UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação do potencial fotoquimioprotetor do extrato de *Protium heptaphyllum* da Amazônia em gel de aplicação tópica

Ana Luiza Scarano Aguillera Forte

Ribeirão Preto

2012

RESUMO

FORTE, A. L. S. A. **Avaliação do potencial fotoquimioprotetor do extrato de *Protium heptaphyllum* da Amazônia em gel de aplicação tópica**. 2012. 86 f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A pele atua como barreira entre o meio externo e o organismo. Mesmo possuindo um grande número de mecanismos de defesa antioxidante, certas situações como a exposição prolongada à radiação ultravioleta (RUV), são capazes de romper o equilíbrio pró-oxidante/antioxidante no organismo, provocando um grande aumento na concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs). A administração tópica de antioxidantes é um eficiente modo para enriquecer o sistema protetor cutâneo endógeno, e assim uma estratégia de sucesso para reduzir os danos oxidativos causados à pele pela RUV. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os extratos vegetais de *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta*, *Protium heptaphyllum*, e *Miconia minutiflora* quanto as suas propriedades antioxidantes, bem como sua citotoxicidade, e verificar a eficácia do extrato de *Protium heptaphyllum* como agente fotoquimioprotetor *in vivo*. A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada por diferentes métodos *in vitro* que simulam a formação de EROs e os valores foram expressos como a concentração de extrato necessária para promover 50% da ação antioxidante (IC_{50}). Todos os extratos estudados tiveram valores de IC_{50} baixo, o que representa um grande potencial antioxidante. Além disso, o extrato de *Protium heptaphyllum* apresentou baixa citotoxicidade em concentrações antioxidantes e quando irradiado parece ser menos citotóxico. Assim, a eficácia fotoquimioprotetora deste extrato incorporado a uma formulação tópica foi avaliada por meio de estudos *in vivo* em camundongos sem pelos expostos à RUV. O extrato incorporado em uma formulação gel, capaz de disponibilizar seus ativos antioxidantes na pele dos animais, mostrou ser capaz de recuperar os níveis de GSH e a atividade da SOD reduzidos pela RUV. Por outro lado, não houve inibição da atividade das mieloperoxidases. Estes resultados indicam que o extrato apresenta potencial como agente fotoquimioprotetor.

Palavras-Chave: Atividade antioxidante, *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta*, Fotoquimioproteção, *Miconia minutiflora, Protium heptaphyllum*.

ABSTRACT

FORTE, A. L. S. A. **Evaluation of photochemoprotective potencial of *Protium heptaphyllum* Amazon plant extract added in gel formulation for topical application.** 2012. 86 f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

The human skin acts as barrier between the environment and the organism. It presents a large number of antioxidant defense mechanisms, however, in some situations, such as in prolonged exposure under ultraviolet radiation (UVR), it is possible to break the pro-oxidant/antioxidant equilibrium in organism, causing an increase of reactive oxygen species (ROS). Topic administration of antioxidants is an efficient way to enhance cutaneous defense system, and a strategy to reduce oxidative damages caused by UVR in the skin. The purpose of this study was to evaluate the antioxidant properties and the citotoxicity of *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta*, *Protium heptaphyllum* and *Miconia minutiflora* plant extracts, and to test the *in vivo* photochemoprotective efficiency of *Protium heptaphyllum* plant extract. The antioxidant activity of plant extracts was evaluated by several *in vitro* methods that simulated ROS generation and the results were expressed such as the extract concentration necessary to promote 50% of the antioxidant action (IC_{50}). All the studied plant extracts presented low IC_{50} values, showing a great antioxidant potential. Moreover, *Protium heptaphyllum* extract presented reduced citotoxicity in antioxidant concentrations and the exposure under UVR seems to decrease its citotoxicity. So, the photochemoprotective effectiveness of this extract into a topical formulation was evaluated by *in vivo* tests using hairless mice exposed under UVR. Gel formulation with *Protium heptaphyllum* extract proved to be able to provide antioxidant compounds to skin and to recover GSH levels and SOD activity reduced by UVR. On the other hand, there was no inhibition of myeloperoxidases activity. These results indicate that this extract presents potential as photochemoprotective agent.

Keywords: Antioxidant activity, *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta*, *Miconia minutiflora*, Photochemoprotection, *Protium heptaphyllum*.

1. Introdução

Nos últimos anos, evidências têm indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento cutâneo e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares e disfunções cerebrais.

A molécula de oxigênio no seu estado fundamental (O_2) contém dois elétrons não pareados, o que favorece sua redução e a formação de produtos intermediários denominados Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (DARR; FRIDOVICH, 1994). As EROs podem reagir com as moléculas orgânicas provocando a perda da integridade celular, da funcionalidade enzimática e da estabilidade genômica (MEAGHER; FITZGERALD, 2000).

Antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos *in vivo* agem por inibição da geração de EROs ou diretamente pelo sequestro de radicais livres (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Contudo, em condições pró-oxidantes a concentração desses radicais pode aumentar resultando no desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes. A indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Poucos tecidos estão sujeitos a um estresse oxidativo tão elevado quanto a pele (MELONI; NICOLAY, 2003), sendo a radiação ultravioleta (RUV) a maior promotora de EROs e o principal fator ambiental causador de câncer (PEUS et al., 2001)

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2011), o câncer de pele não melanoma é o câncer mais comum no mundo e sua incidência continua a aumentar. Tem-se observado também um expressivo crescimento na incidência de tumores do tipo melanoma em populações caucasianas. Com o objetivo de reduzir os efeitos carcinogênicos e foto danos da radiação solar, recomenda-se o uso de bloqueadores solares contendo filtros ultravioleta.

