua incidência na Terra, o que gera o bronzeado que muitos procuram ao tomar sol. Já a radiação UV-A causa danos mais profundos, chegando até a modificar a estrutura molecular do corpo, ocasionando o câncer de pele. Já a radiação UV-C é absorvida em grande parte pela camada de ozônio e tem incidência quase nula na superfície terrestre (MOTA et al., 2019; SOUZA, 2019).

De acordo com Young et al. (2017), a exposição da pele à radiação UV provoca diversos efeitos adversos agudos (como eritema, bronzeamento, supressão da imunidade adquirida) e crônicos (fotocarcinogênese e fotoenvelhecimento). Esses efeitos são, essencialmente, derivados da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), também conhecidos por radicais livres. Alterações nas estruturas celulares são desencadeadas, principalmente, quando a produção de ROS e a sua neutralização endógena estão em desequilíbrio, ocorrendo o estresse oxidativo. Como discutido por Bosch et al. (2015), a neutralização endógena é feita pelas enzimas superóxido-dismutase e catalase, que atuam em estruturas moleculares de peróxidos, como parte do sistema de defesa antioxidante enzimático celular.

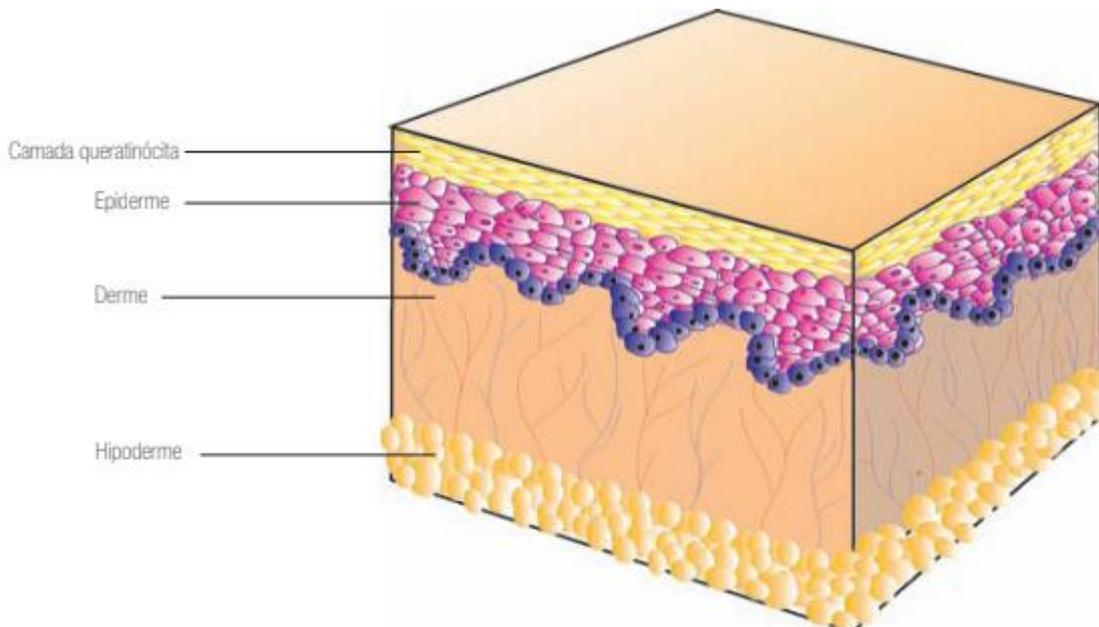
4.2 PELE

4.2.1 Epiderme

De acordo com Gruber et al. (2019), a pele, o maior órgão do corpo humano, possui três camadas, a epiderme, a derme e a hipoderme, como pode ser observado

na Figura 1. A epiderme é formada por um epitélio queratinizado, pavimentoso e estratificado. A presença de queratinócitos em sua camada basal é mantida pelas células-tronco presentes, por exemplo, nos folículos capilares. É através dessa camada epidérmica que o corpo se protege de agentes que podem causar algum tipo de dano ao tecido, sendo este estrato o mais externo.

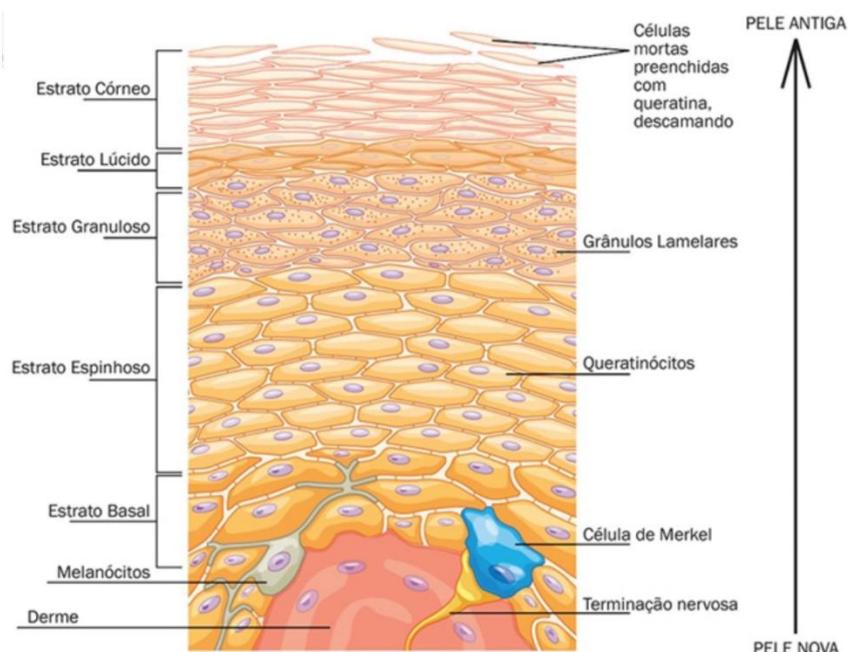
Figura 1 - Estrutura básica das camadas da pele



Fonte: Souza, 2019

Carlson (2014) complementa sobre as diferenciações presentes na camada epidérmica. A primeira delas, como pode ser visto na Figura 2, é a camada basal, a mais interna dentre os estratos da epiderme, a qual se divide e contribui com as células-filhas do estrato espinhoso. O espinhoso, por sua vez, produz feixes proeminentes de filamentos de queratina, o que acarreta a perda de aderência da queratina da camada basal. A identificação do estrato granuloso é realizada pela identificação de células achatadas, e é marcante a presença de grânulos de queratino-hialina no citoplasma das células, por terem sofrido mitose no estrato espinhoso. A tendência é de que as células se movam para a camada mais externa, chamada de estrato córneo, onde perdem seus núcleos e formam bolsas achatadas com filamentos de queratina que se acumulam formando camadas de células mortas.

Figura 2 – Estratos epidérmicos



Fonte: UNIFAL/MG. Disponível em: <https://www.unifal-mg.edu.br/histologiainterativa/wp-content/uploads/sites/38/2020/07/Captura-de-Tela-2020-07-24-%C3%A0s-18.45.43.png>

4.2.2 Melanina

Em meio a sociedade existe uma diversidade de tons de pele, os quais ocorrem devido a presença da melanina, assim como de hemoglobina, bilirrubina e carotenoides, responsáveis pela pigmentação presente no corpo humano. A melanina é sintetizada por meio da ação da enzima tirosinase, após uma série de reações químicas da tirosina (GUPTA; SHARMA, 2019). A melanogênese, que acontece no melanossoma, é a síntese de melanina de dois tipos: eumelanina, formando um polímero com pigmentação marrom escura, e feomelanina, um polímero contendo enxofre vermelho e amarelo claro. Pessoas com tons de pele mais claro costumam ter maior presença de feomelanina, enquanto pessoas de tom de pele mais escuro tendem a ter maior presença de eumelanina, que exerce melhor efeito fotoprotetor do que a feomelanina (GILLBRO; OLSSON, 2011).

Shataer et al. (2020) comentaram sobre a variação significativa da presença de melanina no corpo, o que pode acarretar em doenças. Um exemplo é o melanoma, patologia caracterizada por altas taxas de melanina no corpo; o oposto é o albinismo, cenário no qual a pessoa possui baixas taxas de melanina em seu sistema.

Para a divisão dos fototipos, Gupta e Sharma (2019) citam a existência da classificação de Fitzpatrick. Essa classificação de fototipagem de pele é uma das classificações mais comumente utilizadas, sendo criada a partir de um questionário no qual pacientes relatavam suas tendências dérmicas ao impacto do sol. A pesquisa inicialmente sugeria de 3 a 4 tipos de fototipagem, com tons de pele claros e, apenas anos depois, tons de pele marrom e preto foram adicionados, baseando-se também na cor da pele do indivíduo, ao invés da análise pura da reatividade da pele ao sol isolada. Os seis fototipos de pele classificados e utilizados atualmente foram anteriormente apresentados no Quadro 1.

4.2.3 Alterações Cutâneas Promovidas Pela Radiação UV

4.2.3.1 Queimadura Solar

Sklar et al. (2013) discutem que um dos efeitos agudos da radiação UV na pele é o eritema, representado por uma vermelhidão, causada pelas queimaduras solares, na forma de uma reação inflamatória na região atingida, sensibilizando-a. Em casos de eritema grave, a aparição de bolhas pode ocorrer, sendo um tipo de situação mais comum em pessoas de pele clara, fototipo I e II, as quais tem maior predisposição às queimaduras do que ao bronzeamento quando expostas ao sol. Outros exemplos de reações na pele após exposição solar são o escurecimento de pigmento, bronzeamento tardio, espessamento da epiderme, além de síntese de vitamina D.

O escurecimento de pigmento é uma consequência do acúmulo da radiação recebida e representa um mecanismo de defesa do nosso corpo. O escurecimento faz com que a produção de melanina seja acionada para formar uma barreira,

entretanto, dependendo do funcionamento do corpo do indivíduo, a proteção gerada pode ser formada em diferentes proporções e maneiras.

4.2.3.2 Fotoenvelhecimento

O corpo humano tende a envelhecer naturalmente, havendo sua degeneração de forma intrínseca. Um exemplo desse processo é o acúmulo de radicais livres na pele, um efeito do desequilíbrio de sua neutralização, como foi citado na seção 4.1.

Peles de pessoas maduras normalmente não conseguem reagir da mesma maneira e na mesma velocidade que peles de indivíduos mais jovens, devido à queda da eficiência em reposição de células-tronco, dificultando a restituição de queratina no estrato córneo, o que desencadeia mais notoriamente o processo de fotoenvelhecimento. Tal situação tem como resultado o afinamento da epiderme, devido a diminuição da quantidade de camadas de célula morta formadas, e o comprometimento da recuperação da barreira epidérmica após danos (GRUBER et al., 2019; CARLSON, 2014).

Medidas preventivas ao fotoenvelhecimento incluem o uso de agentes antioxidantes externos, ajudando o organismo a combater as ROS.

4.2.3.3 Ceratose Actínia

De acordo com Castro et al. (2006), a ceratose actínia é caracterizada pela formação de placas escamosas de coloração similar à da pele, eritematosa ou até mesmo pigmentada. Ela é encontrada na pele exposta ao sol de forma contínua em indivíduos com fototipos I e II, tons de pele clara, na região da face e pescoço.

O processo de formação da ceratose tem como destaque a radiação UVB, capaz de desencadear mutações. Entretanto, ambas, a exposição das células à

radiação e a exposição de células mutadas à agentes químicos e/ou físicos, com efeitos pró-inflamatórios, influenciam no desencadeamento da ceratose actínia.

Da mesma forma que para o fotoenvelhecimento, a prevenção dessa neoplasia se dá pelo uso de fotoprotetor e pelo cuidado na exposição ao sol.

4.2.3.4 Câncer de Pele

Os danos ocasionados à camada de ozônio representam um agravante para o desenvolvimento do câncer de pele, uma vez que culminam no aumento da incidência de radiações UV na Terra (PINHO et al., 2014). De todos os tipos de câncer de pele, melanoma e não melanoma, é mais comum que o diagnóstico seja realizado em pessoas com tons de pele mais claros, entretanto, importa salientar que, pessoas com fototipagens mais altas, de fototipo V e VI, também podem apresentar esses tipos de câncer.

De acordo com o INCA (2018), o câncer de pele melanoma tem sua origem nos melanócitos, apresentando-se como manchas, pintas ou sinais. O câncer do tipo melanoma representa maior gravidade que o câncer de pele não melanoma, devido à sua maior facilidade em provocar metástase, disseminando células cancerígenas para outros órgãos.

Uma maneira eficiente de identificar precocemente o câncer de pele melanoma é por meio da observação de características que ocorrerem em sinais e manchas no corpo, chamado método do “ABCDE” do câncer. Este método é uma espécie de autoexame, em que são observados sinais, como os descritos no Quadro 2, os quais podem indicar a presença de um possível tumor. “ABCDE” é um acrônimo para os seguintes pontos:

Quadro 2 – Método do “ABCDE”.

Assimetria	Que aponta a assimetria do sinal na pele.
Bordas Irregulares	O contorno do sinal é mal definido.

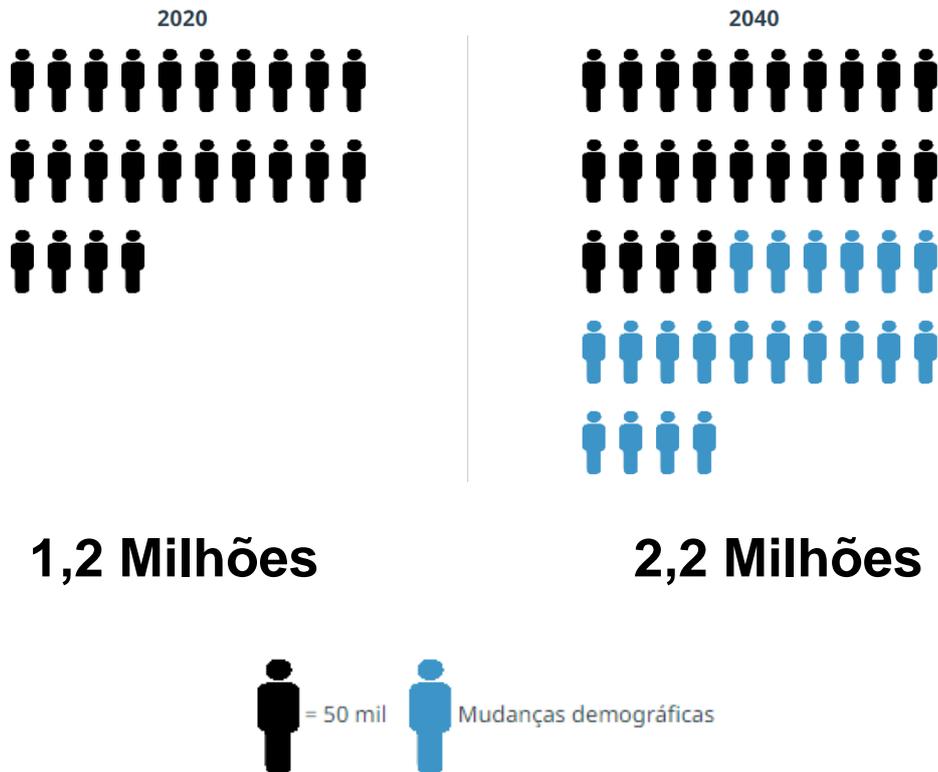
Cor variável	O sinal apresenta cores diferentes.
Diâmetro	O diâmetro do sinal é maior que 6 milímetros.
Evolução	Mudanças presentes no sinal com o decorrer do tempo, como variação de tamanho, forma e/ou cor.

Fonte: INCA, 2018.

O câncer de pele do tipo não melanoma, mais comum que o melanoma, apresenta altos percentuais de cura, quando descoberto de maneira precoce. O não melanoma é comumente encontrado como carcinoma basocelular, o qual apresenta a forma de uma ferida ou nódulo e tem uma evolução lenta. A segunda maior frequência desse tipo de câncer é o carcinoma epidermoide, mais grave devido à possibilidade de desenvolver-se para metástase, mas que também pode aparecer como uma ferida ou cicatriz (INCA, 2021).

Dados da OMS (2020), apontaram 722 mil casos de câncer de pele não-melanoma em homens e 475 mil casos desse mesmo câncer em mulheres em todo o mundo. Esta mesma organização apresenta uma estimativa de que até o ano de 2040, 2,2 milhões de pessoas terão casos desse câncer, o que representará um crescimento de 83% em novos casos como pode ser visto esquematizado na Figura 3.

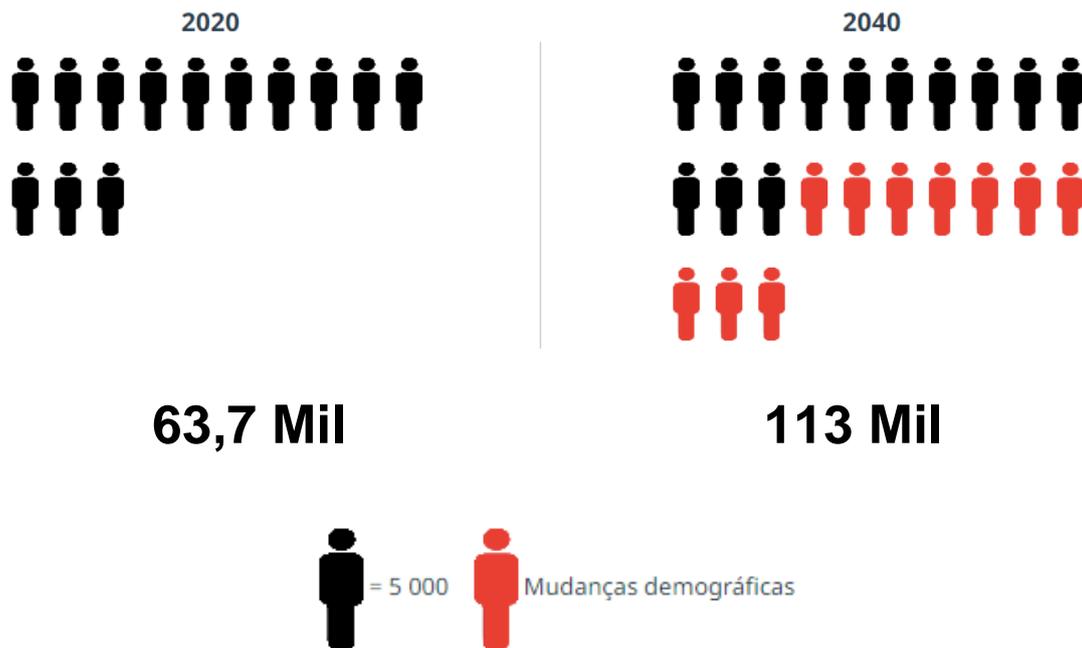
Figura 3 - Estimativa de novos casos de câncer de pele não melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo



Fonte: OMS, 2020.

Com relação à perspectiva de mortalidade para o câncer do tipo não melanoma, é estimado que o valor de 63,7 mil pessoas mortas em 2020 chegue em 113 mil até 2040, aumentando em 77,39% essa quantidade (Figura 4).

Figura 4 - Estimativa de mortos por câncer de pele não melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo



Fonte: OMS, 2020

Para os casos de câncer melanoma, os números encontraram-se em torno de 174 mil, para homens, e 151 mil, para mulheres. No tocante às estimativas futuras deste tipo de câncer, pondera-se 510 mil novos casos notificados até 2040. Ao comparar os dados entre 2020 e 2040, como apresentado na Figura 5, o aumento de casos pode ser de, aproximadamente, 64% (OMS, 2020).

Figura 5 - Estimativa de novos casos de câncer de pele melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo



325 Mil

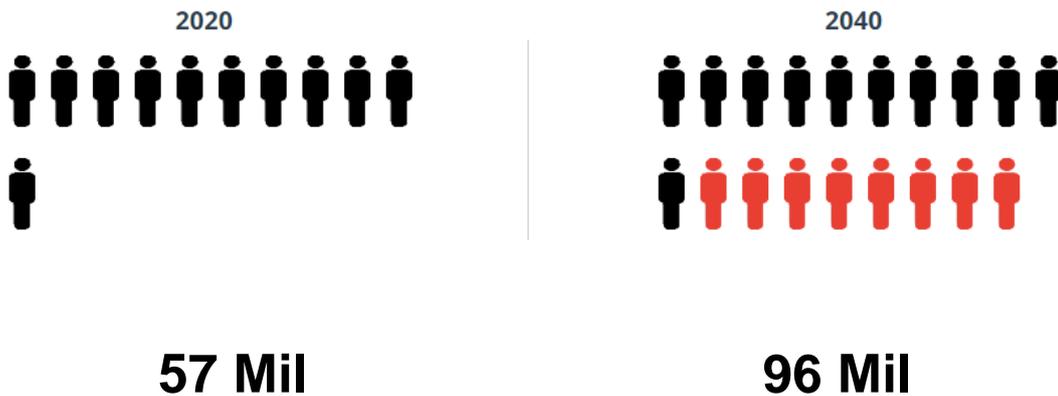
510 Mil



Fonte: OMS, 2020

Ao estudar a mortalidade gerada pelo câncer melanoma, a OMS (2020) estimou que o valor de 57 mil mortes em 2020 chegue em 96 mil mortes até 2040, aumentando em 59% esse valor (Figura 6).

Figura 6 - Estimativa de mortos por câncer de pele melanoma entre 2020 e 2040, de ambos os gêneros, idade [0-85 +], no mundo



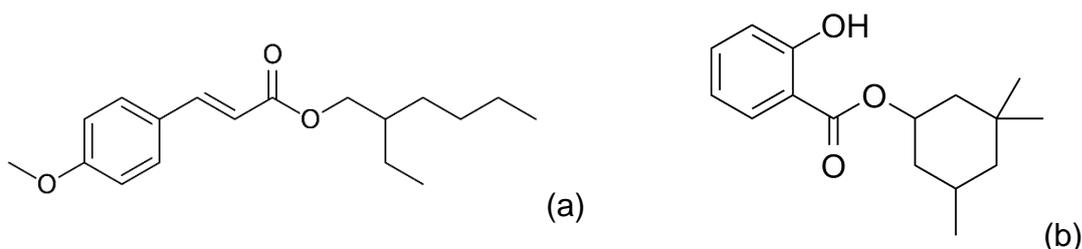
Fonte: OMS, 2020

4.3 FILTROS SOLARES E ANTIOXIDANTES

Para a proteção tópica contra a radiação ultravioleta, diferentes tipos de compostos orgânicos e inorgânicos são utilizados. Dentre os componentes inorgânicos, citam-se o dióxido de titânio e o óxido de zinco, os quais atuam dispersando, refletindo e absorvendo a radiação UV. Uma das principais características dos filtros inorgânicos é a sua opacidade, deixando a pele esbranquiçada, o que é, muitas vezes, indesejado (SHAATH, 2010).

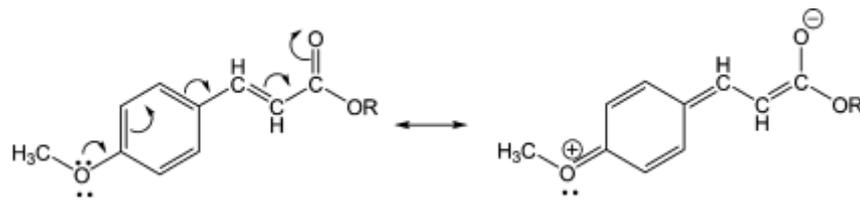
De acordo com Souza (2019), com relação aos compostos fotoprotetores orgânicos, dentre a vasta gama existente, apontam-se o salicilato de homomentila (Figura 7a) e o 2-etil-hexilmetoxicinamato (Figura 7b), os quais foram utilizados nas formulações dos fotoprotetores desta pesquisa. Estes compostos orgânicos atuam na proteção da pele contra as radiações UVB.

Figura 7 – Compostos fotoprotetores: (a) salicilato de homomentila; (b) 2-etil-hexilmetoxicinamato



Os mecanismos de ação destas moléculas, como a do 2-etil-hexilmethoxycinamato (Figura 8), ocorrem devido a presença de seus anéis aromáticos conjugados a grupos doadores de elétrons e a ressonância presentes em suas moléculas. A absorção de energia solar por tais moléculas permite a deslocalização destes elétrons, viabilizando sua ação fotoprotetora e evitando a formação de novos radicais livres.

Figura 8 – Mecanismo de ação do cinamato a partir da deslocalização de seus elétrons



Fonte: (SHAATH, 2010)

A literatura indica a possibilidade de ocorrência de irritação cutânea através do uso destes filtros solares sintéticos em algumas pessoas, sendo necessário o seu uso em baixas concentrações, para evitar tais processos alérgicos. Dentre as opções disponíveis, o salicilato de homomentila e o 2-etil-hexilmethoxicinamato são as moléculas que apresentam menor ação alergênica, se comparado com outros compostos, como o ácido para-aminobenzoico (PABA) - outro filtro orgânico, um dos primeiros a ser comercializado com função de fotoproteção em formulações cosméticas. No caso do PABA, suas desvantagens incluem as reações fotoalérgicas, apresentadas em mais de 4% das pessoas que usam composições com a sua presença, além da possibilidade de desenvolvimento de carcinogênese a partir do seu uso (SOUZA,2019; BALOGH *et al.*, 2011).

Como nova estratégia para a fotoproteção estuda-se a utilização de agentes antioxidantes de origem natural/vegetal, como flavonoides e taninos, os quais, por possuírem anéis aromáticos, podem atuar como fotoprotetores.

A exceção fica às expensas das cumarinas, compostos normalmente evitados em composições cosméticas, devido à sua ação fotossensibilizante. Entretanto, apesar de Dubey *et al.* (2013) verificarem a escopoletina na composição de extratos de *Spilanthes acmella*, uma hidroxycumarina, ela foi descrita como segura, ou seja, como não causadora de reações fotoalérgicas.

