



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA**

**EMÍLIA BARBOSA GUIMARÃES**

**Efeito fotoprotetor do ácido tânico em gel-creme e estudos de fluorescência, permeação e  
retenção cutânea *in vitro*.**

**Recife, PE  
2022**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

**Efeito fotoprotetor do ácido tânico em gel-creme e estudos de fluorescência, permeação e retenção cutânea *in vitro*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira.

Coorientadores: Prof. Dr. Severino Alves Júnior  
Prof. Dr<sup>a</sup>. Leila Bastos Leal

Recife, PE  
2022

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Guimarães, Emília Barbosa

Efeito fotoprotetor do ácido tânico em gel-creme e estudos de fluorescência, permeação e retenção cutânea *in vitro* / Emília Barbosa Guimarães. – 2022.

1 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso.

Coorientador: Prof. Dr. Severino Alves Júnior.

Coorientador: Profa. Dra. Leila Bastos Leal.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.  
Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em  
Morfofotecnologia, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Pele. 2. Fármacos dermatológicos. 3. Radiação solar. I. Cardoso, Jeymesson Raphael (orientador). II. Alves Júnior, Severino (coorientador). III. Leal, Leila Bastos (coorientadora). IV. Título.

616.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-211

**EMÍLIA BARBOSA GUIMARÃES**

**"EFEITO FOTOPROTETOR DO ÁCIDO TÂNICO EM GEL-CREME E ESTUDOS  
DE FLUORESCÊNCIA, PERMEACÃO E RETENÇÃO CUTÂNEA *IN VITRO*"**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Aprovada em: 31/08/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup>. Dr. Jeymeson Raphael Cardoso Vieira  
(Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof<sup>a</sup>. Dr. Wheverton Ricardo Correia do Nascimento  
(Examinador Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Maria Silva de Seixas Maia  
(Examinadora Externa)  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr<sup>a</sup>. Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos  
(Examinadora Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico esta qualificação à minha mãe Cássia Barbosa, à minha família e ao meu orientador prof. Dr. Jeymesson Vieira.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, aos bons espíritos e ao meu anjo guardião por toda luz, proteção e inspiração;

À minha mãe Cássia por sua fortaleza e perseverança;

A minha família, em especial a Clovis Barbosa pelo amor e cuidado;

À Família Barbosa de Barros por todo amor, suporte e esmero, especialmente a Viviane Barros;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jeymesson Vieira pela diretriz e pela rigidez de caráter e ética, sendo uma inspiração como professor e ser humano;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Severino Alves Júnior pelo incentivo e apoio;

À Prof. Dr<sup>a</sup>. Luciana Maria Silva de Seixas Maia pela inspiração e ensinamentos;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Leila Bastos Leal pelo suporte e a todos do NUDFAC;

Ao professor Dr. Paulo Euzébio do departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE pelo suporte e disponibilidade;

Ao doutorando Edson Reis do Programa de Pós Graduação em Ciência de Materiais da UFPE pelo suporte e disponibilidade;

Ao doutorando Yuri Albuquerque e a todos do laboratório BSTR da UFPE;

A todos que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, do Departamento de Histologia e Embriologia da UFPE;

A todos do departamento de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas de Pernambuco;

A todos que contribuíram com este estudo;

*A vida é feita de desafios que, com a ajuda de muitas mãos, visíveis e invisíveis, torna-se possível escalar montanhas pretendidas, tranquilamente ou arduamente, dependendo se sua mão está igualmente estendida.*

*(Emília Guimarães)*

## RESUMO

A radioatividade e as radiações ionizantes fazem parte do meio ambiente, no entanto, não são percebidas naturalmente pelos órgãos dos sentidos do corpo humano, diferindo-se da luz visível e do calor. A Luz ultravioleta advinda do sol, ao atingir a pele desprotegida, com ação cumulativa, pode causar danos, sofrendo mutações que, posteriormente, podem resultar em transformações malignas da célula, fazendo com que se torne importante a investigação de fotoprotetores e/ou mitigadores com ação efetiva, baixa toxicidade e, ao mesmo tempo, acessível a todos. Este estudo tem por objetivo estudar a fluorescência, permeação e retenção cutânea *in vitro* do ácido tânico (AT) e efeito fotoprotetor de gel-creme à base de AT. Para a avaliação da fluorescência foi utilizado AT a 5% diluído em água. Para a avaliação da permeação e retenção cutânea foram utilizadas as formulações: 1 (gel-creme), 2 (AT 5% em água) e 3 (AT 5% em gel-creme). Para o efeito fotoprotetor foram testadas cinco formulações diferentes: Formulação A (AT a 5% diluído em água (1:18)); Formulação B (Gel-creme base com AT a 5%); Formulação C (Gel-creme base com filtros físicos); Formulação D (Gel-creme base com AT a 5% e filtros físicos); Formulação E (Gel-creme base com AT a 2,5% e filtros físicos). Os resultados das avaliações mostraram que o AT foi incorporado às formulações de gel-creme, evidenciou uma autofluorescência, permaneceu retido à epiderme quando diluído em água ou em gel-creme e demonstrou um FPS de 26,4 com um nível de proteção adequado contra UVB, sendo importante a observação de suas interações com outros compostos. Estes resultados sugerem que o AT pode ser empregado como sonda de fluorescência, utilizado em estudos e aplicações de produtos que protejam e/ou tratem a camada mais superficial da pele, além de ser um composto com potencial proteção UVB.

**Palavras-chave:** Ácido tânico; Fluorescência; Fotoproteção; Permeação cutânea.

## ABSTRACT

The incidence of damage such as skin cancer arising from ultraviolet radiation makes it important to investigate new photoprotectors accessible to all. This study evaluated the photoprotective effect in gel-cream and the fluorescence, in vitro skin permeation and retention of tannic acid (TA). TA 5% in water was used to evaluate fluorescence and formulations 1 (cream-gel), 2 (TA 5% in water) and 3 (TA 5% in cream-gel) were used to evaluate permeation and retention into skin. Five different formulations were tested to photoprotective effect: Formulation A (TA 5% diluted in water (1:18)); Formulation B (Gel-cream base with TA 5%); Formulation C (Gel-cream base with physical filters); Formulation D (Gel-cream base with TA 5% and physical filters); Formulation E (TA 2.5% in gel-cream base and physical filters). TA was incorporated into gel-cream formulations evidencing auto-fluorescence, remaining retained to the epidermis showing an SPF of 26.4 with an adequate level of protection against UVB, considering its interactions with other compounds. The results suggest that TA can be used as a fluorescence probe and in products to protect and/or treat the most superficial layer of the skin, besides being a compound with potential UVB protection.

Keywords: Fluorescence; Photoprotection; Skin permeation; Tannic acid.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Representação das camadas da pele: estrato córneo, epiderme, derme e hipoderme.....	19
<b>Figura 2</b> - Representação da absorção dos raios ultravioletas na pele humana .....	20
<b>Figura 3</b> - Molécula e forma comercial do ácido tânico .....	23
<b>Figura 4</b> - Vias de permeação cutânea de fármacos .....	26
<b>Figura 5</b> - Célula de difusão de FRANZ .....	27
<b>Figura 6</b> - Processo de montagem do sistema de células de difusão de Franz .....	32
<b>Figura 7</b> - Espectrofotômetro AGILENT, Cary 60 UV-Vis e cubeta de quartzo de 1,0cm ....	33
<b>Figura 8</b> - Emissão de luz do Ácido Tânico .....	35
<b>Figura 9</b> - Processos de emissão de fluorescência do ácido tânico .....	36
<b>Figura 10</b> - Demonstrativo de permeação ou retenção cutânea do ácido tânico a 5% em água e em gel creme.....	38

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda (adaptado de MANSUR, et al., 1986) .....34

**Tabela 2** - Cálculo do FPS da formulação A: ácido tânico a 5% em água (1:18) com valores das médias das absorvâncias para cada comprimento de onda (290-320nm) .....41

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\lambda$ -	Comprimento de onda
( $\lambda_{\text{max}}$ ) -	Comprimento de onda máximo
$\Sigma$ -	Somatório
3D -	Tridimensional
<b>Abs</b> -	Leitura espectrofotométrica da absorbância do composto
( $A_{\text{max}}$ ) -	Absorbância máxima
<b>ANVISA-</b>	Agência de Vigilância em Saúde
<b>AT</b> -	Ácido Tânico
<b>BHT</b> -	Di-terc-butil metil fenol
<b>CB</b> -	Centro de Biociências
°C -	Grau Celsius
<b>CC</b> -	Camada Córnea
<b>CLAE-UV</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector de ultravioleta
<b>cm</b> -	Centímetro
<b>cm<sup>2</sup></b> -	Centímetro quadrado
<b>Cu-</b>	Cobre
<b>DNA</b> -	Ácido Desoxirribonucléico
<b>dil.</b> -	Diluição
<b>EC</b> -	Extrato Córneo
<b>EDTA</b> -	Ácido etilenodiamino tetra-acético
<b>EE</b> -	Efeito eritemogênico da radiação;
<b>EROS-</b>	Espécies Reativas de Oxigênio
<b>FC-</b>	Fator de correção
<b>FPS</b> -	Fator de Proteção Solar
<b>FTIR-</b>	Infravermelho com Transformada de Fourier
<b>g</b> -	Gramas
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> -	Água Oxigenada
<b>I</b> -	Intensidade da radiação
<b>IV-</b>	Infravermelho
<b>kDa</b> -	KiloDalton

<b>m<sup>2</sup>-</b>	Metros quadrados
<b>mg -</b>	Miligrama
<b>mL-</b>	Mililitros
<b>mm-</b>	Milímetros
<b>nm -</b>	Nanômetro
<b>NP s-</b>	Nanopartículas
<b>NUDFAC</b>	Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético
<b>OG -</b>	Óxido de Grafeno
<b>OMS-</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PA -</b>	Puro
<b>PEG -</b>	Polietilenoglicol
<b>PVP-</b>	Polivinilpirrolidona
<b>PVA-</b>	Poliálcoolvinílico
<b>PPM -</b>	Partes por milhão
<b>PVP-</b>	Polivinilpirrolidona
<b>p/v -</b>	Peso/Volume
<b>q.s.p.-</b>	Quantidade Suficiente Para
<b>rpm -</b>	Rotações por Minuto
<b>SPSS -</b>	Statistical Package for the Social Sciences
<b>T.A. -</b>	Temperatura Ambiente
<b>TCLE -</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>µl -</b>	Microlitro
<b>µm -</b>	Micrômetro
<b>UV ou UV-R -</b>	Radiação Ultravioleta
<b>UVA -</b>	Radiação Ultravioleta tipo A
<b>UVB -</b>	Radiação Ultravioleta tipo B
<b>UVC -</b>	Radiação Ultravioleta tipo C
<b>UFPE -</b>	Universidade Federal de Pernambuco

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
2.1 ESTRUTURA DA PELE.....	17
2.1.1 Estrato córneo (EC).....	17
2.1.2 Epiderme .....	18
2.1.3 Derme.....	18
2.2 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV).....	19
2.3 ATIVIDADE FOTOPROTETORA.....	20
2.3.1 Fator de proteção solar (FPS).....	21
2.4 ÁCIDO TÂNICO .....	22
2.5 PERMEAÇÃO E RETENÇÃO CUTÂNEA.....	23
2.6 MÉTODOS ALTERNATIVOS DO USO DE ANIMAIS EM PEQUISAS CIENTÍFICAS .....	26
2.7 CÉLULA DE DIFUSÃO DE FRANZ.....	27
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
3.1 OBJETIVO GERAL.....	28
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>29</b>
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO .....	29
4.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO .....	29
4.3 CASUÍSTICA .....	29
4.3.1 Critérios de inclusão .....	29
4.3.2 Critérios de exclusão .....	29
4.4 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA .....	29
4.4.1 Aquisição do ácido tânico .....	29
4.4.2 Desenvolvimento de formulações para determinação do FPS.....	30
4.5 CAPACIDADE DE FLUORESCÊNCIA DO ÁCIDO TÂNICO.....	31
4.6 ESTUDOS DE PERMEAÇÃO E RETENÇÃO CUTÂNEA .....	31
4.6.1 Estudos de permeação e retenção cutânea de gel-creme à base de ácido tânico.	31
4.6.2 Seleção do meio receptor.....	31
4.6.3 Obtenção e dermatomização da pele suína .....	31

<b>4.6.4 Montagem do sistema automatizado de células de difusão de franz.....</b>	<b>31</b>
<b>4.6.5 Avaliação da permeação cutanea por microscopia de fluorescência.....</b>	<b>32</b>
4.7 TESTE DE ABSORBÂNCIA .....	32
4.8 AVALIAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS) .....	33
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

É de conhecimento geral que as radiações ionizantes fazem parte do meio ambiente. Deste tipo de radiação fazem parte as radiações ultravioletas (UV-R), que são aquelas emitidas pelo sol. A exposição da pele à UV-R tem o potencial de causar danos direto ao DNA da célula (Valencia-Islas, 2021), constatando que a acumulação de todos os processos relativos à UV-R pode originar efeitos como: fotocarcinogênese, fotoimunossupressão, fotoenvelhecimento, queimaduras solares/eritema e fotoalergia (Tosato et al., 2015).