No entanto, o aumento do uso de bloqueadores solares tem coincidido com o aumento do câncer de pele (RAMPAUL; PARKIN; CRAMER, 2007). Estudos conduzidos por Hanson, Gratton e Bardeen (2006) mostram que quando os filtros solares químicos penetram nas camadas nucleadas da pele, o nível de EROs aumenta além daquele produzido naturalmente pelos cromóforos epiteliais sob radiação ultravioleta. Além disso, trabalhos na literatura já demonstraram que os filtros solares sofrem processos de degradação induzidos pela radiação UV, o que leva a uma redução na capacidade de proteção da pele e também a geração de espécies potencialmente tóxicas (SCALIA; MEZZENA, 2010).

Fotoquimioprevenção é o termo que define o uso de agentes capazes de prevenir ou combater os efeitos adversos da RUV na pele (F'GUYER; AFAQ; MUKHTAR, 2003). Antioxidantes, principalmente de origem vegetal, têm recebido considerável atenção como agentes fotoquimiopreventivos para uso humano. Alguns trabalhos já demonstram a eficácia de extratos vegetais e substâncias isoladas de plantas, a qual tem sido atribuída à sua capacidade antioxidante e/ou antiinflamatória (KATIYAR; AFAQ; MUKHTAR, 2001; VAYALIL; ELMETS; KATIYAR, 2003; CASAGRANDE et al., 2006; NICHOLS; KATIYAR, 2010).

Portanto, considerando a estreita relação entre a exposição solar e o aumento do estresse oxidativo na pele, aliada ao fato de que estudos epidemiológicos demonstram que o uso de protetores solares não é completamente efetivo na prevenção do câncer de pele induzido pela exposição à RUV, o uso de antioxidantes surge como alternativa para fotoproteção e prevenção do câncer de pele e outras patologias cutâneas (GONZÁLEZ; FERNÁNDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008).

1.1. A radiação ultravioleta e os danos causados à pele

A radiação ultravioleta emitida pelo sol dividi-se em: UVC (200 – 280nm), UVB (280 – 320nm) e UVA (320 – 400nm). A radiação UVC, de maior energia e consequentemente a mais danosa biologicamente, é absorvida pela camada de ozônio da atmosfera terrestre e, assim, seu papel nas patogenias humanas causadas pela exposição à radiação solar é mínimo (AFAQ; ADHAMI; MUKHTAR, 2005). As radiações UVB e UVA diferem quanto aos seus sítios de ação na geração de lesões. Os raios UVB, os mais energéticos comprimentos de onda que atingem a Terra, podem induzir lesões diretamente no DNA, já os raios UVA são menos energéticos que os UVB, mas têm maior poder de penetração, sendo que o seu principal modo de ação se dá pela geração de EROs (VIOUX-CHAGNOLEAU et al., 2006).

A energia proveniente da RUV é absorvida pelos cromóforos celulares, como DNA, porfirinas, ácido urocânico e aminoácidos aromáticos, e convertida em energia química. Esses cromóforos energizados podem reagir com o oxigênio molecular resultando na geração das EROs, dentre os quais destacam-se os radicais hidroxila ($HO^{\bullet}$), superóxido ($O2^{\bullet-}$), peroxila e alcoxila ($RO2^{\bullet}$ e $RO^{\bullet}$), o oxigênio singlete ($^1O_2$) e

os peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) e orgânicos (ROOH) (GUARANTINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007; XU; FISHER, 2005).

As EROs podem reagir com as moléculas orgânicas, como proteínas, lipídios, ácidos nucléicos e carboidratos, provocando a perda da integridade celular, da funcionalidade enzimática e da estabilidade genômica (MEAGHER; FITZGERALD, 2000). Dentre as moléculas orgânicas, os lipídios são, provavelmente, as mais susceptíveis a serem atacadas pelas EROs (INAL; KANBAK; SUNAL, 2001), pois as membranas biológicas contém consideráveis quantidades de lipídios altamente insaturados e são banhadas por fluidos ricos em oxigênio e metal (BUEGE; AUST, 1978).

A peroxidação lipídica pode conduzir a uma desorganização da membrana celular com liberação de fosfolipídios que atuam sinergicamente a um aumento das atividades da fosfolipase A2 (PLA2) e da ciclooxigenase-2 (COX-2) induzidas pela radiação UV, resultando em níveis maiores de produção de prostaglandinas (PG), incluindo a prostaglandina E2 (PGE2), responsáveis pela inflamação epitelial. A primeira resposta observada na pele após exposição ao sol é, portanto, a inflamação, caracterizada por eritema, edema e calor, e pela elevação dos níveis de prostanóides (HRUZA; PENATLAND, 1993; KANGROTONDO et al., 1993; WILGUS et al., 2003). As funções presumíveis do processo inflamatório instalado na pele após a exposição à RUV são de remover e reparar os tecidos e células danificadas (RIJKEN et al., 2006).

O processo inflamatório promove a liberação de fatores de crescimento, de citocinas pró-inflamatórias e o recrutamento de células inflamatórias como macrófagos e neutrófilos. As citocinas liberadas pela exposição à radiação UV atuam sobre as células da epiderme e os leucócitos infiltrados, estimulando a sinalização intracelular e alterando a expressão gênica. Por exemplo, a interleucina-1 (IL-1), liberada de células epidermais expostas à luz UV e de células inflamatórias, pode prontamente induzir o passo de sinalização intracelular de proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAP quinases) (JANSSENS; BEYAERT, 2003). As MAP quinases compreendem um grande número de proteínas serina/treonina quinases envolvidas na regulação de diferentes processos celulares, como proliferação, diferenciação, adaptação ao estresse e apoptose (AFAQ et al., 2005).

