



## Desenvolvimento e avaliação fotoprotetora, *in vitro*, de formulações de mistura curcuminoide e chalconas estruturalmente relacionadas

Development and *in vitro* photoprotective evaluation of curcuminoid mixture and structurally related chalcones formulations

J. J. Silva<sup>1</sup>; S. S. Simplicio<sup>2</sup>; V. L. A. Santos<sup>1</sup>; C. R. M. Araújo<sup>2\*</sup>; A. de A. Gonsalves<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Colegiado de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-917, Petrolina-PE, Brasil

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde e Biológicas, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-917, Petrolina-PE, Brasil

\*cleonia.araujo@univasf.edu.br

(Recebido em 06 de abril de 2022; aceito em 03 de outubro de 2022)

O mercado de cosmético passa por uma tendência em empregar filtros solares de origem natural em formulações fotoprotetoras, seja isolado ou como adjuvantes de filtros sintéticos. O açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) teve o seu valor medicinal reconhecido pelo SUS no ano de 2009, sendo incluído da RENISUS. Assim, a mistura curcuminoide foi extraída e modificada para gerar a mistura curcuminoide acetilada. As chalconas 1,3-bis[4-(hidroxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona e 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona foram planejadas considerando a estrutura molecular do metoxicinamato de octila, um filtro solar comercial, e da mistura curcuminoide. Os métodos *in vitro* de Mansur e Diffey foram usados para determinar o fator de proteção solar (FPS-UVB) e o comprimento de onda crítico ( $\lambda_c$ ) das formulações contendo os compostos em estudo. A mistura curcuminoide, a mistura curcuminoide acetilada, a 1,3-bis[4-(hidroxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona e a 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona mostraram os seguintes valores de FPS-UVB e  $\lambda_c$  (nm), respectivamente, 0,9 e 394; 5,2 e 391; 5,4 e 388; e 11,6 e 358. Os resultados indicam que os compostos têm potencial para atuarem conferindo proteção contra a radiação UVB e/ou UVA. Dentre os filtros químicos avaliados, a 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona demonstrou potencial para atuar como filtro UV de amplo espectro, exibindo efeito fotoprotetor comparável ao da oxibenzona (FPS 11,3 e  $\lambda_c$  348 nm), filtro químico comercial.

Palavras-chave: FPS-UVB, açafrão-da-terra, cúrcuma.

The cosmetic market is experiencing a tendency to use sunscreens of natural origin in photoprotective formulations, either independently or as adjuvants to synthetic filters. Curcuma (*Curcuma longa*) had its medicinal value recognized by SUS in 2009, being included by RENISUS. Thus, the curcuminoid mixture was extracted and modified to generate acetylated curcuminoid mixture. The chalcones 1,3-bis[4-(hydroxy)-3-methoxyphenyl]-2-propen-1-one and 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-methoxyphenyl]-2-propen-1-one were planned considering the molecular structure of octyl methoxycinnamate, commercial sunscreen, and curcuminoid mixture. Mansur and Diffey's *in vitro* methods were used to determine the sun protection factor (SPF-UVB) and the critical wavelength ( $\lambda_c$ ) of the formulations containing the compounds under study. Curcuminoid mixture, acetylated curcuminoid mixture, 1,3-bis[4-(hydroxy)-3-methoxyphenyl]-2-propen-1-one and 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-methoxyphenyl]-2-propen-1-one showed, respectively, the following SPF-UVB and  $\lambda_c$  (nm) values: 0.9 and 394; 5.2 and 391; 5.4 and 388; and 11.6 and 358. These results indicate that the compounds can provide protection against UVB and/or UVA radiation. Among the chemical filters evaluated, 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-methoxyphenyl]-2-propen-1-one demonstrated the potential to act as a broad-spectrum UV filter, exhibiting a photoprotective effect comparable to that of oxybenzone (SPF 11.3 and  $\lambda_c$  348 nm), a commercial chemical filter.

Keywords: SPF-UVB, turmeric, curcuma.

### 1. INTRODUÇÃO

O câncer de pele é a mais frequente das neoplasias malignas no Mundo, incluindo o Brasil, sendo que a estimativa para o país é que a cada ano do triênio entre 2020 e 2022 possam ocorrer

177 mil casos novos de câncer de pele do tipo não melanoma, o que corresponde a aproximadamente 28% das neoplasias malignas para esse período [1]. Os protetores solares de amplo espectro são considerados importantes agentes de prevenção ao câncer de pele e outros danos ao órgão causados pela radiação solar, desde que usados de modo correto e regular [2]. Há estudos que apontam que o emprego regular e adequado de fotoprotetores reduz os sinais de envelhecimento precoce [3]. A radiação ultravioleta (UV) é categorizada em: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (100-290 nm). Contudo, somente as radiações UVA e UVB, atravessam a camada de ozônio, sendo danosas para a pele humana, sendo responsáveis por causarem, além do câncer de pele, queimaduras solares e o envelhecimento precoce [4, 5].

Os filtros de radiação UV são substâncias introduzidas nas formulações fotoprotetoras responsáveis pela proteção contra as radiações solares. Estes podem ser classificados em dois principais grupos: os filtros inorgânicos, que agem refletindo as radiações solares, como o óxido de zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>); e os filtros orgânicos, como os *p*-aminobenzoatos (PABA) e os derivados da benzofenona, que absorvem a radiação UV e permitem a transmissão da luz visível [6, 7]. A efetividade de um protetor solar é definida como capacidade em proteger a pele contra surgimento de eritemas promovidos pela radiação UV, e pode ser quantificada na forma do Fator de Proteção Solar (FPS). O FPS de uma formulação fotoprotetora é calculado através da razão entre a dose mínima eritematosa na pele protegida por um protetor solar e a dose mínima eritematosa na mesma pele quando desprotegida, demonstrando assim, em números, a proteção que um determinado produto fotoprotetor oferece contra a radiação solar.