A UV-R varia de 100 a 380nm em comprimento de onda, sendo subclassificada em UV-A (320–380 nm), UV-B (280–320nm) e UV-C (100–280 nm) (Singer, et al., 2019), sendo esta última não transponível à camada de ozônio da terra.

Proteger a pele com roupas e acessórios adequados e fazer o uso de protetores solares, evitando a exposição direta e constante da pele ao sol são ações de extrema importância.

A ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária Brasileira), através da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 30 de 2012, define protetor solar como: “qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UV-B e UV-A absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação”.

Foram determinadas algumas categorias para classificar o Fator de Proteção Solar (FPS), sendo elas: Proteção Baixa com FPS entre 6 e 10, Proteção Média com FPS entre 15 e 25, Proteção Alta com FPS entre 30 e 50 e Muito Alta com FPS a partir de 50. Para ser tido como protetor solar UV-B, no produto deve haver um FPS mínimo de 6 (Wang et al., 2017).

De acordo com a ANVISA, resolução da diretoria colegiada – RDC N° 69, de 23 de março de 2016, filtros UV “são substâncias que, quando adicionadas aos produtos para proteção solar, têm a finalidade de filtrar raios ultravioletas, visando proteger a pele de certos efeitos danosos causados por estes raios”. Os filtros UV tradicionais são divididos principalmente em filtros inorgânicos e orgânicos (Aguzzi et al., 2019), onde os inorgânicos são responsáveis por refletir a radiação emitida a partir de diferentes comprimentos de onda na região do UV e os orgânicos são os que exibem a presença de compostos orgânicos capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiações que são inofensivas ao corpo humano.

O uso de substâncias antioxidantes junto com fotoprotetores em formulações para a pele é benéfico para retardar o envelhecimento e prevenir o câncer de pele (Valencia-Islas,

2021). Diversos trabalhos também investigam a ação dos antioxidantes na fotoproteção, onde avaliam sua ação na prevenção da formação de eritema cutâneo, por meio da determinação do valor de Fator de Proteção Solar (FPS), como também seus efeitos protetores diante dos danos moleculares gerados por estresse oxidativo induzido por outros tipos de radiação (Balogh et al., 2011).

Considerando que a utilização da terapêutica centrada no uso de medicamentos sintéticos não cumpre a promessa de dar conta do tratamento das doenças pelos altos custos, pelos significativos efeitos adversos e resultados nem sempre satisfatórios (Bruning et al., 2012), o ácido tânico se mostra, como droga à base de planta e tendo baixo custo, uma excelente alternativa frente a drogas sintéticas por apresentarem baixa toxicidade (Rasoainavo et al., 2011).

A penetração cutânea é avaliada como um método atrativo da administração de medicamentos por sua natureza não invasiva, evitando o metabolismo de primeira passagem (Prausnitz et al., 2004) e meio escolhido para este estudo na aplicação de um gel-creme à base de ácido tânico em pele suína, utilizada por ter grande semelhança com a pele humana. Os sistemas de administração transdérmica, possibilitam a ocorrência de uma liberação controlada através da pele de fármacos neles contidos. Deste modo, a sua incorporação nestas formas farmacêuticas faz com que estes apresentem uma velocidade de absorção sistêmica constante e prolongada, com conseqüente permanência dos seus efeitos terapêuticos por longos períodos de tempo (Committee for Medicinal Products for Human Use, 2014). No entanto, a capacidade do estrato córneo (SC) em proteger o corpo humano de patógenos externos e na evaporação da umidade cria um aqulador desafio para a permeação de grandes drogas (Zhang et al., 2017). Em vista disso, este estudo objetivou avaliar a fotoproteção do ácido tânico em pele suína e estudar sua fluorescência, permeação e retenção cutânea *in vitro*.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ESTRUTURA DA PELE

A pele humana tem em média 0,5 mm de espessura (variando de 0,05 mm a 2 mm) e é composta por quatro camadas principais: o estrato córneo (EC), epiderme, derme e hipoderme (tela subcutânea) e representa cerca de 15% do peso corporal total de um adulto com área superficial de aproximadamente  $2\text{m}^2$  (Amit et al., 2012).

As células presentes na epiderme apresentam habilidade para absorver certas substâncias e recusar outras, determinadas por estados físico-químicos naturais como: viscosidade, ampla ligação do colágeno e seus apêndices, faixa etária ou comorbidades existentes. A ação efetiva ou não, dos fármacos liberados, dependem da anatomia, aspecto hídrico, presença de lipídios na sua estrutura, do aparecimento de patologias, do metabolismo e estado de saúde do paciente (Polacow et al., 2005).

A função de barreira da pele é criada por grânulos lamelares, que são sintetizados na camada granular e depois organizados no domínio da bicamada lipídica intercelular do EC. Os lipídios de barreira são bem controlados e a qualquer comprometimento da pele resultam em processos de síntese ativa para restaurá-los (Elias; Feingold, 1988).

A indústria farmacêutica e instituições públicas e privadas de ensino em todo o mundo realizam pesquisas com o intuito de possibilitar condutas terapêuticas eficientes, com resultados clínicos rápidos e seguros. Nesse sentido, em um mundo cada vez mais globalizado e competitivo, a eficácia terapêutica dos medicamentos de liberação transdérmica tem chamado a atenção da sociedade (Badran et al., 2009).

#### 2.1.1 Estrato córneo

Uma camada superficial espessa (10-20  $\mu\text{m}$ ), o estrato Córneo (EC), é altamente hidrofóbico, contendo 10-15 camadas de corneócitos interdigitados, que são constantemente renovados. Sua organização pode ser descrita pelo modelo "tijolo e argamassa", na qual os lipídios extracelulares representam 10% do peso seco desta camada e 90% são proteínas intracelulares (queratina). Estas membranas enriquecidas com lipídios possuem uma estrutura única e contêm aproximadamente 50% de ceramidas, 25% de colesterol e 15% de ácidos graxos livres com muito pouco fosfolipídios que estão dispostos em um formato de bicamada e formam os chamados "canais lipídicos" (Schürer *et al.*, 1991; Feingold; Elias, 2014).

A pele em seu estado íntegro age como uma barreira natural, conferindo uma proteção física primária ao organismo (MCgrath; Uitto, 2010). Devido à sua composição lipídica, o EC limita a perda de água transepidérmica e a absorção de substâncias exógenas (Gratieri et al., 2008).

Os lipídios desempenham um papel chave na manutenção da pele humana e alterações destes significam modificações na estrutura do EC. A barreira epidérmica promove proteção através de mecanismos físicos, químicos e imunológicos. A barreira física é constituída pelos corneócitos do EC e filme acidificado presente na superfície cutânea. O baixo pH da camada mais externa da pele é importante para a regulação da atividade enzimática e inflamatória. Além disso, a barreira física previne a entrada de agentes patogênicos e modula a perda de água do organismo (Jia et al., 2017).

A permeação de substâncias na pele depende, principalmente, de suas propriedades físico-químicas, do seu comportamento quando colocado em um sistema farmacêutico apropriado e, finalmente, da pele (Chorilli et al., 2007).

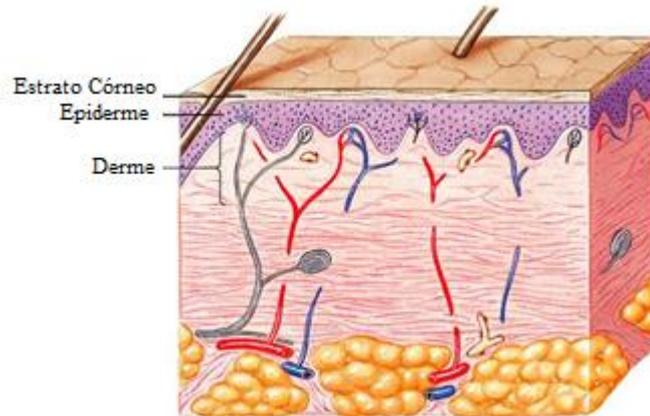
### **2.1.2 Epiderme**

A epiderme é constituída de várias camadas de queratinócitos, cerca de 95% das células, estes sofrem um processo de queratinização, em que há mitose, sucedendo em movimento na direção superficial a partir da camada basal, através da camada espinhosa e da camada granulosa, para a camada mais externa, a camada córnea (CC). Ao atingirem a CC as células transformam-se em anucleadas e achatadas, passando a chamar-se corneócitos que serão, em seguida, extintas no processo de descamação da pele. A CC constitui, assim, a epiderme não viável. Intercaladas entre os queratinócitos na epiderme viável, encontram-se células com funções especializadas, tais como melanócitos, células de Merkel e funções imunológicas (Langerhans e outras células). Além disto, existem ainda anexos da pele, como folículos pilosos, glândulas sebáceas associadas e glândulas sudoríparas (Wickett; Visscher, 2006; Prow *et al.*, 2011).

### **2.1.3 Derme**

A derme é a camada mais espessa (1 a 4 mm), e é constituída por uma ampla diversidade de células, ramos nervosos, vasos sanguíneos e linfáticos agregados numa vasta rede de tecido conjuntivo denso, sendo os seus principais componentes as fibras de colágeno, elastina e por uma matriz extracelular. As fibras de colágeno podem chegar a corresponder até 70% do peso

seco da derme. Localizada abaixo da epiderme e acima da hipoderme (camada mais profunda da pele). Assim, é a camada intermediária e mais consistente da pele. A sua principal função é garantir a elasticidade e resistência da pele. Por ser uma região ricamente vascularizada, é responsável ainda pela nutrição e oxigenação da epiderme (Amit et al., 2012).



**Figura 1** – Representação das camadas da pele: estrato córneo, epiderme, derme. (Fonte: <https://blogfisioestetica.blogspot.com>).

## 2.2 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV)

A pele é o maior órgão sensorial do nosso corpo e devido ao seu tamanho e localização, a pele é um dos órgãos mais expostos a estímulos externos (Zimmerman, 2018).

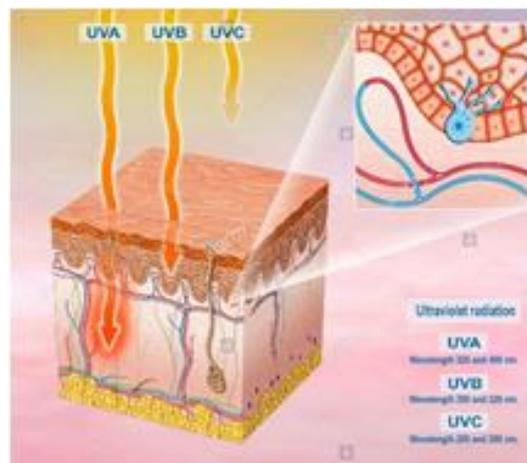
O câncer de pele é a doença maligna humana mais comum em todo o mundo e a radiação ultravioleta solar (UV) é conhecida por desempenhar um papel importante na sua patogênese (Jeon et al., 2021).

A radiação ultravioleta solar (UV-R) é caracterizada, em comprimento de onda (Figura 2) que são os fatores ambientais mais importantes na causa câncer de pele e fotoenvelhecimento, devido à sua citotoxicidade, genotoxicidade e fototoxicidade. Em particular, a radiação UVA e UVB constitui 95% e 3% da irradiação UV diária. A irradiação UVA pode induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) indireta ou diretamente; essas EROS penetram na epiderme, resultando em dano oxidativo e morte celular. A irradiação UVB é predominantemente absorvida por cromóforos, como o DNA nuclear, que dão início a uma série de processos. Nas últimas décadas, a radiação ultravioleta tornou-se um sério problema de saúde pública e continua sendo um fator de risco mundial (Jeon et al., 2021).

A energia da radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda, assim a radiação UV é a de menor comprimento de onda e, conseqüentemente, a mais energética, ou seja, a mais propensa a induzir reações fotoquímicas, tendo como consideração importante a

capacidade desta radiação permear a estrutura da pele. A radiação UV de energia menor penetra mais profundamente na pele e, ao atingir a derme, é responsável pelo fotoenvelhecimento (Osterwalder et al., 2001). Associam-se à radiação UVA os efeitos do envelhecimento precoce da pele. Danos ao DNA, geração de inflamação e carcinogênese são características associadas à radiação UVB (Balogh et al., 2011). A magnitude do dano ao DNA, depende da presença de antioxidantes e pode ser minimizada com o uso de agentes fotoprotetores. (Bowsher et al., 2008; Arora, 2005).