4.3.1 Ativos naturais fotoprotetores e antioxidantes

De acordo com Mota et al. (2019), estudos demonstram que extratos de frutos e plantas vêm sendo testados em formulações de cosméticos, como ativos que auxiliam na proteção contra radiações solares, pela presença de agentes antioxidantes. Os referidos autores utilizaram a goiaba como objeto de estudo e encontraram atividade fotoprotetora no extrato do fruto ao incorporá-lo em uma base semissólida. Sopyan et al. (2017) notaram uma atividade similar à da goiaba quando estudaram o extrato do tomate (*Solanum lycopersicum L.*). O fruto, ao ser incorporado a uma loção fotoprotetora, passou por análises para verificar o seu fator de proteção solar e foi descoberto resultados bastante promissores, com valores de FPS entre 17,74 e 22,24, dependendo da formulação e concentração do tomate usadas.

A função protetiva dos extratos naturais ocorre devido à sua ação antioxidante, exercida pelos compostos fenólicos, como flavonoides, antocianinas, catequinas, entre outros metabólitos secundários, os quais atuam sobre as espécies reativas de oxigênio livres no corpo. As ROS apresentam o potencial de causar danos ao DNA, devido à sua alta chance de mutagênese ao se ligarem a outras moléculas do organismo com o intuito de encontrar a estabilidade. Nesse cenário, os compostos fenólicos são capazes de formar um complexo estável com as espécies reativas de oxigênio, neutralizando-as (ZAHIN et al., 2021). Entretanto, vale ressaltar que a constante exposição do corpo humano à radiação ultravioleta potencializa a chance de ocorrer quadros de estresse oxidativo, que é o equivalente ao excesso de agentes oxidativos, como as ROS no corpo humano, desencadeando, mesmo com a devida proteção, eritema, rugas e cânceres de pele.

4.3.1.1 *Spilanthes acmella*

De acordo com Favoreto e Gilbert (2010), a *Spilanthes acmella* é uma planta herbácea anual, perene, de 20-40 cm de altura, semi-ereta ou quase rasteira, com caule cilíndrico, carnoso e de ramos decumbentes. A raiz principal é pivotante, com abundantes ramificações laterais. As folhas são compostas, opostas, membranáceas

e pecioladas. Possui pecíolos de 20-60 mm de comprimento, achatados, com sulcos sobre a superfície, ligeiramente alados e pouco pilosos. As inflorescências são isoladas, com capítulos globosos axilares e terminais pedunculados. As flores são pequenas, amareladas, com áreas púrpuras distintas na pálea do cálice, bem visível em capítulos imaturos, dispostas em capítulos globosos terminais que medem cerca de 1,0 cm de diâmetro. No que se refere às propriedades organolépticas, as folhas apresentam sabor acre e pungente, por isso são utilizadas como condimentos. Sua aparência é representada na Figura 9:

Figura 9 - Representação da parte aérea da *Spilanthes acmella*



Fonte: <https://tribunademinas.com.br/>

A *S. Acmella* se enquadra como parte da Ordem Asterales, da família Asteraceae e gênero *Spilanthes*. Ela é comumente utilizada em países tropicais e subtropicais, principalmente Índia e América do Sul. Na bacia amazônica, esta planta é uma das mais utilizadas pela população para tratar a tuberculose, mas também é

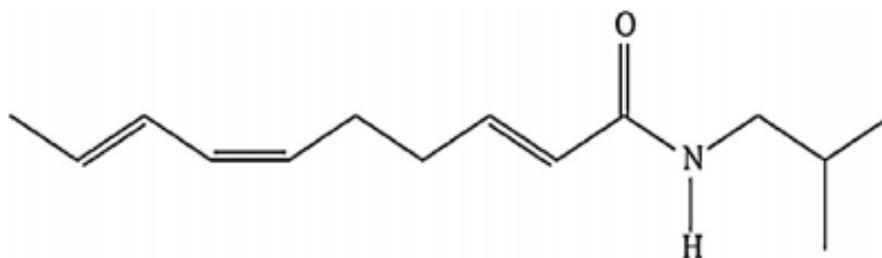
usada no tratamento de úlceras bucais e gagueira em crianças, disenteria, reumatismo, leucorréia e picada de cobra em outros países. No Japão, o extrato do jambu é usado como aromatizante para dentifrícios e goma de mascar. No Brasil, as folhas são empregadas na culinária como tempero, para produzir a parestesia de formigamento, e no Norte do Brasil utiliza-se como afrodisíaco feminino. Ademais, a planta é mastigada para reduzir a dor de dente e aliviar infecções de garganta e gengiva ou com o objetivo de paralisar a língua. O uso popular de tintura e xaropes das folhas e flores para a anemia e escorbuto é devido à presença de ferro e vitamina C (RAHIM et al., 2021; ELUFIOYE, 2020).

A espécie tem sido bem documentada pelos seus usos populares como antibacteriano, antifúngico, antimalárico, inseticida, em quadros de tosse e de raiva, além dos já mencionados anteriormente. Ela é utilizada como estomáquica, excitante e tônica, considerada carminativa, emenagoga, abortiva, digestiva, febrífuga, cicatrizante, antigripal, antiespasmódica, narcótica, desinfetante e antiasmática, sendo indicada também contra problemas hepáticos. Outras atividades como antipirética, anestésica local, vasorrelaxante, diurética, anti-inflamatória, anti-obesidade e imunomoduladora também foram relatadas (FAVORETO; GILBERT, 2010; PAULRAJ et al., 2013; ROMÃO et al., 2015; KIM et al., 2018).

Farmacologicamente, *S. acmella* exibe diversas bioatividades, destacando-se potentes atividades anti-inflamatórias, através da inibição de citocinas inflamatórias (*IL-1 β* , *IL-6* e *TNF- α*) e atenuação da expressão de *COX-2*, e antioxidantes, por conter alto teor fenólico e de flavonoides e suprimir complexos proteicos envolvidos com o estresse oxidativo, evidenciadas em estudos *in vitro* e *in vivo* que podem contribuir para o valor terapêutico da planta. Dentre os metabólitos ativos presentes na *S. acmella* que possuem atividade antioxidante, destacam-se os fenólicos (ácido vanílico, ácido trans-ferúlico e ácido trans-isoferúlico), além de taninos, hidroxycumarinas, carotenoides, sesquiterpenos e estigmasteril glicosídeo, obtidos em muitos casos a partir do extrato de etanol da folha e flor do jambu.

O espilantol (Figura 10) é a n-isobutilamida, metabólito em maior quantidade e principal composto pungente, sendo responsável por várias atividades biológicas também. A estrutura do espilantol é elucidada como (2E, 6Z, 8E)-n-isobutilamida-2,6,8-decatrienamida (RAHIM et al., 2021).

Figura 10 - Estrutura molecular do espilantol



Fonte: ABEYSIRI *et al.*, 2013

4.3.2 Métodos de Determinação do Fator de Proteção Solar

De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA, 2019), fator de proteção solar (FPS) é o valor do nível de proteção que um protetor solar fornece contra queimaduras solares. Como explanado por Sheu *et al.* (2003), na prática, para o cálculo do FPS, o teste *in vivo* verifica a quantidade de radiação solar incidida em uma área da pele pré-determinada e é medido e calculado o quantitativo mínimo de radiação necessário para a formação de eritema na pele com o protetor solar, comparado com uma pele que não possui proteção contra essas radiações UV. Em seguida, os valores de doses eritemais mínimas na pele, com e sem a presença de protetor solar, são obtidos e usados para o cálculo do FPS *in vivo*.

Ao verificar o panorama da história, no que tange o uso de animais em experimentos, observa-se que, desde 1824, quando a primeira sociedade protetora de animais foi criada na Inglaterra, a regulamentação para o uso de animais em testes foi iniciada. Em 1876, o *British Cruelty to Animal Act* regulamentou a primeira pesquisa, levando a 1909, quando a primeira publicação com animais em experimentos foi realizada nos Estados Unidos.

Autores como Russell e Burch (1959) criaram o conceito dos três R's que são a redução (*Reduction*) da quantidade de animais usados em experimentos, a substituição (*Replacement*) de experimentos com animais para utilização de metodologias alternativas, e o refinamento (*Refinement*) da forma como os experimentos são conduzidos procurando gerar o menor sofrimento possível nos

animais envolvidos. Com isso, em 1978, a UNESCO estabeleceu uma Declaração Universal dos Direitos dos Animais, da qual o Brasil fez parte, tendo como princípios para o futuro conceitos como os 3R's (FORNASIER; TONDO, 2017).

A partir da consideração da Resolução Normativa nº 18, de 24 de setembro de 2014, da ANVISA, a qual versa sobre a substituição de métodos *in vivo* por metodologias alternativas, definiu-se para esta pesquisa o uso de ensaios *in vitro*. Para o cálculo de FPS *in vitro*, a literatura indica a técnica da espectrofotometria, disposta no método de Mansur (1986) (RIBEIRO, 2004; FERRARI *et al.*, 2007; BRASIL, 2014; PINHO *et al.*, 2014; MOTA, 2019; BRASIL, 2019).

4.4 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

De acordo com Skoog, Holler e Nienam (2002), os métodos espectroscópicos possibilitam determinar quali-quantitativamente compostos orgânicos e inorgânicos. A técnica baseia-se na medição da radiação gerada pelas moléculas de interesse, em determinadas regiões do espectro eletromagnético. Podem ser citadas as regiões espectrais que utilizam raio gama, raio X, ultravioleta (UV), visível, infravermelho (IV), dentre outros.

Para cada comprimento de onda (região espectral), a unidade de medida muda, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Unidade de Comprimento de Onda para Várias Regiões Espectrais

Região	Unidade	Definição
Raio X	Angstrom (Å)	10^{-10} m
Ultravioleta/visível	Nanômetro (nm)	10^{-9} m
Infravermelho	Micrômetro (μ m)	10^{-6} m

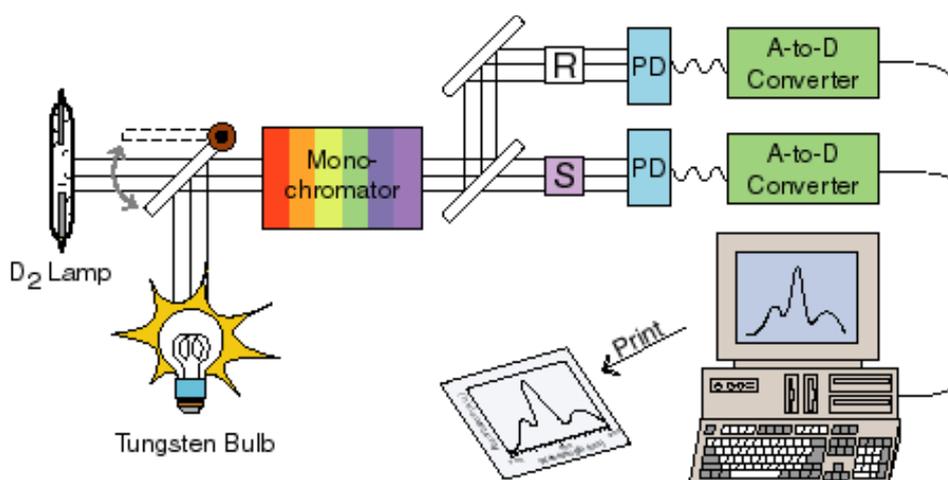
Fonte: SKOOG; HOLLER; NIENAM (2002)

Para a verificação de resultados na espectroscopia, antes de a amostra passar por algum estímulo esta se encontra em seu estado fundamental. Após o

estímulo, o analito passa para um estado de maior energia, sendo chamado de estado excitado. Ao retornar a um estado fundamental, é possível medir a radiação eletromagnética emitida ou absorvida a partir da excitação para fornecer um resultado. Com isso, existem algumas formas de espectroscopia que podem ser encontradas como por exemplo a de emissão, que já foi citada. Para este método, o estímulo usado normalmente é o calor ou a energia elétrica, para alcançar o estado de excitação. Já a espectroscopia de quimiluminescência utiliza-se de uma reação química. Outra maneira de avaliação é a espectroscopia de absorção, medindo a quantidade de luz absorvida no comprimento de onda de análise. No caso da espectroscopia de fotoluminescência, a emissão dos fótons é medida após a absorção. Os resultados são observados em formatos diferentes. Para o caso das técnicas de emissão e quimiluminescência, a obtenção da resposta é feita através de um espectro em função do comprimento de onda ou frequência e a identidade e concentração do analito podem ser obtidas. Para a espectroscopia de absorção, os dados obtidos pelo método podem fornecer tanto as informações qualitativas como quantitativas da amostra, viabilizando assim, formas diferentes de obtenção de resultados, a partir do uso de diferentes tipos de espectroscopia (SKOOG; HOLLER; NIENAM, 2002).

O espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-VIS) é um dos equipamentos usados para efetuar detecções de absorvância. Para isso, a presença de uma fonte de luz, como uma lâmpada de deutério e outra de tungstênio, são essenciais para possibilitar as leituras nos comprimentos de onda desejados. É interessante pontuar que o equipamento permite a seleção de um comprimento de onda específico para leitura de uma amostra. O monocromador do espectro é responsável pela separação do feixe de luz no comprimento de onda de interesse, utilizando para isso de uma rede de difração. Esses feixes podem chegar ao detector como na Figura 11, em duplo feixe. O feixe será recebido em um detector que identifica o valor de intensidade da luz transmitida, gerando, então o resultado numérico. As cubetas, local em que são colocadas as amostras para análise, devem ser de material específico, dependendo do comprimento de onda definido para a análise. A diferença de material (plástico, vidro, quartzo) pode interferir no valor obtido de absorvância, influenciando o resultado (PAVIA et al., 2010).

Figura 11– Esquema de espectro duplo feixe



Fonte:

<https://www.public.asu.edu/~laserweb/woodbury/classes/chm467/bioanalytical/spectroscopy/absflr.html>

4.5 ESTUDOS DE ESTABILIDADE

De acordo com Aulton e Taylor (2016), cosméticos se deterioram ao serem armazenados, possuindo uma vida útil. Essa vida útil é o intervalo em que a composição química mantém sua estabilidade física e microbiológica dentro dos parâmetros aceitáveis, ao serem armazenadas dentro de padrões pré-estabelecidos. Desses parâmetros aceitáveis, estão por exemplo a preservação do aspecto da formulação, de sua cor e odor. Mudanças destas características estão interligadas com possíveis instabilidades que são percebidas pelo consumidor e interferem na definição da data de validade para determinada formulação, a qual, usualmente, vem impressa nas embalagens dos produtos.

Os ensaios de estabilidade são essenciais para o desenvolvimento de novas formulações e lotes iniciais. Dessa maneira, por meio desses estudos é possível entender como a fabricação, processos, possíveis alterações em matérias-primas e/ou embalagens, condições de armazenamento e estocagem podem interferir na qualidade do produto.

A ANVISA (2004) discute em seu guia de estabilidade de produtos cosméticos os possíveis fatores de influência à variação da estabilidade. As causas de alterações presentes nos produtos podem ser classificadas como extrínsecas, ocorrendo por fatores externos, ou intrínsecas, ocorrendo por fatores relacionados à formulação. Como exemplos de variação de estabilidade extrínsecas temos a temperatura, a luz e o oxigênio, o tempo, entre outros. Para exemplos intrínsecos, têm-se incompatibilidades físicas e químicas (reações de oxirredução, interação entre formulação-material de acondicionamento, excipientes etc.).

No que se refere às alterações de estabilidade causadas por fatores extrínsecos, aponta-se que a luz ultravioleta e o oxigênio são capazes de provocar a formação de radicais livres na composição, os quais podem resultar em reações de oxirredução. Situações como essas pedem por embalagens que sejam opacas ou escuras, para proteger a formulação e evitar a presença precoce de uma instabilidade. Outra estratégia de conservação é o uso de substâncias antioxidantes, para retardar o processo oxidativo.

O tempo, que também pode interferir, causa alterações em características como as organolépticas, que modificam o efeito sensorial do cosmético, interferindo, por conseguinte, na data de validade.

A temperatura pode afetar a estabilidade de formas diferentes. No caso de altas temperaturas, acelerando reações físico-químicas que interferem em características como a viscosidade, aspecto, cor e odor do produto. No que concerne às baixas temperaturas, a apresentação de turvações, precipitados, assim como outras formas de instabilidade também são relatadas. A oscilação da temperatura facilita o aparecimento de não conformidades tanto no processo de fabricação quanto no transporte (BRASIL, 2004).

Em relação às variações de estabilidade causadas por fatores intrínsecos, pode-se citar primeiro a instabilidade física. Nesse caso, a resposta da instabilidade é a formação de precipitação, separação de fases, cristalização, entre outras. No caso das instabilidades químicas, a ocorrência de processos de oxidação e redução alteram a atividade das substâncias presentes na composição, o que pode acarretar, como já citado, na formação de radicais livres e afetar as características organolépticas do produto. Outra instabilidade química possível é a interação entre

os excipientes da formulação e a embalagem do produto. Quando isso acontece, os ingredientes sofrem alteração, modificando sua ação inicial e, muitas vezes, inviabilizando a estabilidade da composição (BRASIL, 2004).

Alguns tipos de estudo de estabilidade são descritos pela ANVISA (2004). O primeiro deles é o teste de estabilidade preliminar, o qual auxilia no desenvolvimento de formulações, como ferramenta de triagem de composições, não sendo, todavia, adequado para a definição de data de validade. O estudo de estabilidade acelerada é usado para prever a estabilidade de produtos e fornecer o tempo de vida útil, assim como, a compatibilidade da formulação com a embalagem. Com a finalidade de confirmação dos resultados encontrados no ensaio de estabilidade acelerada, tem-se a avaliação da estabilidade de prateleira (ou longa duração), realizada também para comprovar a compatibilidade entre o conteúdo do produto e seu material de acondicionamento. O teste pode ser feito com diferentes materiais de acondicionamento, sendo os mais comuns vidros, metais, celulosas, plásticos etc.

4.6 COSMÉTICOS E O PANORAMA ECONÔMICO ATUAL

O ano de 2020 tornou-se um momento histórico devido ao impacto da pandemia da Covid-19, que mudou a realidade da população e, por conseguinte, interferiu nas previsões mercadológicas. De acordo com a ABIHPEC (2021), o ramo cosmético sofreu variações, como queda nas vendas de alguns produtos, a exemplo das maquiagens, mas impacto positivo em sua arrecadação por causa dos produtos para Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (HPPC). Outro ramo que obteve aumento de vendas foi o do cuidado com a pele, também conhecido por “*skin care*”.

Numericamente, o crescimento observado no ramo de produtos para banho, em 2020, foi de 18,5%. No mesmo ano, a procura por produtos de *Skin care* conquistou o aumento de 13%, em oposição, produtos de maquiagem sofreram queda de 6%.

Mesmo com a maior queda no PIB brasileiro desde 1996, de 4,1%, o impacto nas vendas de produtos de HPPC apontou para um crescimento positivo de 4,7% em 2020. O Brasil e a China, com resultados animadores, destoaram da queda na

arrecadação de vendas dos países que estão no top 5 do ranking mundial de consumo de produtos de HPPC, sendo registrada queda no mercado global de 1,3%. Dentre os países com maior mercado de beleza e cuidados pessoais do mundo estão os Estados Unidos, a China e o Japão, respectivamente, com o Brasil se localizando em quarto lugar. De acordo com as previsões feitas pelo *Euromonitor International*, é esperado que a China ultrapasse a primeira posição até o ano de 2025. (WEBER, 2020; ABIPHEC, 2021).

De acordo com o relatório do *Brand Finance* (2021), que versa sobre marcas de cosméticos, a Natura, que é nacional, foi considerada a mais forte do setor, positivamente avaliada no investimento em marketing, familiaridade com o público, reputação corporativa e previsão de receita. Segundo o mesmo relatório, a marca obteve um aumento de 19%, chegando a um valor de US\$ 1,7 bilhão. A marca conseguiu se manter com resultados positivos, durante a pandemia, devido a sua atuação com produtos naturais, para além de sua cartela de produtos em áreas cruciais, como a de banho e corpo, obtendo uma classificação de força de marca AAA, dentre as avaliadas. O relatório também fornece uma lista das marcas com maior valor de mercado pelo mundo e dentre elas estão a L'Oréal, ocupando a posição de mais valiosa do mundo, custando US\$ 10,2 bilhões. Outros nomes que podem ser vistos são Gillete, Nivea, Pantene, Dove e tantas outras.

4.7 MERCADO DE COSMÉTICOS NATURAIS

De acordo com Amberg e Fogarassy (2019), é inegável a propensão do uso de ativos e materiais naturais em formulações cosméticas. Isso ocorreu em razão da popularização de alguns efeitos negativos de insumos sintéticos à saúde humana e ao meio ambiente.

Entretanto, mesmo com a tendência do uso de insumos naturais para o desenvolvimento de produtos cosméticos, existem pontos que necessitam de atenção, aprimoramento e estudos, como é o caso da eficiência dos processos de obtenção dos ativos de extratos naturais, a sua padronização, a segurança dos ativos naturais no uso prolongado etc.

No mesmo cenário, prospecta-se e executa-se a produção de embalagens biodegradáveis e de base biológica para os cosméticos, em função da crescente preocupação com impacto ambiental, abarcando um dos pilares do consumo verde, que é a atuação com a sustentabilidade. Nesse sentido, o marketing também vem atuando, apresentando embalagens verdes, trazem valor agregado ao produto, atingindo um público com consciência ambiental (FEDOUNG et al., 2018).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MATERIAL VEGETAL

A *Spilanthes acmella* foi obtida diretamente de produtora que faz plantio e comercializa na feira de São Joaquim, na cidade de Salvador, Bahia. A plantação é realizada em Feira de Santana.

5.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Para a obtenção do extrato etanólico, procedeu-se a separação da parte aérea da *Spilanthes acmella*. As folhas, flores e caule foram secas em estufa com circulação de ar à 40°C, com posterior armazenamento em recipiente fechado embebido com etanol 96% por período de 72 horas em cada ciclo, durante a etapa da maceração. Os ciclos foram repetidos três vezes e o extrato obtido, que foi macerado e filtrado em papel de filtro, foi concentrado usando um evaporador rotativo com banho maria a 40°C (AYOOLA et al., 2008; DUBEY et al., 2013).

5.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

A avaliação do teor de fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico na região do visível em um espectrofotômetro. Foi necessário o uso de 0,5 g do extrato concentrado da planta dissolvido em 10mL de água destilada. Para a reação de coloração foram utilizados 0,5 mL da amostra preparada e adicionado 8mL de água destilada, 0,5 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* a 0,2 mol/L e após 8 minutos, 2 mL da solução de carbonato de sódio (NaCO_3) 7,5% foi adicionado. A absorvância da amostra foi medida em 765 nm. A concentração foi determinada a partir da calibragem de padronização da curva de ácido gálico em uma faixa de 10 a 50 $\mu\text{g/mL}$ (SONG et al., 2010).

5.4 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES

A determinação quantitativa dos flavonoides foi efetuada com 0,5 mL de extrato, pela reação dos ativos com 0,5 mL de tricloreto de alumínio a 2%. Após 60 minutos de reação, no escuro e à temperatura ambiente, foi realizada a avaliação utilizando método espectrofotométrico na região do visível, no comprimento de onda de 420 nm. Para o cálculo do teor de flavonoides no extrato de jambu, foi utilizada curva padrão de quercetina (SILVA et al., 2016).

5.5 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

A formulação cosmética foi desenvolvida com base no Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2011), com adaptações de acordo com a disponibilidade de matérias primas para utilização. Foi utilizada a fórmula de uma emulsão cremosa aniônica, do tipo O/A, composta por duas fases, uma aquosa e outra oleosa. A fase aquosa é composta por água purificada, propilenoglicol, lauril sulfato de sódio, metilparabeno, EDTA, extrato de *S. acmella*. Na fase oleosa são encontrados álcool cetoestearílico, miristrato de isopropila, BHT, propilparabeno,

salicilato de homomentila e 2-etil-hexilmetoxicinamato (Tabela 4). Para o desenvolvimento das formulações, a fase oleosa foi aquecida até a temperatura de 70°C e a fase aquosa até a temperatura de 75°C. Em seguida, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa, sob agitação manual. Ela se manteve até o arrefecimento da base para a temperatura de 40 °C. Os componentes da etapa 3 foram adicionados. Dentre as formulações apresentadas na Tabela 2, a C1, que se refere ao controle 1, possuiu apenas a presença das fases aquosa e oleosa. A formulação C2 foi produzida com as fases aquosa e oleosa, além da etapa 3 constituída apenas por salicilato de homomentila, que serviu de parâmetro para o cálculo do fator de correção da próxima etapa. O terceiro controle, C3, foi formado pelas fases aquosa e oleosa e pela terceira etapa, a qual conteve o 2-etil-hexilmetoxicinamato. As siglas A1 a A6 representam as formulações com a presença das duas fases e os compostos da terceira etapa, onde foi adicionado 2-Etil-hexilmetoxicinamato e porcentagens variantes de extrato de *S. acmella*, sendo que as amostras A1, A2, A3, usaram concentrações de 0,25%, 0,5% e 1%, com a presença de 2-Etil-hexilmetoxicinamato e as amostras A4, A5 e A6 usaram concentrações de 0,25%, 0,5% e 1% de extrato.

