

## Avaliação da Atividade Antisolar e Estudos Preliminares de Fotodegradação da Própolis

### Evaluation of Antisolar Activity and Preliminary Studies of Photodegradation of Brazilian Propolis

\*<sup>1,2</sup>Ramos, M. F. S.; <sup>1</sup>Santos, E. P.;  
<sup>1</sup>Dellamora-Ortiz, G. M.

<sup>1</sup> Departamento de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Avenida Carlos Chagas Filho, 373, CCS, Bloco A subsolo, sala 34, Cidade Universitária, 21.941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Farmacologia Aplicada, Farmanguinhos – FIOCRUZ, Rua Sizenando Nabuco 100, Manguinhos, 21041-250, Rio de Janeiro, Brasil.

\*Correspondência:  
E-mail: mfreimansr@yahoo.com.br

**Unitermos:** Própolis, Fotoproteção, Fotodegradação.

**Key Words:** Propolis, Antisolar, Photodegradation.

#### Resumo

É crescente a busca de substâncias, com propriedades fotoprotetoras, visando reduzir os efeitos nocivos causados na pele pela radiação solar, como o fotoenvelhecimento e o câncer de pele. No presente trabalho foi avaliada a atividade fotoprotetora de extratos de própolis e deste extrato em associação com o sintético *p*-metoxicinamato de 2-etilhexila (MCE). Além disso, foram realizados estudos iniciais sobre a fotodegradação dos extratos após a exposição à radiação UV visível e monocromática UVB. A extração da resina da própolis foi realizada em microondas usando etanol como solvente. Extratos fluidos e secos foram obtidos e o fator de proteção solar (FPS) foi determinado por método *in vitro* para os extratos nas concentrações 3, 10 e 40% (p/v). Os resultados demonstraram que extratos secos apresentaram maiores valores de FPS que os extratos fluidos, e a associação dos extratos com o MCE elevou os valores de FPS, sugerindo um efeito sinérgico. Os estudos de fotodegradação indicaram que a radiação visível não promoveu alteração nos valores de FPS. Por outro lado, a incidência de radiação ultravioleta monocromática promoveu um efeito hipocrômico, com a redução de duas unidades de FPS. Esses resultados demonstram que extratos de própolis apresentam um efeito potencial como agente fotoprotetor.

#### Abstract

Search for substances with photoprotectant properties can contribute to reduce the harmful effects inflicted onto skin by solar radiation, the most prominent of which is skin cancer. Thus, in the present work photoprotectant activity of propolis extracts and also of the extract in association with the synthetic sunscreen 2-ethylhexyl *p*-methoxycinnamate was evaluated. Additionally, initial studies on photodegradation of the extracts after exposure to visible and monochromatic UVB radiation were undertaken. Microwave extraction was accomplished, using ethanol as solvent. Fluid and dry extracts were obtained. Sun protection factor (SPF) was determined *in vitro* for the extracts at 3, 10 and 40 % (w/v). Results show that dry extracts presented higher SPF values than fluid extracts, and the association of the extracts to the sunscreen 2-ethylhexyl *p*-methoxycinnamate led to increased SPF values, which suggests a synergistic effect. Photodegradation

tion studies indicated that visible radiation did not result in alteration of SPF values. On the other hand, incidence of monochromatic UV radiation promoted a hypochromic effect, with a decrease of two units in SPF values. These results demonstrate that propolis extracts present a potential effect as a skin photoprotectant against solar radiation.

## Introdução

A incidência de câncer de pele e o fotoenvelhecimento induzido pela radiação solar crescem em todo o mundo. Segundo a OMS o melanoma é o tipo de câncer que mais cresce no mundo, sendo considerado um problema de saúde pública (IARC/WHO, 2001). Estudos epidemiológicos mostram que nos Estados Unidos cerca de 50.000 americanos são diagnosticados, e mais de 7500, morrem com câncer tipo melanoma a cada ano (CHANG et al., 2010; RIGEL, 2008). A exposição à radiação UV é um dos maiores fatores de risco que tem levado a um aumento dos casos destes tipos de câncer de pele, os quais são mais prevalentes em indivíduos de pele clara e nas regiões mais próximas do Equador (CHANG et al., 2010). O Brasil é o país de maior área intertropical e um dos mais ensolarados do planeta (ALIGIERI, 1995). Estes fatores somados à redução da camada de ozônio são um dos responsáveis pelo aumento de casos de câncer de pele no país. De acordo com dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), a neoplasia de maior incidência é o câncer de pele, sendo previstos 113.850 novos casos de câncer de pele não-melanoma e 2.970 para o tipo melanoma para 2010 (INCA, 2010; ANVISA, 2010). A limitação da exposição solar nos períodos críticos de irradiação, o uso de fotoprotetores e bloqueadores solares e o diagnóstico precoce são mecanismos eficazes de prevenção.