Os protetores solares são classificados como cosméticos de uso específico (grau 2), segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [8]. Os cosméticos são preparações constituídas com substâncias de origem natural ou sintética, para uso externo em diversas partes do corpo humano. Atualmente, o mercado brasileiro de dermocosméticos, onde se encontra as formulações fotoprotetoras, foi aquecido nos últimos anos pelo emprego de produtos de origem natural. Os cosméticos com ativos naturais representavam 6% do mercado em 2017, já em 2018, este representou 20% em valor, aponta o levantamento feito pela Kantar, multinacional de painéis de consumo. Entre os valores totais gastos neste segmento, 30,1% vão para shampoo, 25,3% com cuidados com a pele do corpo e 13,3% para *skin care* do rosto [9]. Apesar da pandemia promovida pelo vírus da *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (Sars-CoV-2) no ano de 2020, de acordo com o Painel de Dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), o setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos, quando comparado os mesmos períodos em 2019 e 2020, demonstrou uma alta de 5,8% em faturamento no acumulado de janeiro a setembro de 2020, enquanto os produtos de cuidados com a pele do rosto apresentaram crescimento de 28,7% [10].

Dentre as principais estratégias de desenvolvimento de novos filtros solares, têm-se a busca por compostos de fonte natural, especialmente extratos vegetais, capazes de absorver radiação UV [11]. O açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) foi inserido na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) em 2009 [12]. Esta é uma planta herbácea originária da Índia e cultivada em países tropicais para uso alimentar e medicinal [13]. A porção mais utilizada do açafrão-da-terra é seu rizoma, que após desidratado e moído gera um pó de interesse medicinal, a cúrcuma [14]. O extrato alcoólico do açafrão-da-terra contém majoritariamente os pigmentos curcuminoides, também chamados de mistura curcuminóide (**MC**), sendo constituído principalmente de curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina, e os teores médios destes constituintes fenólicos na mistura são, respectivamente, 77, 17 e 3% (m/m) [15].

As propriedades biológicas da cúrcuma e da **MC**, tais como, anti-inflamatória, bactericida, e inibidora da carcinogênese e do crescimento do câncer, são bem conhecidas, e há anos desperta o interesse da comunidade científica [16]. Além disso, a curcumina possui capacidade em estabilizar substâncias fotossensíveis em soluções e preparações para uso tópico, e em razão disto, este pigmento é aplicado em formulações farmacêuticas para proteger alguns fármacos da fotodecomposição [17].

Entre as principais estratégias de desenvolvimento de novos filtros solares, têm-se a busca por compostos de fonte natural, especialmente extratos vegetais, capazes de absorver radiação UV [11]. Considerando as potencialidades da **MC** no setor de cosméticos, bem como a demanda do mercado consumidor por produtos que contenham compostos de origem natural, o

desenvolvimento de filtros solares empregando a **MC** se torna promissor. Desta forma, o presente trabalho pretende avaliar a capacidade fotoprotetora de formulações contendo a **MC** e **MCA**, bem como, realizar o planejamento estrutural de novas chalconas, e em seguida, sintetizá-las e determinar o potencial fotoprotetor de formulações contendo as mesmas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Reagentes e equipamentos

Reagentes químicos foram adquiridos em fontes comerciais e usados sem purificação prévia, sendo os mais específicos: acetovanilona (98%, Sigma-Aldrich), vanilina (97%, Vetec), a oxibenzona (98%, Sigma-Aldrich) e metoxicinamato de octila (98%, Sigma-Aldrich). Água destilada foi usada em vários experimentos. As temperaturas de fusão (PF) dos compostos obtidos foram determinadas utilizando fusiômetro digital modelo MQAPF-302 da Microquímica Equipamentos LTDA, e realizadas em triplicata. Placas de alumínio de 2x4 cm recobertas com sílica gel 60 com indicador de fluorescência UV 254 nm foram empregadas para a realização das Cromatografias em Camada Delgada Analítica (CCDA), e a luz ultravioleta ou vanilina sulfúrica foram os reveladores. Para a elucidação estrutural das substâncias, os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) foram registrados em um aparelho Bruker Ascend™ 400, que opera a 400 MHz para o núcleo de  $^1\text{H}$  e a 100 MHz para o núcleo de  $^{13}\text{C}$ . Todas as amostras foram solubilizadas em solvente deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), com o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram obtidos em ppm.

O Spectrum 400 da PerkinElmer® foi empregado para a obtenção dos espectros de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). E o Nova Instruments 1600UV foi utilizado para obtenção dos espectros de absorção molecular na região do ultravioleta e visível.

### 2.2 Extração, caracterização e acetilação da mistura curcuminoide

Amostras de açafrão-da-terra, *Curcuma longa* (grau alimentício – tempero), foram adquiridas no comércio de Petrolina – PE, Brasil. A massa de 50 g de açafrão em pó foi macerada a 24 °C em 150 mL de etanol 70% (v/v), e deixada em repouso por 24 h. A mistura foi filtrada e o extrato etanólico obtido foi misturado com 100 mL de água destilada. A suspensão foi congelada em freezer (-15 °C) por 24 h e em seguida descongelada. O sólido formado foi separado por filtração a vácuo, lavado com 25 mL de hexano (para remover óleos voláteis e gorduras), e seco por 24 h a temperatura de 28 °C. O produto seco obtido foi parcialmente purificado por coluna cromatográfica (CC) usando como sistema de solvente hexano/acetato de etila (70:30 v:v) para fornecer a mistura curcuminoide (**MC**) – mistura de curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina. A caracterização da **MC** foi realizada segundo metodologias descritas na Farmacopeia Brasileira [18].

#### 2.2.1 Caracterização colorimétrica

Uma solução hidroalcoólica contendo a **MC** na concentração de 0,10 g/mL foi preparada utilizando etanol 70% (v/v) como solvente. Em seguida, gotejou-se esta solução sobre um papel de filtro em três pontos distintos, identificados como 1, 2 e 3. No ponto 1, apenas a solução da **MC** foi aplicada, no ponto 2 foi gotejada também uma solução aquosa de ácido bórico (0,10 g/mL) e, no ponto 3, gotejou-se solução aquosa de ácido bórico (0,10 g/mL) e, em seguida, solução aquosa de amônia na concentração 10% (v/v). As cores que surgiram nos pontos 1, 2 e 3 foram observadas e analisadas conforme descrito na Farmacopeia Brasileira [18].

### 2.2.2 Análise cromatográfica

Uma amostra da **MC** dissolvida em acetato de etila foi aplicada sobre uma placa de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). O sistema de solvente usado para eluição da placa foi clorofórmio, etanol e ácido acético glacial, na proporção 95:5:0,5. Observaram-se então os fatores de retenção (FR) dos *spots* após revelação da placa em luz UV e em vanilina sulfúrica, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira [18].