Embora a pele apresente um complexo sistema antioxidante (Woodby et al., 2020), problemas surgem quando a exposição aos raios ultravioleta se torna crônica, levando a uma mudança no equilíbrio entre as espécies oxidantes e antioxidantes em direção à oxidação com consequente esgotamento do sistema de defesa da pele (Packer, 2002). Efetivamente, a exposição crônica aos raios ultravioleta foi associada a queimaduras solares, apoptose celular, danos ao DNA e fotocarcinogênese (Young et al., 2017; Furukawa et al., 2021).



**Figura 2** - Representação da absorção dos raios ultravioletas na pele humana (fonte: [www.alamy.de](http://www.alamy.de)).

### 2.3 ATIVIDADE FOTOPROTETORA

Em 1891 Hammer publicou uma monografia significativa sobre a influência da luz na pele (Hammer, 1892). Nela, ele revisou as evidências de que o eritema solar era principalmente devido aos efeitos acumulados da radiação ultravioleta, sendo o primeiro a recomendar especificamente o uso de protetores solares químicos.

Para preservação da saúde da pele, a fotoproteção é fundamental para diminuir a hiperpigmentação pós-inflamatória, evitar o fotoenvelhecimento e a fotocarcinogênese. Driblar o sol, abrigar-se à sombra, fazer uso de roupas fotoprotetoras,

chapéus e óculos de sol e aplicar protetores solares de amplo espectro são mecanismos que devem ser usados na fotoproteção (Cohen et al., 2020; Burnett et al., 2012).

O uso de filtro solar tem sido o método mais eficaz para reduzir a prevalência de risco de câncer de pele induzido pelos raios UV (Watts et al., 2018). A proteção vem de seus componentes conhecidos como filtros UV que são moléculas ou complexos moleculares que podem absorver, refletir ou dispersar a radiação UV (Young et al., 2017).

Existem duas classes de filtros UV usados em filtros solares: o orgânico (químico) e os inorgânicos (minerais).

Os principais filtros orgânicos são os derivados do ácido para-aminobenzóico (PABA), benzofenonas, salicilatos, cinamatos e outros. A oxobenzona é a benzofenona mais comumente usada e absorve UVB e UVA curto (Mancuso et al., 2017). Neste tipo de filtro existe a presença de compostos orgânicos capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiações de menor energia, que são inofensivas ao corpo humano. De um modo geral, são compostos aromáticos com grupos carboxílicos. Também apresentam um grupo doador de elétrons (uma amina ou um grupo metoxila) na posição *orto* ou *para* do anel aromático. Nos filtros orgânicos temos a presença de compostos orgânicos igualmente capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiações de menor energia. (Davalos et al., 2007; Zachariadis; Sahanidou, 2009). Quando a radiação é absorvida os elétrons são excitados e, ao voltar ao seu estado principal, a sobra de energia é dispensada na forma de calor.

Os filtros solares inorgânicos são representados por dois óxidos, ZnO e TiO<sub>2</sub>. Estes filtros solares representam a forma mais segura e eficaz para proteger a pele (Schueller; Romanowski, 2000), apresentando baixo potencial de irritação. Estes filtros são responsáveis por refletir a radiação emitida a partir de diferentes comprimentos de onda na região do UV.

### **2.3.1 Fator de proteção solar (FPS)**

A eficácia do filtro solar é medida pelo FPS, uma avaliação da proporção da dose eritemal mínima de radiação UV em pele protegida por filtro em comparação com a pele desprotegida (Berstein et al., 2020; Nohynek; Schaefer, 2001).

Diante dos efeitos lesivos causados pelas radiações, evidencia-se a importância de adquirir conhecimentos sobre as substâncias fotoprotetoras, pois elas atuam protegendo o tecido vivo e diminuindo os danos a ele causados (Siqueira et al., 2014). Tendo em vista que a maioria dos fotoprotetores sintéticos apresentam efeitos colaterais tóxicos nas concentrações necessárias para a prática médica, justifica-se a necessidade de identificar compostos naturais,

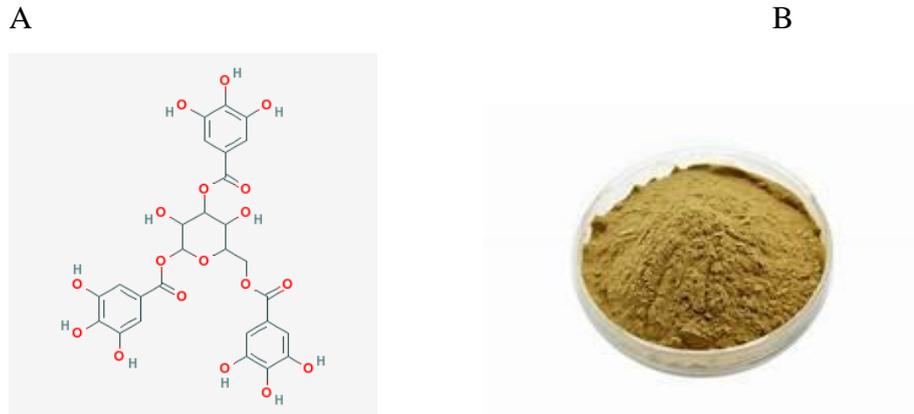
efetivos, não tóxicos e de fácil disponibilidade com habilidade fotoprotetora (Spigoti et al., 2009).

Cientistas continuam a busca por filtros UV seguros e eficientes, buscando inspiração em fontes naturais, incluindo plantas e microorganismos, tendo como vantagem adicional desses filtros UV baseados em plantas o amplo perfil de absorção de UV que cobre a região do UVB (280-315 nm) do espectro solar e se estende até o UVA (315-400 nm), onde há um dispersão de filtros UV eficientes. (Abiola, 2020).

Como a aplicação tópica de compostos antioxidantes tem se mostrado segura e eficaz para proteger a pele de estressores externos (Pambianchi et al., 2020; Hoskin et al., 2021), a necessidade de encontrar novas moléculas protetoras oferece caminhos interessantes para pesquisas futuras (Huntley, 2010). Compostos naturais com efeitos antioxidantes, fotoprotetores e antimelanogênicos são investigados no contexto das propriedades fotoprotetoras e antimelanogênicas da pele (Jeon et al., 2021).

## 2.4 ÁCIDO TÂNICO

O ácido tânico é descrito como sendo um grupo de moléculas fenólicas de origem natural, que apresenta uma ou mais hidroxila ligada ao anel benzênico. É caracterizado por ter uma ampla atividade biológica, apresentando propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, anticancerígenas e influenciando diretamente na atividade de algumas enzimas e proteínas (Karas; Valentová, 2017). Este composto fenólico, não flavonóide, tem alto peso molecular e boa solubilidade em água (Khanbabaee; Ree, 2001), tendo como fórmula molecular  $C_{76}H_{52}O_{46}$  (Mattos, 2009) (Figura 3). É extraído principalmente de microorganismos ou plantas e também já é utilizado de forma comercial como mistura de taninos gálicos, tendo custo viável. Pertence à classe dos taninos hidrolisáveis com a presença de um grupo poliol central (em sua maioria, é  $\beta$ -d- glicose, mas também ácido químico, outros fenóis e outros glicósidos), além de hidroxilas esterificadas pelo ácido gálico (parte fenólica) (Khanbabaee; Ree, 2001).



**Figura 3** – (A) Molécula do ácido tânico (Fonte: <https://chemistryallaround.blogspot.com>); (B) - ácido tânico em pó - forma comercial (Fonte: <http://spanish.ceresherb.com>).

Os taninos são substâncias amplamente distribuídas em alimentos e bebidas. Esta classe de compostos possui a habilidade de formar complexos insolúveis, em água, com alcalóides, gelatina e outras proteínas. Estes compostos possuem importantes características gustativas responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais a exemplo de vinhos, sucos de frutas, chás e outras bebidas (Simões et al., 2004).

É reconhecido também que os taninos possuem atividades biológicas como agentes antioxidantes (sequestrador de radicais livres), anti-mutagênicos e antimicrobianos. Como também, são atribuídas a eles atividades fisiológicas na estimulação de células fagocíticas e atividades anti-tumorais (Loguercio, 2005). Suas atividades biológicas decorrem de suas habilidades de se complexarem com outras moléculas protéicas, por meio de ligações cruzadas, formando redes de reticulações (Mello; Santos, 2001).

Entre as propriedades farmacológicas estudadas em produtos naturais está à ação fotoprotetora. A atividade fotoprotetora permite avaliar a habilidade dos princípios ativos extraídos de plantas em proteger a pele de eritemas, edemas, reduzir o risco de queimaduras e o risco de carcinoma de células da camada basal e espinhosa (Oliveira-Júnior et al., 2012; Santana et al., 2012; Polonini et al., 2011).

## 2.5 PERMEACÃO E RETENÇÃO CUTÂNEA

A entrega de fármacos direcionada à epiderme humana como via alternativa de tratamento é um evento desafiador, mesmo possuindo uma área superficial prontamente acessível para potencial absorção de drogas. Uma abordagem racional para arquitetar e potencializar a formulação destinada a ação de fármacos tópicos ou sistêmicos requer modelos

bem definidos e eficientes na identificação e avaliação das propriedades inerentes da formulação (Flaten et al., 2015).

A via dérmica e transdérmica oferecem maior área de superfície e terapia medicamentosa. A administração do fármaco sobre a pele facilita tanto no manejo de distúrbios sistêmicos quanto tópicos (Alexandre et al., 2013). ALLEN, J.R.; LOYD, V. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. Tradução Elenara Lemos Senna, ed. 9, 2018. Disponível em: <https://docero.com.br/doc/x8185c>

A administração tópica de um medicamento é uma técnica indolor e uma via perfeita para o manejo daqueles distúrbios que requerem terapia de longo prazo (Seetharam, 2020).

Para utilização ampla e potente de via tópica, é importante otimizar a entrega da substância ativa através da pele. O tipo de veículo pode melhorar o resultado desejado da terapia, logo, a otimização das formulações da pele é frequentemente incluída nos estágios iniciais do desenvolvimento do produto (Lam; Gambari, 2014). A membrana utilizada nas pesquisas é outro fator decisivo no direcionamento dos ensaios de permeação "*in vitro*". As membranas sintéticas não possuem as características anatômicas e fisiológicas da epiderme, assim, o ideal é realizar estes estudos com membranas naturais, humana ou animal como a pele do porco (Sato et al., 2007).

As principais vias de entrada de substâncias nas camadas da pele são três. Em primeiro lugar, a via intercelular que se destina principalmente a moléculas lipofílicas de tamanho pequeno, que passam entre os corneócitos do estrato córneo (EC). Em segundo lugar, a via transmembrana, faz o transporte através dos corneócitos, sendo muito seletiva e principalmente para moléculas polares ou hidrofílicas. Por último, a *transvia*-appendageal, através de glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos, usadas principalmente para substâncias solúveis em água, neste caso os apêndices atuam como reservatórios locais (Dabrowska et al., 2018).

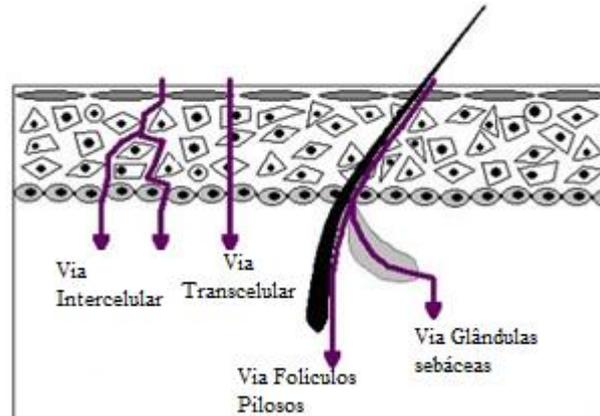
Desta forma, moléculas lipossolúveis apresentam maior facilidade para se difundir no EC, mas sua permeação através da região hidrofílica da bicamada pode ser prejudicada. Em consequência disso, para ter uma penetração satisfatória através desta camada da pele, a molécula estudada precisa apresentar um balanço adequado entre as características lipofílicas e hidrofílicas (Bos; Meinardi, 2000).

Outra via para administração de substâncias é através dos apêndices cutâneos, que compreendem apenas 0,1% da superfície da pele humana (Moser et al., 2001). Assim, na administração tópica convencional, em áreas que não apresentem mais alta densidade folicular,

esta via não representa uma rota significativa de permeação (Lademann et al., 2001). Ao mesmo tempo, apresenta diversos benefícios, como a minimização da decomposição metabólica de fármacos, a eliminação da irritação gástrica e a possibilidade de controle do perfil de liberação de fármacos para a pele. Além disso, a capacidade de aplicação seletiva ao local desejado com redução de efeitos da toxicidade sistêmica tem despertado interesse para a utilização desta via não invasiva, não-dolorosa, não-irritante e de auto-aplicabilidade, sendo uma alternativa às vias oral e hipodérmica, tradicionalmente utilizadas (Choudhury et al., 2017; Sengupta; Chatterjee, 2017).