Pesquisas nas últimas décadas têm focado na busca de substâncias que promovam o aumento da proteção solar tais como: síntese e modificação estrutural de filtros solares (VENDITTI et al., 2008; KLEIN, 2000; SANTOS et al., 1999), associação de diferentes filtros (SANTOS et al., 2000) e a busca de produtos naturais com ação antisolar (COUTEAU et al., 2008; RAMOS, et al., 2003; RAMOS, et al., 1996; SANTOS et al., 1992). Um dos primeiros trabalhos sobre a avaliação de produtos naturais como antisolar

baseado na analogia estrutural entre algumas substâncias naturais e os filtros sintéticos foi apresentado por Proserpio (1976). Flavonóides, antocianinas e derivados do ácido cinâmico absorvem na região do UV, sugerindo a hipótese de filtração desta radiação (EDREVA, 2005). Estudos com produtos naturais tais como extratos de chá verde e chá preto, galato de epigallocatequina, catequina, silibina, equol entre outros, têm demonstrado resultados encorajadores. (BRAND; JENDRZEWSKI, 2008; LIN, et al., 2008; YUSUF et al., 2007; SINGH; AGARWAL, 2005; ELMETS et al., 2001)

A própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico, coletada pelas abelhas dos galhos, flores, pólen, brotos e exsudatos de árvores e modificada na colméia por adição de secreções salivares e cera. (BANKOVA et al., 2000; MARCUCCI et al., 2000). A composição química da própolis é muito variável e tem sido descrita por alguns pesquisadores e apresentada uma grande variedade de substâncias aromáticas como derivados do ácido cinâmico e flavonóides (BANKOVA et al., 2000; VANHAELEN; VANHAELEN-FASTRE, 1979; WALKER; CRANE, 1987; MARCUCCI, 1995). O uso da própolis na medicina tradicional é descrito desde 300 D.C. e inúmeras atividades biológicas são descritas e investigadas. Entre elas destaca-se: a atividade antiinflamatória, antiviral, antimicrobiana e antioxidante (NOLKEMPER, et al., 2010; CABRAL et al., 2009; GUITIERREZ-GONÇALVES; MARCUCCI, 2009; RAMOS; MIRANDA, 2007; SILVA et al., 2006, HU et al., 2005; GEKKER, et al., 2005). Muitas destas atividades estão relacionadas principalmente a presença dos flavonóides e dos derivados do ácido cinâmico. Há uma crescente utilização de produtos de original natural em produtos cosméticos. Com relação à própolis destacam-se estudos acadêmicos e patentes e pedidos de patentes relacionados ao uso bucal (FETISSOVA; BLANVALE, 2010; NOVAK et al., 2008; HAYACIBARA et al., 2005;) e também a à ação fotoprotetora (REIS et al., 2009; COUTEAU et al., 2008; WATANABE et al., 2008; MARQUELE-OLIVEIRA, et al., 2007; PUETTER, et al., 1995). O objetivo deste trabalho foi à avaliação da atividade fotoprotetora de extratos de própolis e a associação do extrato com um filtro sintético, o *p*-metoxicinamato de 2-etilhexila (MCE). Estudos preliminares de fotodegradação dos extratos foram realizados.

## Material e Métodos

### Própolis

A própolis foi coletada em Sapucaia, Rio de Janeiro, Brasil. A predominância da flora local era de *Citrus* spp. e *Vernonia polyanthes*. Amostras foram armazenadas em vidros âmbar em geladeira.

### Preparação dos Extratos

Amostras de 100 mg de resina pulverizada foram extraídas em forno microondas PHILCO PMV-1000, usando etanol como agente extrator (COLLIN et al., 1991), nas potências mínima, média e máxima em tempos de extração de 5, 10, 15 e 20 minutos para cada potência. Após extração o material foi filtrado e concentrado sob pressão reduzida até concentração de extrato fluido (FARM. BRAS, 1959). Os extratos secos foram obtidos a partir dos extratos fluidos pela evaporação total do solvente, sob pressão reduzida e posterior liofilização (Edwards).

### Análise química

A caracterização do material foi realizada por cromatografia em camada fina ascendente em placas de 20x20 cm, empregado um sistema eluente constituído por benzeno-acetato de etila-ácido fórmico (40:10:5) (LEJEUNE et al., 1984). Para a revelação foi vaporizado uma solução de NP a 1% em metanol seguido de uma solução de PEG 4000 a 5% em etanol e posterior observação em luz UV-365 nm, para caracterização de flavonóides (WAGNER et al., 1984). Foram aplicadas amostras de extrato fluido da própolis, soluções etanólicas (5%) de padrões (Sigma) de quercetina, crisina (5-7-diidroxiflavona) e kampferol. A resina foi também analisada por cromatografia em fase gasosa de alta resolução e alta temperatura acoplada à espectrometria de massa (CGAR-AT-EM) (PEREIRA et al., 1998; PEREIRA et al., 1999).

### Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS)

Determinações espectrofotométricas dos extratos fluidos e secos foram realizadas a partir de soluções de concentração 3% e 10% (p/v) nos comprimentos de onda de 290-320 nm. Cada amostra foi diluída à concentração

de 0,2 µg/ml e analisada em triplicata em espectrofotômetro UV-VIS VARIAN série 634 com feixe duplo e registrador linear 1200, com varredura de 350 a 200 nm, velocidade de varredura de 100 nm/min e velocidade do papel de 3cm/min. O FPS foi calculado segundo a técnica descrita por Mansur (1986a) utilizando a fórmula:

$$FPS_{\text{espectrof.}} = FC \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

Onde:

FC = Fator de correção, que é igual a 10.