A via de sinalização das MAP quinases leva a indução de membros chave das metaloproteinases da matriz (MMP), uma família de zinco endopeptidases capaz de

degradar estruturas protéicas como o colágeno, elastina e outras proteínas presentes na matriz extracelular da pele (LAHMANN et al., 2001; VIOUX-CHAGNOLEAU et al., 2006). Sob condições fisiológicas normais, as MMPs ativadas são controladas por inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs) e são geralmente expressas em baixos níveis. No entanto, os níveis de algumas destas MMPs podem ser elevados rapidamente quando o tecido é submetido à radiação UV (FISHER et al., 1996; FISHER et al., 1997), durante a inflamação, a cicatrização de feridas e câncer no estágio de progressão (STEENVOORDEN et al., 2001; ZUCKER et al., 2003).

A ativação enzimática pode ser um reflexo da geração de EROs, porque oxidantes são potentes ativadores de MMP. Este episódio talvez seja a maior causa dos danos observados no fotoenvelhecimento. No entanto, a contribuição individual de cada uma dessas enzimas na destruição do tecido conectivo pela exposição à RUV, ainda não é precisamente conhecida. Sugere-se que a MMP-8 e a MMP-13 pouco contribuem para os danos estruturais do fotoenvelhecimento (BRENNAN et al., 2003), enquanto que a MMP-1 (colagenase 1 ou colagenase intersticial), que degrada fibras de colágeno tipo I e III, a MMP-3 (estromelisina-1) que degrada colágeno tipo IV e a MMP-9 (gelatinase-B) que degrada fragmentos de colágeno gerados pela MMP-1, juntas, têm a capacidade de degradar a maior parte das proteínas estruturais que compõem o tecido conectivo dérmico (FISHER et al., 2001; XU; FISHER, 2005).

A radiação também aumenta os níveis de mieloperoxidase (MPO), uma enzima peróxido de hidrogênio oxidorredutase especificamente encontrada em leucócitos granulocíticos, incluindo polimorfonucleares (PMNs), monócitos, basófilos e eosinófilos que contribui para a atividade bactericida dessas células (TRUSH, 1994). Durante a ação dos neutrófilos no organismo, elétrons são transferidos do oxigênio pela enzima NADPH oxidase para o fagossomo ou para o meio extracelular gerando $O2^{\bullet -}$ e H_2O_2, que atuam como desencadeantes da formação de outros radicais mais potentes. A geração desses radicais é dependente da presença de mieloperoxidase que, juntamente com o peróxido de hidrogênio, forma halógenos oxidados, como o ácido hipocloroso (HClO), efetivos contra microrganismos e células tumorais (FREIRE; QUELUZ, 1995).

Para proteger a pele dos efeitos causados pela radiação UV, numerosos mecanismos de defesa antioxidante evoluíram para limitar os níveis intracelulares de

radicais livres e impedir a indução de danos (HENSLEY et al., 2000). Antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, como a glutationa (GSH), ácido ascórbico, α-tocoferol, β-caroteno e ácido retinóico, agem *in vivo* por inibição da geração de EROs, ou diretamente pelo sequestro de radicais livres. Os níveis endógenos de antioxidantes podem ser regulados pelo aumento da expressão dos genes que codificam as enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase. Superóxido dismutases (SOD) removem $O_2^{\cdot-}$ acelerando sua conversão à H_2O_2. Catalases (CAT) convertem H_2O_2 em água e O_2. No entanto, as enzimas mais importantes na remoção de H_2O_2 das células humanas são as glutationa peroxidases (GPx) (ARUOMA, 2003). A GPx catalisa a redução de H_2O_2 e peróxidos orgânicos para seus correspondentes alcoóis à custa da conversão da glutationa reduzida (GSH) a sua forma oxidada (GSSG). A recuperação da GSH é feita pela enzima Glutationa-redutase (GSH-Rd), uma etapa essencial para manter o sistema de proteção celular íntegro (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Sob tensão normal de oxigênio, esses mecanismos de defesa antioxidante são suficientes para manter a homeostasia, removendo os radicais livres produzidos. Contudo, em condições pró-oxidantes, como a exposição prolongada à RUV, a concentração de radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (SIERENS et al., 2001). Baixas concentrações de EROs no organismo são indispensáveis nos processos de sinalização celular e na defesa contra microrganismos. Porém, a presença em altas concentrações e/ou a remoção inadequada dessas EROs podem levar à disfunções metabólicas e danos às macromoléculas biológicas (MATÉS; SÁNCHES-JIMÉNEZ, 1999). A exposição à radiação UV causa depleção do sistema antioxidante endógenos fazendo com que os efeitos deletérios não sejam completamente prevenidos, resultando em danos oxidativos ao DNA.

A redução das defesas antioxidantes da pele devido à exposição à radiação UV já foi relatada por diversos pesquisadores. Shindo e colaboradores (1993) demonstraram que, após a irradiação de camundongos sem pelos com dose de RUV corresponde a dez vezes a dose eritematosa mínima ($25 J/cm^2$), as atividades das enzimas catalase e superóxido dismutase sofreram um grande decréscimo na derme e epiderme. Os antioxidantes α-tocoferol, 9-ubiquinol, 9-ubiquinona, ácido ascórbico, ácido dihidroascórbico e GSH também sofreram decréscimo de 26-93%. Pence e Naylor (1990) verificaram que a atividade da enzima superóxido dismutase

sofreu um decréscimo significante após 12 horas de uma única exposição de camundongos sem pelos à radiação UVB e manteve-se suprimida por mais de 72 horas após essa exposição.

Antioxidantes endógenos estão presentes em maior concentração na epiderme que na derme de camundongos sem pêlo e a exposição dos animais a um simulador solar causa a diminuição dos antioxidantes mais drasticamente na epiderme que na derme (SHINDO et al., 1994). Portanto, a epiderme pode ser considerada a primeira linha de defesa da pele contra danos oxidativos causados por EROS. Baseado nestas evidências, o monitoramento dos níveis de antioxidantes endógenos pode ser utilizado como um índice precoce do estresse oxidativo na pele e a sua proteção pode ser uma estratégia na prevenção de danos (CASAGRANDE, 2005).