A absorção cutânea via trans-epidérmica envolve a difusão através do estrato córneo, das células viáveis da epiderme e, finalmente, das camadas superiores da derme até à microcirculação. O passo determinante da absorção cutânea é a permeação através do estrato córneo, em que o principal desafio a ser superado é a dificuldade intrínseca de penetração na pele. A natureza “rígida” do EC atua como uma barreira e restringe a maioria dos medicamentos de entrar na pele (Carter et al., 2019). A composição do estrato córneo proporciona uma barreira altamente impermeável do corpo humano contra o meio ambiente. No entanto, as mesmas características limitam a absorção dérmica dos compostos ativos. Portanto, várias estratégias para melhorar a entrega transdérmica de ingredientes farmacêuticos ativos têm sido investigadas, por exemplo, por meio de aprimoramento físico/mecânico, por formulações supersaturadas, ionto e sonoforese, eletroporação, microagulhas, intensificadores de penetração química, sistemas de entrega de drogas nanométricos, entre outros. (Rodríguez et al., 2016; Wang, et al., 2021).

Logo, tem-se como vantagens da via transdérmica de administração de fármacos: diminuir as variações plasmáticas de fármaco; diminuir a frequência de administração; anular a variabilidade da absorção oral; anular o metabolismo pré-sistêmico; possibilidade imediata de interromper a administração e constituir-se em boa alternativa à via intravenosa (Martins; Veiga, 2002).



**Figura 4** - Vias de permeação cutânea de fármacos

(Fonte: <https://blogfisioestetica.blogspot.com/2016/05/permeacao-penetracao-e-absorcao-de.html>)

## 2.6 MÉTODOS ALTERNATIVOS DO USO DE ANIMAIS EM PEQUISAS CIENTÍFICAS

Atualmente, as experiências científicas com animais, consistem ainda em um paradigma em que os animais não tinham nenhuma condição moral. Abre-se assim um debate quanto ao uso de animais nas pesquisas científicas no ramo de cosméticos, que privilegiam interesses econômicos e o consumo exagerado de produtos advindos desta atividade. Concomitantemente, nacional e internacionalmente, são levantadas questões éticas e legais voltadas à proteção dos animais, gerando as implicações morais consequentes do sofrimento animal. Destaca-se ainda, grandes campanhas em nome de grupos de proteção aos animais para a proibição do uso de animais como cobaias em testes científicos, sabendo-se que inúmeros testes alternativos/substitutivos foram criados nas indústrias cosméticas (Mont'alverne et al., 2020).

Técnicas futuras podem ser usadas em substituição de experimentos que exigem sacrifício de animais ou produtos de sacrifício de animais. Em muitos casos, essas técnicas proporcionam mais reprodutibilidade e controle de parâmetros, em comparação com experimentos envolvendo animais ou produtos de origem animal. O uso delas pode evitar a questão do sacrifício do animal durante o experimento e posterior autorização da aprovação ética. Simulação em sílica, informática, modelos de cultura de células 3D, organ-on-chips são algumas tecnologias inovadoras que podem reduzir o número de animais sacrificados, sendo alternativas na redução do número de animais necessários para pesquisa (Rai; Kaushik, 2018).

Testes em animais estão sendo substituídos também em testes de toxicidade, na área da neurociência e de desenvolvimento de drogas. A cultura de células e tecidos é uma alternativa muito eficiente que levou a avanços científicos significativos, onde ao utilizar células e tecidos cultivados *in vitro* os resultados também podem ser mais relevantes e reprodutíveis, uma vez

que o controle do experimento é maior e mais fácil, além de se aproximar mais das características humanas (Bioemfoco, 2018).

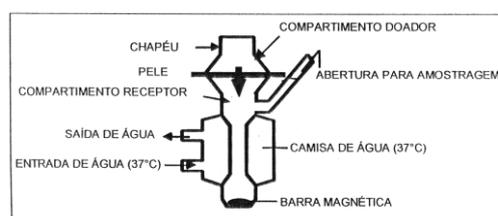
## 2.7 CÉLULA DE DIFUSÃO DE FRANZ

Métodos de difusão *in vivo* e *in vitro* (Franz et al., 1993) são usados para estudar a eficácia dos agentes de penetração na pele. Para métodos *in vitro*, muitos estudos utilizaram as células de difusão com membranas da pele de ratos, porquinhos da índia, muda de pele de cobra, ou a pele sintética para avaliar a penetração, promovendo ação de diferentes substâncias (Franz et al., 1993)

De acordo com Hadgraft e Lane (2016 apud Sil, et al., 2018) as células de difusão de Franz são rotineiramente utilizadas para o estudo e análise da permeação de compostos ativos através de membranas biológicas e sintéticas. Os dados de tais estudos são importantes para determinar a viabilidade de entrega de materiais para e através da pele. As células convencionais são tipicamente fabricadas *in vitro* e estão disponíveis em uma variedade de formas, tamanhos e podem ser modificadas dependendo das condições experimentais exigidas. Como consequência, essas células são frágeis e requerem manuseio cuidadoso para garantir que resistam aos procedimentos robustos necessários para a realização de estudos de penetração na pele e balanço de massa (Franz, 1975, apud Sil, et al., 2018).

Alcançar uma boa permeação cutânea e, conseqüentemente, eficácia é um desafio no desenvolvimento de formulações (Gupta; Dixit, 2011).

O uso da célula de difusão de Franz fornece informações sobre as relações entre a substância de interesse, sua formulação e a pele, auxiliando no desenvolvimento de formulações que permitem a penetração do princípio ativo na pele. Além da pele humana e das membranas sintéticas, a pele de porco também pode ser usada na permeação estudada, devido às suas semelhanças fisiológicas e histológicas com a pele humana, como sua morfologia geral, a espessura e estrutura da epiderme, espessura do estrato córneo, e estrutura da derme. (Herai et al., 2007; Gratieri et al., 2008).



**Figura 5** – Célula de difusão de Franz (Fonte: <https://docplayer.com.br>)

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito fotoprotetor do ácido tânico em gel-creme e a fluorescência, permeação e retenção cutânea *in vitro*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Incorporar ácido tânico em gel-creme para desenvolvimento de filtro químico para proteção da pele contra UV-R.
- Avaliar a capacidade de auto fluorescência do ácido tânico, utilizando feixes de luz infravermelho azul e verde.
- Avaliar a permeação ou retenção cutânea *in vitro* do ácido tânico em gel-creme sobre pele suína, através de célula de difusão de FRANZ;
- Avaliar o potencial fotoprotetor do ácido tânico em gel-creme a partir do cálculo de Fator de Proteção Solar (FPS) para UV-B.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

Trata-se de um estudo experimental de desenvolvimento e avaliação *in vitro* da atividade de fluorescência, permeação ou retenção cutânea em pele suína e fotoproteção em gel-creme do ácido tânico (AT).

### **4.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO**

A pesquisa foi realizada através do Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco. O ácido tânico comercial (Merck, Germany) foi adquirido no Laboratório Pesquisa Translacional e Inovação Terapêutica Aplicada à Morfologia do Departamento de Histologia e Embriologia (CB/UFPE); o desenvolvimento e caracterização do gel-creme, os estudos de permeação e retenção cutânea de ácido tânico em gel-creme e a avaliação da atividade do Fator de Proteção Solar foram realizados no Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC) da UFPE; As fotomicrografias para a avaliação da permeação e retenção cutânea por microscopia de fluorescência foram realizados no Laboratório de Biofísica e Radiobiologia da UFPE.

### **4.3 CASUÍSTICA**

#### **4.3.1 Critérios de inclusão**

Pele de suíno dermatomizada (600 $\mu$ m), obtidas em frigoríficos da região metropolitana de Recife/PE.

#### **4.3.2 Critérios de exclusão**

Pele suína com baixa viabilidade.

### **4.4 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA**

#### **4.4.1 Aquisição do ácido tânico**

Foram utilizados o ácido tânico comercial (Merck, Germany), adquirido do Laboratório de Pesquisa Translacional e Inovação Terapêutica da UFPE.

#### 4.4.2 Desenvolvimento de formulações para determinação do FPS

As formulações foram desenvolvidas no Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC) da UFPE.

Para a determinação do FPS foram desenvolvidas as seguintes formulações:

Formulação A: AT a 5% diluído em água (1:18);

Formulação B: Gel-creme base com AT a 5%;

Formulação C: Gel-creme base com filtros físicos;

Formulação D: Gel-creme base com AT a 5% e filtros físicos;

Formulação E: Gel-creme base com AT a 2,5% e filtros físicos.

Para a formulação A foram diluídos 0,0085g de AT em 5ml de água, finalizando em diluição de 1:18. Os produtos utilizados na composição da formulação B foram: cera polawax 4,2%, Carbopol 0,5%, Propilenoglicol 4%, Vaselina líquida 0,9%, Nipagin 0,08%, Nipazol 0,04%, EDTA 0,002%, BHT 0,009%, Trietanolamina q.s. pH 7,0, AT a 5%, água q.s.p. 100%; Para formulação C foram utilizados, os produtos utilizados foram: Cera polawax 4,2%, Carbopol 0,5%, Propilenoglicol 4%, Vaselina líquida 0,9%, Nipagin 0,08%, Nipazol 0,04%, EDTA 0,002%, BHT 0,009%, Trietanolamina q.s. pH 7,0, Avobenzona 3%, Octilmetoxicinamato 6%, Salicilato de octila 6%, Água q.s.p. 100%. Para a formulação D e E foram utilizados os mesmos compostos da formulação C, adicionando AT a 5% e 2,5%, respectivamente.

Na preparação das formulações B, C, D e E, aqueceu-se a água junto com nipagin, nipazol e EDTA. Em seguida, foi polvilhado o carbopol. Separadamente, foi aquecida a cera polawax juntamente com o propilenoglicol, vaselina e BHT. A fase aquosa foi vertida na oleosa, e em seguida posto o propilenoglicol. Uma vez finalizadas as formulações B e D, incorporou-se AT a 5%, na formulação e em Espectrofotômetro AGILENT, Cary 60 UV-Vis, em cubeta de quartzo de 1,0 cm caminho óptico, em que incorporou-se AT a 5%, e então quantidade suficiente de água.

#### 4.5 CAPACIDADE DE FLUORESCÊNCIA DO ÁCIDO TÂNICO

Foi realizado teste de fluorescência com feixes de luzes azul e verde, ultrapassando uma cubeta de quartzo de 1,0 cm e em espectofotometro contendo ácido tânico a 5%, diluído em água.

#### 4.6 ESTUDOS DE PERMEACÃO E RETENÇÃO CUTÂNEA

##### 4.6.1 Estudos de permeação e retenção cutânea de gel-creme à base de ácido tânico

Os estudos de permeação e retenção cutânea foram realizados recorrendo ao sistema automatizado de células verticais de difusão de Franz. O equipamento utilizado foi o Vision® Microette. Fez-se uso de pele suína retirada de material viável que seria descartado de frigoríficos da região metropolitana do Recife, sendo a pele dermatomizadas em 600µm.

##### 4.6.2 Seleção do meio receptor

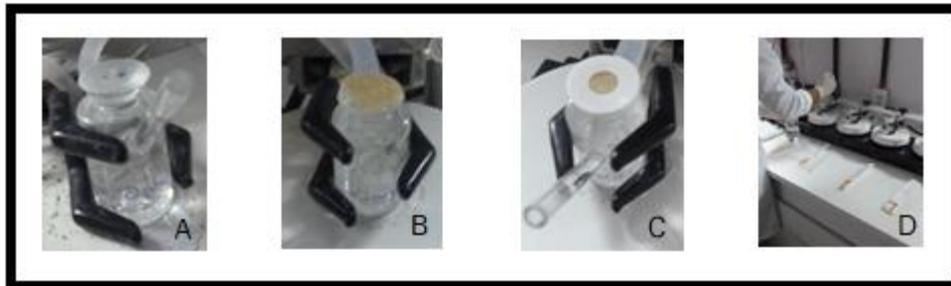
O meio receptor utilizado nos estudos de permeação e retenção cutânea foi selecionado mediante a avaliação da solubilidade do AT em diferentes meios: tampão fosfato pH 7,4; tampão fosfato pH 7,4 com polyoxyethylene 20-oleyl ether (Brij® 020) a 0,5%; tampão fosfato pH 7,4 com Brij® 020 a 1% e solução hidroalcoólica (água:etanol = 60:40). Para tanto, foi preparado dispersões contendo excesso (100 mg) de ácido tânico em 5mL de cada meio testado. Essas dispersões foram homogeneizadas por meio de agitação em banho (Dubnoff Microprocessado, Quimis®) à temperatura controlada ( $32 \pm 2^\circ\text{C}$ ), por um período de 24 horas e, em seguida, centrifugadas (1500 g  $\approx$  4000 rpm) por 20 minutos, uma alíquota do sobrenadante foi retirada e filtrada em filtro de seringa (0,45 µm) e diluída em metanol. A concentração de ácido tânico foi determinada, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector de ultravioleta (CLAE-UV).