EE (λ) = Efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda λ.

I (λ) = Intensidade da luz solar no comprimento de onda λ.

Abs (λ) = Leitura espectrofotométrica da absorbância da solução preparada no comprimento de onda λ.

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente por análise de variância (ANOVA).

### Incorporação do extrato ao filtro solar sintético *p*-metoxicinamato de 2-etilexila (MCE)

O filtro sintético MCE a 2% (p/v) (FPS 4; λ<sub>máx</sub> 313 nm) foi adicionado as soluções etanólicas dos extratos fluido e seco (10%; p/v). Estas amostras foram submetidas à determinação espectrofotométrica e cálculo do FPS, segundo as mesmas condições descritas acima para os extratos.

### Teste de fotodegradação

Exposição à radiação ultravioleta: A radiação foi obtida em um monocromador Bausch & Lomb equipado com uma lâmpada de Hanovia de vapor de mercúrio de arco de xenônio e um filtro Corning 0,54, que emite uma radiação UVB (313 nm) de 64 KJ/m<sup>2</sup>. Os extratos secos foram ressuspendidos em etanol P.A e diluídos a concentração de 0,2 µg/ml para análise. A avaliação espectrofotométrica foi realizada antes (t<sub>0</sub>) e após irradiação por 15 minutos (t<sub>15</sub>) e o FPS determinado.

Exposição à radiação visível: Uma lâmpada GE PAR 38 "Cool Beam" 220V/150W, foi empregada como fonte de iluminação. Da mesma amostra (t<sub>0</sub>) descrita acima, tomou-se uma alíquota de 3 ml que foi colocada em uma placa de petri de 1,7 cm de diâmetro, que estava a 15 cm

da fonte de iluminação. A uma altura de 7 cm da placa de Petri, foi interposta uma cuba de Pyrex contendo uma camada de 3 cm de água. A amostra foi exposta por 15 minutos ( $t_{15}$ ), seu conteúdo transferido, lavando-o com solvente, para um balão volumétrico, e o volume foi ajustado. Posteriormente, foram realizadas as análises espectrofotométricas e o cálculo do FPS. Todas as análises, em ambas as radiações, foram realizadas em triplicata.

## Resultados e Discussão

### Análise Química

A cromatografia em camada fina ascendente do extrato fluido de própolis não se mostrou eficiente para separar as substâncias presentes nos extratos fluidos. A observação em luz UV-365 nm, após a aspersão com NP e PEG 4000, mostrou uma coloração específica de flavonóides. No entanto, devido à complexidade e a uma grande quantidade de material graxo da amostra não foi possível caracterizar os flavonóides, pois não foi possível uma separação efetiva das substâncias durante a eluição da amostra. A análise por CGAR-AT-EM da fração hexânica e acetônica permitiu uma melhor caracterização da amostra bruta da própolis. Na fração hexânica foram identificados alcanos de 25 a 35 átomos de carbonos, assim como ácidos e ésteres graxos de alto peso molecular. A fração acetônica apresentou derivados fenólicos e flavonóides (PEREIRA et al., 1998; PEREIRA et al., 1999).

### Análise do Fator de Proteção Solar obtidos após os processos extrativos

A avaliação da eficácia dos filtros solares frente à radiação UVB é baseada na determinação da dose mínima de eritema (DME). O FPS é definido como a razão entre a quantidade de radiação solar necessária para produzir DME na pele protegida pelo filtro solar e na pele não protegida (NAGASHIMA et al., 1999). Com base nesta definição, vários métodos *in vitro* têm sido desenvolvidos (DIFFEY, 1994; DIFFEY; ROBSON, 1989; MANSUR et al., 1986a) e apresentam uma boa correlação com os resultados *in vivo* para a radiação UVB (MANSUR et al., 1986b). Neste trabalho, o FPS foi determinado por análise espectrofotométrica empregando a equação estabelecida por Mansur et al. (1986a). Os valores de FPS deter-

minados nos extratos fluidos e secos, nas três potências e concentrações e nos diferentes tempos de extração, estão descritos na Tabela 1. As análises estatísticas demonstraram uma correlação direta entre a concentração e os valores de FPS para ambos os extratos, assim, quanto maior a concentração maior o FPS.

A comparação dos dados obtidos para extratos fluidos mostrou que para concentração de 3%, nas três potências e nos diferentes tempos de extração, não havendo diferença estatística no FPS encontrado, com este valor, portanto, igual a 1. Nos extratos de concentração 10% foi observada uma variação nos valores de FPS (entre 2 e 3) nas três potências. No entanto, em relação ao tempo de extração nestas potências, esta variação foi aleatória. Já nos extratos a 40%, os valores de FPS variaram entre 8 e 12. O maior valor de FPS (FPS 12) foi encontrado na potência mínima, com o menor tempo de extração. Nesta potência o aumento do tempo de extração sugere uma redução do FPS. No entanto, nas outras duas potências o mesmo não é observado. Ao contrário há uma tendência para o aumento do FPS com o aumento do tempo de extração, especialmente na potência máxima. O aumento de potência em extração de microondas leva a um aumento da temperatura (BARBOZA et al., 2001) que, em certa medida, pode promover a degradação dos extratos. Este fato, somado à complexa composição da própolis poderia ser o responsável pela oscilação observada nos valores encontrados para FPS. Estas oscilações foram mais intensas na potência média do que nas potências mínimas e máximas, onde os valores de FPS foram mais constantes, para ambos os tipos de extratos. Tal fenômeno indica que na potência média pode estar ocorrendo uma etapa de transição no processo de extração.