1.2. Extratos vegetais

As florestas tropicais constituem um dos biomas mais ricos e, provavelmente, possuem mais da metade do número de espécies na Terra (CALDERON et al., 2009). Estima-se que no Brasil estão localizadas 50% das espécies vegetais do mundo, porém, esta biodiversidade não é totalmente conhecida devido a sua complexidade (SILVA; RYLANDS; FONSECA, 2005). Uma vez que as vias metabólicas secundárias dos vegetais são excelente fonte de matérias-primas na busca de novas drogas, o Brasil possui um patrimônio genético de valor econômico e estratégico inestimável.

Atualmente, novos compostos com potencial para prevenir o estresse oxidativo têm atraído grande interesse. As plantas produzem uma variedade de substâncias antioxidantes que podem combater os danos causados pelas EROs, dentre as quais destacam-se os compostos fenólicos (DI MAMBRO; FONSECA, 2005). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se, principalmente, as suas propriedades redutoras e à estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os compostos intermediários formados pela ação dos antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOUSA et al., 2007).

Na literatura, há poucos estudos relacionados há identificação fitoquímica das espécies *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta* e *Miconia minutiflora*. O gênero *Eugenia* é bastante rico em compostos fenólicos, por isso as espécies deste gênero apresentam atividade antioxidante (EINBOND et al., 2004).

Rodrigues (2007) observou, em uma espécie do gênero *Miconia*, a presença de flavonóides, bem como, terpenos e triterpenos que podem estar associados com a elevada atividade antimicrobiana apresentada pelas espécies deste gênero.

Araújo (2011) estudando os extratos metanólicos de *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta* e *Miconia minutiflora* encontrou a presença alcalóides, terpenos, triterpenos, esteróides e flavonóides, embora a identificação destes compostos não tenha sido realizada.

Quanto à espécie *Protium heptaphyllum*, a maioria dos estudos reporta a composição fitoquímica da resina obtida do tronco e dos óleos essenciais obtidos da resina e das folhas, constituídos principalmente de monoterpenos e triterpenos, em especial α e β-amirina (ZOGHBI; MAIA; LUZ, 1995; SUSUNAGA, 2001; BANDEIRA et al., 2001; BANDEIRA et al., 2002; CITÓ et al., 2006; MARQUES et al., 2010). Com relação a esses compostos, vários estudos demonstram suas atividades biológicas, entre elas: anti-pruriginosa (OLIVEIRA et al., 2004a), gastroprotetora (OLIVEIRA et al., 2004b), hepatoprotetora (OLIVEIRA et al., 2005a), analgésica (OLIVEIRA et al., 2005b), sedativa, ansiolítica, antidepressiva (ARAGÃO et al., 2006) e anti-inflamatória (HOLANDA PINTO et al., 2008). Segundo Rüdiger, Siani e Veiga Júnior (2007) outros compostos como ácido p-cumárico, escopoletina, fraxetina e quercetina, foram encontrados no caule desta espécie, os quais podem conferir atividade antioxidante ao extrato em estudo.

Considerando tais informações, é de fundamental importância estudos que conduzam a um maior conhecimento do potencial terapêutico e tóxico e que comprovem a segurança e eficácia de espécies vegetais da biodiversidade brasileira, já que estas espécies são utilizadas pela população de maneira empírica. Além disso, a busca por substâncias antioxidantes que tenham efeito quimiopreventivo pode ser de grande utilidade na prevenção de câncer de pele e do fotoenvelhecimento.

5. Conclusões

Diante dos resultados obtidos, as principais conclusões foram:

- Os extratos das espécies amazônicas estudados, *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta*, *Protium heptaphyllum*, e *Miconia minutiflora*, apresentaram potente atividade antioxidante devido à atividade doadora de $H^{\bullet}$ ao radical $DPPH^{\bullet}$, atividade inibidora da peroxidação lipídica e sequestradora de radicais superóxido e hidroxila de forma dose-dependente. Os extratos também demonstraram certa capacidade queladora de íons ferro;

- Os extratos apresentaram um alto teor de polifenóis e flavonóide, porém não houve uma correlação entre teor de polifenóis e o potencial antioxidante;

- Os extratos *Eugenia biflora*, *Protium heptaphyllum*, e *Miconia minutiflora* apresentaram efeito tóxico, frente a células de fibroblasto, em concentrações maiores que aquelas que promoveram atividade antioxidante *in vitro*, sendo extrato de *Eugenia biflora* o que se mostrou mais tóxico;

- Quando irradiado, o extrato irradiado de *Miconia minutiflora* teve um aumento de citotoxicidade, enquanto que o de *Protium heptaphyllum* se tornou menos citotóxico sendo, portanto, o mais indicado para os estudos de eficácia *in vivo* contras os danos produzidos pela RUV;

- Dentre as três formulações desenvolvidas com extrato de *Protium heptaphyllum*, a que demonstrou maior aplicabilidade, tanto no que diz respeito às características físico-quimicas quanto à manutenção da atividade antioxidante, foi a formulação gel de Aristoflex®. Além disso, a formulação gel de Aristoflex® permitiu penetração e retenção dos componentes antioxidantes do extrato na pele dos camundongos sem pêlos;

- Os estudos de eficácia *in vivo* demonstraram que a formulação gel de Aristoflex® adicionada do extrato de *Protium heptaphyllum* foi capaz de proteger a depleção do antioxidante endógeno GSH induzida pela radiação ultravioleta. Esta proteção, provavelmente, deve-se ao fato do extrato neutralizar ou impedir a

formação de EROs devido à exposição à radiação. Com isso, a oxidação do GSH foi menor em relação à oxidação na pele exposta à radiação sem tratamento;