##### 4.6.3 Obtenção e dermatomização da pele suína

A pele suína, para utilização como biomembrana no estudo de permeação cutânea, foi obtida no frigoríficos da região metropolitana do Recife, retirada de material viável que seria descartado. A pele foi transportada em isopor para o laboratório e após a chegada, foi limpa inicialmente em água corrente. Com o auxílio de bisturi e tesouras cirúrgicas, o excesso de tecido adiposo e de pelos foram removidos a fim de facilitar o processo de dermatomização. A pele foi dermatomizada para uniformização da espessura em aproximadamente 0,7 mm com o auxílio de dermatômetro Zimmer air® e armazenadas a  $-20^\circ\text{C}$  até a sua utilização.

#### 4.6.4 Montagem do sistema automatizado de células de difusão de Franz

Na montagem do sistema automatizado da célula de difusão de FRANZ, foi utilizada a membrana artificial para o estudo de cinética de liberação, que durou 12 horas e a pele suína dermatomizada no estudo de absorção cutânea, com 2 pontos de coleta com duração de 2 e 4 horas. O compartimento receptor das células de Franz foi completamente preenchido com água. A pele suína foi colocada nas células de modo que ficasse em contato direto com o meio receptor sem formação de bolhas. No compartimento doador foram aplicados 50mg das formulações B, C, D e E e 50µl da formulação A, aplicados sobre a pele, numa área difusional de 1,77 cm<sup>2</sup>. As células foram fechadas hermeticamente, mantidas sob agitação magnética constante (350 rpm) e temperatura a 32 ± 1°C com banho circulante de água (Figura 6).



**Figura 6** – A (Célula de difusão de Franz preenchida com água), B (Aplicação da pele suína em contato direto com o meio receptor), C (Aplicação das formulações), D (células fechadas hermeticamente para posterior agitação magnética).

#### 4.6.5 Avaliação da permeação cutânea por microscopia de fluorescência

Após a realização do estudo de permeação e retenção cutânea, as amostras de pele suína foram seccionadas em criostato Leica CM1860 UV, utilizando Tissue-Tek O.C.T Compound, Sakura. Cinco cortes seriados de 5µm foram montados em lâminas e observados em microscópio de fluorescência Leica DMI4000 B, sendo as secções fotomicrografadas em objetiva de 20x, utilizando os filtros de excitação BP 560/40nm e emissão BP 645/75nm, mostrando um espectro de luz vermelho.

#### 4.7 TESTE DE ABSORBÂNCIA

Para caracterização do AT como um composto de origem vegetal que absorve a radiação UV foi determinado o comprimento de onda máximo ( $\lambda_{max.}$ ) e a absorbância máxima ( $A_{max.}$ ) do AT a 5% diluído em água (1:18), Gel-creme base com AT a 5%, Gel-creme base com filtros

físicos, Gel-creme base com AT a 5% e filtros físicos, Gel-creme base com AT a 2,5% e filtros físicos sendo realizada varredura espectrofotométrica entre os comprimentos de onda de 200 a 800nm, através do Espectrofotômetro AGILENT, modelo Cary 60 UV-VIS, em cubeta de quartzo de 1,0 cm caminho óptico, para verificar a absorção nas regiões ultravioleta B (UVB), onde a absorção nos comprimentos de onda compreendidos entre 290 a 320nm são considerados filtros solares UVB. Foi utilizada água como branco e a avaliação da atividade fotoprotetora com a determinação da absorbância do ácido tânico foi realizada através de varredura espectrofotométrica. As leituras de cada absorbância foram realizadas em triplicata

#### 4.8 AVALIAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

A avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) foi realizada *in vitro* medindo-se a absorbância de vários comprimentos de onda. Os grupos utilizados foram: Formulação A: AT a 5% diluído em água (1:18); Formulação B: Gel-creme base com AT a 5%; Formulação C: Gel-creme base com filtros físicos; Formulação D: Gel-creme base com AT a 5% e filtros físicos; Formulação E: Gel-creme base com AT a 2,5% e filtros físicos.

As formulações foram diluídas em água destilada para uma concentração de 5% e 2,5% de AT e foi realizada varredura entre os comprimentos de onda de 200 a 800nm em Espectrofotômetro AGILENT, Cary 60 UV-Vis e cubeta de quartzo de 1,0 cm caminho óptico (Figura 7), para verificar a absorção nas regiões ultravioleta B (UVB). Água destilada foi utilizado como branco e o experimento realizado em triplicata.



**Figura 7** Espectrofotômetro AGILENT, Cary 60 UV-Vis e cubeta de quartzo de 1,0cm.

Os cálculos para determinação do FPS foram realizados considerando os intervalos de comprimento de onda ( $\lambda$ ), pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur et al., (1986). Os valores do efeito eritematogênico da radiação - EE ( $\lambda$ ) e intensidade do sol - I ( $\lambda$ ) utilizados para o cálculo do FPS foram os mesmos usados na literatura, empregando a equação:

$$\text{FPS Espectrofotométrico} = \text{FC} \cdot \sum \text{EE}(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot \text{Abs}(\lambda)$$

Onde: FC = fator de correção (10), EE ( $\lambda$ ) = efeito eritematogênico da radiação; I ( $\lambda$ ) = intensidade da radiação; abs ( $\lambda$ ) = leitura espectrofotométrica da absorvância do composto.

Os valores EE ( $\lambda$ ) x I ( $\lambda$ ), são valores já calculados, normalizados, conforme a Tabela 1.

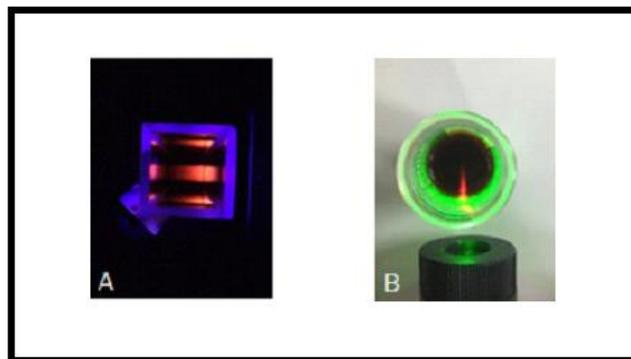
**Tabela 1** Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda (adaptado de MANSUR, et al., 1986).

Comprimento de Onda $\lambda$ (nm)	EE X I (normalizado)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
TOTAL	1,0000

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

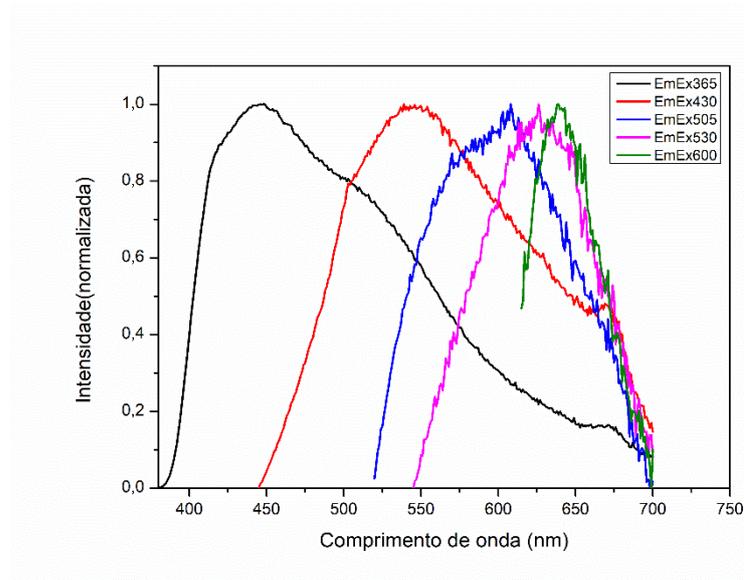
Para o desenvolvimento do gel-creme, o alginato foi escolhido entre os agentes gelificantes avaliados por ser positivamente compatível com os ativos, por apresentar melhor consistência e aspecto, sendo a concentração de 3% deste agente eleita para o gel-creme. Este gel-creme foi dividido em 2 formulações para avaliação da atividade de permeação cutânea e atividade fotoprotetora.

Em teste de fluorescência do ácido tânico com feixes infravermelhos de luz azul e verde, foi observado que o AT a 5% diluído em água emite fluorescência vermelho-alaranjada e vermelha, respectivamente (Figura 8).



**Figura 8** A - Emissão de luz vermelho-alaranjada do Ácido Tânico a 5% quando excitado em luz azul pelo espectrofotômetro Agilent - Cary60 UV-VIS; B – Emissão de luz vermelha do Ácido tânico quando excitado em luz verde por lanterna de infravermelho de luz verde marca Yey, modelo HX-103.

Quanto a fluorescência, na avaliação dos espectros de emissão e excitação do ácido tânico (AT) a 5%, foi realizada através do espectrofotômetro Agilent - Cary60 UV-VIS, foi verificado que este emite coloração quando excitado em 460 (azul), 550 (Verde), 600 (Laranja) e 650nm (Vermelho), evidenciando auto-fluorescência. Logo, foi constatado que o AT pode ser usado, não só como seu próprio marcador de fluorescência, mas também como sonda para detecção de outros compostos (Figura 9).



**Figura 9** Processos de emissão de fluorescência do AT sobrepostos quando excitado nos comprimentos de onda: 365nm, 430nm, 505nm, 530nm, 600nm, com fluorescência emitida em todas as imagens.

Em estudos feitos por Sainz-Urruela et al. (2022), foi descoberto que a interação do ácido tânico (AT) com o óxido de grafeno (OG), reduz a fluorescência da riboflavina (vitamina B2). Essa redução depende da concentração de OG/AT e da relação de massa OG/AT. Significativas concentrações deste ativo indicam uma forte interação com a riboflavina via modificação da estrutura por ligação de hidrogênio e interações  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis de isoaloxazina da vitamina e os anéis fenólicos do AT, sendo esta interação responsável pela fluorescência da vitamina. Isso demonstra que apesar do AT apresentar efeito de fluorescência, em interação com outros compostos ele pode reduzi-lo.

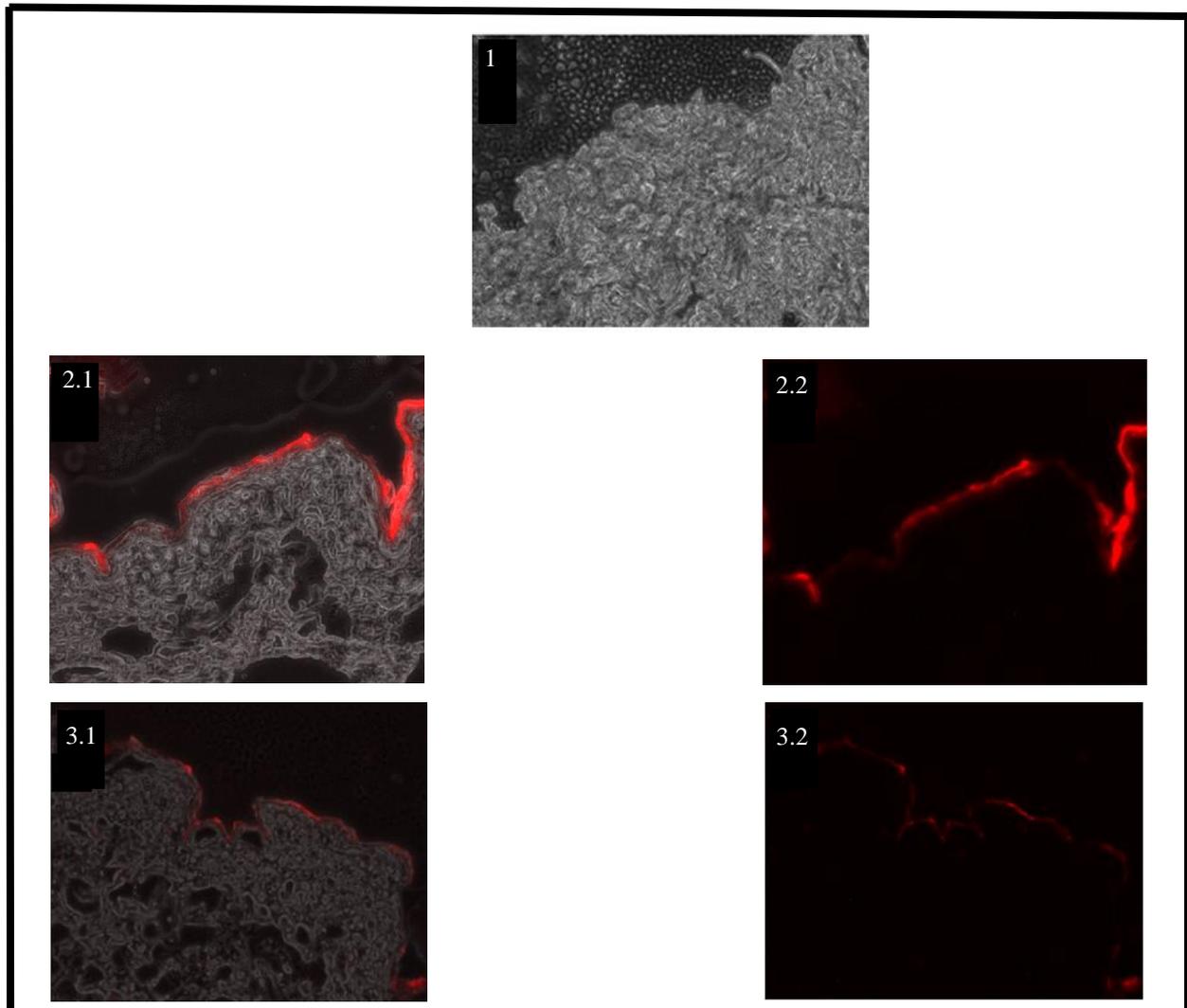
Zhao e colaboradores (2021), sintetizaram nanopartículas de AT para utilização de sensores de fluorescência. Os mesmos possuem baixo custo, boa biodegradabilidade, sendo conveniente para produção em larga escala. Estes autores descobriram que o ácido pícrico poderia extinguir a fluorescência dessas nanopartículas, porém o método utilizado na preparação destas mostrou uma resposta sensível na detecção do ácido pícrico. Isto demonstra, mais uma vez, que outros compostos podem diminuir a fluorescência do AT, porém quando encapsulado, pode detectar até mesmo compostos que reduzem sua sensibilidade de fluorescência.