Os resultados com os extratos secos demonstraram que, com o aumento da potência de mínima para máxima, houve a redução de uma unidade de FPS. Na potência mínima o FPS foi de 3 e na máxima foi de 2, e estes valores não sofreram alterações com o aumento do tempo de extração. Na potência média, observa-se uma oscilação nos valores de FPS entre 2 e 4 e entre 7 e 10 para os extratos nas concentrações de 3 e 10%, respectivamente. E nesta potência o aumento do tempo de extração acarretou a redução dos valores de FPS. Na potência máxima, por outro

**Tabela 1 – Valores de Fator de Proteção Solar (FPS) para os extratos fluidos e secos de própolis**

Potência*	Concentração (%)	Tempo (min)	FPS**		
			Extrato fluido	Extrato seco	
<b>M</b>	3	5	<b>1</b> (1,14 ± 0,02)	<b>3</b> (2,85 ± 0,01)	
		10	<b>1</b> (1,42 ± 0,01)	<b>3</b> (3,47 ± 0,05)	
		15	<b>1</b> (1,04 ± 0,10)	<b>3</b> (3,04 ± 0,02)	
		20	<b>1</b> (1,54 ± 0,00)	<b>3</b> (2,96 ± 0,03)	
	10	5	<b>3</b> (3,42 ± 0,09)	<b>8</b> (8,07 ± 0,06)	
		10	<b>2</b> (1,98 ± 0,10)	<b>8</b> (8,57 ± 0,01)	
		15	<b>3</b> (2,93 ± 0,11)	<b>8</b> (8,08 ± 0,02)	
		20	<b>3</b> (2,71 ± 0,74)	<b>8</b> (7,69 ± 0,06)	
	40	5	<b>12</b> (12,19 ± 0,08)	nd	
		10	<b>9</b> (9,05 ± 0,21)	nd	
		15	<b>10</b> (9,93 ± 0,06)	nd	
		20	<b>9</b> (9,16 ± 0,07)	nd	
	<b>M</b>	3	5	<b>1</b> (0,77 ± 0,07)	<b>4</b> (3,91 ± 0,04)
			10	<b>1</b> (0,92 ± 0,01)	<b>3</b> (2,61 ± 0,05)
			15	<b>1</b> (1,22 ± 0,06)	<b>3</b> (3,12 ± 0,05)
			20	<b>1</b> (0,90 ± 0,01)	<b>2</b> (2,49 ± 0,25)
10		5	<b>3</b> (2,61 ± 0,07)	<b>10</b> (9,88 ± 0,06)	
		10	<b>2</b> (2,50 ± 0,01)	<b>9</b> (9,11 ± 0,20)	
		15	<b>3</b> (3,19 ± 0,05)	<b>7</b> (7,49 ± 0,02)	
		20	<b>2</b> (2,48 ± 0,05)	<b>7</b> (7,51 ± 0,19)	
40		5	<b>9</b> (9,25 ± 0,14)	nd	
		10	<b>10</b> (9,71 ± 0,03)	nd	
		15	<b>10</b> (10,36 ± 0,11)	nd	
		20	<b>8</b> (8,81 ± 0,18)	nd	
<b>M</b>		3	5	<b>1</b> (0,81 ± 0,01)	<b>2</b> (2,01 ± 0,01)
			10	<b>1</b> (0,84 ± 0,04)	<b>2</b> (2,00 ± 0,05)
			15	<b>1</b> (1,13 ± 0,01)	<b>2</b> (2,14 ± 0,03)
			20	<b>1</b> (0,89 ± 0,13)	<b>2</b> (2,34 ± 0,03)
	10	5	<b>2</b> (2,48 ± 0,01)	<b>7</b> (7,08 ± 0,01)	
		10	<b>3</b> (2,74 ± 0,05)	<b>7</b> (7,40 ± 0,06)	
		15	<b>3</b> (2,65 ± 0,04)	<b>7</b> (7,00 ± 0,06)	
		20	<b>3</b> (2,61 ± 0,05)	<b>7</b> (7,21 ± 0,03)	
	40	5	<b>9</b> (8,91 ± 0,15)	nd	
		10	<b>10</b> (10,27 ± 0,11)	nd	
		15	<b>10</b> (10,36 ± 0,04)	nd	
		20	<b>10</b> (10,53 ± 0,03)	nd	

\* Potência segundo a escala microondas PHILCO PMV-1000.