- A aplicação da formulação gel adicionada do extrato de *Protium heptaphyllum* mostrou ser capaz de recuperar a atividade da enzima SOD reduzida com a exposição à RUV;

- O tratamento com a mesma formulação gel adicionada do extrato de *Protium heptaphyllum* não foi capaz de reduzir a atividade da mieloperoxidase aumentada após a exposição da pele à radiação. Observou-se, ainda, um aumento desta atividade com a aplicação das formulações placebo e adicionada do extrato em relação à pele irradiada sem tratamento, sugerindo a possível fotodegradação dos componentes da formulação;

- A investigação dos efeitos da radiação sobre a formulação e a indução de processo inflamatório, através de estudos de irritação cutânea e ensaios histológicos ou, ainda, o desenvolvimento de novas formulações, adicionadas ou não de filtros solares, será necessária para melhor compreender e comprovar os mecanismos pelos quais o extrato de *Protium heptaphyllum* pode exercer seu papel de agente fotoquimiopreventivo.

Há poucos estudos na literatura sobre os extratos *Eugenia biflora*, *Eugenia protenta*, *Protium heptaphyllum*, e *Miconia minutiflora*, embora o potencial destas espécies seja promissor. Os resultados obtidos por este trabalho contribuem significativamente para o futuro desenvolvimento e aplicabilidade de extratos vegetais como fotoquimiopreventivos.

6. Referências

ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante.** 2005. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

AFAQ, F.; ADHAMI, V.M.; MUKHTAR, H. Photochemoprevention of ultraviolet B signaling and photocarcinogenesis. **Mutation Research,** v. 571, p. 153-173, 2005.

ARAGÃO, G. F.; CARNEIRO, L. M. V.; JUNIOR, A. P. F.; VIEIRA, L. C.; BANDEIRA, P. N.; LEMOS, T. L. G.; VIANA, G. S. B. A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of α and β-amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 85, n. 4, p. 827-834, 2006.

ARAÚJO, I. S. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no estado do Pará**. 2011. 103f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2011.

ARUOMA, O.I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v. 523, p. 9-20, 2003.

BANDEIRA, P. N.; PESSOA, O. D. L.; TREVISAN, M. T. S.; LEMOS, T. L. G. Metabólitos secundários de Protium heptaphyllum March. Química Nova, v. 25, n. 6B, p. 1078-1080, 2002.

BANDEIRA, P. N.; MACHADO, M. I. L.; CAVALCANTI, F. S.; LEMOS, T. L. G. Essential Oil Composition of Leaves, Fruits and Resin of Protium heptaphyllum (Aubl.) March. Journal of Essential Oil Research, v. 13, n. 1, 2001.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Free radicals and the main dietary antioxidants. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, p. 123-130, 1999.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radicals. **Nature**, v. 26, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

BOLANN, B. J.; ULVIK, R. J. Release of iron from ferritin by xanthine oxidase. **Biochemical Journal**, v. 243, p. 55-59, 1987.

BORENFREUND, E.; BABICH, H.; MARTIN-ALGUACIL, N. Comparisons of two *in vitro* cytotoxicity assays - the neutral red (NR) and tetrazolium MTT tests, **Toxicology *in Vitro***, v. 2, n. 1, p. 1-6, 1988.

BRADLEY, P.P.; PRIEBAT, D.A., CHRISTENSEN, R.D., ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil con-tent with an enzyme marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, p. 206–209, 1982.

BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária – ANVISA. **Guia estabilidade de produtos cosméticos.** Série qualidade 1, 2004. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/cosmeticos/guia_series.htm>. Acesso em 02 de maio de 2009.

BRENNAM, M.; BHATTI, H.; NERUSU, K. C.; BHAGAVATHULA, N.; KANG, S.; FISHER, G. J.; VARANI, J.; VOORHEES, J. J. Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 78, n. 1, p. 43-48, 2003.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52c, p. 302-310, 1978.

CALDERON, L. A.; SILVA-JARDIM, I.; ZULIANI, J. P.; ALMEIDA E SILVA, A.; CIANCAGLINI, P.; SILVA, L. H. P.; STÁBELI, R. G. Amazonian biodiversity: a view of drug development for leishmaniasis and malaria. **Journal of the Brazilian Chemistry Society**, v. 20, n. 6, p. 1001-1023, 2009.

CARINI, M.; ALDINI, G.; PICCONE, M.; FACINO, R. M. Fluorescent probes as markers of oxidative stress in keratinocyte cell lines following UVB exposure. **Il Farmaco**, v. 55, p. 526-534, 2000.

CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S. R.; VERRI Jr, W. A.; DORTA, D. J.; DOS SANTOS, A. C.; FONSECA, M. J. V. Protective effect of topical formulations containing quercetin against UVB-induced oxidative stress in hairless mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology b: Biology**, v. 84, p. 21-27, 2006.

CASAGRANDE, R. **Desenvolvimento de formulações tópicas contendo quercetina: controle físico químico e avaliação da eficácia *in vivo***. 2005. 229f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

CHANG, C.C., YANG, M.H., WEN, H.M., CHERN, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 10, p. 178-182, 2002.

CHEVION, M. A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: the essential role of redox-active transition metals. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 5, p. 27-37, 1988.

CHOI, E.J.; CHEE, K.M.; LEE, B.H. Anti- and prooxidative effects of chronic quercetin administration in rats. **European Journal of Pharmacology,** v.482, p.281-285, 2003.

CITÓ, A. M. G. L.; COSTA, F. B.; LOPES, J. A. D.; OLIVEIRA, V. M. M.; CHAVES, M. H. Identificação de constituintes voláteis de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* Aubl (March). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 4. p. 4-7, 2006.

COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.

CRODA. **Literatura Polawax NF**. Disponível em <http://www.croda.com.br/>. Acesso em 11 de fevereiro de 2011.