Zhang et. al (2021), sintetizaram nanopartículas (NP's) de cobre utilizando AT como estabilizante e ácido ascórbico como redutor. As NP's de AT-Cu foram empregadas para detectar luteolina em amostras de soro bovino com resultados satisfatórios. Apresentaram

luminescência máxima em 434nm quando excitadas em 366nm. Este estudo sugere um novo método de detecção baseado em fluorescência a partir das NP's de AT-Cu.

Em nosso estudo de fluorescência, utilizamos o AT não encapsulado, diluído em água, sem interferências de outros compostos, mostrando sua capacidade de autofluorescência na concentração de 5%. Em todos os espectros de excitação empregados houve a presença de emissão de fluorescência, ratificando uma possível utilização do AT como sonda, sendo importante a observação da possibilidade de interação com outros compostos.

Na permeação ou retenção cutânea do ácido tânico, através da avaliação das imagens de pele suína (Figura 10), foi percebido que o ácido tânico apresentou um espectro de luz vermelho sobre a epiderme, não penetrando o tecido e conseqüentemente, não permeando o órgão.



**Figura 10** Permeação ou retenção do AT a partir da excitação filtro BP 560/40nm e emissão filtro BP 645/75nm, onde as imagens representam: Formulação 1 – Gel/creme (1); Formulação 2 – Ácido Tânico em água (2.1 e 2.2); Formulação 3 – Ácido Tânico + Gel/creme. (3.1 e 3.2)

\*A linha em vermelho representa o Ácido tânico sobre a epiderme.

Nakamura e colaboradores (2017), estudando o efeito do ácido tânico como barreira funcional na pele mostraram que o pré-tratamento com AT sobre o SC (Estrato córneo) suprimiu o processo inflamatório, estimulado pelo 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetato (TPA). Além disso, o AT suprimiu o índice de eritema da pele quando utilizado suor artificial, formando uma barreira de proteção funcional e possivelmente impedindo a penetração e permeação de outros compostos na pele.

Esta barreira se deve ao fato dos radicais fenólicos do AT se ligarem ao Hidrogênio, facilitando a capacidade de adesão deste polifenol a diversas superfícies. A partir do acoplamento a um grande número de moléculas contendo um grupo carboxil, grupo hidroxil, grupo amino, ligação éter, átomo de flúor, resíduos heterocíclicos contendo nitrogênio, sulfonato ou fosfato (Zhang, et al., 2020). Como os derivados de AT se ligam a uma determinada superfície através de ligações de hidrogênio, ligações de hidrogênio bidentadas ou tridentadas podem ser formadas, devido aos grupos catecol ou pirogalol. Tais interações são mais fortes do que a ligação de hidrogênio de ligante único, o que significa que um material reticulado de AT pode ser usado como um adesivo subaquático para se adaptar a um ambiente operacional em constante mudança (Saiz-Poseu et al., 2019).

Lopes et al. (2019) utilizando creme de *Avicenia schaueriana*, planta abundantemente encontrada no mangue brasileiro e que possui taninos como principais compostos secundários, demonstraram que o creme diminuiu a área de ferida, estimulou o processo de reepitelização e aumentou o número de fibroblastos na região lesionada de camundongos. De acordo com os autores, o creme promoveu uma película sobre os ferimentos, a partir de complexo formado por taninos não hidrolisáveis com proteínas da pele, exercendo assim uma ação protetora isolando a ferida do ambiente. Resultados semelhantes foram encontrados por Fernandez et al. (2002) que observaram uma película vermelha escura cobrindo as feridas de cisto pilonidal em pacientes tratados com caule de *Rizophora mangle*, uma outra planta encontrada no mangue brasileiro e que possui taninos em sua composição fitoquímica, observando que as feridas encontravam-se secas em todo o processo de avaliação clínica.

Estes resultados *in vivo* corroboram com os nossos estudos *in vitro*, em que avaliamos a capacidade de permeação ou retenção do ácido tânico em pele de suínos, onde o mesmo ficou retido na epiderme. Este estudo é de grande importância para desenvolvimento de biomateriais de uso tópico para o entendimento do poder de permeação de compostos na pele. A formação de uma película protetora na pele é decorrente dos diversos radicais fenólicos presentes no AT, formando redes tridimensionais a partir de ligações cruzadas com biomacromoléculas (Sionkowska et al., 2015).

Recentemente, há grande interesse da bioengenharia na fabricação de materiais utilizando o AT para novas bioaplicações, assim como no reparo de feridas e regeneração de pele e tecido ósseo, antimicrobiano e como teranóstico de tumores pelas suas propriedades de fluorescência, antioxidantes, de quelação de metais e polimerização (Guo et al., 2021). Para que haja uma melhor compreensão da eficácia dos mecanismos de ação deste composto são necessários estudos de desenvolvimento de biomateriais e avaliação de biocompatibilidade.

Na área de engenharia de materiais bioativos, Mo et al. (2021) desenvolveram um hidrogel ultra-elástico, altamente adesivo, e auto-curável em virtude de interações dinâmicas habilitadas pelo ácido tânico para substituir totalmente a reticulação covalente convencional. Yang et al. (2021) construíram um band-aid de hidrogel de AT para cicatrização de feridas diabéticas e incisão de pele infecciosa, demonstrando uma aceleração da cicatrização de incisão em pele através da modulação da inflamação, promoção da deposição de colágeno, vascularização aumentada, além de promover eficiência na incisão de pele infectada por *S. Aureus* em camundongos diabéticos. Em nosso trabalho foi desenvolvido gel-creme de ácido tânico a 5% com e sem filtros físicos, para avaliação de efeitos de fotoprotetores. O avanço da bioengenharia no desenvolvimento de materiais bioativos impactam diretamente na otimização do uso de recursos naturais para promoção do crescimento social e econômico e para que isto ocorra é necessário a avaliação da aceitabilidade dos potenciais riscos biológicos decorrentes da interação entre os biomateriais e o organismo.

Os cálculos para determinação *in vitro* da atividade fotoprotetora do AT foram realizados considerando os intervalos de comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 290 a 320nm, pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur et al., 1986. Os resultados dos nossos estudos mostram que o AT 5%, diluído em água (1:18) apresenta um FPS de 26,4 (Tabela 3). Segundo Resolução - RDC Nº 30 da ANVISA, de 1º de junho de 2012, de acordo com o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos, em seus termos, o Fator de Proteção Solar (FPS) deve ter grau mínimo de proteção 6, além disso, a radiação ultravioleta na região do espectro eletromagnético compreendida entre os comprimentos de ondas de 290 a 320nm é considerada radiação ultravioleta B (UVB). Portanto nossos resultados apresentam um nível de proteção adequado contra UVB (Tabela 2).

**Tabela 2** Cálculo do FPS da formulação A: ácido tânico a 5% em (1:18) com valores das médias das absorvâncias para cada comprimento de onda (290-320nm).

Comp. de Onda ( $\lambda$ nm)	290	295	300	305	310	315	320
Média da Absorbância	0,4518	0,2373	0,1544	0,1249	0,1101	0,0839	0,0887
EExIxAbs	0,0067	0,0193	0,0443	0,0409	0,0205	0,0070	0,0016
	8	9	7	4	2	3	0
FC. $\sum$ EE( $\lambda$ ).I( $\lambda$ ).Abs( $\lambda$ ).dil . FPS = 26,4							

\* Sendo FC = fator de correção, EE ( $\lambda$ ) = efeito eritematogênico da radiação; I ( $\lambda$ ) = intensidade da radiação; abs ( $\lambda$ ) = leitura espectrofotométrica da absorvância do composto; dil (diluição).

Os valores do FPS das formulações B: Gel-creme base com ácido tânico a 5%; C: Gel-creme base com filtros físicos; D: Gel-creme base com ácido tânico a 5% e filtros físicos; E: Gel-creme base com ácido tânico a 2,5% e filtros físicos foram respectivamente: 0,51; 17,6; 12,8; 14,6. A formulação B não apresentou um índice satisfatório de proteção UVB, estando abaixo do valor mínimo de proteção (FPS 6), porém as formulações C, D e E mostraram índices satisfatórios de proteção. A formulação D possuiu menor índice quando adicionado o AT, porém ao diminuir a concentração do mesmo na formulação E, o fator de proteção aumenta, mas não supera o FPS da formulação C. O fato do índice de proteção diminuir ao adicionar o AT demonstra uma possível interação do polifenol com moléculas do gel-creme base. Wang e colaboradores, (2022) relatam em seus trabalhos que os polifenóis são uma classe de compostos altamente existente em diversos tipos de plantas com propriedade anti-oxidativas e anti-ultravioleta, a partir da capacidade de absorção UV e eliminação de radicais livres, levando estes compostos a um amplo desenvolvimento e aplicação em protetores solares. Daré e colaboradores (2020) estudaram o ácido gálico e o ácido tânico quanto aos seus potenciais na prevenção do fotoenvelhecimento. Os autores investigaram as habilidades de fotoproteção dos compostos em fibroblastos L929 irradiados com UVB, demonstrando que o AT foi mais eficiente na eliminação de radicais DPPH, ânion superóxido, peroxila, óxido nítrico e peroxinitrito, além da redução de íons férricos, prevenindo assim o desequilíbrio redox celular em fibroblastos

irradiados com UVB. Estes resultados corroboram com nossos achados que mostram um índice de FPS adequado em pele para proteção contra UVB, tendo em vista que os dois estudos foram realizados com AT isolado e em experimentos *in vitro*.

De acordo com Baldwin e Booth (2022), o AT tem sido utilizado em biomateriais como um agente reticulante natural. A reticulação acontece, devido a seus grupos fenólicos múltiplos interagirem com macromoléculas biológicas, principalmente proteínas, promovendo um processo de formação de ligações cruzadas. Além disso, polímeros naturais, como colágeno, elastina, gelatina e quitosana, ou polímeros sintéticos, como poli (álcool vinílico) (PVA), poli(etilenoglicol) (PEG), poli (vinilpirrolidona) (PVP) e assim por diante, podem ser reticulados por AT, através de ligação de hidrogênio (Rinaudo et al., 2014). Este processo pode ter acontecido ao adicionar o AT aos compostos do nosso gel-creme base, diminuindo assim o índice de proteção contra a radiação, porém ao adicionar uma concentração menor (2,5%) no gel-creme base, o fator de proteção aumenta.

## 6 CONCLUSÕES

- O AT foi incorporado às formulações de gel-creme desenvolvidas com e sem filtros físicos;
- O AT a 5% emite fluorescência quando excitado em todos os espectros de cores, evidenciando um potencial de auto-fluorescência, podendo ser utilizado, não só como seu próprio marcador, mas também como sonda para detecção de outros compostos;
- O AT a 5%, diluído em água, ou em gel creme, permaneceu retido na epiderme, não penetrando o tecido e conseqüentemente, não permeando o órgão;
- O AT a 5%, diluído em água demonstrou um FPS de 26,4, mostrando em nossos resultados um nível de proteção adequado contra UVB, porém, quando incorporado a 5% nas formulações de gel-creme com ou sem filtros físicos o FPS diminui para 12,8 e 0,51 respectivamente. Ao diminuir a concentração do AT para 2,5% em gel-creme com filtros físicos o FPS aumenta para 14,6, sugerindo uma interação dos grupos fenólicos do AT com outros compostos das formulações.