\*\* Média ± desvio padrão. Linha sombreada: amostra selecionada para os estudos de fotodegradação. nd = não determinado (devido aos altos valores de absorção).



lado, o tempo de extração não alterou os valores de FPS dos extratos, sendo estes 2 e 7 para as concentrações 3 e 10%, respectivamente. Valores de FPS 2,6 foram encontrados por Reis e cols. (2009) para extratos de própolis 10% incorporados a uma formulação tópica. Este valor está próximo ao que encontramos para os extratos fluidos 10%. No entanto, Couteau e cols. (2008) encontraram FPS 5,5 para extratos etanólicos obtidos por refluxo a 80 °C por 30 min. As diferenças nos valores de FPS entre o presente estudo e aqueles realizados por Reis e cols. (2009) e Couteau e cols. (2008) estariam relacionadas à concentração de ativos presentes no extrato. Desta forma, o processo de extração e a origem da amostra de própolis utilizada nos trabalhos são fatores que interferem diretamente na concentração dos ativos no extrato.

Os valores de FPS nos extratos secos foram, pelo menos, 100% superior ao dos extratos fluidos, quando comparados nas mesmas concentrações e condições de preparo (tempo de extração e potência); possivelmente devido à maior concentração de ativos no extrato. Esses resultados, somados às vantagens de extratos secos em manter inalteradas as características químicas, a maior estabilidade (PRISTA, 1991), aponta esses extratos como mais eficazes do que os extratos fluidos para uso como agentes anti-solar. Após a avaliação dos dados de extração, os extratos em 10% p/v, preparados na potência mínima de cinco minutos, foram selecionados para a incorporação com o protetor solar sintético MCE e para os estudos de

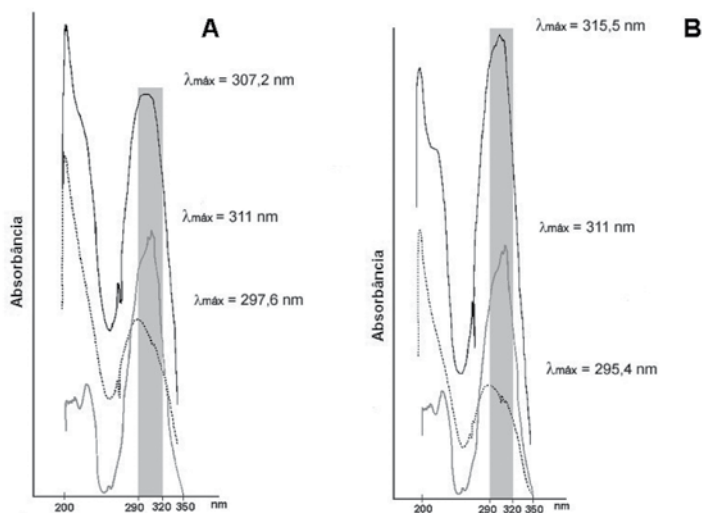
fotodegradação. Nesta condição de extração, os valores FPS foram maiores do que os extratos na concentração de 3% p/v, com baixa potência e em curto período de tempo, resultando em um procedimento de extração rápida, eficiente e rentável. Os extratos na concentração de 40% p/v apresentaram valores mais elevados de FPS que os na concentração de 10%, mas esta concentração não é utilizada em produtos cosméticos e foram incluídos neste estudo apenas como um parâmetro adicional para a avaliação do processo de extração.

### **Associação dos extratos com o filtro sintético MCE**

Os espectros de absorção na região do ultravioleta (UV) de ambos os extratos fluidos e secos, bem como das misturas obtidas após a incorporação do filtro solar sintético MCE estão apresentados na Figura 1. O  $\lambda_{\max}$  do filtro sintético MCE foi de 311 nm, com os extratos fluidos e secos apresentando valores 295,4 nm e 297,6 nm, respectivamente. Estes valores estão próximos aos descritos por Couteau e cols. (2008) que encontraram um pico de absorção com  $\lambda_{\max}$  de 290 nm para extratos etanólicos de preparados sob refluxo por 30 min. O espectro de absorção da mistura do filtro sintético MCE com o extrato seco de própolis apresentou deslocamento batocrômico e efeito hiperacrômico quando comparados ao espectro do extrato de própolis. Estes efeitos resultaram em um aumento do valor de FPS da mistura, que corresponde aproximadamente à soma dos valores de FPS do extrato e do filtro sintético (Tabela 2).



Figura 1. Espectro de absorção no UV dos extratos secos (A) e fluidos (B) de própolis.



- A. ( ..... ) Extrato seco de própolis 10% (l máx 297,6 nm ; 0,1 V)  
 ( — ) EMC 2% (l máx 311 nm ; 0,1 V)  
 ( — ) EMC 2% + Extrato seco de própolis 10% (l máx 307,2 nm ; 0,2 V)
- B. ( ..... ) Extrato fluido de própolis 10% (l máx 295,4 nm ; 0,1 V)  
 ( — ) EMC 2% (l máx 311 nm ; 0,1 V)  
 ( — ) EMC 2% + Extrato fluido de própolis 10% (l máx 315,5 nm ; 0,1 V)

Tabela 2 – Valores de FPS (Fator de Proteção Solar) para os extratos fluidos (PF) e secos (PS) de própolis e da associação dos extratos com o p-metoxicinamato de 2-etilhexila (MCE)

Amostra	FPS
MCE	4,14 ± 0,03
PF	3,41 ± 0,09
PF+ MCE	6,86 ± 0,04
PS	8,07 ± 0,06
PS+ MCE	11,82 ± 0,06

Estes resultados sugerem um efeito sinérgico dos extratos com o filtro sintético MCE. Efeito semelhante foi descrito para o extrato seco de alecrim (*Rosmarinus officinalis* Linn.) (GARCIA et al., 1995) e outros cinco extratos fluidos em associação com o filtro solar mesmo sintético (RAMOS et al., 1996).