**Dados da MC:** sólido laranja avermelhado, rendimento 0,52% (m/m), PF - 165-221 °C. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 3,97 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,83 (s, 0,5H, =CH, enol), 5,91 (s, 0,8H, OH), 6,50 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, C=CH), 6,96 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, Ar-H), 7,07 (s, 1H, Ar-H), 7,15 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, Ar-H) e 7,61 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, C=CH). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 55,41 (OCH<sub>3</sub>), 100,70 (=CH, enol), 109,06 (CHAr), 114,38 (CHAr), 115,1 (CHAr), 121,46 (CHAr), 122,47 (C=CH), 127,33 (CAr), 129,33 (CAr) 140,24 (C=CH), 146,33 (CAr-OCH<sub>3</sub>), 147,57 (CAr-OH) e 183,01 (C=O). IV (KBr, ν onda em cm<sup>-1</sup>): 3405 (νO-H), 3231 (νC-H), 2926 (νC-H), 1624 (νC=C, νC=O), 1600 (νC=C), 1512 (νC=C), 1434 (νC=C e δC-H), 1273 (νC-O-C), 1170 e 1137 (νC-O, δC-H), 958 e 830 (δC-H). Sinais espectrais elucidados segundo Silverstein et al. (2005) [19].

### 2.2.3 Acetilação da MC

A mistura curcuminoide acetilada **MCA** foi preparada usando a **MC** extraída do açafreão-da-terra e purificada. A reação de esterificação dos grupos fenólicos foi realizada misturando-se 0,148 g de **MC**, 5 mL de acetato de etila, 0,10 mL de piridina (0,12 mmol), 0,10 mL de anidrido acético (1,0 mmol) e uma quantidade catalítica de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A reação permaneceu sob agitação e a temperatura ambiente por 24 h. Por fim, a mistura reacional foi acidificada com 10 mL de HCl 0,50 M, e os compostos orgânicos extraídos em acetato de etila (15 mL). A solução orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado. O sólido obtido foi purificado por CC, e forneceu a mistura curcuminoide acetilada (**MCA**).

**Dados de MCA:** sólido amarelo alaranjado, rendimento 22,0% (m/m), PF - 151-155 °C. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 2,34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, éster), 3,89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,86 (s, 0,5H, =CH, enol), 6,58 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, C=CH), 7,04-7,10 (m, 1H, Ar-H), 7,13 (d, 1H, *J* = 1,6 Hz, Ar-H), 7,16 (td, 1H, *J* = 4,0 e 2,0 Hz, Ar-H) e 7,27 (s, 1H, Ar-H) e 7,60 – 7,65 (m, 1H, C=CH). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 20,68 (CH<sub>3</sub>, éster), 55,90 (OCH<sub>3</sub>), 101,85 (=CH, enol), 111,50 (CHAr), 121,16 (CHAr), 123,42 (CHAr), 124,23 (C=CH), 133,86 (CAr), 140,06 (C=CH), 141,26 (CAr-OCH<sub>3</sub>), 151,46 (CAr-éster), 169,07 (C=O, éster) e 183,22 (C=O, cetona). IV (KBr, ν onda em cm<sup>-1</sup>): 3430 (νO-H), 2934 (νC-H), 1764 (νC=O éster), 1628 (νC=C, νC=O), 1597 (νC=C), 1508 (νC=C), 1415 (νC=C, δC-H), 1369 (δCH<sub>3</sub> éster), 1260 (νC-O-C), 1197 (C=C-O éster), 1158 (νC-O), 1122 e 1029 (νC-O, δC-H), 975, 906 e 835 (δC-H). Sinais espectrais elucidados segundo Silverstein et al. (2005) [19].

### 2.3 Síntese e caracterização da 1,3-Bis[4-(hidroxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona (CH) e da 1,3-Bis[4-(acetoxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona (CHA)

A 1,3-bis[4-(hidroxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona (**CH**) foi preparada empregando a reação de Claisen-Schmidt entre a 4-hidroxi-3-metoxiacetofenona e a vanilina, sob catálise ácida. A reação de condensação foi realizada misturando-se 0,152 g de vanilina (1,0 mmol), 0,166 g de acetovanilona (1,0 mmol), 5 mL de metanol e 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. A reação permaneceu a temperatura ambiente sob agitação constante por 24 h. Água destilada (10 mL) foi adicionada à mistura reacional e esta foi neutralizada com uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub>. A solução foi mantida sob refrigeração (4 °C) por 24 h para a precipitação do composto. O sólido obtido foi filtrado, mantido a temperatura ambiente até sua secagem e o produto foi purificado por CC.

**Dados da 1,3-bis[4-(hidroxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona:** sólido amarelo, rendimento 57,0%, PF - 118–121 °C. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 3,98 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,00 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5,93 (s, 1H, OH), 6,12 (s, 1H, OH), 6,97 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz Ar-H), 7,00 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz Ar-H), 7,14 (s, 1H, C=CH), 7,2 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, C=CH), 7,42 (d, 1H, *J* = 15,5 Hz, Ar-H), 7,66 (m, 2H, Ar-H) e 7,76 (d, 1H, *J* = 15,5 Hz, Ar-H). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 56,01 (OCH<sub>3</sub>), 109,96 (CHAr), 110,47 (CHAr), 113,65 (CHAr), 114,81 (CHAr), 119,25 (CHAr), 123,18 (CHAr), 123,50 (C=CH), 127,64 (CAr), 131,25 (CAr), 144,32 (C=CH), 146,74 (CAr-OCH<sub>3</sub>), 146,83 (CAr-OCH<sub>3</sub>), 148,06 (CAr-OH), 150,14 (CAr-OH) e 188,92 (C=O). IV (KBr, ν onda em cm<sup>-1</sup>): 3424 (νO-H), 2921 (νC-H), 1644 (νC=C, νC=O), 1592 (νC=C), 1513 (νC=C), 1426 (νC=C, δC-H), 1265 e 1213 (νC-O-C), 1188 (νC-O), 1126 e 1030 (νC-O, δ=C-H) e 802 (δC-H). Sinais espectrais elucidados segundo Silverstein et al. (2005) [19].

A 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona (**CHA**) foi preparada através da reação de esterificação das hidroxilas fenólicas de **CH**. Uma mistura contendo 0,126 g de **CH** (0,40 mmol), 5 mL de acetato de etila, 0,10 mL de piridina (0,12 mmol), 0,10 mL de anidrido acético (1,0 mmol) e quantidade catalítica de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A mistura reacional permaneceu em repouso a temperatura ambiente por 24h, e em seguida foi acidificada com 10 mL de HCl 0,50 M e o produto extraído com acetato de etila (15 mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente foi evaporado. O sólido obtido foi purificado por CC.