## REFERÊNCIAS

- ABIOLA, T. T.; WHITTOCK, A. L.; STAVROS, V. G. Unraveling the Photoprotective Mechanisms of Nature-Inspired Ultraviolet Filters Using Ultrafast Spectroscopy. **Molecules**, v.25, p.3945, 2020.
- AGUZZI, C.; DONNADIO, A.; QUAGLIA, G.; LATTERINI, L.; VISERAS, C.; AMBROGI, V. Óxido de zinco dopado com halloysite para melhor desempenho de proteção solar. **ACS Appl. Nano Mater.**, v.2, p. 6575 – 6584, 2019.
- ALEXANDRE, A.; KHICHARIYA, A.; GUPTA, S.; PATEL, R.J.; GIRI, T.K.; TRIPATHI, D.K. Expansões recentes em uma nova tecnologia emergente de liberação de medicamentos: Emulgel. **J. Controle**, v. 171, p.122–132, 2013.
- AMIT, A.; SHUBHANGI, D.; AJAZUDDIN; TAPAN, K. G.; SWARNLATA, S.; SHAILENDRA, S.; DULAI, K. T. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 164, n. 1, p. 26-40, 2012.
- ARORA, R.; CHAWLA, R.; PURI, S. C.; SAGAR, R.; SINGH, S.; KUMAR, R.; SHARMA, A. K.; PRASAD, J.; SINGH, S.; KAUR, G.; CHAUDHARY, P.; QAZI, G. N.; SHARMA, R. K. Radioprotective and antioxidant properties of low-altitude *Podophyllum hexandrum* (LAPH). **J Environ Pathol Toxicol Oncol.**, v.24, n.4, 299-314. 2005.
- BADRAN MM, KUNTSCHKE J, FAHR A. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller®) in vitro: Dependency on needle size and applied formulation. **Eur J Pharm. Sci.**, v. 4-5, n.36, p. 511-23, 2009.
- BALDWIN, A.; BOOTH, B.W. Biomedical applications of tannic acid. **J. Biomater. Appl.** v.8, n. 36, p.1503-1523, 2022.
- BALOGH T.S., VELASCO M.V.R., PEDRIALI C.A., KANKO T.M., BABY A.R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **An. Bras. Dermatol.** v. 86, p. 732-742, 2011.
- BERNSTEIN, E. F.; SARKAS, H. W.; BOLAND, P.; BOUCHE, D. Além do fator de proteção solar: uma abordagem à proteção ambiental com novos revestimentos minerais em um veículo contendo uma mistura de ingredientes para a pele. **Cosmet J Dermatol.**, v. 19, n. 2, p. 407 – 415, 2020.
- BIOEMFOCO. **Fim da crueldade? As alternativas da ciência para o uso de animais em pesquisa**, 2018. Disponível em: <https://bioemfoco.com.br/noticia/alternativas-uso-animais-pesquisa/#:~:text=Cultura%20de%20c%20%20A9lulas%20e%20tecidos%20como%20alternativa%20%20C3%A0%20pesquisa%20com%20animais&text=Ao%20utilizar%20c%20%20A9lulas%20e%20tecidos,aproximar%20mais%20das%20caracter%20%20ADsticas%20humanas>. Acessado em: 20 janeiro 2022.
- BOS, J. D.; MAINARDI, M. Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds e drogs. **Experimental Dermatology**, v. 9, n. 3, p. 165-169, 2000.

BOWSHER, C., STEER, M., TOBIN, A. *Plant Biochemistry A*. New York: **Garland Science**, 2008.

BRASIL. [ANVISA]. **Resolução RDC 30 de 01 de junho de 2012**. “Aprova o regulamento técnico MERCOSUL sobre protetores solares em cosméticos e dá outras providências”. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3134554/RDC\\_30\\_2012\\_.pdf/c600a91b-f20f-40f9-9c0c-28724725bb21](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3134554/RDC_30_2012_.pdf/c600a91b-f20f-40f9-9c0c-28724725bb21). Acesso em: 06 de janeiro 2021.

BRASIL. [ANVISA]. **Resolução RDC 69 de março de 2016**, “Dispõe sobre o “Regulamento Técnico Mercosul Sobre Lista De Filtros Ultravioletas Permitidos Para Produtos De Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes”. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2863150/RDC\\_69\\_2016\\_COMP.pdf/5689ac91-e621-45b7-a122-b3163e4b3cc3](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2863150/RDC_69_2016_COMP.pdf/5689ac91-e621-45b7-a122-b3163e4b3cc3). Acesso em: 29 de dezembro 2021.

BRUNING, M.C.R.; MOSEGUI, G.B.G.; VIANA, C.M.M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência e Saúde coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2.675-2.685, 2012.

BURNETT, M. E.; HU, J.Y.; WANG, S.Q. Protetores solares: obtenção de fotoproteção adequada. **Dermatol her**, v. 25, n.3, p. 244 – 251, 2012.

CARTER, P.; NARASIMHAN, B.; WANG, Q. Nanopartículas biocompatíveis e sistemas vesiculares na administração transdérmica de medicamentos para várias doenças de pele. **Int. J. Pharm.**, v. 555, p. 49 – 62, 2019.

COHEN, L.; BRODSKY, M. A.; ZUBAIR, R.; KOHL I, L.; HAMZAVI, I. H.; SADEGHPOUR, M. Cutaneous Interaction with Visible Light: What Do We Know. **J Am Acad Dermatol.**, 2020.

COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE - Guideline on quality of transdermal patches. **European Medicines Agency**, 1–28, 2014.

CHORILLI M.; BRIZANTE A.C.; RODRIGUES C.A.; SALGADO H.R.N. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Rev Bras Farm.**, v.88, n.1, p.7-13, 2007.

CHOUDHURY H, GORAIN B, PANDEY M, CHATTERJEE LA, SENGUPTA P, DAS A, MOLUGULU N, KESHARWANI P. Recent Update on Nanoemulgel as Topical Drug Delivery System. **J. Pharmac. Sci.**, v. 106, n. 7, p. 1736–1751, 2017.

DARÉ, R. G.; NAKAMURAA, C.V.; XIMENES, V.F.; LAUTENSCHLAGER, S.O.S. Tannic acid, a promising anti-photoaging agent: Evidences of its antioxidant and anti-wrinkle potentials, and its ability to prevent photodamage and MMP-1 expression in L929 fibroblasts exposed to UVB. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 160, p. 342-355, 2020.

DAVOLOS, M. R.; FLOR, J; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.1, p 153-158, 2007.

DABROWSKA, A. K.; SPANO, F.; DERLER, S.; ADLHART, C.; SPENCER, N. D.; ROSSI, R. M. A relação entre a função da pele, propriedades de barreira e fatores dependentes do corpo. *Esqui. Res. Technol.*, v.24, p. 165 – 174, 2018.

ELIAS, P. M.; FEINGOLD, K. R. Lipid-Related Barriers and Gradients in the Epidermis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. v. 548, p. 4-13, 1988.

FEINGOLD, K. R.; ELIAS, P. M. Role of lipids in the formation and maintenance of the cutaneous permeability barrier. In: (Ed.). *Biochim. Biophys Acta. Netherlands: Published by Elsevier B.V.*, v.1841, p. 280-94. ISBN 0006-3002, 2014.

FERNANDEZ, O.; CAPDEVILA, J. Z.; DALLA, G.; MELCHOR, G. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. *Fitoterapia*. v. 73, p. 564–568, 2002.

FLATEN, G. E.; Palac, Z., Engesland, A., Filipovic- Grcic J.; Vanic, Z.; Skalko-Basnet, N. In vitro skin models as a tool in optimization of drug formulation. *Eur. J. Pharmac. Sci.*, v. 75, p. 10-24, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928098715000858>. Acessado em 30.01.2021.

FRANZ, TJ; LEHMAN, PA; McGUIRE, EL In vivo methods for assessing percutaneous absorption in men. In: ZATS, JL (Ed.). *Permeação cutânea: fundamentos e aplicação*. **Wheaton: Allured**, p.73-92, 1993.

FURUKAWA, J. Y.; MARTINEZ, R. M.; MOROCHO-JÁCOME, A. L.; CASTILLO-GÓMEZ, T. S.; PEREDA-CONTRERAS, V. J.; ROSADO, C.; VELASCO, MVR; BEBE, A. R. Impactos na pele da exposição a luz ultravioleta, visível, infravermelha e artificial - uma revisão. *J. Cosmet. Laser Ther.*, v.23, p.1-7, 2021.

GUO, Z.; XIE, W.; LU, J.; GUO, X.; XU, J.; XU, W.; CHI, Y.; TAKUYA, N.; WU, H.; ZHAO, L. Tannic acid-based metal phenolic networks for bio-applications: a review. *J. Mater. Chem. B*, n. 20, 2021.

GRATIERI, T.; GELFUSO, G. M.; LOPEZ, R. F. V. Princípios básicos e aplicação da iontoforese na penetração cutânea de fármacos. *Química Nova*, v. 31, n. 6, p. 1490–1498, 2008.

GUPTA, N.K.; DIXIT, VK Desenvolvimento e avaliação do sistema vesicular para liberação de curcumina. *Arch Dermatol Res.*, v.303, n.2, p.89-101, 2011.

HAMMER, F. Über den Einfluss des Lichtes auf die Haut. *Arco. F. Dermat.*, v. 24. P. 329, 1892.

HERAI, H.; GRATIERI, T.; THOMAZINE, J. A.; BENTLEY, M. V.; LOPEZ, R. F. Penetração de doxorubicina na pele de formulações de propilenoglicol contendo monoleína. *Int. J. Pharm.*, v.329, p. 88-93, 2007.

HOSKIN, R.; PAMBIANCHI, E.; PECORELLI, A.; GRACE, M.; THERRIEN, J.P.; VALACCHI, G.; LILA, M. A. Novas partículas de alecrim e alecrim secas por spray atenuam os danos à pele induzidos pela poluição. **Molecules**, v.26, p.3781, 2021.

HUNTLEY, A. Aromadermatologia: Aromaterapia no tratamento e cuidado de doenças comuns da pele. **Focus Altern. Complemento. Ther.**, v.12, p.65–66, 2010.

JEON, J.S; KANG H. M.; PARK, S.Y.; CHOI, Y. Comparative study of the photo-protective and anti-melanogenic properties of gomisin D, **J and O. Mol Med Rep.**, v.25, p.8, 2021.

JIA, Y.; GAN, Y.; HE, C.; CHEN, Z.; ZHOU, C. The mechanism of skin lipids influencing skin status. **J. Dermat. Sci.**, v.89, n.2, p.112-119. 2017.

KARAS, D.; ULRICHOVÁ, J.; VALENTOVÁ, K. Galloylation of polyphenols alters their biological activity. **Food Chem Toxicol.**, v.105: p.223-240, 2017

KHANBABAEI, K., REE, T.V., Tannins: Classification and Definition. **Nat. Prod. Rep.**, **2001**, v. 18, p. 641-649, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/B101061L>. Acesso em: 29 de junho de 2018.

LADEMANN, J. et al. Investigation of follicular penetration of topically applied substances. **Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology**, v.14, n.1, p.17–22, 2001.

LAM, P. L.; GAMBARI, R. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. **Journal of Controlled Release**, v. 178, n. 1, p. 25-45, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016836591300970X>. Acessado em: 30.01.2021.

LOGUERCIO, A. P. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural, Santa Maria**, v.35, n.2, p.366-370, 2005.

LOPES, C. M. I.; BARATELLA-EVÊNCIO, L.; SOUZA, I. A.; OLIVEIRA, E. B.; SÁ, J. G. A.; SANTANA, M. A. N.; NETO, P. P. M.; SANTANA, E. S.; SILVA, L. A.; VIEIRA, J. R. C. Evaluation of cytotoxicity and wound healing activity of *Avicennia schaueriana* in cream. **An Acad Bras Cienc.** v.91, 2019.

MANCUSO J. B.; MARUTHI, R.; WANG, S. Q.; LIM, H. W. Protetores solares: uma atualização. **Am J Clin Dermatol.**, v.18, n.5, p.643 – 650, 2017.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Um. Bras. Derm. Sifilogr.**, v.61, p.121 – 124, 1986.

MARTINS, M. R.F. M.; VEIGA, F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. **Braz. J. Pharmac. Sci.**, v.38, n. 1, 2002.

MATTOS, T. C. G. **Mecanismo da ação antioxidante dos ácidos caféico e tânico em sistemas contendo íons ferro.** 2009. Tese (Mestrado em Química) Programa de Pós-

graduação em química - Instituto de Química - Universidade de Brasília – UNB. Brasília, f 224, 2009.

MCGRATH, J. A.; UITTO, J. Anatomy and organization of human skin. **Rook's Textbook of Dermatology**, 7 ed., p. 45-128, 2010.

MELLO, J. C.P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed. **Porto Alegre: Ed.UFGRS/Ed.UFSC**, p.517-543, 2001.

MO, J.; DAI, Y.; ZHANG, C.; ZHOU, Y.; LI, W.; SONG, Y.; WANG, Z. Design of ultra-stretchable, highly adhesive and self-healable hydrogels via tannic acid-enabled dynamic interactions. **Materials Horizons**, n.8, v. 12, p.3409-3416, 2021.