DALLE CARBONARE, M.; PATHAK, M. A. Skin photosensitizing agents and the role of reactive oxygen species in photoaging. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology**, v. 14, p. 105-124, 1992.

DAMIANI, E.; ROSATI, L.; CASTAGNA, R.; CARLONI, P.; GRECI, L. Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 82, p. 204–213, 2006.

DARR, D.; FRIDOVICH, I. Free radicals in cutaneous biology. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 102, p. 671-675, 1994.

DÍAZ, A. N.; SÁNCHEZ, F. G.; GARCÍA, J. A. G. Chemical indicators as enhancers of the chemiluminescent luminol-H202-horseradish peroxidase reaction. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 87, p. 99-103, 1995.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; LLORCA, M.; BARCELÓ, D. Organic UV filters and their photodegradates, metabolites and disinfection by-products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 10, p. 873-887, 2008.

DI MAMBRO, V. M.; FONSECA, M. J. V. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, p. 287-295, 2005.

DURAND, L.; HABRAN, N.; HENSCHEL, V.; AMIGHI, K. *In vitro* evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 31, p.279-292, 2009.

EINBOND, L. S.; REYNERTSONA, K. A.; XIAO-DONGLUO; BASILEB, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 23-28, 2004.

F'GUYER, S.; AFAQ, F.; MUKHTAR, H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. **Photodermatology Photoimmunology Photomedicine**, v. 19, p. 56-72, 2003.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.

FISHER, G.J.; CHOI, H.C.; BATA-CSORGO, Z.; SHAO, Y.; DATTA, S.; WANG, Z. Q.; et al. Ultraviolet irradiation increases matrix metalloproteinase-8 protein in human skin *in vivo*. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 117, p. 219–226, 2001.

FISHER, G.J.; WANG, Z-Q.; DATTA, S.C.; VARANI, J.; KANG, S.; VOORHEES, J.J. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. **New England Journal of Medicine,** v. 337, p. 1419-1428, 1997.

FISHER, G.J. DATTA, S.C.; TALWAR, H.S. WANG, Z-Q.; VARANI, J.; KANG, S.; VOORHEES, J.J. The molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoic antagonism. **Nature,** v. 379, p. 335-338, 1996.

FONSECA, Y. M.; CATINI, C.D.; VICENTINI, F. T. M. C.; NOMIZO, A.; GERLACH, R. R.; FONSECA, M. J. V. Protective effect of Calendula officinalis extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 596-601, 2010.

FONSECA, Y. M. **Desenvolvimento de formulações tópicas contendo extrato própolis verde: estudos de estabilidade, liberação, permeação e retenção cutânea**. 2007. 169f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

FREIRE, B. F. A.; QUELUZ, T. H. A. T.; Neutrófilo: morfologia, cinética e funções. **Jornal de pneumologia**, v. 21, n. 4, p. 180-184, 1995.

GIROTTI, S.; FINI, F.; FERRI, E.; BUDINI, R.; PIAZZI, S.; CANTAGALLI, D. Determination of superoxide dismutase in erytrocytes by a chemiluminescent assay. **Talanta**, v. 51, p. 685-692, 2000.

GODIN, B.; TOUITOU, E. Transdermal skin delivery: Predictions for humans from *in vivo*, *ex vivo* and animal models. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 1152-1161, 2007.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clinics in Dermatology**, v. 26, p. 614-626, 2008.

GUARANTINI, T.; MEDEIROS, M. H. G.; COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Quimica Nova**, v.30, n.1, p. 206-213, 2007.

HALLIWELL, B.; AESHBACH, R.; LÖLIGER, J.; ARUOMA, O.I. The caracterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v.33, p.601-617, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**, 3ºed, New York: Pergamon Press, p.1-104, 1990.

HANSON, K. M.; GRATTON, E.; BARDEEN, C. J. Sunscreen enhancement of UV-induced reactive oxygen species in the skin. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 41, p. 1205-1212, 2006.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid Antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572–584, 2002.

HENSLEY, K. ROBINSON, K. A.; GABBITA, S. P.; SALSMAN, S.; FLOYD, R. A. Reactive oxygen species, cell signaling and cell injury. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, p. 1456-1462, 2000.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, p. 214-226, 1976.

HO, J. N.; LEE, Y. H.; PARK, J. S.; JUN, W. J.; KIM, H. K.; HONG, B. S. SHIN, D. H.; CHO, H. Y. Protective effects of Aucubin isolated from *Eucommia ulmoides* against UVB-induced oxidative stress in human skin fibroblasts. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 7, p. 1244-1248, 2005.

HOLANDA PINTO, S. A.; PINTO, L. M. S.; CUNHA, G. M. A.; CHAVES, M. H.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Anti-inflammatory effect of α, β-Amyrin, a pentacyclic triterpene from *Protium heptaphyllum* in rat model of acute periodontitis. **Inflammopharmacology**, v. 16, n. 1, p. 48-52, 2008.

HOULT, J. R. S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology: The Vascular System**, v. 27, n. 4, p. 713-722, 1996.

HRUZA, L.L.; PENTLAND, A.P. Mechanisms of UV-induced inflammation**. The Journal of Investigative Dermatology,** v. 100, p. 35S-41S, 1993.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

INAL, M.E.; KANBAK, G.; SUNAL, E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. **Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemistry**, v. 305, p. 75-80, 2001.

INCA – Instituto Nacional do Câncer. **Incidência de câncer no Brasil: Estimativa 2010.** Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Site visitado em: 13 de novembro de 2011.

JANSSENS, S.; BEYAERT, R. Functional diversity and regulation of different interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family members. **Molecular Cell**, v. 11, p. 293-302, 2003.

KANGROTONDO, C.H.; MILLER, C.C.; MORRISON, A.R.; PENTLAND, A.P. Enhanced keratinocyte prostaglandin synthesis after UV injury is due to increased phospholipase activity. **The American Journal of Physiology**, v.264, p. c396-c401, 1993.