**Dados da 1,3-bis[4-(acetoxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona:** sólido bege claro, rendimento 33,0%, PF - 128-132 °C. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 2,34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, éster), 2,36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, éster), 3,90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,93 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7,09 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H, Ar-H), 7,17 (m, 1H, Ar-H), 7,20 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz, Ar-H), 7,26 (q, 1H, *J* = 1,2 Hz, Ar-H), 7,42 (d, 1H, *J* = 15,7 Hz, C=CH), 7,61 (dd, 1H, *J* = 1,9 Hz, Ar-H), 7,65 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, Ar-H) e 7,77 (d, 1H, *J* = 15,7 Hz, C=CH). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 20,79 (CH<sub>3</sub>, éster), 56,08 (OCH<sub>3</sub>), 111,85 (CHAr), 112,07 (CHAr), 121,33 (CHAr), 121,62 (CHAr), 121,97 (CHAr), 122,73 (CHAr), 123,34 (C=CH), 133,76 (CAr), 136,91 (CAr), 141,60 (CAr-OCH<sub>3</sub>), 143,57 (CAr-OCH<sub>3</sub>), 144,37 (C=CH), 151,40 (CAr-éster), 151,53 (CAr-éster), 168,60 (C=O, éster), 168,81 (C=O, éster) e 189,20 (C=O, cetona). IV (KBr, ν onda em cm<sup>-1</sup>): 3436 (νO-H), 2932 (νC-H), 1758 (νC=O éster), 1655 (νC=C, νC=O), 1589 (νC=C), 1508 (νC=C), 1415 (νC=C, δC-H), 1366 (δCH<sub>3</sub>), 1265 (νC-O-C), 1198 (νC=C-O), 1158 (νC-O), 1125 e 1031 (ν C-O, δ=C-H), 976, 903 e 824 (δC-H). Sinais espectrais elucidados segundo Silverstein et al. (2005) [19].

## 2.4 Preparação das formulações e avaliação da capacidade fotoprotetora

### 2.4.1 Preparação das formulações fotoprotetoras contendo **MC**, **MCA**, **CH** e **CHA**

As formulações foram preparadas contendo o ativo (**MC**, **MCA**, **CH** e **CHA**, ou filtros comerciais - **OMC** e benzofenona-3 **OXB**) na concentração de 10,0% (m/m). Inicialmente, foi pesada 25 mg de cada substância, e posteriormente a massa de cada uma dessas substâncias dispersa em 25 mg de propilenoglicol sob agitação manual com auxílio de bastão de vidro. Por fim, foram adicionados 200 mg de creme base autoemulsionante para sistemas do tipo óleo em água a 6,0% (formulação base de protetor solar comercial), onde novamente foi feita uma homogeneização sob agitação manual. Ainda, uma formulação do “branco”, preparada utilizando 25 mg de propilenoglicol e 225 mg de creme base, foi utilizada para zerar o espectrofotômetro.

### 2.4.2 Determinação do FPS-UVB das formulações

O FPS-UVB das formulações contendo **MC**, **MCA**, **CH**, **CHA**, **OMC** e **OXB** foram determinadas utilizando o método *in vitro* desenvolvido por Mansur et al (1986) [20]. Neste ensaio, o FPS-UVB é determinado com base na análise espectrofotométrica de soluções alcoólicas diluídas das formulações contendo os filtros químicos, conforme a Equação (1) [2].

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

onde: FC – fator de correção (= 10,0); EE ( $\lambda$ ) –efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda; I ( $\lambda$ ) – espectro de intensidade solar; Abs ( $\lambda$ ) – leitura de absorvância da solução alcoólica diluída do fotoprotetor na região de comprimento de onda entre 290 e 320 nm. Os valores resultantes do produto entre os parâmetros EE( $\lambda$ ) e I( $\lambda$ ) são valores ponderais normalizados em função da ocorrência de eritemas na faixa UVB em cada comprimento de onda [21], e seguem dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Normalização do produto (EE x I) utilizado para a determinação do FPS pelo método de Mansur et al. (1986) [20]. Fonte: Extraído de Oliveira-Júnior et al. (2015) [21].

$\lambda$ (nm)	EE( $\lambda$ )xI( $\lambda$ )
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Para a determinação do FPS-UVB foram preparadas inicialmente soluções dos filtros químicos, contidos nos fotoprotetores, na concentração de  $1,0 \times 10^{-3}$  M (em etanol a 95%). Neste procedimento, as formulações fotoprotetoras foram pesadas, considerando a porcentagem de ativos nas amostras (10% m/m) e o peso molecular de cada filtro químico. Na sequência, soluções etanólicas nas concentrações de  $1,0 \times 10^{-4}$ ,  $6,6 \times 10^{-5}$  e  $3,3 \times 10^{-5}$  M foram preparadas por diluição da solução etanólica inicial usando o mesmo solvente. Todas as soluções diluídas tiveram suas absorvâncias determinadas em espectrofotômetro, em comprimentos de onda entre 290 e 400 nm a intervalos de 5 nm, e usando cubetas de quartzo de 1 cm. Soluções diluídas do "fotoprotetor branco" foram usadas como branco nas análises espectrofotométricas. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### 2.4.3 Determinação do comprimento de onda crítico dos filtros químicos

O comprimento de onda crítico ( $\lambda_c$ ) é um parâmetro UVA desenvolvido por Diffey em 1994. A integração matemática do espectro de absorvância de 290 a 400 nm é realizada para calcular a área abaixo da curva de absorvância UV-Vis. O  $\lambda_c$  é definido como o comprimento de onda no qual a integral da curva de absorvância atinge 90% da integral da curva total de 290 a 400 nm. Este parâmetro UVA é calculado conforme a Equação (2) [22].

$$\int_{290}^{\lambda_c} A(\lambda) d\lambda = \int_{290}^{400} A(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