Tabela 2 – Formulação da base cosmética

Componentes	Amostras (%)								
	C1	C2	C3	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Fase Aquosa									
Propilenoglicol	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Lauril sulfato de sódio pó	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Metilparabeno	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Água purificada	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100
Fase Oleosa									
Álcool cetosteárico	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Miristrato de isopropila	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Propilparabeno	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

Etapa 3									
Extrato de S. acmella	-	-	-	0,25	0,5	1	0,25	0,5	1
Salicilato de homomentila	-	8	-	-	-	-	-	-	-
2-Etil-hexilmetoxicinamato	-	-	5	5	5	5	-	-	-

Legenda: C1: Controle 1, C2: Controle 2, C3: Controle 3, A1: Amostra 1, A2: Amostra2, A3: Amostra 3, A4:Amostra4, A5:Amostra5, A6:Amostra6, Qsp: Quantidade suficiente para

Fonte: Brasil, 2011

5.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA FORMULAÇÃO

Para a avaliação da toxicidade da formulação foi utilizado o teste *Hen's Egg Test - Chorioallantoic Membrane* (HET-CAM), também conhecido como teste de ovo de galinha na membrana corioalantoica. Para a execução deste teste, o Protocolo oficial do *Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods* (ICCVAM, 2010) ou também conhecido como Comitê de Coordenação Interagencial para a Validação de Métodos Alternativos foi seguido.

O processo iniciou no dia de postura dos ovos fecundados de galinha de raça Legorn, a partir do qual os ovos foram incubados por dez dias em uma incubadora, em temperatura controlada de $37\text{ °C} \pm 0,5\text{°C}$. Após a incubação, a câmara de ar e membrana da casca do ovo foram removidas para possibilitar a exposição da membrana corioalantoide (MCA). Neste momento, verificou-se a análise da integridade e a disposição de vasos sanguíneos para a certificação da adequabilidade dos mesmos. Ao fim das verificações, foram aplicados na membrana corioalantoide 300 μL da formulação cosmética contendo o extrato de jambu a qual, posteriormente (20 segundos), foi removido com 5 mL de solução salina isotônica a 37 °C . Para efetuar o teste de controle positivo, foi usada uma solução de 1% de hidróxido de sódio e para o controle negativo, uma solução de cloreto de sódio a 0,9%.

Nos cinco minutos seguintes, a membrana foi avaliada visualmente, para a verificação do efeito do produto cosmético na membrana. De acordo com o tempo e efeitos observados, a formulação fotoprotetora recebeu uma pontuação, como indicado na tabela 3, para identificar o nível de alteração gerado na membrana corioalantóide do ovo.

Tabela 3 - Pontuação das alterações geradas pelos efeitos observados na membrana corioalantóide do ovo

	≤ 30 segundos	30 segundos $< t \leq 2$ minutos	2 minutos $< t \leq 5$ minutos
Hiperemia	5	3	1

Hemorragia	7	5	3
Coagulação/opacidade	9	7	5

Fonte: Kishishita, 2019

Em seguida, após ter o valor da pontuação definido, o potencial de irritabilidade foi identificado pelos valores encontrados na tabela 4, que possibilitaram classificar como Não irritante, Irritante leve, irritante moderado e Irritante severo.

Tabela 4 - Classificação do potencial de irritabilidade gerado pelo HET-CAM

Pontuação dos fenômenos	Classificação
0,00 a 0,99	Não irritante (NI)
1,00 a 4,99	Irritante leve (IL)
5,00 a 8,99	Irritante moderado (IM)
9,00 a 21,00	Irritante severo (IS)

Fonte: Kishishita, 2019

5.7 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

Para avaliar o fator de proteção solar, foi utilizado o método *in vitro* por espectrofotometria na região do UV-VIS, desenvolvido por Mansur (1986). Uma concentração de 0,2 mg/mL de cada amostra da formulação de filtro solar desenvolvida na etapa 5.5 foi padronizada para o cálculo do FPS e analisada em triplicata. Utilizando o solvente extrator como líquido de referência, foram feitas análises no espectrofotômetro, com varreduras entre 290 e 320 nm, em intervalos de 5 nm. O valor de FPS médio foi calculado pela Equação 1, utilizando a Tabela 5 para descrever a relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda (MANSUR, 1986; RIBEIRO, 2004).

$$FPS_{(290-320)} = FC \sum EE(\lambda) I(\lambda) Abs(\lambda)$$

Equação 1

Em que,

FC = fator de correção;

EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ ;

I (λ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda λ ;

Abs (λ) = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução da preparação no comprimento de onda (λ).

Tabela 5 - Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda.

λ (nm)	EE (λ) x I (λ)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
	1,000

Fonte: Ribeiro, 2004

5.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA E DE PRATELEIRA

Para avaliar a estabilidade acelerada das formulações, as amostras foram dispostas em condições de estresse, ocasionadas por ciclos alternados de trocas de temperatura. No resfriamento, foi usado refrigerador por 24 horas, em temperatura de -5 ± 2 °C e no aquecimento, usou-se estufa, também por 24 horas, em temperatura de 45 ± 2 °C. Foram realizados 6 ciclos de dois dias cada. As amostras, de 5,5 g, foram armazenadas em recipientes de plástico transparentes e com tampa para vedação. Os resultados obtidos analisaram características organolépticas, cor, odor e aspecto, das amostras e apresentaram suas respostas de acordo com a Tabela 6 (BRASIL, 2004).

Tabela 6 – Características organolépticas e suas possíveis classificações

Características organolépticas	Classificação
Aspecto	Intensamente Modificada (IM)
Cor	Modificada (M)
Odor	Levemente Modificada (LM)
	Normal (N)

Fontes: Brasil, 2004; Nishikawa, 2012

Para avaliar a estabilidade de prateleira das formulações, as amostras foram armazenadas dentro de ambiente fechado, em temperatura ambiente e baixa luminosidade durante o período de doze meses para verificar como a formulação se comportou. Foram separados em béqueres cada uma das seis formulações propostas, com as diferentes concentrações de extrato, além dos 3 controles, sendo citados no item 5.6 as suas especificidades. Os resultados reunidos tiveram suas características organolépticas expressas como apresentado na Tabela 6 (BRASIL, 2004).

5.9 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE PATENTES DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS COM A PRESENÇA DE *Spilanthes Acmella*

Com o intuito de entender como a planta que é objeto de estudo desta dissertação está inserida no mercado cosmético, foi feita uma prospecção de patentes referentes a invenções cosméticas com a presença de *S. acmella*. Os dados foram levantados a partir da base de dados europeia Espacenet, mantida pelo Escritório Europeu de Patentes, que junta documentos de patentes depositadas por diversos países ao redor do mundo. Foram selecionadas patentes que continham as palavras *Spilanthes acmella* presentes no título, resumo ou texto completo, sendo publicadas entre 2015 e 2020 e como parte da classificação CPC A61K8, que reúne invenções de cosméticos ou preparações similares para higiene pessoal.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

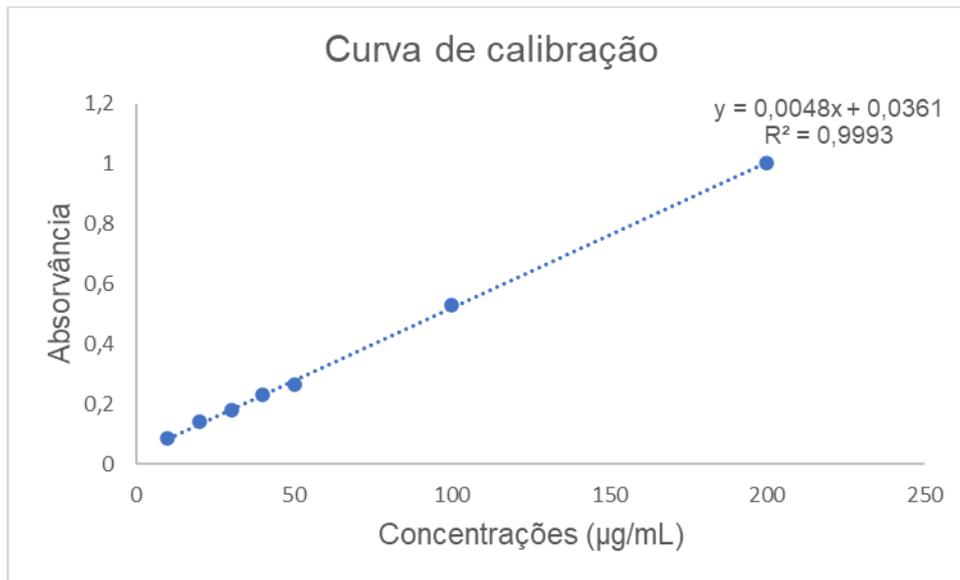
6.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A partir da metodologia descrita na seção 5.2, o extrato feito com etanol foi obtido. A definição do solvente levou em consideração o produto ser um cosmético e seu contato com a superfície cutânea. Ao pesquisar metodologias de outras pesquisas, o extrato obtido normalmente era produzido com o solvente metanol e misturas que possuíam sua presença, mas não era para uso cutâneo (MASOKO, 2017; ABEYSIRI, et al., 2013). Ao encontrar a pesquisa de Sopyan e colaboradores (2017), que estudava o FPS presente no tomate, sua metodologia apresentou o uso de etanol, sendo um solvente comum em formulações, o que levou a decisão de testá-lo para produção do extrato, já que esse estudo tinha uma proposta similar, se mostrando o solvente mais adequado.

6.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

Para a determinação do teor de fenólicos totais, foi feita a curva de calibração do ácido gálico em concentrações de 10 a 50 $\mu\text{g/mL}$, além dos pontos 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$. Com as absorvâncias obtidas foi possível construir o gráfico representado na Figura 12, que forneceu uma equação da reta, a qual possibilita calcular a concentração de fenólicos totais presentes no meio analisado. Os coeficientes de determinação (R^2) e de correlação (r) obtidos neste ensaio foram de 0,9993 e 0,9996, significativos ao nível de confiança de 0,05, demonstrando uma variação diretamente proporcional entre as variáveis da concentração e absorvância.

Figura 12 - Curva de calibração do ácido gálico



Fonte: Autor, 2022

Na Equação 2, ao substituir os valores das absorvâncias encontradas, é possível obter as concentrações de fenólicos totais, avaliados na amostra de *S. acmella*. Todas as análises foram feitas em triplicata.

$$y=0,0048x+0,0361$$

Equação 2

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7- Absorvâncias obtidas para análise da concentração de fenólicos totais para a *S. acmella*

Concentração (µg/mL)	Absorvância
65,3958	0,350
68,5208	0,365
67,0625	0,358

Fonte: Autor, 2022

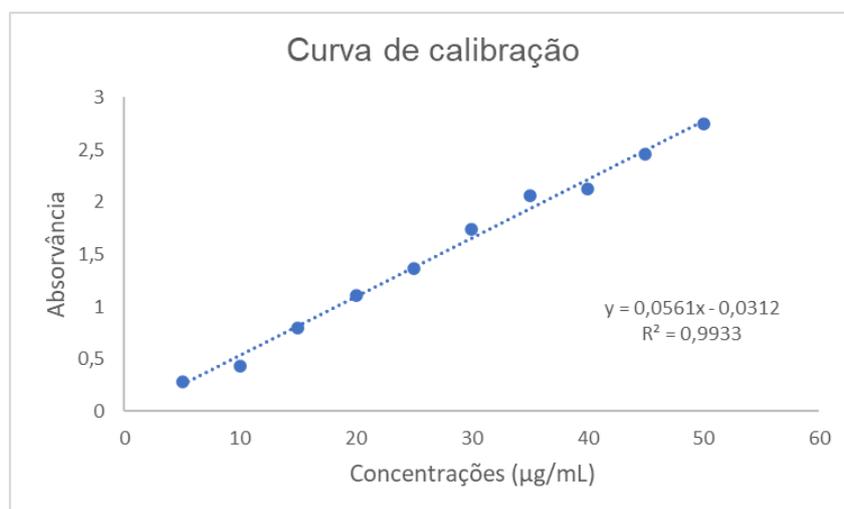
Segundo a média das concentrações, com base nos valores dispostos na Tabela 7, 66,9930 µg/mL, a concentração de fenólicos totais encontrada para a amostra de *S. acmella* foi de 1,4738 mg Equivalente de Ácido Gálico (EAG)/g de extrato concentrado. De acordo com Abeysiri e colaboradores (2013), o qual utilizou metodologia similar a presente neste trabalho, foi identificado o valor de $1,65 \pm 0,35$ mg EAG/g de extrato concentrado no caule da *S. acmella*. Nesse mesmo trabalho, o maior valor encontrado foi na folha, com $7,59 \pm 1,26$ mg EAG/g de extrato concentrado.

Os resultados encontrados na parte aérea da *S. acmella* nesta pesquisa e o valor obtido por Abeysiri e colaboradores (2013) foram próximos, entretanto, diferenças podem ser avaliadas devido às partes da planta utilizadas para a obtenção dos extratos, o que viabiliza resultados divergentes para a avaliação do extrato usando as folhas e o caule da *S. acmella*.

6.3 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES

Para a determinação do teor de flavonoides, foi feita a curva de calibração da quercetina em concentrações de 5 a 50 µg/mL. Foi obtido o gráfico representado na Figura 13, o qual resultou na Equação 3, de R^2 0,9933 e r 0,9966, demonstrando uma variação diretamente proporcional entre as variáveis da concentração e absorvância.

Figura 13 - Curva de calibração da quercetina



Fonte: Autor, 2022

$$y=0,0561x+0,0312$$

equação 3

Assim como foi feito para a etapa de fenólicos totais, ao repetir os procedimentos com a Equação 3, foi encontrado os valores de concentração de flavonoides totais apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Absorvâncias obtidas para análise da concentração de flavonoides totais

Concentração (µg/mL)	Absorvância
20,1996	1,102
20,5027	1,119
20,5027	1,119

Fonte: Autor, 2022

Ao definir a média das concentrações com base nos valores encontrados na Tabela 8 como sendo 20,4017 µg/mL, a concentração de flavonoides encontrada foi de 20,4 mg Equivalente de Quercetina (EQ) g de extrato concentrado, sendo a concentração de extrato usada de 1mg/mL. Ao pesquisar por análises similares, foi encontrado o resultado de Masoko (2017), que utilizou a *Spilanthes Mauritiana*. Ao comparar o valor de Masoko (2017) com os obtidos nesta pesquisa, a concentração encontrada foi de 25,1 ± 0,79 mg EQ/g de extrato concentrado. A possível diferença observada pode ser devido a diferenças entre os tipos de plantas estudadas, que são de mesma família.

6.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DA FORMULAÇÃO

Dentre as avaliações das formulações usando o método alternativo de toxicidade, HETCAM. Inicialmente foram feitos o teste de controle positivo e negativo. No teste de controle positivo, utilizando o Hidróxido de Sódio a 1%, a presença de hiperemia foi observada aos 17 segundos, hemorragia em 1 minuto e 18 segundos e

coagulação nos 3 minutos e vinte segundos, demonstrando uma característica gelatinosa na superfície avaliada. Com isso, foi observada uma pontuação de 15, apresentando uma irritação severa, como apresentado na figura 14, a seguir:

Figura 14 – Ovo de controle positivo aos 5 minutos



Fonte: Autor, 2022

Para o controle negativo, não houve fenômenos apresentados após 5 minutos da adição de solução salina. Com isso, foi observada uma pontuação de 0, apresentando uma resposta não irritante, como observado nas figuras 15 e 16 abaixo:

Figura 15 – Ovo de controle negativo no momento inicial

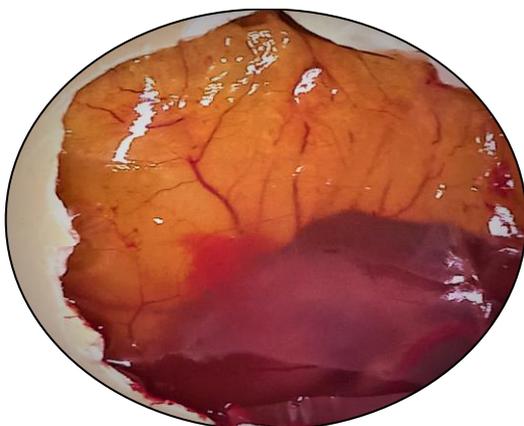
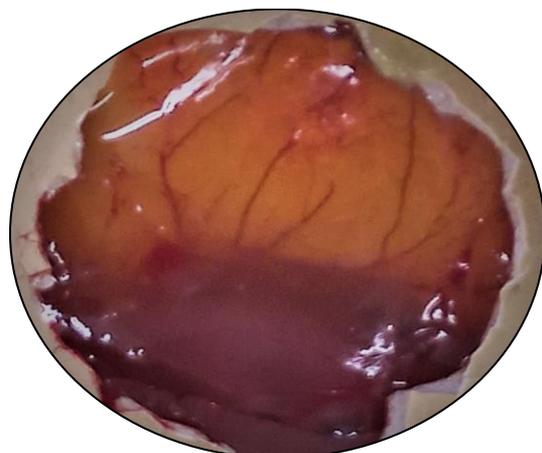


Figura 16 – Ovo de controle negativo aos 5 minutos

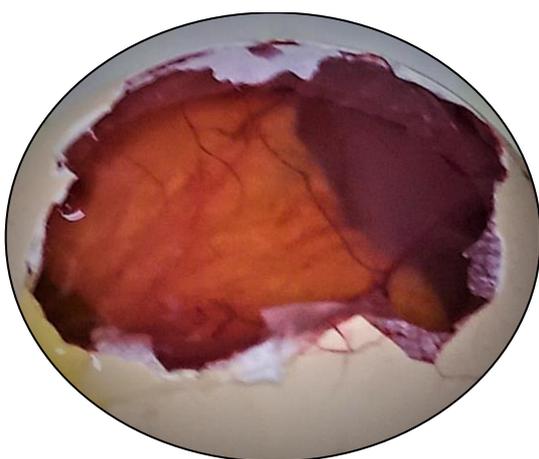


Fonte: Autor, 2022

Fonte: Autor, 2022

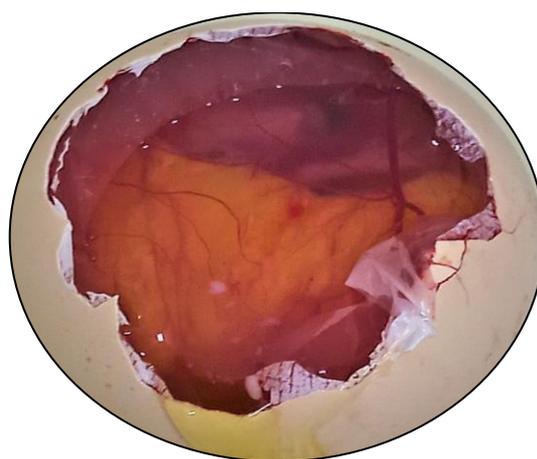
Para a amostra 1, não houve fenômenos apresentados após 5 minutos no ovo analisado. Com isso, foi observada uma pontuação de 0, apresentando uma resposta não irritante, como observado nas figuras 17 e 18:

Figura 17 – Ovo da amostra 1 no momento inicial



Fonte: Autor, 2022

Figura 18 – Ovo da amostra 1 aos 5 minutos



Fonte: Autor, 2022

Para a amostra 2, não houve fenômenos apresentados na área em contato com a amostra após 5 minutos. Com isso, foi obtida uma pontuação de 0, apresentando uma resposta não irritante, como observado nas figuras 19 e 20 a seguir.

Figura 19 – Ovo da amostra 2 no momento inicial



Fonte: Autor, 2022

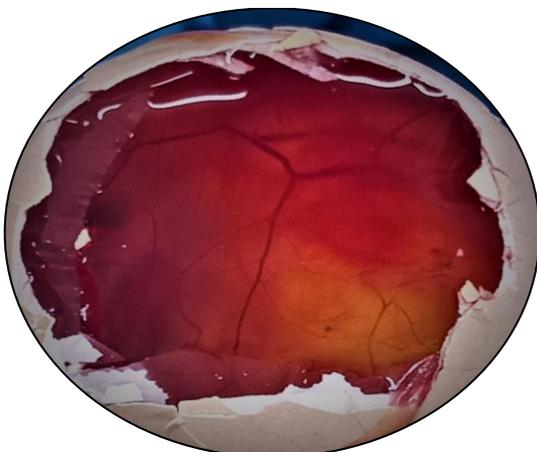
Figura 20 – Ovo da amostra 2 aos 5 minutos



Fonte: Autor, 2022

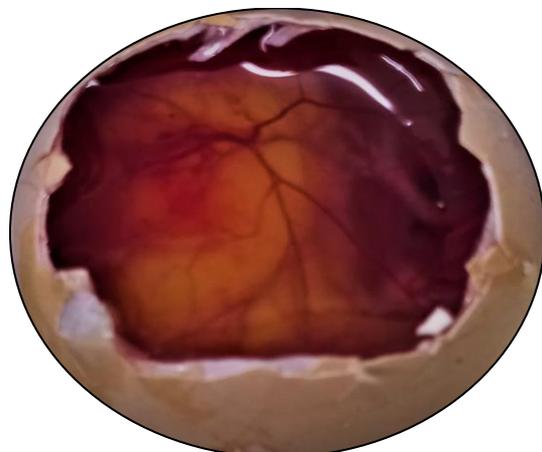
Para a amostra 3, houve hiperemia na região onde o creme esteve em contato no tempo 2 minutos e 11 segundos. Ao fim dos 5 minutos, foi obtida uma pontuação de 1, apresentando uma resposta irritante leve, como observado nas figuras 21 e 22 abaixo:

Figura 21 – Ovo da amostra 3 no momento inicial



Fonte: Autor, 2022

Figura 22 – Ovo da amostra 3 aos 5 minutos



Fonte: Autor, 2022

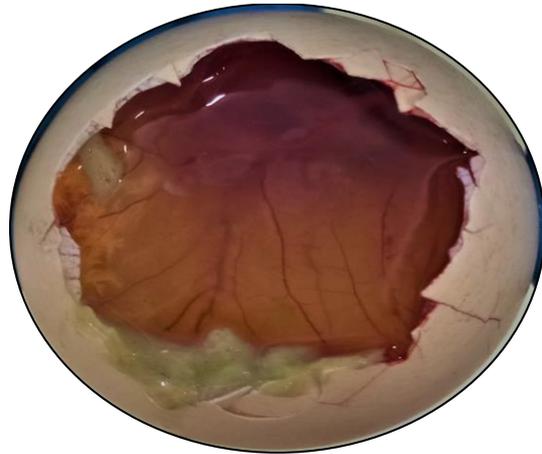
Para a amostra 4, não houve fenômenos apresentados na área em contato com a amostra após 5 minutos. Com isso, foi obtida uma pontuação de 0, apresentando uma resposta não irritante, como observado nas figuras 23 e 24.

Figura 23 – Ovo da amostra 4 no momento inicial



Fonte: Autor, 2022

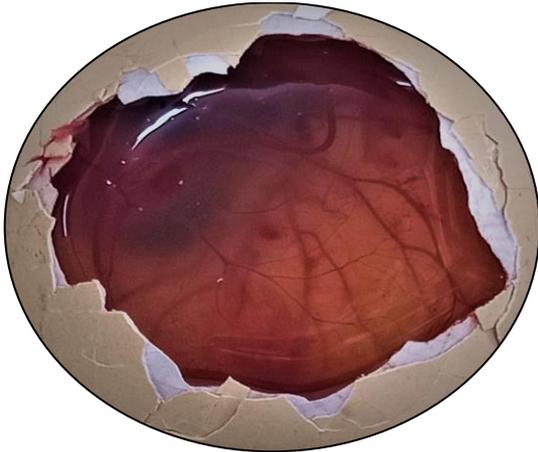
Figura 24 – Ovo da amostra 4 aos 5 minutos



Fonte: Autor, 2022

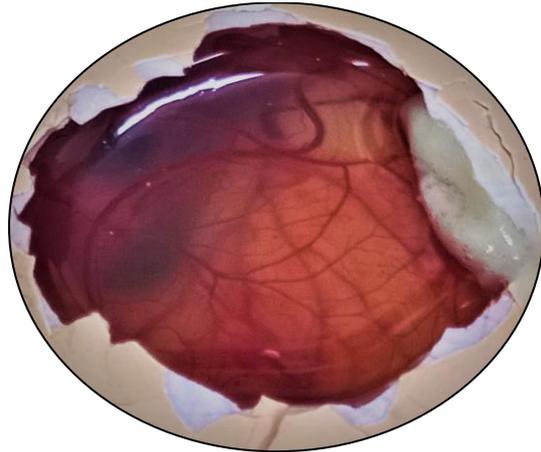
Para a amostra 5, não houve fenômenos apresentados na área em contato com a amostra após 5 minutos. Com isso, foi obtida uma pontuação de 0, apresentando uma resposta não irritante, como observado nas figuras 25 e 26 abaixo:

Figura 25 – Ovo da amostra 5 no momento inicial



Fonte: Autor, 2022

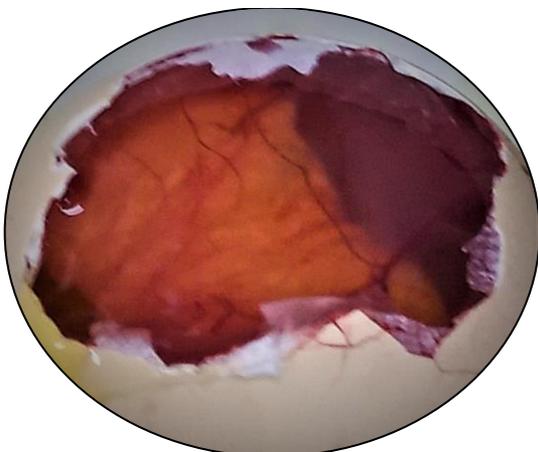
Figura 26 – Ovo da amostra 5 aos 5 minutos.