## Estudos de Fotodegradação

Os ensaios foram realizados usando o extrato seco, pois o extrato concentrado permitiria uma melhor observa-

ção de alterações no padrão o espectro de absorção do UV.

*Exposição à luz visível:* Foi empregada uma fonte de radiação que apresenta um espectro de emissão quase exclusivamente na região do visível, estabelecendo-se o tempo de exposição a esta radiação de 15 minutos, pois nesta condição a ação fotodinâmica de substâncias orgânicas (MENEZES et al., 1990) é observada. Após a exposição à luz visível, não se observaram alterações nos valores de FPS (Tabela 3),



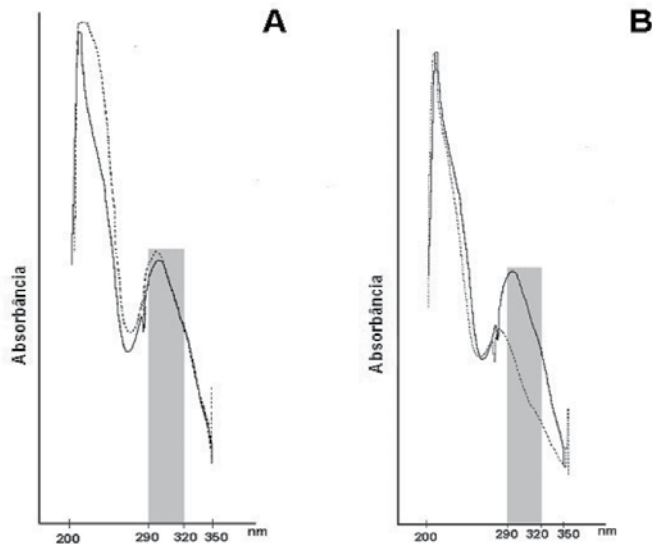


assim como nenhum deslocamento significativo no espectro de absorção na região do UV que indicasse a fotodegradação do extrato seco de própolis (Figura 2A). Na faixa entre 200 e 236 nm ocorreu um alargamento da banda, sugerindo que a irradiação com luz visível poderia ter promovido alterações moleculares de constituintes do extrato que absorvem nesta região, ainda que sejam necessários outros experimentos para confirmarem este fato.

*Radiação monocromática UVB:* A fonte de radiação ultravioleta monocromática empregada neste trabalho apresenta um espectro de emissão semelhante ao sol, e todas as amostras analisadas foram submetidas a doses de energia infinitamente maior do que aquelas a que uma pessoa estaria exposta em um dia de sol intenso. Após a irradiação, o extrato seco apresentou

um deslocamento hipsocrômico (cerca de 20 nm do  $\lambda_{\max}$ ) em relação ao controle (Figura 2B), resultando na redução de 2 unidades SPF (Tabela 3). Estes resultados sugerem que a radiação monocromática ultravioleta promove fotodegradação nos constituintes do extrato que absorvem na região do UVB. Considerando que os ensaios de fotodegradação foram realizados imediatamente após a irradiação, as alterações observadas no espectro de absorção UV podem ser resultado tanto da excitação de elétrons  $\pi$ , os quais resultam em alterações moleculares permanentes nos constituintes do extrato, ou podem ser alterações moleculares momentâneas e que ao passar de algum tempo retornam ao seu estado fundamental. Assim sendo, estudos adicionais serão necessários para estabelecer os reais efeitos da radiação sobre o extrato os constituintes do extrato da própolis.

**Figura 2 – Espectro de absorção no UV dos extratos secos de própolis expostos a radiação visível (A) e monocromática UVB (B)**



- A. ( — ) Extrato seco de própolis 10% sem irradiação  
( ..... ) Extrato seco de própolis 10% após radiação visível.
- B. ( — ) Extrato seco de própolis 10% sem irradiação  
( ..... ) Extrato seco de própolis 10% após radiação monocromática UVB.