Assim, os espectros de absorção UV-Vis dos filtros químicos **MC**, **MCA**, **CH**, **CHA OMC** e **OXB** em soluções etanólicas a  $1,0 \times 10^{-3}$  M foram utilizados para calcular o  $\lambda_c$ . Etanol a 95% foi usado como solvente e como solução do "branco". As integrações dos espectros de absorção UV-Vis nas faixas de comprimento de onda deste ensaio foram realizadas usando o software Microcal Origin<sup>®</sup> 6.0.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observando a estrutura molecular da curcumina, principal constituinte da **MC**, é possível notar as semelhanças estruturais com o filtro solar metoxicinamato de octila (**OMC**), presente em várias formulações fotoprotetoras comerciais. Empregando a simplificação molecular, estratégia de desenvolvimento de novos compostos bioativos, e mantendo a semelhança com o **OMC** planejou-se a estrutura da chalcona (**CH**), a 1,3-bis[4-(hidroxi)-3-metoxifenil]-2-propen-1-ona, que pode ser obtida pela condensação de dois compostos carbonílicos de origem natural, a vanilina e a apocinina (4-hidroxi-3-metoxiacetofenona), Figura 1. Considerando que o **OMC** não apresenta hidroxilas, e com intuito de entender a influência destas na ação fotoprotetora, a **MC** e a **CH** terão suas hidroxilas protegidas na forma de éster, para originar, respectivamente a mistura curcuminoide acetilada (**MCA**) e a chalcona acetilada (**CHA**) (Figura 1).

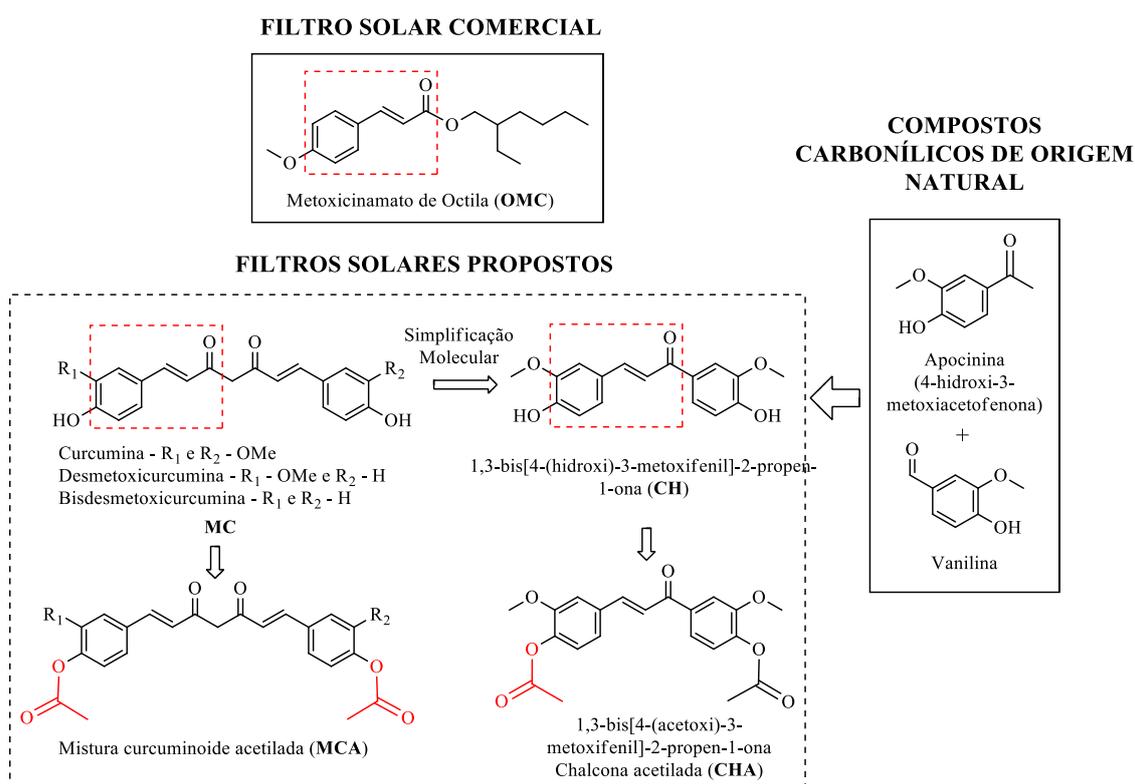


Figura 1: Esquema de planejamento dos filtros solares **MC**, **MCA**, **CH** e **CHA**.

Com o intuito de avaliar o potencial fotoprotetor da **MC**, a mistura foi obtida com 0,52% (m/m) de rendimento a partir de amostras comerciais de açafrão-da-terra. O sólido obtido apresentou coloração alaranjada (Figura 2 A), e foi inicialmente caracterizado por métodos qualitativos conforme a Farmacopeia brasileira [18]. Na análise qualitativa colorimétrica da **MC** foi observado que a solução etanólica da **MC** apresentou coloração amarela, quando fixada em papel de filtro (Figura 2 B-1). Após gotejar solução saturada de ácido bórico sobre o papel contendo a **MC**, a mancha adquiriu coloração laranja (Figura 2 B-2). A mudança de cor ocorreu devido a formação da rosocianina, um complexo de coloração laranja formado entre o boro e dois equivalentes de curcumina. Na última etapa da avaliação qualitativa colorimétrica, foi gotejada solução de hidróxido de amônio (6 M) sobre a mancha laranja, e então a coloração passou para azul escuro (Figura 2 B-3). Neste caso, a rosocianina ao reagir com a amônia forma um complexo misto de boro contendo como ligantes a curcumina e a amônia [14, 23].

Na avaliação cromatográfica da **MC** foram observados três *spots* na CCDA que, ao serem reveladas em radiação UV ( $\lambda=365$  nm) emitiram fluorescência. De acordo com a Farmacopeia brasileira [18], o *spot* na porção superior, mediana e inferior trata-se respectivamente da

curcumina (FR = 0,56), desmetoxicurcumina (FR= 0,48) e bisdesmetoxicurcumina (FR = 0,37), Figura 2 C. A CCDA também foi revelada em vanilina sulfúrica a fim de verificar se havia a existência de produtos indesejados na mistura, os quais não foram observados (Figura 2 D).