Fonte: Autor, 2022

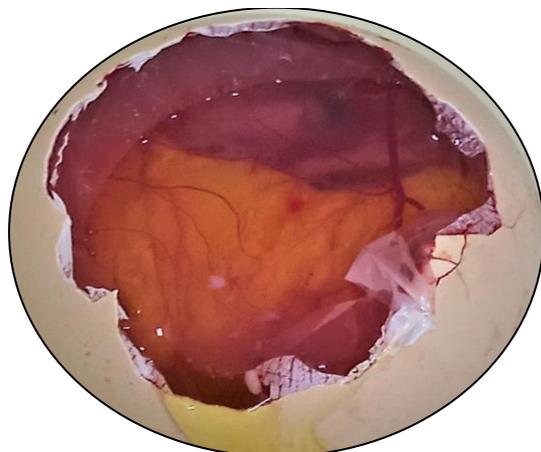
Para a amostra 6, houve hemorragia na região onde o creme esteve em contato no tempo 2 minutos e 8 segundos. Ao fim dos 5 minutos, foi obtida uma pontuação de 3, apresentando uma resposta irritante leve, como observado nas figuras 27 e 28.

Figura 27 – Ovo da amostra 6 no momento inicial



Fonte: Autor, 2022

Figura 28 – Ovo da amostra 6 aos 5 minutos



Fonte: Autor, 2022

Em um contexto geral, as formulações não apresentaram níveis de irritabilidade acima do leve, sendo este um teste de alta sensibilidade. Seria interessante ser comparado este resultado obtido com o de outro teste de irritabilidade, para avaliar principalmente o comportamento das formulações que utilizarem um valor acima de 1% de extrato natural para verificar seu comportamento, já que o resultado com 1% apresentou uma leve irritação. Isso pode ter ocorrido devido a desestabilização da composição ao ter a incorporação do extrato. Essa suposição se mostra viável ao comparar os dados deste subitem com os de estabilidade e Fator de Proteção solar, que ao longo do tempo de análise mostraram maiores degradações nas formulações com a presença de percentuais de extrato mais altas, como a de 1%.

6.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA E DE PRATELEIRA

Para o estudo de estabilidade acelerada, após os seis ciclos completos, as formulações foram observadas quanto ao aspecto, cor e odor. Não foram observadas instabilidades nas formulações. Para o estudo de estabilidade de prateleira, após o período de 12 meses, as amostras foram avaliadas e verificadas as mesmas características organolépticas, dos 3 controles e das 6 amostras.

Quanto aos controles, o creme base, representado por C1 continuou com a mesma consistência, aspecto, cor e odor, não havendo a percepção de alterações. A segunda formulação de controle, C2, demonstrou mudança de viscosidade, se tornando mais viscosa e dificultando sua espalhabilidade. Sua cor se manteve similar, entretanto, seu aroma sofreu mudanças, além de apresentar cristalização na formulação. A terceira formulação de controle, C3, também apresentou cristalização, mas manteve seu odor e cor. Dentre os controles, C2 demonstrou maior diferença, apresentando mudanças de odor e consistência. Isso pode ser devido à presença de salicilato de homomentila, o qual estava presente como controle positivo de filtro solar sintético. A característica comum entre C2 e C3, referente à aparição de cristais em meio ao creme, pode ter sido causado pela presença de filtros sintéticos nessas formulações.

As características organolépticas obtidas estão reunidas na Tabela 9, a seguir:

Tabela 9 - Características organolépticas do controle 1, 2 e 3.

Características organolépticas	Classificação		
	Controle 1 (C1)	Controle 2 (C2)	Controle 3 (C3)
Aspecto	Normal	Levemente Modificada	Levemente Modificada
Cor	Normal	Normal	Normal
Odor	Normal	Levemente Modificada	Normal

Fonte: Autor, 2022

As três formulações de controle estão reunidas na Figura 29.

Figura 29 - Formulações controle, C1, C2 e C3, após 12 meses em temperatura ambiente controlada



Fonte: Autor, 2022

No que tange as amostras com extrato e filtro sintético, a amostra A1 apresentou alteração de odor, apresentando um aroma herbal, com mudança de cor, mantendo seu aspecto da formulação. Para a amostra A2, a mesma característica de aroma herbal da amostra A1 foi percebida. Para a amostra A3, sua cor teve mudança perceptível, com mesmo aroma herbal notado, além de apresentar uma formulação um pouco mais fluida. Aulton e Taylor (2016) cita a fluidez desenvolvida pela amostra

como uma das possíveis mudanças ao ter interferência na estabilidade física de uma emulsão, também podendo ocorrer mudanças sensoriais e risco de separação de fases. As duas primeiras amostras apresentaram a característica de formação de camada superficial, com perceptível diferença de cor, ao compará-la com as camadas inferiores, além de apresentar cristalização, resultado da evaporação ocorrida na composição. Em A3, houve mudança de cor na composição, mas sem a presença de cristalização. No tocante às amostras A1 a A3, o aroma herbal foi exacerbado com o aumento da concentração de extrato e com o passar do tempo. A amostra A1 demonstrou maior formação de cera cristalizada, diminuindo na amostra A2 e não ocorrendo na A3.

As características organolépticas observadas para as amostras 1, 2 e 3 estão dispostas na Tabela 10, a seguir:

Tabela 10 - Características organolépticas das amostras 1, 2 e 3.

<i>Características organolépticas</i>	Amostra 1 (A1)	Amostra 2 (A2)	Amostra 3 (A3)
Aspecto	Normal	Normal	Levemente Modificada
Cor	Modificada	Modificada	Modificada
Odor	Levemente Modificada	Levemente Modificada	Levemente Modificada

Fonte: Autor, 2022

As três formulações com as primeiras amostras estão reunidas na Figura 30, a seguir.

Figura 30 - Formulação da amostra A1, visão frontal (a), aérea (b). Formulação A2, visão frontal (c), aérea (d). Formulação A3, visão frontal (e), aérea (f)



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Fonte: Autor, 2022

Relativo às amostras 4, 5 e 6, as quais continham somente extrato, a amostra A4 apresentou uma grande mudança de odor, todavia, sua consistência e aspecto se mantiveram. As camadas superficiais de A4 a A6 mostraram modificação,

apresentando um tom perolizado. A amostra A5 demonstrou um odor herbal, como as amostras A1 a A3, sem mudança em seu aspecto e com uma mudança expressiva da coloração na camada superficial do creme, escurecendo. De maneira similar, para a amostra A6, foi apresentado também um odor herbal. Com relação à consistência da amostra A6, foi verificada uma mudança, se tornando mais fluida, assim como a amostra A3, podendo ser citada novamente a interferência na estabilidade física da amostra (AULTON; TAYLOR, 2016).

As características organolépticas obtidas estão reunidas na tabela 11, a seguir:

Tabela 11 - Características organolépticas das amostras 4, 5 e 6.

Características organolépticas	Amostra 4 (A4)	Amostra 5 (A5)	Amostra 6 (A6)
Aspecto	Normal	Normal	Levemente Modificada
Cor	Modificada	Modificada	Modificada
Odor	Intensamente Modificada	Intensamente Modificada	Intensamente Modificada

Fonte: Autor, 2022

As próximas três formulações estão reunidas na Figura 31 a seguir.

Figura 31 - Formulações de amostra A4, A5 e A6, visão frontal (a), aérea (b)



(a)



(b)

Fonte: Autor, 2022

Em uma visão geral, a mudança de odor foi observada, acentuando o aroma herbal das amostras, sendo notado um aumento proporcional do odor com relação à concentração de extrato adicionado nas composições. Das amostras com a presença de filtro solar sintético, foi observada a formação de cera cristalizada, sendo a amostra A1, com menor concentração de extrato, a que apresentou maior formação desses cristais e a A3 não apresentou cristalização. Quanto a mudança de cor observada nas camadas superficiais dos cremes, propõe-se que houve oxidação do extrato usado, já que o recipiente utilizado não possuía tampa. Como outra possível solução, o uso do agente quelante na composição, como o já presente EDTA, seria uma opção de mudança, por exemplo em sua quantidade, ou buscando um quelante alternativo (AULTON; TAYLOR, 2016).

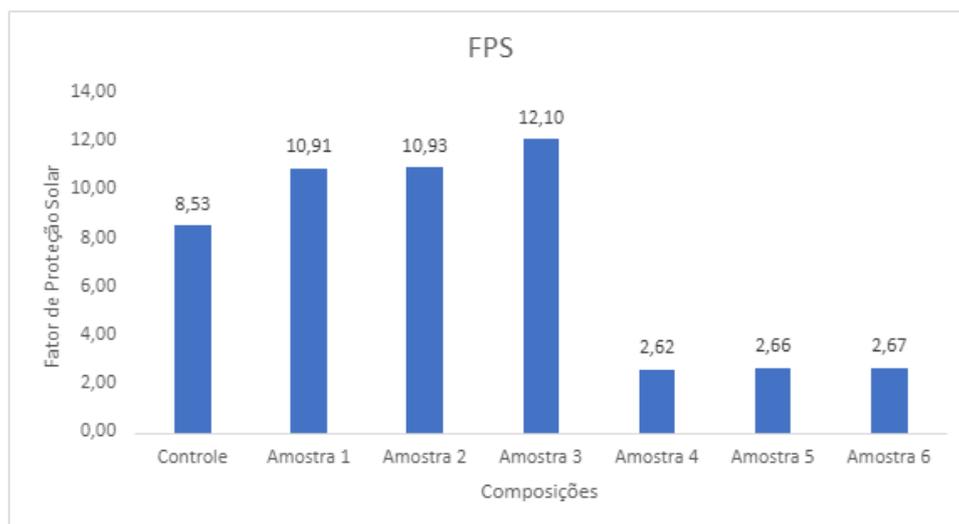
A partir das características apresentadas ao fim do estudo de estabilidade, o uso de uma embalagem de vidro, sendo esta opaca, com uma característica de proteção da amostra contra a radiação ultravioleta seja uma possibilidade de precaução que influencie a estabilidade da formulação. O uso de recipiente com tampa de rosca seria ideal de ser testada, podendo minimizar problemas como o contato com o ambiente externo. Recipientes hermeticamente fechados são vantajosos, posto que evitam a perda de umidade da formulação e ao mesmo tempo, evitam contato com o ar, mitigando a reação de oxidação que pode ter ocorrido, além da diminuição da evaporação da formulação, o que minimizaria a apresentação da cera cristalizada na formulação (AULTON; TAYLOR, 2016).

Quanto a formulação, o uso de uma maior porcentagem de agente umectante, neste caso o propilenoglicol, poderia minimizar a formação de cera cristalizada, junto a mudança de embalagem, auxiliando em uma menor perda de água da formulação. Uma possibilidade para diminuir a suspensão do extrato na amostra com o passar do tempo é a mudança do seu método de incorporação no creme, deixando de fazer a incorporação de forma manual e substituindo por um método automatizado. Essa mudança pode gerar uma homogeneização padronizada, através da identificação de melhor tipo de impelidor, ou velocidade para essa incorporação do extrato no creme, o que minimiza problemas de estabilidade ao padronizar os parâmetros de incorporação.

6.6 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

A partir das amostras avaliadas e identificados os valores de Fator de Proteção Solar (FPS) de cada uma das amostras e do controle, metoxicinamato de octila, foi possível obter um gráfico com os valores de FPS, para assim observar como cada amostra se comportou. Os dados encontrados estão apresentados na Figura 32 e em sua legenda está apresentada a quantidade em porcentagem de ativos usados para cada composição.

Figura 32 - Valores de FPS obtidos para as amostras



Fonte: Autor, 2022. Legenda Composições: Controle: 5% metoxicinamato de octila, Amostra 1: 0,25% extrato e 5% metoxicinamato de octila, Amostra 2: 0,5% extrato e 5% metoxicinamato de octila, Amostra 3: 1% extrato e 5% metoxicinamato de octila, Amostra 4: 0,25% extrato, Amostra 5: 0,5% extrato, Amostra 6: 1% extrato.

Foi possível observar que a combinação entre um insumo usado como filtro solar bem estabelecido no mercado junto ao extrato natural em diferentes concentrações (amostras 1 a 3), mostraram resultados de FPS melhores do que a avaliação individual do controle como das amostras havendo apenas a presença do extrato de *Spilanthes acmella* (amostras 4 a 6). Tal resposta permite avaliar a possibilidade da substituição parcial do protetor solar sintético por um extrato natural,

fomentando uma demanda mercadológica, que traz uma alternativa para as composições dos protetor solares existentes no mercado.

Os valores de FPS das amostras 1 e 2 foram 11 e da amostra 3 foi 12. Ao comparar o valor de FPS da formulação controle, que obteve resultado 8, com as amostras de 1 a 3, foi possível identificar um aumento de 137,5% do FPS nas amostras 1 e 2, e 150% na amostra 3. Já as amostras 4 a 6 não seriam possíveis de serem utilizadas de forma isolada como filtro solar sintético, pois não alcançaram valores mínimos de fator de proteção solar. O creme base também teve seu FPS verificado, para entender se ele interferiria no valor do FPS, e seu resultado gerou um FPS de aproximadamente zero, não interferindo na leitura.

A fim de comparar o efeito prático da adição do extrato aos filtros solares sintéticos, foi feita a avaliação do FPS teórico de diferentes composições através do simulador de FPS da DSM, Sunscreen optimizer, e o simulador Sunscreen simulator da BASF. A amostra controle, ao adicionar 5% do metoxicinamato de octila também apresentou valor de FPS de aproximadamente 8 nos simuladores. Os resultados encontrados estão apresentados na Figura 33.

Figura 33- Simulações de composições no DSM Sunscreen optimizer (a) e BASF (b)

Global	FPS alvo 12	1 simulaçã	2 simulaçã	3 Controle
Adicionar filtros		✕	✕	✕
✕ Ethylhexyl Methoxycinnamate (7.5%)		7.5	7.5	5
✕ Benzophenone-3 (5.0%)		1	0	0
Add parameter				
✕	Total (%)	8.5	7.5	5.0
✕	SPF	12.0	10.2	7.7

(a)

FILTER SELECTION				
	Max.			
BP3	5%	1.00%	0	0.00%
EHMC	7.5%	7.50%	7.5	5.00%
Total:		8.50%	7.50%	5.00%
SPF (SUN PROTECTION FACTOR)				
SPF:		12.1	10.4	7.9

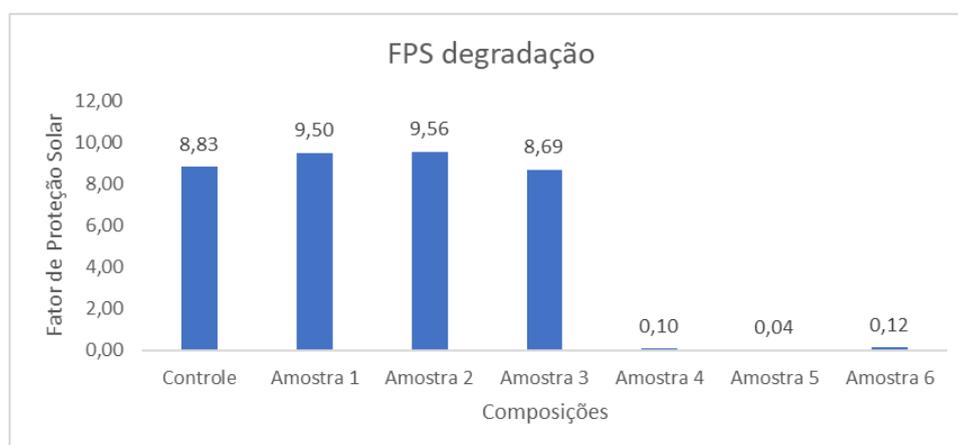
(b)

Fontes: DSM Sunscreen optimizer (2022); BASF (2022)

Tomando como parâmetro o maior valor de FPS obtido dentre as 3 primeiras amostras, foi necessária a adição de mais de um tipo de filtro solar para alcançar o FPS de 12 na simulação. Isso ocorreu pela legislação global permitir o uso máximo de 7,5% de metoxicinamato na composição, resultando em um FPS próximo a 10. Para se alcançar o mesmo FPS obtido pela adição de 1% do extrato (Amostra 3), foi necessário o aumento da concentração do metoxicinamato de octila em 2,5% e a adição de um segundo filtro solar sintético (benzofenona 3). Esse dado demonstrou que a adição do extrato vegetal leva à redução da concentração de filtros solares sintéticos, necessários para se atingir um FPS de 12, em 58,8%. Essa diferença se torna importante pois o uso de filtros solares sintéticos na composição proposta se torna menor que o valor máximo de metoxicinamato permitido, diminuindo a chance de irritação cutânea à pele (DSM SUNSCREEN OPTIMIZER,2022; Sunscreen simulator, 2022).

Com o passar de 28 dias a avaliação de FPS foi refeita com as mesmas amostras. Foi observado que os resultados encontrados diminuiram seus valores de absorvância, influenciando no resultado do FPS, que está disponível na Figura 34.

Figura 34 - Valores de FPS obtidos para as amostras ao passar de 28 dias



Fonte: Autor, 2022

Ao levantar hipóteses para tais resultados, foi sugerido haver reações de degradação ocorrendo no decorrer do tempo, o que influenciaria na redução do teor de ativos do extrato e conseqüentemente explicaria a diminuição dos valores de FPS encontrados. Como alternativa para minimizar tal situação, o uso de um preservante na composição seria uma possibilidade. Ele seria usado com o ideal de manutenção da atividade antioxidante, diminuindo o efeito das reações de degradação da formulação, mantendo sua ação antioxidante adequada por mais tempo.

6.7 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE PATENTES DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS COM A PRESENÇA DE *Spilanthes Acmella*

Os resultados da prospecção de patentes foram escritos sob a forma de artigo científico, o qual foi submetido para publicação na revista Cadernos de Prospecção. Este artigo se encontra sob análise da revista.

PROSPECÇÃO DE PATENTES DE COSMÉTICOS COM A PRESENÇA DE *S. Acmella* E SIMILARES DOS ANOS 2015-2020

RESUMO

Spilanthes acmella, uma planta rica em espilantol é usada de forma versátil em composições cosméticas e é encontrada em patentes multifuncionais, mas principalmente com ação *antiaging*. Em uma busca por patentes de cosméticos com a presença de *Spilanthes acmella* e espécies similares, foi realizada uma prospecção através da base de dados do ESPACENET, onde vinte e seis patentes foram consideradas adequadas para discussão nesta revisão sistemática com a presença de *Spilanthes acmella* em formulações cosméticas com funções hidratantes, antienvelhecimento, antioleosidade, clareadora, e em dentifrícios. 61,5% das invenções prospectadas foram depositadas na China, sendo o país que obteve maior valor. As criações mostraram diversas combinações de extratos e óleos que corroboram com o crescimento do uso de ativos naturais em cosméticos e mostram uma tendência crescente para o futuro do ramo cosmético.

Palavras-chave: Patente. *Spilanthes acmella*. Cosméticos.

ABSTRACT

Spilanthes acmella, a plant rich in spilanthol, is used in a versatile way in cosmetic compositions and is found in multifunctional patents, but mainly with antiaging action. In a search for cosmetic patents with the presence of *Spilanthes acmella* and similar

species, a prospection was carried out through the ESPACENET database, where twenty-six patents were considered suitable for discussion in this systematic review with the presence of *Spilanthus acmella* in cosmetic formulations of moisturizers, anti-aging, anti-oiliness, whitening, and in toothpastes. 61.5% of the prospected inventions were deposited in China, being the country with the highest quantity. The creations showed several combinations of extracts and oils that corroborate the growth in the use of natural actives in cosmetics and show a growing trend for the future of the cosmetic sector.

Keywords: Patent. *Spilanthus acmella*. Cosmetics.

INTRODUÇÃO

De acordo com Favoreto e Gilbert (2010), a *Spilanthus acmella*, popularmente conhecida no território brasileiro como jambu, sendo um gênero confundido, com frequência, com o gênero *Acmella* Rich. ex Pers. devido a sua taxonomia similar, é uma planta herbácea anual, perene, de 20-40 cm de altura, semi-ereta, com caule cilíndrico, carnoso e de ramos decumbentes, geralmente sem raízes nos nós. As inflorescências são isoladas, com capítulos globosos axilares e terminais pedunculados. As flores são pequenas, amareladas, com áreas púrpuras distintas na pálea do cálice, bem visível em capítulos imaturos, dispostas em capítulos globosos terminais que medem cerca de 1,0 cm de diâmetro. No que se refere às propriedades organolépticas, as folhas apresentam sabor acre e pungente.

S. acmella é mais comumente utilizada em países tropicais e subtropicais, principalmente Índia e América do Sul. Na bacia amazônica, esta planta é uma das mais utilizadas pela população para tratar a tuberculose, mas também é usada no tratamento de úlceras bucais e gagueira em crianças, desintéria, reumatismo, leucorréia e picada de cobra em outros países. No Japão, o extrato do jambu é usado como aromatizante para dentifrícios e goma de mascar. No Brasil, as folhas são empregadas na culinária como tempero para produzir a parestesia de formigamento e no norte do Brasil utiliza-se como afrodisíaco feminino. Ademais, a planta é mastigada para reduzir a dor de dente e aliviar infecções de garganta e gengiva. O uso popular de tintura e xaropes das folhas e flores para a anemia e escorbuto é devido à presença de ferro e vitamina C (RAHIM, et al. 2021; ELUFIOYE, et al. 2020).

A espécie tem sido bem documentada pelos seus usos populares como antibacteriano, antifúngico, antimalárico, inseticida, tosses e raiva, além dos já mencionados. Ela é utilizada como estomáquica, excitante e tônica, considerada carminativa, emenagoga, abortiva, digestiva, febrífuga, cicatrizante, antigripal, antiespasmódica, narcótica, desinfetante e antiasmática, sendo indicada contra problemas hepáticos. Outras atividades como antipirética, anestésica local, vasorrelaxante, diurética, hepatoprotetora, anti-obesidade e imunomoduladora também foram relatadas (FAVORETO e GILBERT, 2010; PAULRAJ, et al. 2013).

O jambu contém alquilamidas, substâncias lipofílicas com inúmeros efeitos farmacológicos de interesse nas indústrias farmacêuticas e cosméticas. Elas são

responsáveis pelas sensações pungentes e de formigamento e são incorporadas em cosméticos tópicos por sua propriedade de suavização de rugas, funções reguladoras do crescimento, como as das N-acetanolaminas (NAEs) que podem promover o crescimento da raiz primária e o alongamento do cabelo da raiz (ELUFIOYE, *et al.* 2020).

Farmacologicamente, *S. acmella* exibe diversas bioatividades, destacando-se potentes atividades anti-inflamatórias, através da inibição de citocinas inflamatórias (*IL-1 β* , *IL-6* e *TNF- α*) e atenuação da expressão de *COX-2*, e antioxidantes, por conter alto teor fenólico e de flavonóides e suprimir complexos protéicos envolvidos com estresse oxidativo, evidenciadas em estudos *in vitro* e *in vivo* que podem contribuir para o valor terapêutico das plantas. Dentre os metabólitos ativos presentes na *S. acmella* que possuem atividade antioxidante, destacam-se os fenólicos (ácido vanílico, ácido trans-ferúlico e ácido trans-isoferúlico) e estigmasteril glicosídeo. O espilantol é a N-isobutilamida, metabólito em maior quantidade e principal composto pungente. A sua estrutura é elucidada como (2E, 6Z, 8E)-N-isobutilamida-2,6,8-decatrienamida (RAHIM, *et al.* 2021).

A afinina, outra forma de denominação do espilantol, é uma molécula anfifílica com a presença de uma amida relativamente polar e com uma parte insaturada menos polar. Como possibilidades de obtenção de extrato com sua presença, a extração pode ser feita com solventes como metanol, etanol, CO² supercrítico ou hexano usando sua parte aérea, que concentra a maior quantidade de espilantol. Dentre as suas ações, as mais promissoras são a sua ação anti-inflamatória, o efeito de aumento da absorção em formulações cosméticas, além de seu uso como anestésico local forte. A partir de ensaios *in-vitro* foi revelada também a inibição de enzimas *CYP P450*, que estão relacionadas ao metabolismo de substâncias e medicamentos (RONDANELLI *et al.*, 2019).

METODOLOGIA

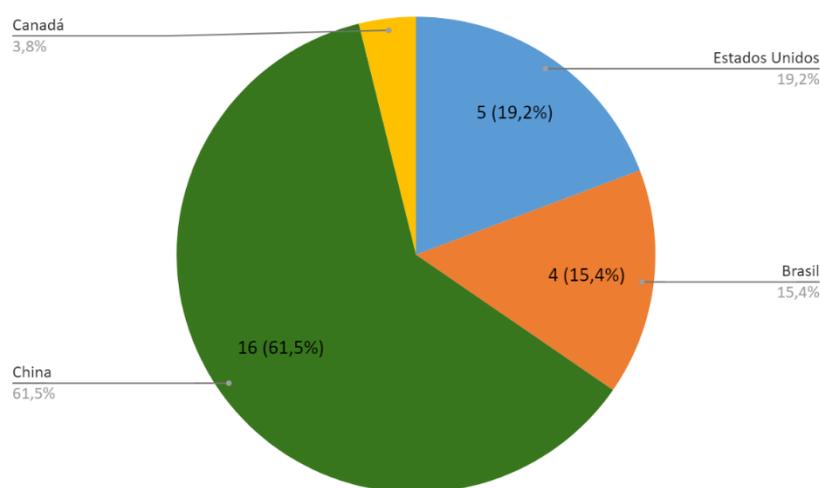
Esta revisão trata-se de um artigo que discute sobre a prospecção de patentes relacionadas a *Spilanthus acmella* e cosméticos produzidos com o seu extrato. Sendo assim, as buscas das patentes foram realizadas por meio de pesquisa na base de dados ESPACENET em janeiro de 2021, na qual foram selecionadas patentes que continham as palavras *Spilanthus acmella* presentes no título, resumo ou texto completo.