MONT'ALVERNE, T. C. F; BELCHIOR, G. P. N.; OLIVEIRA, C. M. A. As experiências com animais nas indústrias de cosméticos sob o enfoque do paradigma da complexidade. **Revi Brasileira De Estudos Políticos**, v.120, 2020.

MOSER, K.; KRIWET, K.; NAIK, A.; KALIA, Y.; GUY, R. H. Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 52, p. 103– 112, 2001.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R.G.; ARAÚJO, C. S.; SANTANA, C. R. R.; SOUZA, G. R. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of extracts from the flowers of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **J. Chem. Pharm. Res.**, v.4, n.10, p. 4489-4494, 2012.

POLACOW, M. L. O; DIB-GIUSTI, H. H. K; LEONARDI, G. R; VIEIRA, C. E. C; GUIRADO, G. N; ZAGUE, V; DI PIERRO, R; RIBEIRO, M. C. DE A. P; PIRES-DE-CAMPOS, M. S. M. Effect of ultrasound and dexpanthenol on wound healing **Braz. J. Phys. Ther**, v. 9, n. 3, 365-371, 2005.

NAKAMURA, T.; YOSHIDA, N.; YASOSHIMA, M.; KOJIMA, Y. Effect of tannic acid on skin barrier function. **Exp Dermatol.**, v.27, p.824-826, 2018.

NOHYNEK, G. J.; SCHAEFER, H. Benefício e risco dos filtros ultravioletas orgânicos. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v.33, n.3, p. 285 – 299, 2001.

OSTERWALDER, U.; LUTHER, H.; HERZOG, B.; Uber den lichtschuttfaktor hinaus – neue effiziente und photostabile UVA-filter. **Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz**, v.44, p. 463-470, 2001 Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s001030170019>. Acessado em: 27 de outubro de 2021.

PACKER, L.; VALACCHI, G. Antioxidantes e a resposta da pele ao estresse oxidativo: Vitamina E como um indicador-chave. **Esqui. Pharmacol. Appl. Esqui. Physiol.**, v.15, p. 282–290, 2002.

PAMBIANCHI, E.; FERRARA, F.; PECORELLI, A.; WOODBY, B.; GRACE, M.; THERRIEN, J. P.; LILA, M. A.; VALACCHI, G. Blueberry Extracts as a Novel Approach to Prevent Ozone-Induced Cutaneous Inflammation Activation. **Oxid. Med. Célula. Longev.**, 2020.

POLONINI, H.C.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, M. A. F. Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na prevenção do câncer de pele. **Revista de Atenção Primária a Saúde**, v.14, n.2, p.216-223, 2011.

PRAUSNITZ, M. R.; MITRAGOTRI, S.; LANGER, R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. **Nat. Rev. Drug. Discov.** v.3, p.115–124, 2004.

PROW, T. W.; GRICE, J. E.; LIN, L. L.; FAYE, R.; BUTLER, M.; WURM, M. T.; YOONG, C.; ROBERTSON, T. A.; SOYER, H. P.; ROBERTS, M. S. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. In: (Ed.). **Adv Drug Deliv Rev. Netherlands: Published by Elsevier B.V.**, v.63, p.470-91, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X11000160>. Acessado em: 30.01.2021.

RASOAINAVO, P.; WRIGHT, W.; WILLCOX, M. L., GILBERT B. Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of malaria: synergy and positive interactions. **Malar. J.**; v.10, 2011.

RAI, J.; KAUSHIK, K. Reduction of Animal Sacrifice in Biomedical Science & Research through Alternative Design of Animal Experiments, **Saudi. Pharmac. J.**, v. 26, ed. 6, p. 896-902, 2018.

RODRÍGUEZ CRUZ, I.; DOMÍNGUEZ-DELGADO, C.; ESCOBAR-CHÁVEZ, J.; LÓPEZ-CERVANTES, M.; DÍAZ-TORRES, R. Intensificadores de penetração física: uma visão geral. Em *Tecnologias Atuais para Aumentar a Entrega Transdérmica de Medicamentos*; **Bentham Science Publishers: Sharjah, Emirados Árabes Unidos**, v. 2, p. 3–34, 2016.

RINAUDO, M.; LARDY, B.; GRANGE, L.; CONROZIER, T. Effect of Mannitol on Hyaluronic Acid Stability in Two *in Vitro* Models of Oxidative Stress. **Polymers**, n.6, p.1948–1957, 2014.

SAINZ-URRUELA, C.; VERA-LÓPEZ, S.; DÍEZ-PASCUAL, A. M.; ANDRÉS, M. P. S. Fluorescence study of the influence of centrifugation on graphene oxide dispersions in water and in tannic acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, n. 278, 2022.

SAIZ-POSEU, J.; MANCEBO-ARACIL, J.; NADOR, F.; BUSQUÉ, F.; RUIZ-MOLINA, D. ANGEW. The Chemistry behind Catechol-Based Adhesion. **Chem. Int.**, n. 58, 696–714, 2019.

SANTANA, C.R.R. ARAÚJO, C. S.; OLIVEIRA-JÚNIOR, R.G.; SOUZA, G. R.; LIMA-SARAIVA, G.; GUIMARÃES, A.; DE OLIVEIRA, A.; SIQUEIRA-FILHO, J.; PACHECO, A.; ALMEIDA J. S. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity

of *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae). **International Journal of Sciences**, v.1, n.11, p.1-19, 2012.

SATO, M. E. O.; GOMARA, F.; PONTAROLO, R.; ANDREAZZA, I. F.; ZARONI, M. Permeação cutânea in vitro do ácido kójico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n.2, 2007. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rbcf/article/view/44197/47818>. Acessado em: 30.01.2021.

SCHÜRER, N. Y.; PLEWIG, G.; ELIAS, P. M. Stratum corneum Lipid Function. **Dermatology**, v. 183, n. 2, p. 77-94, 1991. Disponível em: <https://www.karger.com>. Acessado em: 30.01.2021.

SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P. Introdução aos Produtos Fotoprotetores. **Ver. Cosmetics & Toiletries**, v.12, p.60-67, 2000. Disponível em: <http://repositório.bc.ufg.br/tede/handle/tde/2873>. Acessado em: 29.01.2021.

SEETHARAM, A. A.; CHOUDHRY, H.; BAKHREBAH, M. A.; ABDULAAL, W. H.; GUPTA, M. S.; RIZVI, S. M. D.; MOIN, A. Sistemas de entrega de drogas de microagulhas para tratamento de câncer: uma atualização recente. **Pharmaceutics**, v.12, p.1101, 2020.

SENGUPTA, P.; CHATTERJEE, B. Potential and future scope of nanoemulgel formulation for topical delivery of lipophilic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 526, n. 1–2, p. 353–365, 2017.

SIL, B. C.; ÁLVAREZ, M. P.; ZHANG, Y.; KUNG, P. C.; HOSSAIN, M.; ILIOPOULOS, F.; LUO, L.; CROWTHER, J. M.; MOORE, D. J.; HADGRAFT, J.; PISTA, M.E.; HILTON, S. T. 3D printed Franz type diffusion cells. **Int J Cosmet Sci.**, v.40, ed.6, p. 604-609, 2018.

SIMÕES CMO, SCHENKEL EP, GOSMANN G. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre: **Editora UFSC/UFRGS**, 2004.

SINGER, SEBASTIAN; KARRER, SIGRID; BERNEBURG, MARK. Modern sun protection. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 46, p.24-28, 2019.

SIONKOWSKA, A.; KACZMAREK, B.; GNATOWSKA, M.; KOWALONEK, J.; **J. Photochem. Photobiol. B**, n. 148, p. 333–339, 2015.

SIQUEIRA, W. N., SILVA, L. R. S., SANTOS, M. L. O. SANTOS, F. T. J., SILVA, H. A. M. F., LACERDA, L. B. N., SÁ J. L., SILVA, E. B., MELO, A. M. M. A. Efeito radioprotetor do extrato de *Ziziphus joazeiro* sobre embriões de *Biomphalaria glabrata* submetidos à radiação ionizante, **Scientia plena**, v.10, n.9, 2014. Disponível em: <https://scientiaplenu.org.br/sp/article/view/1969/0>. Acessado em: 29.01.2021.

SPIGOTI, G., SHIGUETOSHI, T, BARTOLINE, P., OKASAKI, K. Avaliação preliminar do efeito radioprotetor da própolis brasileira em células CHO-K1 irradiadas com Co-60 pelo ensaio do micronúcleo. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN-SP), **Amazon Food**, 2009.

- TOSATO, M. G.; ORALLO, D. E.; ALI, S. M.; CHURIO, M. S.; MARTIN, A. A.; DICELIO, L. Confocal Raman spectroscopy: *In vivo* biochemical changes in the human skin by topical formulations under UV radiation. **J. Photochem. Photob. B.**, v. 153, p.51-58, 2015.
- VALENCIA-ISLAS, N.A.; ARGÜELLO, J.J; ROJAS, J.L. Research Article Antioxidant and Photoprotective Metabolites of *Bunodophoron melanocarpum*, A Lichen from the Andean Páramo. **Pharm. Sci.**, v. 27, n.2, p. 281-290, 2021.
- WANG, F. Y.; CHEN, Y.; HUANG, Y.Y.; CHENG, C.M. Sistemas de entrega transdérmica de medicamentos para combater doenças infecciosas virais comuns. Droga Entrega. **Trad. Res.**, v.11, p. 1498-1508, 2021
- WANG, SQ; XU, H; STANFIELD, J.W.; OSTERWALDER, U.; HERZOG, B. Comparação dos padrões de proteção à luz ultravioleta A nos Estados Unidos e na União Europeia por meio de medições *in vitro* de filtros solares disponíveis comercialmente. **J Am Acad. Dermatol.**, n.77, p. 42 - 47, 2017.
- WANG, T; ZHAO, J; YANG, Z; XIONG, L; LI, L; GU, Z; LI, Y. Polyphenolic sunscreens for photoprotection, **Green Chemistry**, v.9, p. 3361-3852, 2022.
- WATTS, C.G.; DRUMMOND, M.; GOUMAS, C.; SCHMID, H.; ARMSTRONG, B. K.; AITKEN, J. F.; JENKINS, M. A.; GILES, G. G.; HOPPER, J. L.; MANN, G. J. Uso de protetor solar e risco de melanoma entre jovens adultos australianos. **Jama Dermatol**, v.154, p.1001–1009, 2018.
- WICKETT, R. R.; VISSCHER, M. O. Structure and function of the epidermal barrier. **American Journal of Infection Control**, v. 34, n. 10, Supplement, p. S98-S110, 2006. ISSN 0196-6553. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655306009503>. Acessado em: 30.01.2021.
- WOODBY, B.; PENTA, K.; PECORELLI, A.; LILA, M.A.; VALACCHI, G. Saúde da pele de dentro para fora. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.**, v.11, p.235-254, 2020.
- YANG, Y.; ZHAO, X.; YU, J.; CHEN, X.; WANG, R.; ZHANG, M.; CHENG, Y. Bioactive skin-mimicking hydrogel band-aids for diabetic wound healing and infectious skin incision treatment. **Bioactive materials**, n.6, v.11, p. 3962-3975, 2021.
- YOUNG, A. R.; CLAVEAU, J.; ROSSI, A. B. Radiação ultravioleta e a pele: fotobiologia e fotoproteção de filtro solar. **Geléia. Acad. Dermatol.**, v.76, p.100 –109, 2017.
- ZACHARIADIS, G.A.; SAHANIDOU, E. Multi-element method for determination of trace elements in sunscreens by ICP-AES. **J. of Pharmac. and Biomed. Anal., Greece**, v. 50, p 324-348, 2009.
- ZHANG, C.; WU, B. H.; ZHOU, Y. S.; ZHOU, F.; LIU, W. M.; WANG, Z. K. Mussel-inspired hydrogels: from design principles to promising applications. **Chem. Soc. Rev.**, n.49, p.3605–3637, 2020.

ZHANG, D; WANG, H.-J.; CUI, X.-M.; WANG, C.-X., Evaluations of imidazolium ionic liquids as novel skin permeation enhancers for drug transdermal delivery. **Pharm. Dev. Technol.**, v.22, p. 511–520, 2017.

ZHANG, S.; WANG, Z.; YAN, W.; GUO, Y. Novel luteolin sensor of tannic acid-stabilized copper nanoclusters with blue-emitting fluorescence. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, n. 259, 2021.

ZHAO, Y.; Xu, L.; KONG, F; YU, L. Design and preparation of poly(tannic acid) nanoparticles with intrinsic fluorescence: A sensitive detector of picric acid. **Chemical Engineering Journal**, n. 416, 2021.

ZIMMERMANN, K.A. Skin: The Human Body's Maior Organ. **Live Sci.**, 2018. Disponível em: <https://www.livescience.com/27115-skin-facts-diseases-conditions.html>. Acesso em: 02 de janeiro de 2022.