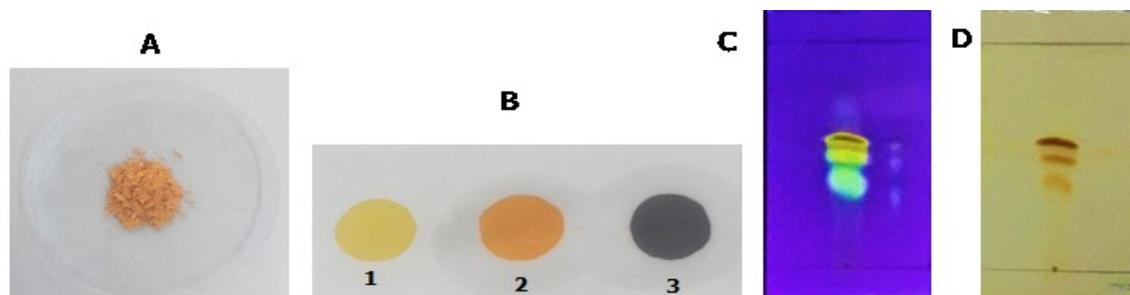


Figura 2: **A** – MC obtida. **B** – Análise qualitativa colorimétrica da MC. **C** – CCDA da MC revelada sob radiação ultravioleta ( $\lambda=365$  nm). **D** – CCDA da MC revelada luz UV e em vanilina sulfúrica.

A análise revelou que a MC foi extraída com sucesso, e que a curcumina é o composto majoritário. Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da MC foram observados todos os sinais de hidrogênio e carbono da curcumina. Além dos sinais da curcumina, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresentou sinais de baixa intensidade que confirmaram a presença da desmetoxicurcumina e da bisdesmetoxicurcumina na MC. Em adição, o sinal em 5,83 ppm com integral de 0,5 indica que há equilíbrio ceto-enólico no meio. A MCA foi sintetizada com 22,0% de rendimento através da acetilação da MC utilizando anidrido acético.

Baseada na estrutura química, assim como na aplicação fotoprotetora do OMC, um filtro solar aprovado pela Anvisa [24] e da curcumina [25], a CH foi estruturalmente planejada, Figura 1. A CH foi sintetizada a partir da condensação entre dois compostos fenólicos de origem natural, a apocinina (4-hidroxi-3-metoxiacetofenona) e a vanilina, sob catálise ácida (Figura 3). Ademais, a fim de verificar a influência da hidroxila aromática na capacidade fotoprotetora deste composto, a CH foi acetilada utilizando anidrido acético para gerar a CHA (Figura 3).

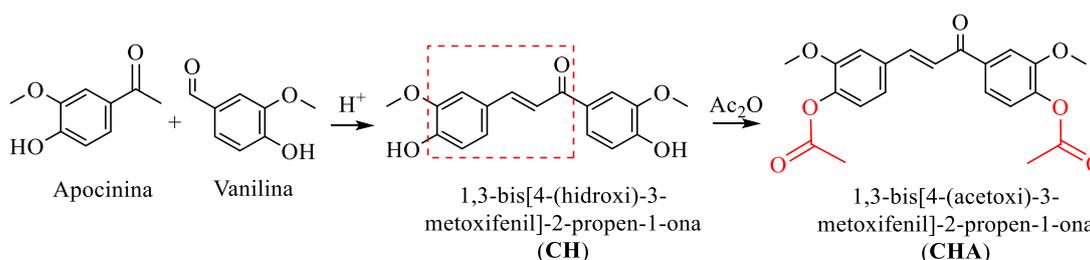


Figura 3: Semelhança estrutural entre o OMC e a curcumina. Esquema reacional de síntese do CH e CHA.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da CH apresentou todos os hidrogênios da molécula com as adequadas integrais, assim como os sinais de todos os carbonos presentes na molécula foram evidenciados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da CHA apresentaram sinais que confirmam o sucesso da acetilação, como os simpletos com deslocamento em 2,34 e 2,36 ppm referentes às metilas do grupo funcional éster, e os sinais em 168,60 e 168,81 ppm, referentes aos carbonos carbonílicos do mesmo grupo funcional.

Após a caracterização de MC, MCA, CH e CHA, estas substâncias e os filtros químicos comerciais OMC e OXB foram incorporados em um creme cosmético padrão, para gerar formulações fotoprotetoras na concentração de 10,0% (m/m). As formulações foram diluídas para as concentrações de  $1,0 \times 10^{-4}$ ,  $6,6 \times 10^{-5}$  e  $3,3 \times 10^{-5}$  M, e tiveram seus FPS-UVB determinados *in vitro*, conforme metodologia desenvolvida por Mansur et al. (1986) [20] (Tabela 2).

Tabela 2: FPS-UVB dos compostos **MC**, **MCA**, **CH** e **CHA** e dos filtros químicos comerciais **OXB** e **OMC**.

Formulação fotoprotetora	FPS-UVB <sup>a</sup> 1,0 X 10 <sup>-4</sup> M	FPS-UVB <sup>a</sup> 6,6 X 10 <sup>-5</sup> M	FPS-UVB <sup>a</sup> 3,3 X 10 <sup>-5</sup> M
<b>MC</b>	0,9 ± 0,05	0,6 ± 0,07	0,4 ± 0,03
<b>MCA</b>	5,2 ± 0,11	3,5 ± 0,21	1,8 ± 0,18
<b>CH</b>	5,4 ± 0,10	3,8 ± 0,10	2,0 ± 0,12
<b>CHA</b>	11,6 ± 0,10	8,1 ± 0,08	4,3 ± 0,15
<b>OMC</b>	18,8 ± 0,30	12,6 ± 0,13	6,1 ± 0,10
<b>OXB</b>	11,3 ± 0,50	8,5 ± 0,60	4,7 ± 0,30

<sup>a</sup> média ± estimativa do desvio-padrão (n = 3).

Os valores de FPS-UVB para formulações desenvolvidas neste trabalho variaram de 0,4 a 11,6, a depender do fotoprotetor analisado e sua concentração. Em adição, observou-se que a capacidade fotoprotetora dos compostos analisados, foi dependente da concentração dos filtros solares, de modo que aumentando a concentração destes na preparação fotoprotetora observou-se o aumento dos seus FPS-UVB. A *Food and Drug Administration* (FDA) recomenda que todos fotoprotetores tenham valores de FPS de 2,0 ou superior [26].

Assim, com base nesta recomendação, pode-se dizer que: (i) o baixo valor de FPS-UVB demonstrado pela **MC**, nas concentrações analisadas, limita seu emprego como filtro UVB; (ii) os compostos **MCA**, **CH** e **CHA** têm potencial para se tornarem filtros solares orgânicos constituintes de preparações fotoprotetoras, especialmente se combinados com outros filtros, a fim de garantir valores de FPS superiores.