KARANDE, P., MITRAGOTRI, S. Enhancement of transdermal drug delivery via synergistic action of chemicals. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1788, p. 2362–2373, 2009.

KATIYAR, S.K.; AFAQ, F.; MUKHTAR, H. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. **Carcinogenesis**, v. 2, p. 287-294, 2001.

KROL, W.; CZUBA, Z.; SCHELLER, S.; PARADOWSKI, Z.; SHANI, J. Structure activity relationship in the ability of flavonols to inhibit chemiluminescence. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 41, p. 121-126, 1994.

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

LAHMANN, C.; YOUNG, A.R.; WITTERN, K.P. BERGEMANN, J. Induction of mRNA for matrix metalloproteinase 1 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in human skin *in vivo* by solar simulated radiation. **Photochemistry and Photobiology,** v. 73 (6), p.657-663, 2001.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Estudos da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não de vitaminas A, E ou ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 77, p. 1-8, 2002.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; BRADA, M. V. L. Estudo da estabilidade física de bases dermocosméticas contendo ésteres fosfóricos. **Aerosol & Cosméticos**, v. 14, n. 79, p. 8-11, 1992.

MARQUES, D. D.; SARTORI, R. A.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; SOUZA, J. S. N.; MONTE, F. J. Q. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 227-230, 2010.

MATÉS, J. M.; SÁNCHES-JIMÉNEZ, F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. **Frontiers in Bioscience**, v. 4, p. 339-345, 1999.

MEAGHER, E. A.; FITZGERALD, G. A. A indices of lipid peroxidation in vivo: Strengths and limitations. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, p. 1745-1750, 2000.

MELONI, M.; NICOLAY, J.F. Dynamic monitoring of glutathione redox status in UV-B irradiated reconstituted epidermis: effect of antioxidant activity on skin homeostasis. **Toxicology in Vitro**, v. 17, p. 609-613, 2003.

MISRA, H. P.; SQUATRITO, P. M. The role of superoxido anion in peroxidase-catalyzed chemiluminescence of luminol. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.215, n. 1, p. 59-65, 1982.

MOSER, K.; KRIWET, K.; NAIK, A.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H. Passive skin penetration enhancement and its quantification *in vitro*. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, n. 2, p. 103-112, 2001.

NICHOLS, J. A.; KATIYAR, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Archives of Dermatological Research**, v. 302, n. 2, p. 71-83, 2010.

OHKAWA, H.; OSHINI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. **Analytica Chimica**, v. 95, p. 351-388, 1979.

OLIVEIRA, F. A.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; LIMA JR, R. C. P.; SILVA, R. M.; MAIA, J. L. et al. Protective effect of α and β-amyrin, a triterpene mixture from Protium heptaphyllum (Aubl.) March. trunk wood resin, against acetaminophen-induced liver injury in mice. Journal of Ethnopharmacology, v. 98, n. 1-2, p. 103-108, 2005a.

OLIVEIRA, F. A.; COSTA, C. L. S.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; CAVALCANTE, I.; LIMA, A. F. et al. Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by α and β-amyrin, a triterpene mixture isolated from Protium heptaphyllum resin in mice. Life Sciences, v. 77, n. 23, p. 2942-2952, 2005b.

OLIVEIRA, F. A.; LIMA JR, R. C. P.; CORDEIRO, W. M.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C. et al. Pentacyclic triterpenoids α, β-amyrins, suppress the scratching behavior in a mouse model of pruritus. Pharmacology Biochemistry and Behavior, v. 78, n. 4, p. 719-725, 2004a.

OLIVEIRA, F. A.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; FLORÊNCIO, M. G..; LIMA JR, R. C. P. et al. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacological Research**, v. 49, n. 2, p. 105-111, 2004b.

PAREJO, I.; CODINA, C.; PETRAKIS, C.; KEFALAS, P. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH free radicals assays. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 44, p. 507-512, 2000.

PASCUAL, C.; DEL CASTILHO, M. D.; ROMAY, C. A new luminol sensitized chemiluminescence method for determination of superoxide dismutase. **Analytical Letters**, v. 25, p. 837-849, 1992.

PENCE, B. C.; NAYLOR, M. F. Effects of single-dose ultraviolet radiation on skin superoxide dismutase, catalase, and xanthine oxidase in hairless mice. **The Society of Investigative Dermatology**, v. 92, n. 2, p.213-216, 1990.

PEUS, D.; MEVES, A.; POTT, M.; BEYERLE, A.; PITTELKOW, M.R. Vitamin E analog modulates UVB-induced signaling pathway activation and enhances cell survival. **Free Radical Biology & Medicine,** v.30, n.4, p.425-432, 2001.

PHARMASPECIAL. **Informativo Técnico Hostacerin® SAF**. Disponível em: <http://www.pharmaspecial.com.br/imagens/literaturas/Lit_HOSTACERIN_SAF.pdf>. Acesso em 11 de fevereiro de 2011.

PHARMASPECIAL. **Inovação e tecnologia em bases dermo-cosméticas de preparo instatâneo**. Disponível em: <http://www.pharmaspecial.com.br/imagens/destaque1/2005_Dest_BasesDermocosm.pdf>. Acesso em 11 de fevereiro de 2011.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

RAMPAUL, A.; PARKIN, I.P.; CRAMER, L.P. Damaging and protective properties of inorganic components of sunscreens applied to cultured human skin cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 191, p. 138–148, 2007.

RIJKEN, F.; KIEKENS, R. C. M.; WORM, E.; LEE, P. L.; WEELDEN, H.; BRUIJNZEEL, P. L. B. Pathophysiology of photoaging of human skin: focus on neutrophils. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 5, n. 2, p. 184-189, 2006.