**Tabela 3 - Absorção e Fator de Proteção Solar (FPS) dos extratos secos de própolis antes (t0) e após (t15) a exposição à radiação visível e a radiação monocromática UVB**

Comprimento de onda (nm)	Radiação visível		Radiação UVB monocromática	
	t <sub>0</sub>	t <sub>15</sub>	t <sub>0</sub>	t <sub>15</sub>
290	0,87	0,90	0,87	0,61
295	0,84	0,85	0,84	0,57
300	0,79	0,80	0,79	0,53
305	0,75	0,75	0,75	0,45
310	0,69	0,70	0,69	0,45
315	0,64	0,65	0,64	0,42
320	0,59	0,59	0,59	0,39
FPS	7 (7.49)	7 (7.54)	7 (7.49)	5 (4.92)

Como conclusão, os extratos secos apresentaram maior eficiência anti-solar que os extratos fluidos e a associação de extratos de própolis com a EMC solar mostrou ser um método eficaz de aumentar o fator de proteção solar. A extração em forno de microondas é um procedimento rápido de baixo custo para preparar extratos vegetais. Os ensaios de fotodegradação mostraram que a radiação visível não promoveu alterações que envolveram redução do FPS, no entanto a radiação ultravioleta promoveu alterações no espectro de absorção UV do extrato reduzindo os valores de FPS, demonstrando a necessidade de novos estudos dessas radiações a nível molecular. É importante destacar que estes extratos não apresentaram reação fototóxica, nem mutagênica em ensaios preliminares *in vitro* (RAMOS et al., 2005) e recentes estudos demonstram extratos de própolis reduzem a inflamação, a imunossupressão e os efeitos oxidativos na pele causados pela radiação UV (COLE et al., 2010). Estes resultados reforçam a hipótese de que a própolis é um candidato promissor para uso como protetor solar.

### Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq.

### Referências

- ALIGIERI, P. O Sol como agente agressor. *Âmbito Farmacêutico*, v.1, p. 6-8, 1995.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programas de prevenção ao câncer de pele causado pela radiação ultravioleta. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/cscos/apresentacoes/terceira\\_programas\\_prevencao.pdf](http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/cscos/apresentacoes/terceira_programas_prevencao.pdf). Acesso em 13/09/2010.
- BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, v.31, p.3-15, 2000.
- BARBOZA, A.C. R.N.; CRUZ, C. V. M. S.; GRAZIANI, M. B.; LORENZETTI, M. C. F.; SABADINI, E. Aquecimento em forno de microondas / desenvolvimento de alguns conceitos fundamentais. *Química Nova*, v.24, n.6, p.901-904, 2001.
- BRAND, R.M.; JENDRZEJEWSKI, J.L. Topical treatment with (S)-epigallocatechin-3-gallate and genistein after a single UV exposure can reduce skin damage. *Journal of Dermatological Science*, v.50, p.69-72, 2008.

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; PRADO, A.; BEZERRA, R.M.N.; DE ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P.L. Phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of Brazilian red propolis. *Química Nova*, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

CHANG, NI-BIN; FENG, R.; GAO, Z.; GAO, W. Skin cancer incidence is highly associated with ultraviolet-B radiation history. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v.213, n.5, p.359-368, 2010.

COLE, N.; SOU, P. W.; NGO, A.; TSANG, K. H.; SEVERINO, J. A.J.; ARUN, S. J.; DUKE, C. C.; REEVE, V.E. Topical 'Sydney' Propolis Protects against UV-Radiation-Induced Inflammation, Lipid Peroxidation and Immune Suppression in Mouse Skin. *International Archives of Allergy and Immunology*, v.152, p.87-97, 2010.

COLLIN, L. et al. Huiles essentielles et extraits "micro-ondes". *Parfum, Cosmetics & Aromes*, v.97, p.105-112, 1991.

COUTEAU, C.; POMMIERA, M.; PAPARISA, E.; COIFFARD, L. J.M. Photoprotective activity of propolis. *Natural Product Research*, v.22, n.3, p.264-268, 2008.

DIFFEY, B.L. A method for broad spectrum classification of sunscreens. *International Journal of Cosmetic Science*, v.16, p.47-52, 1994.

DIFFEY, B.L.; ROBSON, J. A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, v.40, p.127-133, 1989.

EDREVA, A. The importance of non-photosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.106, p.135-146, 2005.

ELMETS, C.A.; DIVYA SINGH, D.; TUBESING, K.; MATSUI, M.; KATIYAR, S.; MUKHTAR, H. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.44, n.3, p.426-432, 2001.

FARMA.BRAS. FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. p.448-451. Ind. Gráfica Siqueira, São Paulo, 1959.

FETISSOVA, N.; BLANVALE, K. Oral care compositions containing própolis. Pedido de patente nº RU2380084, data do pedido 27/01/2010.

GARCIA, S., SANTOS, E.P., LIMA, M.T.L., SILVA, A.J.R., SOARES, I.C., KEDOR, E.R.M. Associação de filtro químico com extrato vegetal. *Cosmetics & Toiletries (Port.)* v.7, p38-40, 1995.

GEKKER, G.; HU, S.; SPIVAK, M.; LOKENSGARD, J. R.; PETERSON, P.K. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4<sup>+</sup> lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, v.102, n.2, p.158-163, 2005.

GUITIERREZ-GONÇALVES, M.E.J.; MARCUCCI, M. C. Atividades antimicrobiana e antioxidante da própolis do estado do Ceará. *Revista Fitos*, v.4, n.1, 2009.

HAYACIBARA, M. F. ; KOO, H.; ROSALEN, P. L. ; DUARTE, S.; FRANCO, E. M.; BOWEN, W. H.; IKEGAKI, M.; CURY, J. A. In vitro and in vivo effects of isotated fractions of Brazilian propolis on caries development. *Journal of Ethnopharmacology*, v.101, p.110-115, 2005.