Os compostos **CH** e **CHA** mostraram um bom nível de fotoproteção contra os raios UVB (FPS > 5,0), nas concentrações testadas. No entanto, dentre os compostos em estudo, o filtro UVB mais ativo foi a **CHA** (FPS = 11,6 ± 0,10) na concentração de 1,0 x 10<sup>-4</sup> M, enquanto que o seu precursor sintético (**CH**) apresentou menor valor de FPS-UVB (5,4 ± 0,10) quando analisado na mesma concentração. Da mesma forma, observou-se que o filtro **MCA** mostrou maior valor de FPS-UVB em comparação com seu precursor **MC**, indicando que a esterificação de **MC** e **CH**, gerando **MCA** e **CHA**, aumentou a capacidade de fotoproteção da radiação UVB desses compostos.

Os valores de FPS-UVB dos filtros solares contendo **CHA** e **OXB** foram semelhantes quando comparados nas mesmas concentrações, porém, menores que os valores de FPS da formulação contendo o filtro químico **OMC**. Atualmente, a descoberta de filtros solares com ação igual ou superior à **OXB** é de grande relevância para o desenvolvimento de novas preparações fotoprotetoras, uma vez que a **OXB** apresenta elevado potencial bioacumulativo em ambientes aquáticos, colocando em risco os ecossistemas [27]. Além disso, seus efeitos tóxicos na saúde humana também são investigados, e dentre os relatados, destacam-se: produção de radicais livres, efeito mutagênico e genotóxico, através da geração de danos oxidativos ao DNA, formação de dímeros pirimidínicos de ciclobutano, quebras e ligações cruzadas de DNA [28]. Assim, **CHA** pode ser uma alternativa ao emprego da **OXB** em formulações fotoprotetoras.

Outro ensaio *in vitro* realizado foi a determinação do comprimento de onda crítico ( $\lambda_c$ ). Este parâmetro é usado para medir o grau de proteção contra raios UVA, sendo considerado um teste qualitativo [5]. Assim, quanto maior for  $\lambda_c$ , melhor será a performance UVA em relação à UVB do filtro solar analisado. A radiação UVA é prejudicial e uma das principais responsáveis pela mutagenicidade, imunossupressão e fotoenvelhecimento da pele, sendo estes problemas evitados pelo uso de protetores solares que contenham filtros UVA em sua constituição [29].

O  $\lambda_c$  é classificado pela FDA em cinco categorias: 0 ( $\lambda_c < 325$  nm), 1 ( $325 \leq \lambda_c < 335$  nm), 2 ( $335 \leq \lambda_c < 350$  nm), 3 ( $350 \leq \lambda_c < 370$  nm) e 4 ( $\lambda_c \geq 370$  nm). Segundo a ANVISA (2012), para um composto conferir fotoproteção de amplo espectro, seu  $\lambda_c$  deve ser igual ou superior a 370 nm [30]. A Tabela 3 mostra os valores de  $\lambda_c$  obtidos para os filtros químicos em estudo, bem como para os filtros comerciais avaliados.

Tabela 3:  $\lambda_c$  dos filtros químicos em estudo e categorização segundo a FDA.

Filtro Químico	$\lambda_c$ (nm)	Categoria <sup>a</sup>
MC	394	4
MCA	391	4
CH	388	4
CHA	358	3
OMC	329	1
OXB	348	2

<sup>a</sup> Nível de proteção UVA segundo a FDA.

De acordo com as categorias da FDA, os filtros químicos **MC**, **MCA** e **CH** foram classificados como categoria 4 (amplo espectro) e, portanto, são capazes de bloquear uma ampla faixa da radiação UV. Dentre os compostos avaliados, **CHA** foi o único classificado como categoria 3, porém mesmo assim apresentou maior  $\lambda_c$  do que os dois filtros comerciais **OMC** (classificado como 1) e **OXB** (classificado como 2) analisados.

Assim, observou-se que apesar do **MC** ter mostrado baixo FPS frente à radiação UVB, sua classificação como filtro de amplo espectro ( $\lambda_c > 370$  nm) o torna um composto interessante como componente natural de formulações cosméticas. A curcumina, curcuminóide majoritário da **MC**, destaca-se por sua capacidade de proteger substâncias fotossensíveis [17] e por sua atividade antioxidante [31], características estas que aliadas a potencialidade fotoprotetora exibida nos testes realizados, torna a **MC** um promissor filtro químico de amplo espectro.

#### 4. CONCLUSÃO

Considerando os valores de FPS-UVB e o  $\lambda_c$  apresentado pelos compostos, a **CHA** é colocada em posição de destaque, visto que apresentou capacidade de proteção da radiação UVB semelhante à **OXB** associado a um  $\lambda_c$  categoria 3, ou seja, ampla capacidade de fotoproteção UVA. A **MCA** e a **CH**, apesar da moderada capacidade de proteção UVB, estes possuem ampla capacidade de fotoproteção, com  $\lambda_c$  categoria 4. Enquanto que **MC**, obtida completamente de fonte natural, apresentou menor FPS-UVB, dentre a pequena série analisada, contudo possui amplo  $\lambda_c$  (categoria 4), mostrando-se promissora para compor produtos cosméticos constituídos de ativos de origem natural em associação a outros filtros solares. Assim, **MC**, **MCA**, **CH** e **CHA** são promissores componentes ativos de formulações cosméticas fotoprotetoras.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq, à Capes e à Facepe pelo apoio financeiro.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Estimativa 2020. INCA [Internet]; 12 mai 2020 [citado em 26 mar 2022]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao>
2. Campos WRDA, Souza DCMD, Guimarães DG, Santos VLDA, Gonsalves ADA, Araújo CRM. Síntese mecaniquímica de azinas acíclicas simétricas e determinação do fator de proteção solar uvb *in vitro*. Quim Nova. 2019 Mar;42(3):305-12. doi: 10.21577/0100-4042.20170321
3. Palm MD, O'Donoghue MN. Update on photoprotection. Dermatol Ther. 2007 Nov;20(5):360-76. doi: 10.1111/j.1529-8019.2007.00150.x
4. Uzun M, Demirezer LO. Anti-aging power of *Rumex crispus* L.: Matrix metalloproteinases inhibitor, sun protective and antioxidant. S Afr J Bot. 2019 Jun;124:364-71. doi: 10.1016/j.sajb.2019.05.028
5. Polonini HC, Lopes RS, Beatriz A, Gomes RS, Silva AO, Lima RVD, et al. Synthesis and evaluation of octocrylene-inspired compounds for UV-filter activity. Quim Nova. 2014 Jun;37(6):1004-9. doi: 10.5935/0100-4042.20140160