Foram identificadas, no banco de dados, 107 patentes para avaliação preliminar. Foram incluídas patentes em inglês ou que tivessem tradução para essa língua, publicadas entre janeiro de 2015 e dezembro de 2020 e como parte da classificação CPC A61K8, que reúne patentes cosméticas ao chegar no subgrupo 8. Na triagem realizada foram excluídas 8 patentes duplicadas, dentre os documentos remanescentes, todos estavam disponíveis com tradução em inglês. Além disso, 73 patentes foram excluídas por divergência com o tema após leitura completa da patente, totalizando 81 patentes consideradas inelegíveis. Sendo assim, foram para seleção final 26 patentes.

RESULTADOS

Observa-se que o país que mais produziu patentes de produtos com o uso da *Spilanthes acmella* na composição durante o período de 2015 a 2020 foi a China, representando 61,5% das invenções dentre as patentes selecionadas, seguida dos Estados Unidos, com 19,2% do total de invenções, e em 3º lugar o Brasil, com 15,4% das patentes (ver Figura 1). Esses percentuais demonstram que a China, os Estados Unidos e o Brasil são os principais países que investem na pesquisa e desenvolvimento de produtos à base de jambu, levando em consideração a sua disponibilidade e o fato de esses países serem os principais produtores de medicamentos e cosméticos. De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, tais países possuem os maiores índices de consumo de cosméticos no mundo, com os EUA em 1º lugar no mercado, a China em 2º e o Brasil em 4º (ABIHPEC, 2021).

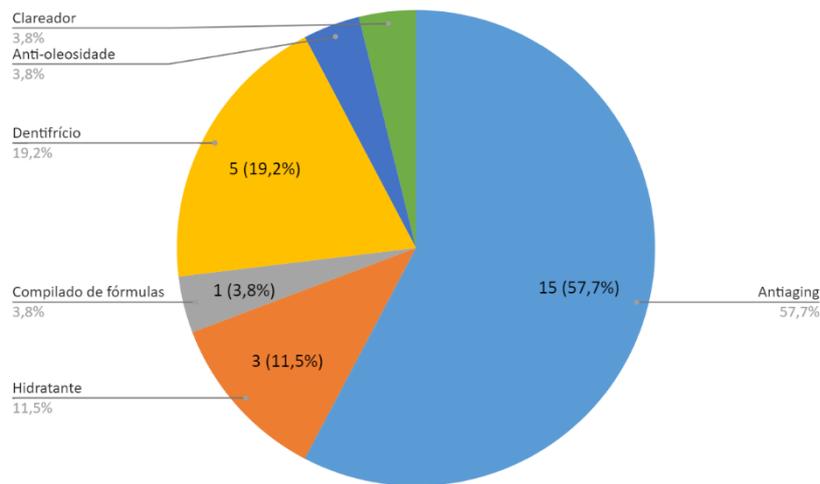
Figura 1: Gráfico de contagem de patentes por país de origem.



Fonte própria

Em relação às aplicações das invenções, os produtos com ação *antiaging* foram maioria, com 57,7%, seguido de dentifrício que representa 19,2% (ver Figura 2). O público atual deseja praticidade e com isso, a oferta de produtos multifuncionais começam a crescer, dentre eles estão os que possuem ação anti-radicais livres por exemplo. Nestas formulações, que podem ser protetor solar ou creme antirrugas, o apelo "*antiaging*" se mostra como uma ferramenta de marketing, pois a população cada vez mais tem a preocupação em cuidar de sua pele, para alcançar uma aparência hidratada, assim como o efeito anti-envelhecimento se torna um grande atrativo, já que cada vez mais o público sênior tem maiores expectativas de vida, se interessando em manter uma aparência saudável (ABIHPEC, 2020).

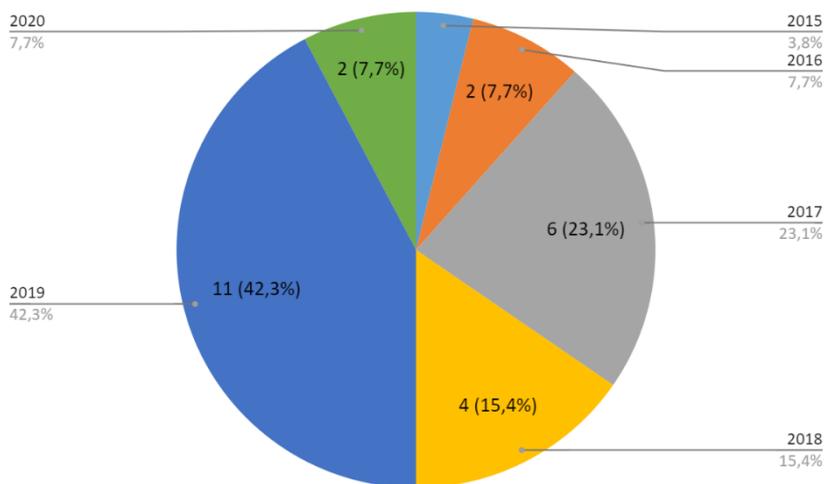
Figura 2: Gráfico de contagem dos tipos de aplicação de patentes.



Fonte própria

Por meio da prospecção, é possível notar que a partir de 2017, o número de patentes começou a crescer, alcançando seu pico em 2019, com 42,3% das patentes. Os anos de 2015 e 2016 mostraram um valor mais tímido de depósitos com a presença da *S. acmella*. E em 2020, o número diminuiu novamente ao contrário do ano anterior, alcançando um total de 7,7% de patentes depositadas (ver Figura 3).

Figura 3: Gráfico de contagem de patentes depositadas por ano de 2015 a 2020.



Fonte própria

DISCUSSÃO

Dentifrício

Dentre as patentes encontradas, o primeiro tópico a ser discutido é a aplicação do extrato de *Spilanthes acmella* em uma formulação de dentifrício. Em 2020, a invenção CN111315352A propôs uma composição para a cavidade oral. Estão presentes na composição o extrato de *Spilanthes acmella* assim como os extratos de *Sansho pepper*, *Capsicum* e gengibre, *Sanshool*, capsaicina, gingerol, gingerona, espilantol, e derivados de mentol. Tais componentes têm a função de suprimir a irritação oral causada por componentes considerados estimulantes sensoriais, causadores de termossensibilidade, como agentes de aquecimento ou resfriamento, e podem ser usados sozinhos ou em combinação de dois ou mais extratos. Dentre as metodologias aplicadas estão a avaliação da irritabilidade oral), avaliação do sabor, da estabilidade da formulação, além da avaliação da manifestação da fragrância. Os 10 especialistas que estiveram envolvidos nesses métodos avaliaram e responderam um questionário com pontuação definida em uma tabela para obter um gabarito que refletiria os resultados das avaliações.

As invenções CN106420512A e CN106580780A depositadas em 2017 pelos mesmos aplicantes fornecem um extrato natural e um programa de aplicação de ervas chinesas de asteraceae, respectivamente, para o preparo de produtos voltados para a saúde bucal contendo *Spilanthes acmella*. Em suas composições estão presentes ácido palmítico, ácido esteárico, ácido tetracosanóico, sitosterol, estigmasterol, glicosídeo sitosterol-O- β -D, treonina, alanina, lisina, metionina, leucina, valina, prolina, hidroxiprolina, tirosina, histidina, ácido glutâmico e semelhantes.

A patente CN106420512A fornece uma formulação com o objetivo de ocasionar um efeito hemostático. Para os testes de eficácia feitos, foram selecionados 40 coelhos brancos saudáveis para incisão da formulação no abdômen seguida de exposição e fixação do fígado. Nesta metodologia, 20 amostras de cada substância foram submetidas ao teste para comprovação do efeito hemostático após serem aplicadas nos animais. Os resultados demonstraram que a pasta de dente contendo o extrato possui o efeito desejado no fígado de coelhos.

Em relação a patente CN106580780A, empregou-se uma experiência farmacológica para constatar o efeito analgésico do creme dental contendo o extrato de asteraceae, utilizando o instrumento analgésico de placa quente. Os 40 camundongos saudáveis selecionados de acordo com o peso foram colocados na placa quente para determinação do limiar da dor de cada animal conforme o tempo que eles passavam para lambe a pata. Constatou-se com esse método que as amostras de creme dental com o extrato de asteraceae, proporcionam a melhoria no limiar de dor em camundongos, demonstrando que o creme tem efeito analgésico significativo.

A EP2906179B1 possui composições estabilizadas, tópicas e aquosa-livres de suplemento ubiquinol, contendo fosfato de cálcio amorfo, misturas de fluoreto de ACPF tendo como alvo reduzir o estresse oxidativo, o desconforto oral, a boca seca e superfícies de remineralização dos dentes por meio de aplicações tópicas da composição citada. O extrato de *Spilanthes* é incorporado a um gel mucoadesivo de liberação contínua para promover o aumento da salivagem, pois o fluxo local de saliva pode ser controlado adicionalmente pela introdução deste extrato nas superfícies dos dentes a partir de uma emulsão livre de água, além do efeito anti-inflamatório do espilantol presente no extrato.

A patente EP3111924B1 de 2019 possui uma proposta de composições que visam o aumento da salivagem para aliviar a xerostomia (boca seca). Foram testados os extratos de Araliaceae, Zingiberaceae, Lamiaceae, Fabaceae, Solanaceae,

Punicaceae e Asteraceae e suas misturas para observar o aumento na indução da produção de saliva através das células CHO-K1 recombinantes humanas, pois expressam o receptor muscarínico M3 humano no modelo *in vitro*. O uso *in vitro* de extrato de *Acmella oleracea* a 1000 ppm apresentou o efeito desejado. Além desse teste, houve o preparo de uma composição líquida, como um enxágue bucal ou spray, e uma composição de gel ou pasta. Os indivíduos que testaram as diferentes composições apresentaram alívio quanto à boca seca.

As patentes de uso oral demonstraram dentre suas características, o aumento da salivagem bucal, sendo avaliado *in vitro* o receptor muscarínico M3 humano, além de apresentar uma ação anti-inflamatória, atuando no combate do estresse oxidativo. Mais uma das funções apresentada pelo extrato foi a sua ação termossensibilizante, sendo um estimulante sensorial e podendo ser combinado com uma gama de outros extratos para ter um melhor resultado.

Antiaging

A patente identificada por CN111150686A é responsável pela criação de um creme rejuvenescedor. A sua proposta é atuar na hidratação, nutrição e melhora da pele ao redor dos olhos, tornando-a elástica e macia. A sua formulação usa do extrato de *Spilanthus acmella* como um dos agentes rejuvenescedores. A composição atua com um polipeptídeo ativador muscular, esqualano, que ao permear a pele, pode formar uma película protetora em sua superfície, reduzindo danos e fornecendo efeitos como o de hidratação. Também é possível encontrar na formulação, óleo de germe de trigo, extrato de raiz de *Astragalus membranaceus*, extrato da raiz de *Centella asiática* e óleo de coco. Já na submissão identificada por CN110448506A, a sinergia de extratos discorrida é a de flor de *Spilanthus acmella*, raiz de *Dioscorea villosa*, farelo de arroz (*Oryza sativa*), semente de uva (*Vitis vinífera*) e cultura de células da maçã (*Malus domestica*). Para as formulações apresentadas, é usado de 1 a 2% de peso de extrato de *Spilanthus acmella* nos testes. Dentre eles está o uso do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) para verificar o potencial antioxidante que a mistura de extratos pode apresentar. Dos resultados obtidos entre as formulações desenvolvidas pela patente, a diminuição dos radicais livres presentes no meio analisado ocorreu nas composições com os extratos, mostrando que haveria a possibilidade de um efeito anti-envelhecimento advindo da formulação pela presença de agentes antioxidantes. Como método *in vivo*, para identificar o efeito hidratante, foi usado o detector de hidratação da pele, Corneometer CM285 com 100 voluntárias, em temperatura e umidade especificadas. Nas composições sem a presença de algum dos extratos, a hidratação não teve o mesmo sucesso como na formulação que possuía a sinergia de extratos.

A invenção CN110302117A discorre sobre uma formulação cosmética leitosa, com característica rejuvenescedora. A concentração de extrato de *S. acmella* encontrada nas composições testadas está entre 1 e 2% em peso. Como parte da sinergia de extratos usados estão o da raiz de *Dioscorea villosa*, extrato de arroz (*Oryza sativa*) e extrato de aveia (*Avena sativa*). O extrato de jambu é usado para ação contra rugas e anti-envelhecimento, restaurando a elasticidade da pele e tornando-a firme. Os outros extratos citados atuam com o desbotamento de manchas na pele, clareando-as. Para confirmar a ação dessa invenção, foram aplicadas metodologias de teste clínico de elasticidade, presença de rugas, eficácia de branqueamento através da análise de pigmento da pele e estabilidade da formulação. Os testes clínicos

apresentaram um mesmo tipo de comportamento. Nas composições com concentrações mais expressivas das sinergias de extrato, foi possível notar uma resposta de eficácia melhor. Para os testes de amenização de rugas e elasticidade, a presença dos extratos de *S. acmella*, *Dioscorea villosa*, arroz e aveia demonstraram ter a habilidade de diminuir as linhas de expressão e restaurar a elasticidade da pele, ao comparar as formulações com e sem a presença dos extratos.

A invenção CN109568209A se refere à formulação de um óleo essencial que atua como *antiaging* e antirugas. A sua composição consta de extratos de erva-doce do mar, algas e wakame (*Undaria pinnatifida*). A concentração do extrato de *Spilanthes acmella* vai de 0,1 a 1% em peso na formulação. Este extrato pode estimular a vitalidade natural dos fibroblastos, promover o movimento e contração de fibroblastos, além de aumentar a densidade dentro da rede de cristal de colágeno e firmar a pele. Dentre os testes explanados na patente, a avaliação da elasticidade da pele de voluntários apresentou uma taxa de alteração superior a 10% ao comparar a elasticidade inicial e após 4 semanas do uso do óleo, devolvendo elasticidade à pele.

A CN106691945A traz uma máscara com ação antioxidante, contendo álcool polihídrico e hialuronato de sódio, responsável por manter o teor de umidade e aumentar o brilho da pele segundo esta patente, e extrato de *Schizandra chinensis* em sinergia com o extrato de *Acmella oleracea*, para remover os radicais livres, relaxar os músculos, reduzir a expressão da composição antioxidante padrão, promover a regeneração cutânea da pele, apresentando efeito anti-envelhecimento. O teste de eficácia da máscara foi conduzido de forma comparativa com 10 voluntários de 35 e 55 anos. O produto foi depositado no rosto e retirado após 15 minutos durante 12 semanas. Foram avaliadas fotos tiradas durante o ensaio através da comparação de características como relaxamento, aspereza, olheiras e rugas (sinais de envelhecimento). A pele facial se tornou visivelmente compacta, elástica e a redução das rugas apresentou eficácia. De forma geral, foi concluído também que o efeito antioxidante é dependente do aumento da concentração da composição antioxidante. Outro fator a ser destacado é o uso de tecido de máscara de biofilme que apresentou um efeito catalítico na eficácia do produto.

A invenção CN106821849A também traz uma máscara com efeito antioxidante composta por poliol, polissacarídeo de semente de *Cassia angustifolia*, que pode manter o teor de umidade da pele e aumentar o seu brilho, extrato de *Achillea millefolium* e extrato de *Acmella oleracea*. Estes ativos foram misturados e coordenados, com o intuito de remover os radicais livres da pele, promover o relaxamento dos músculos, reduzir o padrão de expressão e otimizar a transmissão de informações biológicas, regenerar a pele e ter um bom efeito anti-envelhecimento. Sob a forma líquida, a aplicação da essência na pele se deu por um tecido de base da máscara. A avaliação da eficácia do produto foi realizada através de fotos dos voluntários, durante 12 semanas, por análise comparativa para analisar a melhora nos aspectos de interesse e os envolvidos foram questionados quanto à sensação de uso, onde a pele facial se tornou visivelmente compacta, elástica e a redução das rugas foi eficaz. Diante disso, notaram que o produto teve um bom efeito anti-envelhecimento, sendo este efeito melhorado com o aumento da quantidade de antioxidantes na formulação. O efeito antioxidante teve melhor eficácia em tecido de máscara de fibra biológica, indicando que ela desempenha um papel catalítico na eficácia da composição.

A criação US2017172909A1 possui um método avaliativo de materiais cosméticos em relação à eficácia na neutralização das consequências do estresse crônico na pele e contém composições para o bloqueio ou reversão do impacto do estresse crônico na pele mediante ativos que promovam a reconstrução da epiderme, restaurando a sua elasticidade. A fim de aumentar a interação entre as fibras de colágeno e os fibroblastos e, assim, enrijecer a pele, utilizou-se o Gatuline In-tense que possui triglicerídeo caprílico/cáprico e o extrato de flor de *Spilanthes acmella*. A metodologia aplicada visou avaliar o efeito dos ativos na liberação de elastina por fibroblastos dérmicos humanos, denominado Human Dermal Fibroblasts (HDFs), utilizando células *in vitro* que foram analisadas após o tratamento com materiais de teste em meio celular por 72 horas após a coleta, denominado ensaio Elastin Elisa. A viabilidade celular também foi medida usando o ensaio MTT. A análise estatística foi executada com um teste post hoc ANOVA + Fisher LSD. Segundo os resultados, observou-se o aumento da síntese de elastina e na concentração mais alta da amostra (2 mg/ml), foi detectado um aumento significativo de 16%.

Um produto diferente é proposto pela CN107468582A em que os efeitos de melhoria das rugas, firmeza da pele e cuidado da pele ao redor dos olhos é ofertado por uma maquiagem sob a forma de sombra. Nesta, o extrato da flor de *S. acmella* é enriquecido em isobutilamida e espilantol altamente ativo, pois potencializa e reconstrói a rede de colágeno, estimulando a função biomecânica dos fibroblastos e rápido aumento da firmeza. Outra ação destacada é a redução da aspereza da pele, e redução rápida dos pés de galinha, com efeito antirugas significativo e mostrando o efeito de relaxamento muscular imediato e reversível. O octildodecanol, também usado na composição, pode aumentar a taxa transdérmica do extrato de jambu e o extrato de folha de *Aloe barbadensis*, esqualano e semelhantes aumenta ainda mais o efeito de remoção de rugas, de acordo com os resultados desta invenção. O teste de rugas foi realizado de modo comparativo, com dados sobre a quantidade e profundidade de rugas periorculares antes e depois de 1 mês de uso. Para tanto, selecionou-se aleatoriamente 3.400 mulheres saudáveis de 25 a 35 anos de idade, divididas aleatoriamente em 34 grupos. As amostras diferentes do produto foram aplicadas na área dos olhos 2 vezes ao dia. Com isso, notou-se que os extratos de *S. acmella* e de *Aloe barbadensis* reduziram a profundidade das rugas, principalmente quando em sinergia. Essa redução foi ainda maior com a adição do esqualano e octildodecanol.

Composições super concentradas na forma de um elixir para o tratamento de rugas estão dispostas na WO2018032074A1. O efeito antirugas neste caso se deve à atuação sinérgica entre o extrato de *Hymenaea courbaril*, ácido hialurônico, mistura dos aminoácidos cocoil sódico, sarcosina, aspartato de potássio, aspartato de magnésio, propilenoglicol e acetil tetrapeptídeo-2 (essenciais para a pele e enriquecidos com potássio e magnésio) e o extrato de jambu. A ação é executada nos principais mecanismos responsáveis pela formação de rugas na região dos olhos e flacidez das pálpebras, como substituição de ácido hialurônico, relaxamento das microtensões da pele, inibição de microdanos, estimulação do colágeno e de elastina, renovação celular, recuperação da hidratação natural e proteção de colágeno (ação antiglicante), ácido hialurônico, elastina e lipídios. A comprovação dos efeitos desejados se deu pela avaliação do aperto e elasticidade da pele por cutometria na região do antebraço, feita com *Cutometer® MPA-580, Multiprobe Adapter MPA-580 e CKeletronics*. Após o uso, houve o aumento da elasticidade da pele de forma gradativa, atingindo a 8,8% dos voluntários após 56 dias e 96,0% dos participantes

apresentou esse efeito. Quanto à percepção da eficácia pelos participantes, avaliação da eficácia clínica dermatológica e medidas instrumentais em condições normais de uso, o produto reduziu a textura da pele e ocasionou a melhora na firmeza das pálpebras, aparência geral e aparência saudável, sinais de expressão, grau de rugas e quantidade de linhas, não havendo relatos ou evidências de reação adversa.

Uma essência com boa absorção e nutrição para a pele foi proposta na CN107982121A tendo o extrato de jambu como principal componente para promover a viabilidade celular, fortalecer a estrutura epitelial, além da ação antiaging. O teste de efeito hidratante foi empregado através do testador cutâneo MPA580 para teor de umidade da pele, perda de água transepidérmica, elasticidade da pele, sebo, melanina e hemoglobina, apresentando resultados positivos após 1 mês de uso do produto. O teste de profundidade de rugas se deu pelo sistema de análise de imagens VIDAS e dispositivo de baixa ampliação produzido pela Zeiss. A câmera CCD usada em conexão com este produto é a JVC Corporation of Japan, com uma resolução de 560 linhas. Assim, observaram uma significativa redução na profundidade mínima e máxima das rugas dos indivíduos. Em termos gerais, o bisabolol, ácido ascórbico tetraisopalmitato, extrato de jambu e extrato de alcaparra, inclusos na essência, formam um efeito complexo que possui uma boa capacidade de reparar rapidamente os danos da pele, previne a peroxidação lipídica, elimina rugas, forma uma camada protetora sobre a pele, melhora a sua umidade e elasticidade.

A patente CN105362148B tem como proposta um composto de compactação facial, uma máscara de leite de endurecimento lifting para reduzir as linhas finas no rosto e melhorar o relaxamento e colapso da pele, além de um método de preparo. O extrato de *Acmella oleracea* é utilizado com o objetivo de aumentar a produção de colágeno tipo I, reduzir a função de contração nervosa dos músculos faciais, reduzindo rugas. O extrato de algas marinhas e o polissacarídeo do caule de brotamento também foram adicionados para promover o efeito sinérgico, onde o composto reafirmante facial possa proporcionar as melhorias de interesse. Os testes de eficácia conduzidos *in vitro* mostraram que a proliferação média de fibroblastos cutâneos teve um percentual de 30% (chegando a uma máxima de 35%). O colágeno I dos fibroblastos foi estimulado e a taxa de síntese média foi de 45% (síntese máxima de 70%) após uma semana. Nos testes *in vivo* executados, a profundidade da superfície das rugas foi reduzida em média 25% e a elasticidade da pele aumentou em média 15% após 8 semanas de uso em todos os indivíduos.

A patente CN109223602A fornece um método para personalização de produtos e outro para o cuidado dos olhos. Ambos possuem o extrato de jambu como componente em algumas das propostas, por ser rico em isobutilamida e espilantol altamente ativo, possuindo os mesmos efeitos *antiaging* mencionados na invenção CN107468582A e ação clareadora pela inibição da tirosinase e síntese de melanina, diminuindo a pigmentação no local. O conteúdo de pigmento, brilho, elasticidade e suavidade da pele ao redor dos olhos foram detectados pelo testador de pele VISIA. A textura da pele foi analisada com o Derma TOP, sistema rápido de análise de imagem da pele e o VISIOFACE V4. Houve análise de imagens pelo sistema VISIA-CR. O Plus Chinese Version 7.0.1 foi usado para realizar a análise de correlação na área equivalente da imagem facial e a suavidade da pele foi observada pelo microscópio de pele e um sistema ativo de análise de superfície da pele (VisioScan VC98USB, CK, Alemanha). Confirmou-se que os métodos personalizados melhoram os aspectos de interesse. As composições possuem efeito antiaging significativo e

positivo e ação clareadora, podendo ser utilizados no preparo de cremes para os olhos.

A invenção EP3466406A1 tem o intuito de atuar com o anti-envelhecimento da pele, a partir de composições de emulsão óleo em água. A composição indicada para peles de pessoas a partir de 30 anos apresenta extrato de *Spilanthus acmella* em si. Este extrato é utilizado devido a sua atividade antioxidante que atua na amenização de sinais de expressão. Dentre as metodologias *in vitro* testadas tem-se, a avaliação da hidratação da pele por Corneometria. Foi identificado que após 24 horas do uso do cosmético, ao comparar a pele sem aplicação de qualquer produto e a pele com a invenção, o uso da emulsão apresentou um aumento de hidratação avaliado em 62%, sendo que todos os participantes apresentaram melhora na hidratação da pele. Para a eficácia do efeito anti-envelhecimento, foram feitas 7 fotos da região periorbital nos dias 1, 14 e 28. Foi utilizado o Dispositivo de Medição de Pele 3D Ótico PRIMOS Compact 5.075. Este avaliou a presença de rugas e textura de um lado do rosto dos voluntários. As imagens obtidas mostram que o uso da formulação causou uma redução no volume das rugas, em sua profundidade média e na rugosidade máxima apresentada após o uso por 14 dias. Por fim, foi avaliado o efeito sobre a fortificação da barreira da pele ao usar a emulsão. A metodologia avaliou a perda de água transepidérmica a partir da pele após um processo de eliminação parcial do extrato córneo em medições no dia 1, 7, 14 e 28. Para verificação da perda de água transepidérmica, foram utilizados Tewameter® 300 e Multiprobe Adapter MPA-5. Como resultado, concluiu-se que as formulações tinham efeito positivo na fortificação da barreira da pele ao comparar a pele com o uso da composição e sem o uso da mesma. O efeito começou a ser verificado após o teste feito no décimo quarto dia.