RODRIGUES, J. **Uso sustentável da biodiversidade brasileira: prospecção químico-farmacológica em plantas superiores: *Miconia* spp**. 2007. 157 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

RODRIGUES, T.; SANTOS, A. C.; PIGOSO, A. A.; MINGATTO, F. E.; UYEMURA, A. S.; CURTI, C. Thioridazine interacts with the membrane of mitochondria acquiring antioxidant activity toward apoptosis – potentially implicated mechanisms. **British Journal of Pharmacology**, v. 136, n. 1, p. 136-142, 2002.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste *in vivo* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

RÜDIGER, A. L.; SIANI, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. The Chemistry and Pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. f. (Burseraceae). **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 1, p. 93-104, 2007.

SCALIA, S.; MEZZENA, M. Photostabilization effect of quercetin on the UV filter combination, butyl methoxydibenzoylmethane-octyl methoxycinnamate. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, p. 273-278, 2010.

SEYOUM, A.; ASRES, K.; EL-FIKY, F. K. Structure – radical scavenging activity relationships of flavonoids, **Phytochemistry**, v. 67, n. 18, p. 2058-2070, 2006.

SHINDO, Y.; WITT, E.; HAN, D.; PACKER, L. Dose-response effects of acute ultraviolet irradiation on antioxidant and molecular markers of oxidation in murine epidermis and dermis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 102, n. 4, p. 470-475, 1994.

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

SIERENS, J.; HARTLEY, J.A.; CAMPBELL, M.J.; LEATHEM, A.J.C; WOODSIDE, J.V. Effect of phytoestrogen and antioxidant supplementation on oxidative DNA damage assessed using the comet assay. **Mutation Research**, v. 485, p. 169-176, 2001.

SILVA, J. M. C.; RYLANDS, A. B.; FONSECA, G. A. B. O destino das áreas de endemismo da Amazônia. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 124-132, 2005.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology,** New York, v. 299, p. 152-172, 1999.

SOUSA, C. M. M.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; et al. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, 2007.

STEENVOORDEN, D.P.T.; BEIJERSBERGEN, V.; HANEGOUWEN, G.M.J. STERNLICHT, M.D.; WERB, Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. **Annual Review of Cell and Developmental Biology,** v. 17, p. 463-516, 2001.

SUSUNAGA, G. S.; SIANI, A. C.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 6, p. 709-711, 2001.

TEDESCO, A. C.; MARTÍNEZ, L.; GONSÁLEZ, S. Photochemistry and photobiology of actinic erythema: defensive and reparative cutaneous mechanisms. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research,** v.30, n. 5, p.561-575, 1997.

TRUSH, M.A.; EGNER, P.A.; KENSLER, T.W. Myeloperoxidase as a biomarker of skin irritation and inflammation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 32, p. 143-147, 1994.

VAYALIL, P.K.; ELMETS, C.A.; KATIYAR. S.K. Treatment of green tea polyphenols in hydrophilic cream prevents UVB-induced oxidation of lipids and proteins, depletion of antioxidant enzymes and phosphorylation of MAPK proteins in SKH-1 hairless mouse skin. **Carcinogenesis**, v. 24, p. 927-936, 2003.

VICENTINI, F. T. M. C.; SIMI, T. R. M.; CIAMPO, J. O. D.; WOLGA, N. O.; PITOL, K. L.; IYOMASA, M. M.; BENTLEY, M. V. L. B.; FONSECA, M. J. V. Quercetin in w/o microemulsion: *In vitro* and *in vivo* skin penetration and efficacy against UVB-induced skin damages evaluated *in vivo*. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 948-957, 2008.

VICENTINI, F.T.M.C.; CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S.R.; BENTLEY, M.V.L.B.; FONSECA, M.J.V. Influence of vehicle on antioxidant activity of quercetin: A liquid crystalline formulation. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.26, p.805-810, 2007.

VILELA, F. M. P.; FONSECA, Y. M.; JABOR, J. R.; VICENTINI, F. T. M. C.; FONSECA, M. J. V. Effect of ultraviolet filters on skin superoxide dismutase activity in hairless mice after a single dose of ultraviolet radiation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, in press, 2011.

VIOUX-CHAGNOLEAU, C.; LEJEUNE, F.; SOK, J.; PIERRARD, C.; MARIONNET, C.; BERNERD, F. Reconstructed human skin: from photodamage to sunscreen photoprotection and anti-aging molecules. **Journal of Dermatological Science Supplement**, v. 2, p.S1-S12, 2006.

WILGUS, T.A.; KOKI, A.T.; ZWEIFEL, B.S.; KUSEWITT, D.F.; RUBAL, P.A.; OBERYSZYN, T.M. Inhibition of cutaneous ultraviolet light B-mediated inflamamation and tumor formation with topical celecoxib treatment. **Molecular Carcinogenesis**, v. 38, p. 49-58, 2003.

WOISKY, R.G. **Métodos de controle químico de amostras de própolis.** 1996. 128f. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

XIA, Y.; ZWEIER, J. L. Measurement of myeloperoxidase in leukocyte-containing tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 245, n. 1, p. 93-96, 1997.

XU, Y.; FISHER, G. J. Ultraviolet (UV) light irradiation induced signal transduction in skin photoaging. **Journal of Dermatological Science Supplement**, v. 1, S1-S8, 2005.

YOSHINO, M.; MURAKAMI, K. Interaction of iraon with polyphenolic compounds: Application to antioxidant characterization. **Analytical Biochemistry**, v. 257, n. 1, p. 40-44, 1998.

ZOGHBI, M.G.; MAIA, J. G.S.; LUZ, A. I. R. Volatile Constituents from Leaves and Stems of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, n. 5, 1995.

ZUCKER, S.; PEI, D.; CAO, J.; LOPEZ-OTIN, C. Membrane type-matrix metalloproteinases (MT-MMP). **Current Topics in Developmental Biology**, v. 54, p. 1-74, 2003.