6. Juang LJ, Wang BS, Tai HM, Hung WJ, Huang MH. Simultaneous identification of eight sunscreen compounds in cosmetic products using high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J Food Drug Anal.* 2008 May;16(6):22-8.
7. Murtinho DMB, Serra MES, Pineiro M. Síntese de fotoprotetores e sua imobilização em poli(metacrilato de metilo): um projeto integrado de química orgânica, química de polímeros e fotoquímica. *Quim Nova.* 2010;33(8):1805-8. doi: 10.1590/S0100-40422010000800032
8. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 211, de 14 de julho de 2005. Estabelece a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes [Internet]. Diário Oficial da União. 18 jul 2005;136(Seção 1):58-60. Disponível em: [http://bvms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0211\\_14\\_07\\_2005.html](http://bvms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0211_14_07_2005.html)
9. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC). Produtos naturais impulsionam cuidado com pele e cabelo. ABIHPEC [Internet]; 24 jul 2019 [citado em 26 mar 2022]. Disponível em: <https://abihpec.org.br/produtos-naturais-impulsionam-cuidado-com-pele-e-cabelo/>
10. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC). Setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos consolida alta de 5,8% entre os meses de janeiro e setembro de 2020. ABIHPEC [Internet]; 25 nov 2020 [citado em 26 mar 2022]. Disponível em: <https://abihpec.org.br/comunicado/setor-de-higiene-pessoal-perfumaria-e-cosmeticos-consolida-alta-de-58-entre-os-meses-de-janeiro-e-setembro-de-2020/>
11. Buso P, Radice M, Baldisserotto A, Manfredini S, Vertuani S. Guidelines for the development of herbal-based sunscreen. In: Builders P, editor. *Herbal medicine*. London (GB): IntechOpen; 2017. p. 43-61. doi: 10.5772/interchopen.72712
12. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE), Departamento de Assistência Farmacêutica (DAF). Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse para o SUS (RENISUS) [Internet]. Brasília [DF]: DAF; fev/2009. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnpmf/ppnpmf/arquivos/2014/renisus.pdf>
13. Pereira RCA, Moreira MR. Cultivo de *Curcuma longa* L. (açafraão-da-índia ou cúrcuma). Fortaleza (CE): Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E); 2009.
14. Sueth-Santiago V, Mendes-Silva GP, Decoté-Ricardo D, Lima MEF. Curcumina, o pó dourado do açafraão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. *Quim Nova.* 2015 Mai;38(4):538-52. doi: 10.5935/0100-4042.20150035
15. Jayaprakasha GK, Rao LJ, Sakariah KK. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chem.* 2006;98(4):720-4. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.06.037
16. Araújo CAC, Leon LL. Biological Activities of *Curcuma longa* L. *Mem do Inst Oswaldo Cruz.* 2001 Jul;96(5):723-8
17. Tonnesen HH, Másson M, Loftsson T. Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: solubility, chemical and photochemical stability. *Int J Pharm.* 2002 Set;244(1-2):127-35. doi: 10.1016/S0378-5173(02)00323-X
18. Brasil. Farmacopeia Brasileira. v. 2. 6. ed. Brasília (DF): Anvisa; 2019 (PM097-00).
19. Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. *Spectrometric identification of organic compounds*. 7. ed. United State of America: Wiley; 2005.
20. Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol.* 1986;61(3):121-4
21. Oliveira-Júnior RG, Souza RG, Guimarães AL, Oliveira AP, Araújo CS, Silva JC, et al. Photoprotective, antibacterial activity and determination of phenolic compounds of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) by high performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD) analysis. *Afr J Pharm and Pharmacol.* 2015 Jun;9(22):576-84. doi: 10.5897/AJPP2015.4315
22. Wakabayashi M, Okano K, Mukawa T, Maezawa D, Masaki H, Kuroda A, et al. Problems on the evaluation of the critical wavelength of sunscreens for “broad spectrum” approval brought on by viscous fingering during sunscreen application. *Photochem Photobiol.* 2016 May;92(4):637-43. doi: 10.1111/php.12598
23. Yoshida M, Watabiki T, Ishida N. Spectrophotometric determination of boric acid by the curcumin method. *Nihon Hoigaku Zasshi.* 1989 Dec;43(6):490-6.
24. Do Nascimento LF, Dos Santos EP, De Aguiar AP. Fotoprotetores orgânicos: Pesquisa, inovação e a importância da síntese orgânica. *Rev Virtual de Química.* 2014 Mar-Abr;6(2):190-223. doi: 10.5935/1984-6835.20140015
25. Aguiar MA, Novelli PHGS. Desenvolvimento de uma formulação cosmética antioxidante e fotoprotetora à base de curcumina. *Perspect Cienc Tecnol.* 2020 Abr;12:24-39. doi: 10.22407/1984-5693.2020.v12.p.24-39

26. Mota MD, Costa RYS, Guedes AS, Silva LCRC, Chinalia FA. Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations. *J Photochem Photobiol B, Biol.* 2019 Sep;201:111639. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111639
27. Dinardo JC, Downs CA. Dermatological and environmental toxicological impact of the sunscreen ingredient oxybenzone/benzophenone-3. *J Cosmet Dermatol.* 2018;17:15-9. doi: 10.1111/jocd.12449
28. Downs CA, Kramarsky-Winter E, Segal R, Fauth J, Knutson S, Bronstein O, et al. Toxicopathological effects of the sunscreen uv filter, oxybenzone (Benzophenone-3), on coral planulae and cultured primary cells and its environmental contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2016;70(2):265-88. doi: 10.1007/s00244-015-0227-7
29. Reis JS, Corrêa MA, Ribeiro CA, Santos JL. Synthesis and evaluation of 1,3,5-triazine derivatives as sunscreens useful to prevent skin câncer. *Bioorg Med Chem.* 2019 Dec;29(24):126755. doi: 10.1016/j.bmcl.2019.126755
30. Reis JS, Corrêa MA, Chung MC, Santos JL. Synthesis, antioxidant and photoprotection activities of hybrid derivatives useful to prevent skin cancer. *Bioorg Med Chem.* 2014 May; 22(9):2733-8. doi: 10.1016/j.bmc.2014.03.017
31. Llano S, Gómez S, Londoño J, Restrepo A. Antioxidant activity of curcuminoids. *Phys Chem Chem Phys.* 2019 Jan;21(7):3752-60. doi: 10.1039/C8CP06708B