A invenção EP3466407A1 discute sobre a modulação da expressão de genes responsáveis por funções gerais da pele. Dentre as plantas que podem ser usadas, algumas das citadas são a *Acmella Oleracea*, *Avena sativa*, *Camellia sinensis* (chá verde), *Casearia sylvestris*, *Cichorium intybus* (Chicória), *Hymenaea courbari*, *Paeonia albiflora*, *passifloraceae*, podendo estas serem usadas sozinhas ou em combinação. A *Acmella Oleracea* tem como ativo principal a isobutilamida espilantol, responsável por uma sensação analgésica. Para o ensaio da expressão gênica, feito por matriz de PCR, foram utilizados 180 genes em explantes de pele de voluntárias após blefaroplastia. Dentre as formulações, foi usada a sinergia entre o extrato de *Camellia sinensis* e o espilantol da *Acmella Oleracea* com porcentagens de 0,025% e 0,125% respectivamente. Essa mistura viabilizou a modulação da expressão da proteína da involucrina aumentando em 78% a sua expressão. Isoladamente, o espilantol representou um aumento de 31,4% da expressão de involucrina, enquanto que o extrato de *Camellia sinensis* demonstrou um aumento de 24,7% de expressão. No caso da modulação gênica do ki-67, com essa mesma mistura, foi promovido um aumento de 240% na expressão da proteína ki-67, sendo que esta é um marcador de proliferação/renovação celular. Em outra composição com 0,25% de espilantol e 5% de ácido hialurônico, a sinergia apresentou uma modulação na expressão da proteína colágeno I, com um aumento de 56%.

A patente US2015305996A1 apresenta composições de bastão labial com componentes orgânicos que atuam como filtro solar. Dentre as composições, têm-se extrato da flor de *Spilanthus acmella*, ácido hialurônico, vitamina E e Coenzima Q10 (ubiquinona) que são ativos atuantes na atividade anti-envelhecimento. O extrato de *Spilanthus acmella*, além do uso citado, também é encontrado com a função de agente condicionador e antioxidante para o bastão labial. A concentração encontrada

na formulação varia entre 1 e 2,95%. Dos ensaios *in vitro* descritos na patente, estão a avaliação de fotoproteção, onde é avaliada a transmitância de uma dose de radiação UV em uma película fina de amostra do produto em um substrato rugoso. Como resultado do teste, foi mostrado que a composição analisada tinha um valor de FPS de 62. Além disso, foi feito um teste de estabilidade.

Como principal ação do extrato de jambu, este foi utilizado como agente antioxidante nas composições, onde também foi possível observar sua influência na hidratação e na síntese de colágeno I. Esta síntese foi inclusive testada para avaliação de eficácia das invenções. Dentre outros testes encontrados estão o de elasticidade, hidratação cutânea e de ação antioxidante com o uso de DPPH. Os depositantes são em sua maior parte da China e apresentam sinergia de extratos, que fornecem multifuncionalidades as invenções. Dos métodos *in vivo*, um dos mais citados foi a comparação entre fotos de antes e após o uso das formulações para avaliar a diminuição das linhas de expressão como forma de método de eficácia para ação anti-envelhecimento.

Hidratante

A patente WO2019198018A1 reúne produtos cosméticos como hidratantes para corpo e rosto, óleo de massagem e sérum. Para as composições encontradas com a presença de *Spilanthus Acmella*, as concentrações usadas deste extrato estiveram entre 0,05% a 4% de peso. O extrato foi usado com a função de intensificador de permeação na pele. Ele atuou na entrega transdérmica de ingredientes naturais. Dentre as matérias primas citadas estão manteiga de cacau, ácido hialurônico e óleo de camomila. Dos produtos abordados, no creme de combate ao ressecamento de mama, é sugerida a possibilidade da substituição do ácido hialurônico pelo óleo de *Cannabis* associado ao canabinoide para ser usado como óleo de massagem para a região mamária. No estudo clínico relatado pela patente, é encontrada a avaliação da capacidade de permeação transdérmica de melatonina presente na composição de um creme facial que ajuda a dormir. Foi feita a verificação do conteúdo de melatonina presente na corrente sanguínea em diferentes momentos após o uso de formulações com diversidade de concentrações para entender como seria a resposta da permeação transdérmica ao usa-la. Como resultado, foi visto que a invenção promove a distribuição transdérmica da melatonina contida nas formulações estudadas.

A invenção CN110279649A descreve uma formulação de leite hidratante. Sua composição se assemelha a uma patente citada na seção de *antiaging*. Uma das diferenças principais são alguns dos extratos usados. Sua composição consiste em extrato de *Fucus fuliginea* (*Fucus vesiculosus*), óleo de abacate, glicerina, betaína e outros para o efeito de hidratação. Mais alguns dos extratos presentes na formulação são o da flor de *Spilanthus acmella*, combinado com células do extrato da *Malus domestica* e *Oryza sativa*, que amenizam o envelhecimento da pele, clareando-a e fornecendo firmeza e elasticidade. A concentração de extrato de *S. acmella* está em torno de 0,9 a 2 % da composição em massa. Na metodologia relatada na patente, os testes feitos foram o de efeito hidratante, de elasticidade, clareamento da pele e alergênico. No teste de hidratação, quando a formulação foi testada nos voluntários, aquelas que não havia a presença dos extratos demonstraram alteração na hidratação da pele. Para o caso da metodologia de elasticidade, foi usado o Skin elasticity tester MPA580, para avaliar o resultado. A sinergia de células do extrato da maçã, do extrato de arroz e da flor de *Spilanthus acmella*, possuíram uma resposta

de restauração da elasticidade e firmeza da pele analisada, com valores de crescimento de mais de 10% para o obtido após quatro semanas de uso. Para o teste alérgico da composição, foi avaliada a superfície da mão dos voluntários após 30 minutos da aplicação da invenção na pele. Foi verificado se houveram processos alérgicos como vermelhidão, erupção e/ou bolhas. Nos resultados, um componente essencial para evitar a presença de alergias à pele foi o glicirrizinato dipotássico, pois as formulações que não o possuíam causaram leves irritações.

A invenção EP2992934A1 apresenta composição de hidratação sensorial prolongada com a possibilidade de ser utilizada em vários tipos de produtos e seu processo de preparação. Na composição desta emulsão hidratante anti-manchas intensiva foi adicionada proteína de arroz preferencialmente hidrolisada, isoflavonas de soja, extrato de jambu, glicerina vegetal (a uma concentração elevada) e os princípios ativos, goma biosaccharide 2 e 3 e tocoferol encapsulado (vitamina E). Os produtos foram avaliados na região do antebraço, onde foi aplicado 25 µl da emulsão e espalhado em rotação. Os testes de avaliação pelo consumidor após uso prolongado do produto foram realizados em 180 voluntárias com manchas de envelhecimento facial confirmadas por avaliação clínica. Os resultados do teste foram positivos, confirmando que o produto possui características desejáveis por conferir à pele um sensorial extremamente agradável, contribuindo para o aumento da maciez. Após 15 dias de uso, a aceitação por parte dos voluntários foi muito alta, além do dermatologista responsável que constatou o aumento da maciez, hidratação, melhora do aspecto geral da pele e redução do ressecamento e envelhecimento desta.

As ações das criações mencionadas são semelhantes as patentes identificadas com funções antiaging e clareadora, mas dentre elas, a hidratação sempre está presente. É importante destacar que a patente WO2019198018A1 possui uma funcionalidade de permeação transdérmica relacionada ao extrato de Jambu. Tal aspecto configura um diferencial diante do uso atual das formulações cosméticas, principalmente aquelas com ação anti-envelhecimento.

Anti-oleosidade

A área dos olhos é um dos focos principais dos produtos que utilizam o extrato de *S. acmella* como ingrediente. Contudo, a maioria das formulações são voltadas para a amenização das características relacionadas ao envelhecimento. Diferentemente das propostas mais comuns, a invenção CN108478484A depositada em 2018 possui uma composição utilizando o extrato de jambu (*S. acmella*) e o extrato da castanha da Índia (*Aesculus hippocastanum*) que possuem efeitos de prevenção ou eliminação de grânulos de gordura na região dos olhos, além de nutrir a pele dos olhos e semelhantes. A sinergia entre os extratos proporciona uma redução na secreção de óleo pela pele, controlando-a e absorvendo a oleosidade da pele. Também pode aumentar a velocidade transdérmica da composição, potencializando o efeito da composição na eliminação de partículas de gordura ocular, proporcionando suavidade e aliviando os sintomas de tensão e fadiga da área dos olhos, como já mencionados pelas patentes com aplicação *antiaging*. Tais efeitos foram investigados mediante uma análise comparativa feita a partir dos resultados da autoavaliação do testador, constatando que o creme produzido com os ingredientes dispostos no documento proporciona melhores efeitos na eliminação de partículas de gordura do olho, aliviando as olheiras e bolsas dos olhos e reduzindo linhas finas na região. O produto não foi considerado irritante e o efeito sinérgico dos extratos foi confirmado por esses resultados.

Clareador

Em 2019, houve o depósito da patente CN106038417B que tem em vista o fornecimento de um método para preparar um extrato de jambu seguro, confiável, simples e eficaz para aplicação em produtos de cuidado de pele com potencial para reduzir a melanina da pele, ocasionando o seu clareamento. Embora a invenção afirme que não há evidência na literatura sobre a ação do extrato de jambu e sua aplicação em produtos para pele, realizou-se um teste de inibição da tirosinase (enzima envolvida na produção da melanina). Por meio desse teste, constatou-se que o extrato tem a capacidade de inibir a atividade da tirosinase *in vitro* de forma eficaz, sendo apontada como superior ao agente de branqueamento de arbutina. Também foi realizado o teste de avaliação da inibição da atividade da tirosinase em células B16 e o resultado foi o mesmo. Por fim, realizou-se um teste de clareamento corporal que expressa a cor da pele com o conteúdo de melanina o pigmento vermelho da pele, levando em consideração que quanto menor o teor de melanina e pigmento vermelho, mais clara é a cor da pele. Com este teste, confirmou-se o efeito clareador do extrato incorporado a um creme sem um outro agente clareador na formulação.

Compilado de formulações

A patente US2016074460A1 explana sobre composições com a presença de extratos de *Bacopa monnieri*, *Centella asiatica*, *Jatropha*, plantas de *Aegle marmelos*, *Terminalia*, *Phyllanthus* e *Spilanthes acmella*. As formulações onde os extratos são usados são para bronzeamento artificial, proteção solar, com efeito anti-envelhecimento, anti-rugas, hidratante, anti-inflamatório, antimicrobiano, antifúngico, calmante para a pele, suavizante e para tratamento da pele e cabelo, estabilizador cosmecêutico, antioxidante e com função de limpeza e desodorante oral. Para o uso dos extratos citados, eles podem ser apresentados em misturas ou isoladamente, com concentrações entre 0,001% e 1% ou 1% a 5% nessas composições. Os ensaios expostos nas patentes mostram o efeito antioxidante gerado pelos extratos. Como primeira possibilidade, foi utilizada a ressonância de spin eletrônico (ESR), com o intuito de averiguar a capacidade de diminuição da presença de radicais livres em meio ao extrato. Neste caso, o radical livre tetrametilpiperidina-1-oxil foi utilizado e resultou em uma queda dos picos de radicais livres presentes no espectro apresentado pelo ESR. No segundo caso, foi usado o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) como radical livre para verificar o efeito antioxidante dos extratos.

CONCLUSÃO

O extrato de *Spilanthes acmella* foi encontrado em formulações com ação anti-envelhecimento, clareadora, anti-oleosidade, hidratante, assim como para fins de higiene bucal, em dentifrícios. Seu emprego em cosméticos é geralmente encontrado em sinergia de extratos como o de arroz, *Dioscorea villosa*, semente de uva (*Vitis vinifera*), dentre outros que influenciaram em uma melhor eficácia do produto. Dentre os principais países com depósitos estão a China, com maior número de patentes, os Estados Unidos e o Brasil. Das aplicações do extrato, composições com atividade *antiaging* foram as mais encontradas, com 57,7% do total de patentes discutidas e com 42,3% delas concedidas em 2019.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que em 2019 a expectativa de vida era 76,6 anos em média. Tal fato representa um aumento de três meses comparado a 2018 (76,3 anos). A expectativa de vida dos homens passou de 72,8 para 73,1 anos e das mulheres de 79,9 para 80,1 anos (BRASIL, 2020). Nesse contexto, a busca por cosméticos com ação antioxidante e *antiaging* tem aumentado e cada vez mais, a rotina do “*skin care*” tem se popularizado atraindo mais consumidores de produtos cosméticos com ações voltadas para o rejuvenescimento da pele. As invenções que utilizam *S. acmella* selecionadas nessa revisão mostraram que o seu uso segue esse ideal, mostrando o interesse dos consumidores e, conseqüentemente, dos pesquisadores para o desenvolvimento de novos cosméticos, para o futuro, pela ação do extrato sobre as características de envelhecimento da pele. Outro ponto que pode agregar ao seu potencial futuro é o crescimento expressivo da compra de produtos com menor teor de componentes sintéticos, levando a reformulação das composições atuais e o estudo de vias alternativas para a substituição de matérias primas sintéticas por ativos naturais, como o uso de extratos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à agência de fomento à pesquisa CAPES pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

ABIHPEC, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. **A Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos Essencial para o Brasil**. 2021. Disponível em:

[https://abihpec.org.br/site2019/wp-content/uploads/2021/05/Panorama do Setor Atualizado Abril-Rev3.pdf](https://abihpec.org.br/site2019/wp-content/uploads/2021/05/Panorama_do_Setor_Atualizado_Abril-Rev3.pdf). Acesso em 31 mai. 2021

ABIHPEC, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. **Caderno de tendências**. Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. 2020. Disponível em:

<<https://abihpec.org.br/publicacao/caderno-de-tendencias-2019-2020/>> Acesso em 15 jun. 2021

AGISIM, G. R.; DICKERSON, J. R.; KENNY, R. J.; PATEL, B. S. **Sunscreen Compositions**. Depositante: Wyeth Llc. US2015305996A1. Depósito: 19 fev. 2015. Concessão: 29 out. 2015.

BAIONE, S. DE M.; CAPELAS, C. R.; CAROLLO, P. M.; DE OLIVEIRA, A. E. R.; EMIDIO, A. S.; PAES, F.; PANZARIN, J. S.; SANTOS, A. R. DE O.; TADINI, K. D.; ZIMBARDI, D. **Anti-wrinkle Cosmetic Composition, Composition System And Method For Cosmetic Skin Treatment**. Depositante: Natura Cosmetics Sa. EP3466406A1. Depósito: 24 maio 2017. Concessão: 10 abr. 2019.

BAIONE, S. DE M.; CAPELAS, C. R.; CAROLLO, P. M.; DE OLIVEIRA, A. E. R.; EMIDIO, A. S.; PAES, F.; PANZARIN, J. S.; SANTOS, A. R. DE O.; TADINI, K. D.; ZIMBARDI, D. **Composition For Modulating The Genes Responsible For General Skin Functions, Method For Modulating The Expression Of Genes Responsible For General Skin Functions, And Use Of A Plant Extract.** Depositante: Natura Cosméticos Sa. EP3466407A1. Depósito: 24 maio 2017. Concessão: 10 abr. 2019.

BRASIL, MINISTÉRIO DA ECONOMIA. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Tábua completa de mortalidade para o Brasil – 2019.** Rio de Janeiro, 28. 2020. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3097/tcmb_2019.pdf. Acesso em 31 mai. 2021.

BROWN, G. D.; MCHALE, A. W. **Topical Ubiquinol Oral Supplement Compositions With Amorphous Calcium Phosphate.** Depositante: Premier Dental Products Co. EP2906179B1. Depósito: 11 out. 2013. Concessão: 15 maio 2019.

CAROLLO, P. M.; DE OLIVEIRA, A. R. E.; PAES, F.; SANTOS, A. R. DE O.; TADINI, K. D.; ZIMBARDI, D. **Cosmetic Anti-blemish Composition, Use Of The Composition, Anti-blemish Treatment Method And Application Device.** Depositante: Natura Cosméticos S.A. WO2018032074A1. Depósito: 17 ago. 2016. Concessão: 22 fev. 2018.

CORST, H. A. L. J.; DECLERCQ, L.; POLLEFLIET, C. F.; SENTÉ, I.; VAN, S. A.; YU, M. **Method Of Counteracting The Impact Of Chronic Stress On Skin.** Depositante: Elc Man Llc. US2017172909A1. Depósito: 22 dez. 2015. Concessão: 22 jun. 2017.

DE ALBUQUERQUE, J. W.; ROBERTO, A.; SIQUEIRA, J. A. T.; E SILVA, L. V. N. **A Cosmetic Composition And A Process For Preparing Said Composition.** Depositante: Natura Cosméticos S A. EP2992934A1. Depósito: 8 set. 2006. Concessão: 9 mar. 2016.

DEO NAMITA. **Plant Extractions, Compositions Containing Same, And Uses Thereof.** Depositante: Deo Namita. US2016074460A1. Depósito: 25 nov. 2015. Concessão: 17 mar. 2016.

ELUFIOYE, T.O.; HABTEMARIAM, S.; ADEJARE, A. **Chemistry and Pharmacology of Alkylamides from Natural Origin.** Rev. Bras. Farmacogn. 30, 622–640. 2020. <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00095-5>

FAVORETO, R.; GILBERT, B. **Acmella oleracea (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu.** Revista Fitos. Vol.5 Nº01, 83-91. 2010. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/15932/2/21.pdf>. Acesso em: 19 mai. 2021.

FENG, Z.; ZHUANG, P. **Apple stem cell body moisturizing lotion and preparation method thereof.** Depositante: Hangzhou Qiandaohu Blueangel Ind Co Ltd. CN110279649A Depósito: 05 ago. 2019. Concessão: 27 set. 2019.

FENG, Z.; ZHUANG, P. **Tightening face-freshening essence lotion and preparation method thereof.** Depositante: Hangzhou Qiandaohu Blueangel Ind Co Ltd. CN110302117A. Depósito: 12 ago. 2019. Concessão: 8 out. 2019.

FENG, Z.; ZHUANG, P. **Anti-aging essence cream of dioscorea villosa and preparation method thereof.** Depositante: Hangzhou Qiandaohu Blueangel Ind Co Ltd. CN110448506A. Depósito: 03 set. 2019. Concessão: 15 nov. 2019.

HASSAN, M.; TRIVEDI, M. H.; WANG, W. **Oral Care Compositions.** Depositante: Colgate Palmolive Co. EP3111924B1. Depósito: 14 maio 2012. Concessão: 10 jul. 2019.

HUANG, G.; LAO, J.; LI, J.; LIU, W.; KAILING, L.; QIN, Q.; YAOZHENG, T.; TANG, H.; WEI, B.; YANG, W. **Application of compound traditional Chinese medicine extract in preparing oral care healthcare products.** Depositante: Liuzhou Lmz Co Ltd. CN106420512A. Depósito: 15 dez. 2016. Concessão: 22 fev. 2017.

HU, J.; LI, J.; LIANG, H. **Anti-ageing anti-wrinkling tightening essential oil.** Depositante: Shanghai Yuemu Cosmetic Co Ltd. CN109568209A. Depósito: 8 jan. 2019. Concessão: 5 abr. 2019.

HU, X. **Anti-oxidizing mask.** Depositante: Foshan Qianru Cosmetics Co Ltd. CN106821849A. Depósito: 11 fev. 2017. Concessão: 13 jun. 2017.

HUANG, G.; LAO, J.; JIANGPING, L.; LIU, W.; QINGYUN, Q.; TAN, Y.; TANG, H.; WEI, B.; YANG, W. **Application of traditional Chinese medicine extract of Spilanthes acmella in preparing of oral care health care product.** Depositante: Liuzhou Lmz Co Ltd. CN106580780A. Depósito: 15 dez. 2016. Concessão: 26 abr. 2017.

KAWANOBE, Y.; MIYAGOSHI, M.; TAKAHASHI, Y. **Oral Composition.** Depositante: Lion Corp. CN111315352A. Depósito: 27 nov. 2018. Concessão: 19 jun. 2020.

LANG, X.; LIU, W.; MA, X.; SUN, L.; WU, Y. **Skin vitality-promoting polypeptide-squalane fresh massage eye cream.** Depositante: Guangzhou Copysnow Bio-tech Co Ltd. CN111150686A. Depósito: 15 out. 2019. Concessão: 15 maio 2020.

LEE, T. **Skin care essence and preparation process thereof.** CN107982121A. Depositante: Hangzhou Schley Biotechnology Co Ltd. 5 dez. 2017. Concessão: 4 maio 2018.

LIU, Y.; YU, W.; ZHOU, D. **Face-firming Composite, Quick Lifting And Firming Mask Cream And Preparation Method.** Depositante: Bairui Biotechnology (Shanghai) Co Ltd. CN105362148B. Depósito: 3 dez. 2015. Concessão: 2 mar. 2016.

LIU, L.; NIE, Y.; PEI, Y.; SUN, H.; SUN, Y.; WANG, J. **Customization of eye skin care products and eye care methods.** Depositante: Guangdong Marubi Biological Tech Co Ltd. CN109223602A. Depósito: 22 nov. 2018. Concessão: 18 jan. 2019.

PAULRAJ, J.; GOVINDARAJAN, R.; PALPU, P. **The genus Spilanthes ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological properties: a review.** *Advances in pharmacological sciences*, 510298. 2013. doi:10.1155/2013/510298

RAHIM, R. A.; JAYUSMAN, P. A.; MUHAMMAD, N.; MOHAMED, N.; LIM, V.; AHMAD, N. H.; MOHAMAD, S.; HAMID, Z. A. A.; AHMAD, F.; MOKHTAR, N.; SHUID, A. N.; MOHAMED, I. N. **Potential Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Spilanthes acmella and Its Health Beneficial Effects: A Review.** *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 18, 3532. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073532>

RONDANELLI, M.; FOSSARI, F.; VECCHIO, V.; BRASCHI, V.; RIVA, A.; ALLEGRINI, P.; PERNA, S. ***Acmella oleracea* for pain management**. Fitoterapia, 104419. 2019. doi: 10.1016/j.fitote.2019.104419

SMITH, G. F.; SUN, C. C. **Natural Skin Penetrating Moisturizer Formulations**. Depositante: Damiva Inc. WO2019198018A1. Depósito: 10 abr. 2020. Concessão: 17 out. 2020.

ZHANG, B. **Compact wrinkle-removing eye shadow and preparation method thereof**. Depositante: Shanghai Fuyou Cosmetic Co Ltd. CN107468582A. Depósito: 12 set. 2017. Concessão: 15 dez. 2017.

不公告发明人. **Antioxidant mask containing fructus shisandrae extract**.

Depositante: Foshan Wensente Intellectual Property Service Co Ltd. CN106691945A. Depósito: 11 fev. 2017. Concessão: 24 maio 2017.

不公告发明人. **Eye-caring composition and application thereof**. Depositante: Foshan Yunshang Cosmetics Co Ltd. CN108478484A. Depósito: 29 abr. 2018. Concessão: 4 set. 2018.

余汉谋; 姜兴涛. **Spilanthes extract, preparation method thereof and application of spilanthes in skin care product**. Depositante: 深圳波顿香料有限公司. CN106038417B. Depósito: 19 jul. 2016. Concessão: 29 jan. 2019.

7. CONCLUSÕES

Como foi visto na prospecção de patentes, a planta *S. acmella* está presente em formulações, sendo principalmente utilizada para o combate do envelhecimento, área que tem crescido com o aumento da longevidade da população. O que não estava descrito nas patentes foi o uso do extrato de *S. acmella* com ação fotoprotetora. Com a possibilidade de expansão do mercado cosmético e o de cosméticos naturais, isso fomenta a pesquisa sobre novas aplicações de extratos naturais em formulações cosméticas, assim como a aplicação com a ação fotoprotetora, o que reafirma a necessidade da continuidade da pesquisa nesta área.

Em relação aos resultados da formulação cosmética, um dos pontos observados e que precisa de mais estudos é a estabilidade do extrato na formulação, assim como a sua influência no FPS encontrado. Ao passar de 12 meses, a formulação apresentou problemas em sua estabilidade e é preciso uma maior avaliação para minimizar as degradações encontradas. O uso de preservantes pode ser uma saída para melhorar alguns dos resultados encontrados na estabilidade e FPS, o que possivelmente aprimorará a durabilidade do cosmético. Quanto aos resultados apresentados no FPS, as formulações em diferentes concentrações de extrato mostraram resultados promissores quando em sinergia com o filtro solar sintético, mas quando estava sem o filtro sintético, os valores encontrados foram baixos, não sendo possível usá-lo nas concentrações das amostras A4 a A6. Para a determinação do teor de fenólicos e flavonoides da parte aérea da *S. acmella*, dados similares foram encontrados na literatura, mostrando a existência de fenólicos e flavonoides no extrato usado. O teste de irritabilidade forneceu resultados favoráveis ao uso do extrato etanólico em certas concentrações, necessitando atenção para valores de formulações com porcentagem de extrato maiores que 1%. Com isso, é viável o uso do extrato de *Spilanthes acmella* como um ativo cosmético, mas é necessário avaliar a sua estabilidade para encontrar formas de torná-lo mais duradouro.

REFERÊNCIAS

ABEYSIRI, G.R.P.I.; DHARMADASA, R.M.; ABEYSINGHE, D.C.; SAMARASINGHE, K. **Screening of phytochemical, physico-chemical and bioactivity of different parts of *Acmella oleraceae* Murr. (Asteraceae), a natural remedy for toothache.** *Industrial Crops And Products*, v. 50, p. 852-856, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.043>.

AMBERG, N.; FOGARASSY, C. Green Consumer Behavior in the Cosmetics Market. **Resources**, v. 8, n. 3, p. 137, 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/resources8030137>.

Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC). **Vendas de HPPC crescem 4,7% em 2020 e totalizam R\$ 122,4 bilhões.** 2021. Disponível em: <https://abihpec.org.br/vendas-de-hppc-crescem-47-em-2020-e-totalizam-r-1224-bilhoes/>. Acesso em: 11 jul. 2021.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G.. **Aulton delinearmento de formas farmacêuticas.** 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

AYOOLA, G. A.; COKER, H. A. B.; ADESEGUN, S. A.; ADEPOJU-BELLO A. A.; OBAWEYA, K.; EZENNIA, E.C.; ATANGBAYILA, T.O. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**, Nigeria, v. 3, n. 7, p. 1019-1024, set. 2008.

BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-742, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000400016>.

BASF. 2022. Disponível em: https://sunscreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/ .(Acesso em: 13 de agosto de 2022).

BRAND FINANCE. **Brand finance cosmetics 50 2021.** 2021. Disponível em: <https://brandirectory.com/rankings/cosmetics>. Acesso em: 11 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos.** 1. ed. Brasília, Brasil 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Formulário Nacional Farmacopeia Brasileira**, Brasília, Brasil, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (org.). **2941 - USO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE PESQUISA NO BRASIL.** 2019. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p_p_id=baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhec

imentoportlet_assuntold=21&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentopo
rtlet_conteudold=2515&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_
view=detalhamentos . Acesso em: 15 maio 2020.

BORGES, L. S. **Potencial antioxidante, óleo essencial e atividade antifúngica de plantas de jambu (*spilanthes oleracea*), cultivadas sob adubação orgânica e convencional e processamento mínimo de nectarina (*prunus persica* var. nectarina): conservação de suas qualidades e propriedades bioativas.** 2012. 205 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

BOSCH R.; PHILIPS N.; SUÁREZ-PÉREZ J.A.; JUARRANZ A.; DEVMURARI A.; CHALENSOUK-KHAOSAAT J, et al. **Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals.** *Antioxidants*. 2015;4(2):248–268. doi:10.3390/antiox4020248

CARLSON, B. M. **Development of the Integumentary System.** Reference Module In Biomedical Sciences, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.05436-2>.

CASTRO, I. A. de; SCHÜTZ, L. C.; CAPP, E.; BAKOS, L. Ceratoses actínicas. **Rev. Hcpa**, v. 2, n. 26, p. 66-72, 2006.

DEMARNE F.; PASSARO G . **Use of an *acmella oleracea* extract for the botox-like effect thereof in an ant-wrinkle cosmetic composition.** Depositante: Gattefosse Sas. US20080069912A1. Depósito: 4 jan. 2005. Concessão: 20 mar. 2008. Disponível em:
<https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/034708032/publication/US2008069912A1?q=US%202008%2F0069912>. Acesso em: 20 jul. 2021

DISTRITO FEDERAL. Botrel, N. Embrapa Hortaliças (org.). **HORTALIÇAS não convencionais. Hortaliças tradicionais:** jambu. 2017. Disponível em:
<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=1071180&biblioteca=va zio&busca=1071180&qFacets=1071180&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>. Acesso em: 24 jul. 2020.

DI FILIPPO, F. **Process for preparing a cosmetic composition having an immediate lifting effect.** Depositante: Direct Marketing Company S P A Brevemente Dmc S P A. EP2404642A2. Depósito: 30 jun. 2011. Concessão: 11 jan. 2012. Disponível em:
<https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/043739894/publication/EP2404642A2?q=EP2404642A2>. Acesso em: 16 jun. 2021.

DSM SUNSCREEN OPTIMIZER. 2022. Disponível em:<https://www.sunscreen-optimizer.com/index.html> .(Acesso em: 13 de agosto de 2022).

DUBEY, S. et al.; *Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of Spilanthes acmella: a review.* **Advances In Pharmacological Sciences**, [s.l.], v. 2013, p. 1-9, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/423750>.

ELUFIOYE, T.O.; HABTEMARIAM, S.; ADEJARE, A. **Chemistry and Pharmacology of Alkylamides from Natural Origin**. Rev. Bras. Farmacogn. 30, 622–640. 2020. <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00095-5>

EUA. Food And Drug Administration. (org.). **Sunscreen: How to Help Protect Your Skin from the Sun**: Get consumer information about sunscreen and sun protection. 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/understanding-over-counter-medicines/sunscreen-how-help-protect-your-skin-sun#spf>. Acesso em: 15 maio 2020.

FAVORETO; GILBERT, B. *Acmea oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu. **Fitos**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 1, p. 83-91, mar. 2010.

FEDOUNG, E. F.; ZRA, T.; BIYEGUE, C. N.; BISSOUE, A. N.; BARAYE, S.; TSABANG, N. Herbal Cosmetics Knowledge of Arab-Choa and Kotoko Ethnic Groups in the Semi-Arid Areas of Far North Cameroon: ethnobotanical assessment and phytochemical review. **Cosmetics**, v. 5, n. 2, p. 31, 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics5020031>.

FERRARI, M. et al. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 4, p.626-630. 2007

FORNASIER, M. de O.; TONDO, A. L. Experimentação animal na indústria de cosméticos e teoria do direito: uma análise sistêmica dos “direitos humanos dos animais”. **Revista Brasileira de Direito Animal**, Salvador, v. 12, n. 2, p. 43-82, 24 jul. 2017. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/rbda.v12i02.22943>.

GILLBRO, J. M.; OLSSON, M. J.. **The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents - existing and new approaches**. International Journal Of Cosmetic Science, v. 33, n. 3, p. 210-221, 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-2494.2010.00616.x>.

GRUBER, F.; KREMSLEHNER, C.; ECKHART, L.; TSCHACHLER, E. Cell aging and cellular senescence in skin aging — Recent advances in fibroblast and keratinocyte biology. **Experimental Gerontology**, v. 130, p. 110780, 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2019.110780>.

GUPTA, V.; SHARMA, V. K. Skin typing: fitzpatrick grading and others. **Clinics In Dermatology**, v. 37, n. 5, p. 430-436, set. 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.07.010>.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **PIB a preços de mercado – Taxa acumulada em 4 semestres (%)**, 1º semestre 1996 – 1 trimestre 2021. IBGE, 2021. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/contas-nacionais/9300-contas-nacionais-trimestrais.html?=&t=series-historicas&utm_source=landing&utm_medium=explica&utm_campaign=pib#evolucao-taxa. Acesso em: 11 Jul. 2021.

ICCVAM. Current Validation Status of In Vitro Test Methods Proposed for Identifying Eye Injury Hazard³ Potential of Chemicals and Products. NIH Publication 10-7553. Research Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health Sciences, 2010.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. **Câncer de pele melanoma**: versão para profissionais de saúde. 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-melanoma/profissional-de-saude>. Acesso em: 12 jul. 2021.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. **Câncer de pele não melanoma**. 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-nao-melanoma>. Acesso em: 12 jul. 2021.

KIM, K. H. et al. Suppression of lung inflammation by the methanol extract of *Spilanthes acmella* Murray is related to differential regulation of NF- κ B and Nrf2. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 217, p. 89-97, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.011>.

KISHISHITA, J. Desenvolvimento e avaliação biofarmacotécnica/farmacodinâmica de formulações tópicas contendo betametasona. p. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

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

MASOKO, P. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Spilanthes mauritiana* Used Traditionally in Limpopo Province, South Africa. **Journal Of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 936-943, out. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/2515690x17746774>.

MOTA, M. D. et al. Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 201, n. August, p. 111639, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111639>

NISHIKAWA, D. de O. Desenvolvimento, avaliação da eficácia e estabilidade de formulações fotoprotetoras bioativas. **Tese de Dissertação**. São Paulo, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS): Cancer Today, Melanoma of skin and Non Melanoma skin cancer (2020). Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>. (Acesso em: 12 de julho de 2021).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS): Cancer Tomorrow, Número estimado de incidentes de 2020 e 2040 de câncer não-melanoma e melanoma para sexo masculino e feminino e de todas as idades (2020). Disponível em: https://gco.iarc.fr/tomorrow/graphic-bar?type=0&type_sex=0&mode=population&sex=0&populations=900&cancers=17&a

ge_group=value&apc_male=0&apc_female=0&single_unit=500000&print=0. (Acesso em: 20 de julho de 2021).

PAULRAJ, J.; GOVINDARAJAN, R.; PALPU, P. **The genus *Spilanthes* ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological properties: a review.** *Advances in pharmacological sciences*. 2013. doi:10.1155/2013/510298

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. *Introdução à espectroscopia*. 4ª ed. Cengage Learning. 2010.

PINHO, J. de J. R. G. de et al. Determinação do fator de proteção solar (in vitro) de produtos magistrais na forma de gel. avaliação dos aspectos sensoriais e físico químicos. **HU Revista**, Juiz de Fora, 2014. v. 40, n. 1 e 2, p. 79-86, 2014.

RABÊLO, S. V. et al. Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de atemoia (*annona cherimola* mill. x *a. squamosa* l.). Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v36nspe1/v36nspe1a31.pdf>. Acesso em 20 jul. 2020

RAHIM, R. A.; JAYUSMAN, P. A.; MUHAMMAD, N.; MOHAMED, N.; LIM, V.; AHMAD, N. H.; MOHAMAD, S.; HAMID, Z. A. A.; AHMAD, F.; MOKHTAR, N.; SHUID, A. N.; MOHAMED, I. N. **Potential Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Spilanthes acmella* and Its Health Beneficial Effects: A Review.** *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073532>

RAJESH, Y.; MURLI, K. D.; NITA, Y.; RUDRAPRABHU, S. **Immunomodulatory potential of ethanol extract of *Spilanthus acmella* leaves.** *Int J Biol Med Res.*, v. 3, n. 2, p. 631-635, 2011.

RIBEIRO, R. P. **Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais.** 104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

ROGHINI, R.; VIJAYALAKSHMI, K. Phytochemical screening, quantitative analysis of flavonoids and minerals in ethanolic extract of *Citrus paradisi*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. v.9, n.11, p.4859-4864, Nov. 2018. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(11\).4859-64](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(11).4859-64).

ROMÃO, N. F. et al. Análise fitoquímica e potencial antioxidante do extrato das flores de *Spilanthes acmella*. **South American Journal Of Basic Education, Technical And Technological**, Paraná, v. 2, n. 2, p.23-32, 2015.

SMITH, G. F.; SUN, C. C. **Natural Skin Penetrating Moisturizer Formulations.** Depositante: Damiva Inc. WO2019198018A1. Depósito: 10 abr. 2020. Concessão: 17 out. 2020. Disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/068163938/publication/WO2019198018A1?q=pn%3D%20WO2019198018A1>. Acesso em: 16 jun. 2021.

SONG, F.-L.; GAN, R.-Y.; ZHANG, Y.; XIAO, Q.; KUANG, L.; LI, H.-B. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medicinal Plants.

International Journal of Molecular Sciences, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 2362–2372, 2010. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/11/6/2362/htm>

SOPYAN, I.; GOZALI, D.; TIASSETIANA, S. Formulation of tomato extracts (*Solanum lycopersicum* L.) as a sunscreen lotion. **Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.** v. 8, n. 3, p. 453–458, 2018. <https://doi.org/10.5455/njppp.2017.7.1039921112017>.

SHAATH, N. A. Ultraviolet filters. **Photochemical & Photobiological Sciences.** [s.l.], v. 9, n.4, p. 464-469, 2010.

SHATAER, M. et al. Histological Comparison of two Special Methods of Staining Melanin in Human Skin. **Int. J. Morphol.** v. 38, n. 6, p. 1535-1538. 2020 <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000601535>.

SHEU, M.; LIN, C.; HUANG, M.; SHEN, C.; HO, H. Correlation of In vivo and In vitro Measurements of Sun Protection Factor. **Journal Of Food And Drug Analysis,** Taiwan, v. 11, n. 2, p. 128-132, jan. 2003.

SILVA, R. V. et al. *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. **Industrial Crops And Products,** [s.l.], v. 83, p. 509-514, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.077>.

SILVA, N. L. A. da; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. da. **Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão.** Scintia Plena. V. 6, n. 2, 2010.

SKLAR, L. R.; ALMUTAWA, F.; LIM, H. W.; HAMZAVI, I. **Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review.** Photochem. Photobiol. Sci., v. 12, n. 1, p. 54-64, 2013. <http://dx.doi.org/10.1039/c2pp25152c>.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIENAM, T.A. Princípios de análise instrumental. Tradução: Ignez Caracelli et al. 5ª ed. Bookman: Porto Alegre, 2002, 1024p.

SOUZA, M. V. D. Fotoproteção e Desenvolvimento de Fotoprotetores. **Unyleya,** Brasília. 46 p. 2019.

SRINATH, J.; LAKSMI, T. Therapeutic Potential of *Spilanthes acmella* – A dental note. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review And Research,** Tamilnadu, v. 25, n. 1, p. 151-153, 28 fev. 2014.

TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia,** v.1, n.1, p. 98 - 106. 2011.

ZAHIN, M.; BOKHARI, N. A.; AHMAD, I.; HUSAIN, F. M.; ALTHUBIANI, A. S.; ALRUWAYS, M. W.; PERVEEN, K.; SHALAWI, M. Antioxidant, antibacterial, and antimutagenic activity of *Piper nigrum* seeds extracts. **Saudi Journal Of Biological Sciences,** p. 1-12, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.030>.

WEBER, M. FORBES. **Brasil é o quarto maior mercado de beleza e cuidados pessoais do mundo**. 2020. Disponível em: <https://forbes.com.br/principal/2020/07/brasil-e-o-quarto-maior-mercado-de-beleza-e-cuidados-pessoais-do-mundo/>. Acesso em: 11 jul. 2021.

YOUNG A.R.; CLAVEAU J.; ROSSI A.B. **Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection**. J Am Acad Dermatol. 2017;76(3). <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2016.09.038>.

ANEXOS

ANEXO A – Artigo de submissão em Revista de Estrato Qualis A

O artigo foi submetido para publicação na revista Ciências Médicas e Biológicas de Qualis A4.

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DO EXTRATO DE *Spilanthus acmella* E DE SUAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

RESUMO

Agentes antioxidantes atuam contra o fotoenvelhecimento e o estresse oxidativo, também causados pela radiação solar. As radiações solares podem acarretar neoplasias e mutações em células, o que pode ser o precursor do câncer de pele. A prevenção, com o uso tópico de protetor solar, pode mitigar tais problemas. Como forma de inovação, apresenta-se o uso dos extratos naturais em formulações cosméticas fotoprotetoras, o que implicará na diminuição da concentração de filtros orgânicos sintéticos. Neste trabalho, o extrato natural de *Spilanthus acmella* é estudado e avaliado seu Fator de Proteção Solar (FPS), teor de fenólicos e flavonoides totais. A partir dos testes realizados, constatou-se que o FPS das formulações estudadas, acrescidas de filtro solar sintético, apresentaram resultados favoráveis, com FPS entre 10 e 12. Os teores de fenólicos e flavonoides totais apresentaram resultados próximos aos descritos na literatura. No geral, os resultados mostraram viabilidade de aplicação como formulação de filtro solar.

Palavras-chave: *Spilanthus acmella*. Cosméticos. Fotoprotetor.

IN VITRO EVALUATION OF THE PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY OF *Spilanthus acmella* EXTRACTS AND FROM IT COSMETIC FORMULATIONS

ABSTRACT

Antioxidant agents act against photoaging and oxidative stress, also caused by solar radiation. Solar radiation can cause neoplasms and mutations in cells, which can be the precursor of skin cancer. Prevention, with the topical use of sunscreen, can mitigate such problems. As a form of innovation, the use of natural extracts in photoprotective cosmetic formulations is

presented, which will imply a decrease in the concentration of synthetic organic filters. In this work, the natural extract of *Spilanthes acmella* is studied and its Sun Protection Factor (SPF), phenolic and total flavonoids content is evaluated. From the tests carried out, it was found that the SPF of the formulations studied, plus synthetic sunscreen, showed favorable results, with SPF between 10 and 12. The levels of phenolics and total flavonoids showed results close to those described in the literature. Overall, the results showed feasibility of application as a sunscreen formulation.

Keywords: *Spilanthes acmella*. Cosmetics. Photoprotector.

INTRODUÇÃO

O cuidado com a proteção cutânea, por meio da utilização de protetor solar, devido aos males que a radiação ultravioleta (UV) pode causar, auxilia na diminuição da quantidade de um dos tipos de câncer que mais acomete a população, o câncer de pele. De acordo com dados obtidos pelo *Cancer Today*¹ (2020) e *Cancer Tomorrow*² (2020), que são advindos da Organização Mundial da Saúde (OMS), 7,9% dos novos casos de câncer mundialmente notificados foram de pele (melanoma e não melanoma). A estimativa é de que até 2040, o número de casos tenha um aumento médio de 56% em ambos os tipos de câncer. Isso ocorre, pois cada vez mais a camada de ozônio, que filtra parte da radiação que chega na superfície terrestre, vem sofrendo danos, o que faz aumentar a intensidade de radiações UV^{3,4}.

Com isso, estudos sobre os tipos de pele e os filtros solares disponíveis no mercado torna-se necessário. A análise dos diversos tons de pele possibilita entender de que forma a radiação solar influencia no bronzeamento ou queimadura causada pelo sol e auxilia no estabelecimento de estratégias para a prevenção e cuidado. De acordo com a classificação de Fitzpatrick de fototipagem de pele, discutida por Gupta e Sharma⁵ (2019), tons de pele mais claros, classificados como I, II e III, que representam peles indo de tons branco a negro claro, tem maior probabilidade à queimadura do que ao bronzeamento, quando estão expostas ao sol. Tal situação não ocorre quando comparados aos tons de pele IV, V e VI, que possuem menor probabilidade de desenvolver queimaduras e maior chances de bronzeamento. A classificação de Fitzpatrick está esquematizada na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação de Fitzpatrick de fototipos de pele.

Fototipo de pele de Fitzpatrick	Tom de pele	Reação da pele
I	Branca	Sempre queima, nunca bronzeia
II	Branca	Normalmente queima, bronzeia com dificuldade
III	Negra clara	queimadura leve, bronzeado médio
IV	Negra moderada	Queima pouco, bronzeia com facilidade
V	Negra escura	Raramente queima, sempre bronzeia
VI	Preta	Não queima, totalmente pigmentada

Fonte: Adaptado de Gupta e Sharma⁵, 2019.

Por bastante tempo os filtros orgânicos foram a única opção de proteção da pele contra radiações ultravioletas, a exemplo do ácido para-aminobenzoico. Um inconveniente dessas formulações, com altas concentrações de filtros sintéticos, é a maior chance de gerar irritação cutânea. Com o passar do tempo, novos filtros foram desenvolvidos, como o salicilato de homomentila, que apresentava menores índices de irritação. Entretanto, a ciência sempre tem espaço para inovações e, com isso, a inserção de agentes antioxidantes advindos de extratos de frutos e plantas se tornaram uma oportunidade a ser explorado^{6,7}. Estes extratos, com ação antioxidante, são compostos por moléculas com anéis aromáticos, como fenólicos, que auxiliam no combate aos radicais livres formados na pele, os quais ocasionam o fotoenvelhecimento⁸.

A inserção de extratos naturais em formulações cosméticas vem para atender a uma demanda da população que, cada vez mais, exige matérias-primas naturais na composição de seus produtos, o que tornou necessária a reformulação dos cosméticos que não conversavam com este tipo de proposta, mais sustentável. Essa mudança influencia, principalmente, na pesquisa de aplicação dos ativos naturais. Extratos naturais cujos componentes que são agentes antioxidantes tornam-se objetos de estudo para auxiliar no cuidado da pele, ajudando a diminuir o efeito do fotoenvelhecimento e na atuação da fotoproteção. O tomate e jambu são exemplos de fruto e planta, respectivamente, que

apresentam ação de combate ao fotoenvelhecimento, pela presença de seus agentes antioxidantes^{7,9,10,11}.

A *Spilanthes acmella*, também conhecida como jambu, planta de clima tropical encontrada principalmente no Norte brasileiro, em especial, no Pará, assim como no Norte da Austrália, África e Índia têm recebido especial atenção. O jambu é uma hortaliça herbácea usada em comidas típicas paraenses, a exemplo do tacacá e pato no tucupí¹². Nos últimos anos, o estudo dessa planta vem se intensificando, o que se deve, especialmente, às suas características anestésica, antifúngica, antibacteriana, afrodisíaca, dentre outras. Neste estudo, destaque especial é dado à sua atividade antioxidante, o que pressupõe a possibilidade de seu uso em formulações cosméticas, como a de fotoprotetores, posto que o jambu apresenta compostos capazes de absorver a radiação UV^{13,14,15}.

O espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-VIS) é um dos equipamentos usados para efetuar detecções de absorvância. Para isso, a presença de uma fonte de luz, como uma lâmpada de deutério e outra de tungstênio, são essenciais para possibilitar as leituras nos comprimentos de onda desejados. É interessante pontuar que o equipamento permite a seleção de um comprimento de onda específico para leitura de uma amostra. O monocromador do espectro é responsável pela separação do feixe de luz no comprimento de onda de interesse, utilizando para isso de uma rede de difração. Esses feixes podem chegar ao detector como na Figura 7, em duplo feixe. O feixe será recebido em um detector que identifica o valor de intensidade da luz transmitida, gerando, então o resultado numérico. As cubetas, local em que são colocadas as amostras para análise, devem ser de material específico, dependendo do comprimento de onda definido para a análise. A diferença de material (plástico, vidro, quartzo) pode interferir no valor obtido de absorvância, influenciando o resultado¹⁶.

O objetivo deste artigo é de abordar a produção de composições cosméticas e estudar o seu Fator de Proteção Solar ao utilizar o extrato etanólico de *Spilanthes acmella* como ativo.

METODOLOGIA

A *Spilanthes acmella* foi obtida na feira de São Joaquim, na cidade de Salvador, Bahia. Para a obtenção do extrato etanólico, procedeu-se a separação da parte aérea da *Spilanthes acmella*. Passou-se as folhas, flores e caule pela secagem em estufa à 40°C, com posterior armazenamento em recipiente fechado embebido com álcool etílico por período de 72 horas em cada ciclo, durante a etapa da maceração. Os ciclos foram repetidos três vezes. Em seguida, a etapa de evaporação rotativa foi realizada, de acordo com a descrição

metodológica, e a separação do solvente e extrato bruto foi obtida. Foi mantida uma pequena quantidade de etanol para facilitar a retirada do extrato do balão ao qual foi utilizado para a etapa da rotaevaporação e transferido para uma placa de petri, onde o etanol que sobrou pudesse evaporar e assim obter o extrato bruto desejado^{13,17}.

A avaliação do teor de fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico na região do visível em um espectrofotômetro, usando 0,5 g do extrato concentrado da planta dissolvido em 10mL de água destilada. Para a reação de coloração foram utilizados 0,5 mL da amostra preparada e adicionado 8mL de água destilada, 0,5 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* a 0,2 mol/L e após 8 minutos, 2 mL da solução de carbonato de sódio (NaCO₃) 7,5% foi adicionado. A absorvância da amostra foi medida em 765 nm. A concentração foi determinada a partir da calibragem de padronização da curva de ácido gálico em uma faixa de 10 a 50 µg/ML¹⁸.

A determinação quantitativa dos flavonoides foi efetuada com 0,5 mL de extrato, pela reação dos ativos com 0,5 mL de tricloreto de alumínio a 2%. Após 60 minutos de reação, no escuro e à temperatura ambiente, foi realizada a avaliação utilizando método espectrofotométrico na região do visível, no comprimento de onda de 420 nm. Para o cálculo do teor de flavonoides no extrato de jambu, foi utilizada curva padrão de quercetina¹⁹.

A formulação cosmética foi desenvolvida com base no Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira²⁰, com adaptações de acordo com a disponibilidade de matérias primas para utilização. Foi utilizada a fórmula de uma emulsão cremosa aniônica, do tipo O/A, composta por duas fases, uma aquosa e outra oleosa. A fase aquosa é composta por água purificada, propilenoglicol, lauril sulfato de sódio, metilparabeno, EDTA, extrato de *S. acmella*. Na fase oleosa são encontrados álcool cetosteárilico, miristrato de isopropila, BHT, propilparabeno, salicilato de homomentila e 2-etil-hexilmetoxicinamato (Tabela 2). Para o desenvolvimento das formulações, a fase oleosa foi aquecida até a temperatura de 70°C e a fase aquosa até a temperatura de 75°C. Em seguida, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa, sob agitação. A agitação continuou até o arrefecimento da base para a temperatura de 40 °C. Os componentes da etapa 3 foram adicionados. Dentre as formulações apresentadas na Tabela 2, a C1, que se refere ao controle 1, possuiu apenas a presença das fases aquosa e oleosa. A formulação C2 foi produzida com as fases aquosa e oleosa, além da etapa 3 constituída apenas por salicilato de homomentila, que serviu de parâmetro para o cálculo do fator de correção da próxima etapa. O terceiro controle, C3, foi formado pelas fases aquosa e oleosa e pela terceira etapa, a qual conteve o 2-etil-hexilmetoxicinamato. As siglas A1 a A6 representam as formulações com a presença das duas fases e os compostos da terceira etapa, onde foi adicionado 2-Etil-hexilmetoxicinamato e porcentagens variantes de extrato de

S. acmella, sendo que as amostras A1, A2, A3, usaram concentrações de 0,25%, 0,5% e 1%, com a presença de 2-Etil-hexilmetoxicinamato e as amostras A4, A5 e A6 usaram concentrações de 0,25%, 0,5% e 1% de extrato.

Tabela 2 – Formulação da base cosmética

Componentes	Amostras (%)								
	C1	C2	C3	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Fase Aquosa									
Propilenoglicol	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Lauril sulfato de sódio pó	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Metilparabeno	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Água purificada	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100	Qsp.100
Fase Oleosa									
Álcool cetosteárico	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Miristrato de isopropila	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Propilparabeno	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Etapa 3									
Extrato de S. acmella	-	-	-	0,25	0,5	1	0,25	0,5	1
Salicilato de homomentila	-	8	-	-	-	-	-	-	-

2-Etil- hexilmetoxicinamato	-	-	5	5	5	5	-	-	-
--------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Legenda: C1: Controle 1, C2: Controle 2, C3: Controle 3, A1: Amostra 1, A2: Amostra2, A3: Amostra 3, A4:Amostra4, A5:Amostra5, A6:Amostra6, Qsp: Quantidade suficiente para

Fonte: Brasil²⁰, 2011

Para avaliar o fator de proteção solar, foi utilizado o método *in vitro* por espectrofotometria na região do UV-VIS, desenvolvido por Mansur²¹ (1986). A concentração de 0,2 mg/mL de *S. acmella*, padronizada para o cálculo do FPS, foi analisada em triplicata^{21,22}.

Utilizando os solventes extratores de cada extrato obtido como líquido de referência, foram feitas análises no espectrofotômetro, com varreduras entre 290 e 320 nm, em intervalos de 5 nm. O valor de FPS médio foi calculado pela Equação 1, utilizando a Tabela 3 para descrever a relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda.

$$FPS_{(290-320)} = FC \sum EE(\lambda) I(\lambda) Abs(\lambda)$$

Equação 1

Em que,

FC = fator de correção;

EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ;

I (λ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda λ;

Abs (λ) = leitura espectrofotométrica da absorvância da solução da preparação no comprimento de onda (λ).

Tabela 3 - Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda.

λ (nm)	EE (λ) x I (λ)
----------------	----------------

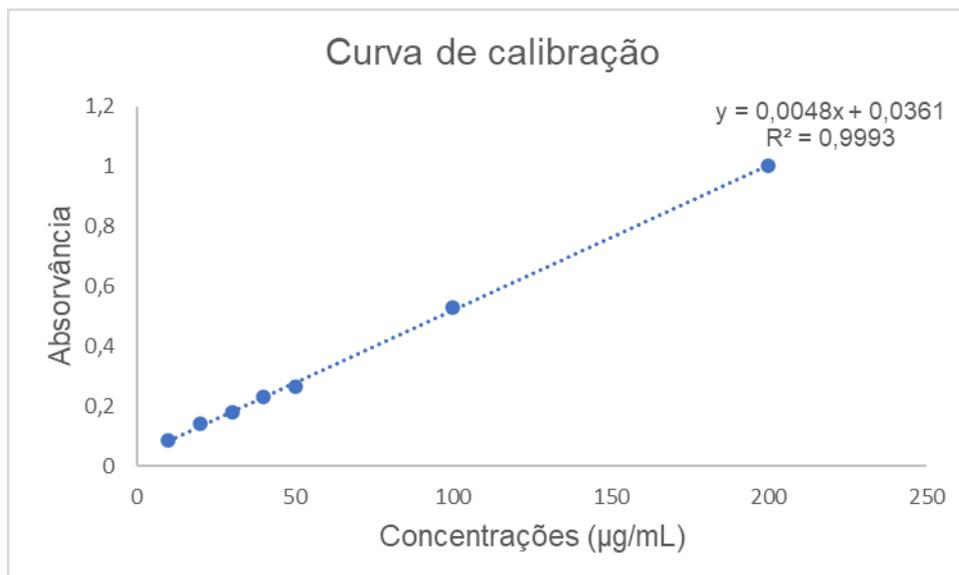
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
	1,000

Fonte: Ribeiro²², 2004

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a determinação do teor de fenólicos totais, foi feita a curva de calibração do ácido gálico em concentrações de 10 a 50 µg/mL, 100 e 200 µg/mL. Com as absorvâncias obtidas foi possível construir o gráfico representado na Figura 1, que forneceu uma equação da reta, a qual possibilita calcular a concentração de fenólicos totais presentes no meio analisado. Os coeficientes de determinação (R^2) e de correlação (r) obtidos neste ensaio foram de 0,9993 e 0,9996, significativos ao nível de confiança de 0,05, demonstrando uma variação diretamente proporcional entre as variáveis da concentração e absorvância.

Figura 1 - Curva de calibração do ácido gálico



Fonte: Autor, 2022

Segundo a Equação 2, as absorvâncias encontradas foram transformadas em concentrações de fenólicos totais, avaliados na amostra de *S. acmella*. Todas as análises foram feitas em triplicata.

$$y=0,0048x+0,0361$$

Equação 2

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4- Absorvâncias obtidas para análise da concentração de fenólicos totais para a *S. acmella*

Concentração (µg/mL)	Absorvância
65,3958	0,350
68,5208	0,365
67,0625	0,358

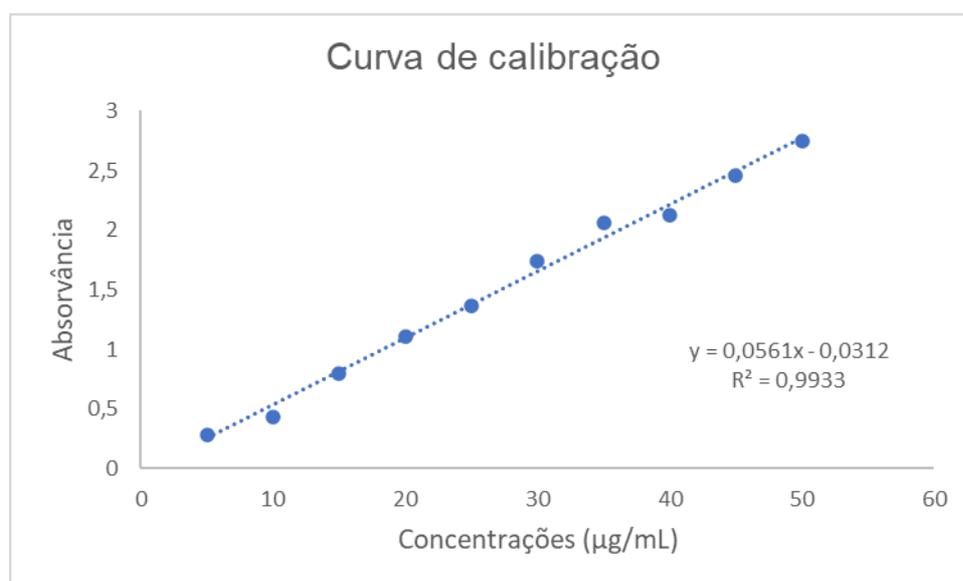
Fonte: Autor, 2022

Segundo a média das concentrações, com base nos valores dispostos na Tabela 4, 66,9930 µg/mL, a concentração de fenólicos totais encontrada para a amostra de *S. acmella* foi de 1,4738 mg Equivalente de Ácido Gálico (EAG)/g de extrato concentrado. De acordo com Abeysiri e colaboradores²³ (2013), o qual utilizou metodologia similar a presente neste trabalho, foi identificado o valor de $1,65 \pm 0,35$ mg EAG/g de extrato concentrado no caule da *S. acmella*. Nesse mesmo trabalho, o maior valor encontrado foi na folha, com $7,59 \pm 1,26$ mg EAG/g de extrato concentrado.

Os resultados encontrados da parte aérea da *S. acmella* encontrado nesta pesquisa e o valor obtido por Abeysiri e colaboradores²³ (2013) foram próximos, entretanto, diferenças podem ser avaliadas devido às partes da planta utilizadas para a obtenção dos extratos, o que viabiliza resultados divergentes para a avaliação do extrato usando as folhas e o caule da *S. acmella*.

Para a determinação do teor de flavonoides, foi feita a curva de calibração da quercetina em concentrações de 5 a 50 µg/mL. Foi obtido o gráfico representado na Figura 2, o qual resultou na Equação 3, de R^2 0,9933 e r 0,9966, demonstrando uma variação diretamente proporcional entre as variáveis da concentração e absorvância.

Figura 2 - Curva de calibração da quercetina



Fonte: Autor, 2022

$$y=0,0561x+0,0312$$

equação 3

Assim como foi feito para a etapa de fenólicos totais, ao repetir os procedimentos com a Equação 3, foi encontrado os valores de concentração de flavonoides totais apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Absorvâncias obtidas para análise da concentração de flavonoides totais

Concentração (µg/mL)	Absorvância
20,1996	1,102
20,5027	1,119
20,5027	1,119

Fonte: Autor, 2022

Ao definir a média das concentrações com base nos valores encontrados na Tabela 5 como sendo 20,4017 µg/mL, a concentração de flavonoides encontrada foi de 20,4 mg Equivalente de Quercetina (EQ) g de extrato concentrado, sendo a concentração de extrato usada de 1mg/mL. Ao pesquisar por análises similares, foi encontrado o resultado de Masoko²⁴ (2017), que utilizou a *Spilanthes Mauritiana*.

Ao comparar o valor de Masoko²⁴ (2017) com os obtidos nesta pesquisa, a concentração encontrada foi de 25,1 ± 0,79 mg EQ/g de extrato concentrado. Essa diferença de valores foi maior do que a do capítulo anterior, de fenólicos totais, mas isso pode acontecer pelo fato da diferença entre as plantas avaliadas.

As formulações obtidas tiveram a adição da etapa 3 com o seu valor em gramas referente ao que é apresentado na tabela 6. Para a incorporação do extrato, este foi misturado

em pistilo com a base produzida, sendo o valor de base de cálculo utilizado igual a 75 gramas para cada tipo de amostra.

Tabela 6 - Formulação da etapa 3 em gramas

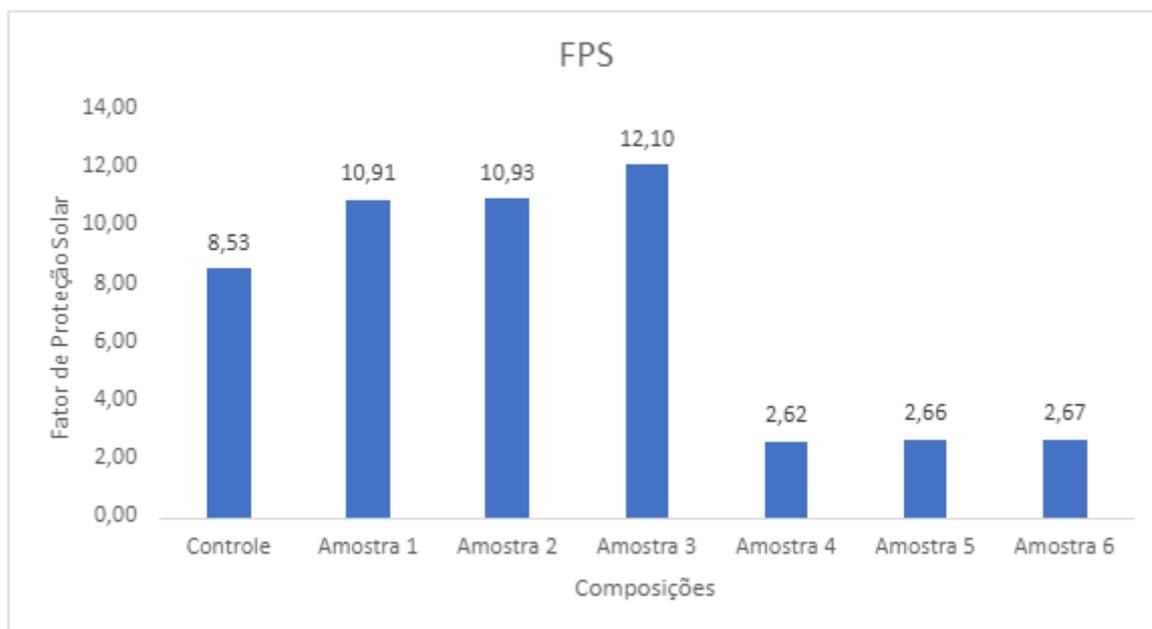
<i>Componentes</i>	<i>Amostras (g)</i>								
	C1	C2	C3	A1	A2	A3	A4	A5	A6
	<i>Etapa 3</i>								
Extrato de <i>S. acmella</i>	-	-	-	0,188	0,375	0,75	0,188	0,375	0,75
<i>Salicilato de homomentila</i>	-	6	-	-	-	-	-	-	-
<i>2-Etil-hexilmetoxicinamato</i>	-	-	3,75	3,75	3,75	3,75	-	-	-

Fonte: Autor, 2022

Após a adição da fração do extrato de *S. acmella*, a formulação base produzida obteve coloração esverdeada. Dentre as amostras, os tons variaram entre o verde claro para o verde escuro, intensificando o verde de acordo com o aumento da concentração de extrato em cada uma das amostras.

A partir das amostras avaliadas e identificados os valores de Fator de Proteção Solar (FPS) de cada uma das amostras e do controle, metoxicinamato de octila, foi possível obter um gráfico com os valores de FPS, para assim observar como cada amostra se comportou. Os dados encontrados estão apresentados na Figura 3.

Figura 3 - Valores de FPS obtidos para as amostras



Fonte: Autor, 2022

Foi possível observar que a combinação entre um insumo usado como filtro solar bem estabelecido no mercado junto ao extrato natural em diferentes concentrações (amostras 1 a 3), mostraram resultados de FPS melhores do que a avaliação individual do controle como das amostras havendo apenas a presença do extrato de *Spilanthes acmella* (amostras 4 a 6). Tal resposta permite avaliar a possibilidade da substituição parcial do protetor solar sintético por um natural, fomentando uma demanda mercadológica, que traz uma alternativa para as composições dos protetores solares existentes no mercado.

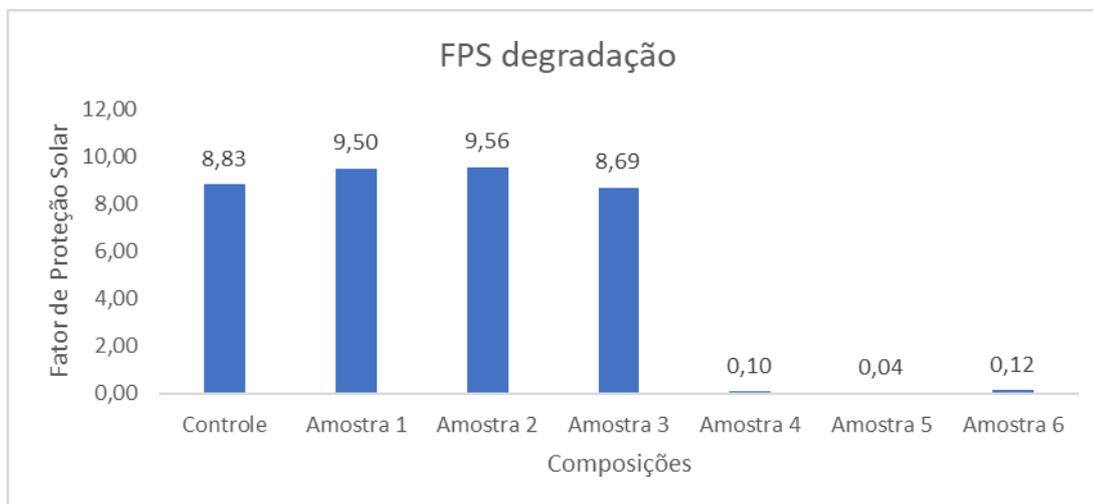
Os valores de FPS das amostras 1 e 2 foram 11 e da amostra 3 foi 12. Ao comparar o valor de FPS da formulação controle, que obteve resultado 8, com as amostras de 1 a 3, foi possível identificar um aumento de 137,5% do FPS nas amostras 1 e 2, e 150% na amostra 3. Já as amostras 4 a 6 não seriam possíveis de serem utilizadas de forma isolada como filtro solar sintético, pois não alcançaram valores mínimos de fator de proteção solar. O creme base também teve seu FPS verificado, para entender se ele interferiria no valor do FPS, e seu resultado gerou um FPS de aproximadamente zero, não interferindo na leitura.

A fim de comparar o efeito prático da adição do extrato aos filtros solares sintéticos, foi feita a avaliação do FPS teórico de diferentes composições através do simulador de FPS da DSM, Sunscreen optimizer, e o simulador Sunscreen simulator da BASF. A amostra controle, ao adicionar 5% do metoxicinamato de octila também apresentou valor de FPS de aproximadamente 8 nos simuladores.

Tomando como parâmetro o maior valor de FPS obtido dentre as 3 primeiras amostras, foi necessária a adição de mais de um tipo de filtro solar para alcançar o FPS de 12 na simulação. Isso ocorreu pela legislação global permitir o uso máximo de 7,5% de metoxicinamato na composição, resultando em um FPS próximo a 10. Para se alcançar o mesmo FPS obtido pela adição de 1% do extrato (Amostra 3), foi necessário o aumento da concentração do metoxicinamato de octila em 2,5% e a adição de um segundo filtro solar sintético (benzofenona 3). Esse dado demonstrou que a adição do extrato vegetal leva à redução da concentração de filtros solares sintéticos, necessários para se atingir um FPS de 12, em 58,8%. Essa diferença se torna importante pois o uso de filtros solares sintéticos na composição proposta se torna menor que o valor máximo de metoxicinamato permitido, diminuindo a chance de irritação cutânea à pele^{25,26}.

Com o passar de 28 dias a avaliação de FPS foi refeita com as mesmas amostras. Foi observado que os resultados encontrados diminuíram seus valores de absorvância, influenciando no resultado do FPS, que está disponível na Figura 4.

Figura 4 - Valores de FPS obtidos para as amostras ao passar de 28 dias



Fonte: Autor, 2022

Ao levantar hipóteses para tais resultados, foi sugerido haver reações de degradação ocorrendo no decorrer do tempo, o que influenciaria na redução do teor de ativos do extrato e conseqüentemente explicaria a diminuição dos valores de FPS encontrados. Como alternativa para minimizar tal situação, o uso de um preservante na composição seria uma

possibilidade. Ele seria usado com o ideal de manutenção da atividade antioxidante, diminuindo o efeito das reações de degradação da formulação, mantendo sua ação antioxidante adequada por mais tempo.

CONCLUSÃO

Um dos pontos observados é a possibilidade de uso de preservantes como saída para melhorar alguns dos resultados encontrados do fator de proteção solar com o passar do tempo e a degradação do extrato. Quanto aos resultados apresentados no FPS, as formulações em diferentes concentrações de extrato mostraram resultados promissores quando em meio ao filtro solar sintético, mas quando estava sem o filtro sintético, os valores encontrados foram baixo, não sendo possível usá-lo nas concentrações das amostras A4 a A6.

Para a determinação do teor de fenólicos e flavonoides da parte aérea da *S. acmella*, dados similares foram encontrados na literatura, corroborando com a literatura. Com isso, é viável o uso do extrato de *Spilanthus acmella* como um ativo cosmético, agente antioxidante, mas é necessário avaliar a sua estabilidade para encontrar formas de torná-lo mais duradouro.

REFERÊNCIAS

¹ ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS): Cancer Today, Melanoma of skin and Non Melanoma skin cancer (2020). Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>. (Acesso em: 12 de julho de 2021).

² ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS): Cancer Tomorrow, Número estimado de incidentes de 2020 e 2040 de câncer não-melanoma e melanoma para sexo masculino e feminino e de todas as idades (2020). Disponível em: https://gco.iarc.fr/tomorrow/graphic-bar?type=0&type_sex=0&mode=population&sex=0&populations=900&cancers=17&age_group=value&apc_male=0&apc_female=0&single_unit=500000&print=0. (Acesso em: 20 de julho de 2021).

- ³ FAVORETO; GILBERT, B. *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu. **Fitos**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 1, p. 83-91, mar. 2010.
- ⁴ PINHO, J. de J. R. G. de et al. Determinação do fator de proteção solar (in vitro) de produtos magistrais na forma de gel. avaliação dos aspectos sensoriais e físico químicos. **HU Revista**, Juiz de Fora, 2014. v. 40, n. 1 e 2, p. 79-86, 2014.
- ⁵ GUPTA, V.; SHARMA, V. K. Skin typing: fitzpatrick grading and others. **Clinics In Dermatology**, v. 37, n. 5, p. 430-436, set. 2019.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.07.010>.
- ⁶ BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-742, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000400016>.
- ⁷ SOUZA, M. V. D. Fotoproteção e Desenvolvimento de Fotoprotetores. **Unyleya**, Brasília. 46 p. 2019.
- ⁸ ZAHIN, M.; BOKHARI, N. A.; AHMAD, I.; HUSAIN, F. M.; ALTHUBIANI, A. S.; ALRUWAYS, M. W.; PERVEEN, K.; SHALAWI, M. Antioxidant, antibacterial, and antimutagenic activity of Piper nigrum seeds extracts. **Saudi Journal Of Biological Sciences**, p. 1-12, 2021.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.030>.
- ⁹ DEMARNE F.; PASSARO G. **Use of an *acmella oleracea* extract for the botox-like effect thereof in an ant-wrinkle cosmetic composition**. Depositante: Gattefosse Sas. US20080069912A1. Depósito: 4 jan. 2005. Concessão: 20 mar. 2008. Disponível em: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/034708032/publication/US2008069912A1?q=US%202008%2F0069912>. Acesso em: 20 jul. 2021
- ¹⁰ FERRARI, M. et al. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 4, p.626-630. 2007
- ¹¹ SOPYAN, I.; GOZALI, D.; TIASSETIANA, S. Formulation of tomato extracts (*Solanum lycopersicum* L.) as a sunscreen lotion. **Natl. J. Physiol. Pharm.** Pharmacol. v. 8, n. 3, p. 453–458, 2018. <https://doi.org/10.5455/njppp.2017.7.1039921112017>.

- ¹² DISTRITO FEDERAL. Botrel, N. Embrapa Hortaliças (org.). **HORTALIÇAS não convencionais. Hortaliças tradicionais:** jambu. 2017. Disponível em: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=1071180&biblioteca=vazio&busca=1071180&qFacets=1071180&sort=&paginaAtual=1>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- ¹³ DUBEY, S. et al.; *Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of Spilanthes acmella: a review. Advances In Pharmacological Sciences*, [s.l.], v. 2013, p. 1-9, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/423750>.
- ¹⁴ SRINATH, J.; LAKSMI, T. Therapeutic Potential of *Spilanthes acmella* – A dental note. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review And Research**, Tamilnadu, v. 25, n. 1, p. 151-153, 28 fev. 2014.
- ¹⁵ BORGES, L. S. **Potencial antioxidante, óleo essencial e atividade antifúngica de plantas de jambu (*spilanthès oleracea*), cultivadas sob adubação orgânica e convencional e processamento mínimo de nectarina (*prunus persica* var. *nectarina*): conservação de suas qualidades e propriedades bioativas**. 2012. 205 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- ¹⁶ PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. *Introdução à espectroscopia*. 4ª ed. Cengage Learning. 2010.
- ¹⁷ AYOOLA, G. A.; COKER, H. A. B.; ADESEGUN, S. A.; ADEPOJU-BELLO A. A.; OBAWEYA, K.; EZENNIA, E.C.; ATANGBAYILA, T.O. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**, Nigeria, v. 3, n. 7, p. 1019-1024, set. 2008.
- ¹⁸ SONG, F.-L.; GAN, R.-Y.; ZHANG, Y.; XIAO, Q.; KUANG, L.; LI, H.-B. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Selected Chinese Medicinal Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 2362–2372, 2010. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/11/6/2362/htm>
- ¹⁹ SILVA, R. V. et al. *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. **Industrial Crops And**

Products, [s.l.], v. 83, p. 509-514, maio 2016. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.077>.

²⁰ BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Formulário Nacional Farmacopeia Brasileira**, Brasília, Brasil, 2011.

²¹ MANSUR, J. S. et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro. v.61, n.3, p.121-124, 1986.

²² RIBEIRO, R. P. **Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais**.104f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

²³ ABEYSIRI, G.R.P.I.; DHARMADASA, R.M.; ABEYSINGHE, D.C.; SAMARASINGHE, K. **Screening of phytochemical, physico-chemical and bioactivity of different parts of *Acmella oleraceae* Murr. (Asteraceae), a natural remedy for toothache**. *Industrial Crops And Products*, v. 50, p. 852-856, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.043>.

²⁴ MASOKO, P. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Spilanthes mauritiana* Used Traditionally in Limpopo Province, South Africa. **Journal Of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 936-943, out. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/2515690x17746774>.

²⁵ DSM SUNSCREEN OPTIMIZER. 2022. Disponível em: <https://www.sunscreen-optimizer.com/index.html> .(Acesso em: 13 de agosto de 2022).

²⁶ BASF. 2022. Disponível em: https://sunscreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/ .(Acesso em: 13 de agosto de 2022).

Print de comprovante de submissão

[cmbio] Agradecimento pela submissão  Caixa de entrada x



Roberto Paulo Correia de Araújo revistacmb@gmail.com por.ufba.br

ter., 13 de set. 22:19 (há 19 horas)



 para mim ▾

Daniel de Souza Batista:

Obrigado por submeter o manuscrito, "AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DO EXTRATO DE *Spilanthes acmella* E DE SUAS FORMULAÇÕES COSMÉTICAS" ao periódico Revista de Ciências Médicas e Biológicas. Com o sistema de gerenciamento de periódicos on-line que estamos usando, você poderá acompanhar seu progresso através do processo editorial efetuando login no site do periódico:

URL da Submissão: <https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/authorDashboard/submission/51050>

Usuário: danielbatista2022

Se você tiver alguma dúvida, entre em contato conosco. Agradecemos por considerar este periódico para publicar o seu trabalho.

Roberto Paulo Correia de Araújo

Revista de Ciências Médicas Biológicas The Journal of Medical and

Biological Sciences <http://www.cienciasmedicasbiologicas.ufba.br/>

 Responder

 Encaminhar