HU, F.; HEPBURN, H.R.; LI, Y.; CHEN, M.; RADLOFF, S.E.; DAYA, S. Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animals models. *Journal of Ethnopharmacology*, v.100, p.276-283, 2005.

IARC/WHO. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Working Group on the Evaluation of Cancer-preventive Agents. Sunscreens. IARC Handbooks of cancer prevention. Lyon , 2001

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Câncer de Pele. Disponível em [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=333](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=333). Acesso em 13/09/2010.

KLEIN, K.E. Review of current sunscreen formulation techniques and technology. *Allured's Cosmetics & Toiletries*, v.115, p.53-58, 2000.

LEJEUNE, B., VENNAT, B., REGERAT, F., GARDELLE, FOUCHER, D. AND POURRAT, A. Propolis. extraits et utilisations dans des shampooings et lotions. *Parfum Cosmetics & Aromes*, v.56, p.65-68, 1984.

- LIN, JING-YI; TOURNAS, J.A.; BURCH, J.A.; MONTEIRO-RIVIERE, N.A.; ZIELINSKI, J. Topical isoflavones provide effective photoprotection to skin. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v.24, p.61-66, 2008.
- MANSUR, J.S.; BREDER, M.N.R.; MANSUR, M.C.A.; AZULAY, R.D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.61, p.121-124, 1986a.
- MANSUR, J.S.; BREDER, M.N.R.; MANSUR, M.C.A.; AZULAY, R.D. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.61, p.167-172, 1986b.
- MARCUCCI, M. C., FERRERES, F., CUSTODIO, A. R., FERREIRA, M. M. C., BANKOVA, V. S., GARCIA-VIGUERA, C., et al. *Zeitschrift für Naturforschung*, v.55C, n.1-2, p.76-81, 2000.
- MARCUCCI, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutics activity. *Apidologie*, v.26, p.83-99, 1995.
- MARQUELE-OLIVEIRA, F.; FONSECA, Y.M.; DE FREITAS, O.; FONSECA, M.J.V. Development of topical functionalized formulations added with propolis extract: Stability, cutaneous absorption and in vivo studies. *International Journal of Pharmaceutics*, v.342, p.40-48, 2007.
- MENEZES, S., CAPELLA, M.A.M., CALDAS, L.R. Photodynamic action of methylene blue: repair and mutation in *Escherichia coli*. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, v.5, p.505-551, 1990.
- NAGASHIMA, N.; HANDA, K.; HASHIMOTO, I. Correlation of skin phototype with facial wrinkle information. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v.15, n.2, p.2-6, 1999.
- NOLKEMPER, S.; REICHLING, J.; SENSCH, K. H.; SCHNITZLER, P. Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Phytomedicine*, v.17, n.2, p.132-138, 2010.
- NOVAK, E. M.; RIBEIRO, M. C. M.; FEDELE, T. A.; IKEDA, N. E. A.; SILVEIRA E COSTA M.; BYDLOWSKI, S. P.; MARIA, D. A. Extratos de própolis vermelha, frações ativas dos extratos, composições farmacêuticas e seu uso. Pedido de patente nº: PI0803475-3 A2, depósito em 17/09/2008.
- PEREIRA, A.S.; PINTO, A.C.; CARDOSO, J.N.; AQUINO NETO, F. R.; RAMOS, M.F.S. DELLAMORA-ORTIZ, G.M.; SANTOS, E.P. Application of High Temperature High Resolution Gas Chromatography to Crude Extracts of Propolis. *Journal of High Resolution Chromatography*, v.21, n.7, p.396-400, 1998.
- PEREIRA, A.S.; RAMOS, M.F.S.; POÇAS, E.S.C.; DIAS, P.C.M.; SANTOS, E.P.; MENDES DA SILVA, J.F.; CARDOSO, J.N.; NETO, F.R.A. Study of propolis by high temperature high resolution gas chromatography. *Zeitschrift für Naturforschung*, v.54C, p.395-400, 1999.
- PRISTA, L.N., ALVES, C.A. MORGADO, R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. In: Operações físicas exigindo a intervenção do frio e do calor. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, p.205-209, 1991.
- PROSERPIO, G. Natural sunscreens: vegetable derivatives as sunscreens and tanning agents. *Cosmetics & Toiletries*, v.91, n.3, p.34-46, 1976.
- PUETTER, S.; KRAUSKOPF, J.; ELSTNER, E. F. Sunscreen contg. propolis extract. Patente nº DE4336169-A. Publicada em: 13/07/1995.
- RAMOS, A.F.N.; DE MIRANDA, J.L. Propolis: A review of its anti-inflammatory and healing actions. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, v.13, n.4. p.697-700, 2007.
- RAMOS, M.F.S., SANTOS, E.P., SILVA, A.B., LEITÃO, A.C., DELLAMORA-ORTIZ, G. M. Evaluation of phototoxic and mutagenic activity of propolis, Aloe spp. and Hamamelis virginiana extracts. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.26, n.2, p.105-111, 2005.
- RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P.; BIZARRI, C.H.B.; MATTOS, H.A.; PADILHA, M.R.S.; DUARTE, H.M. Preliminary studies

towards utilization of various plant extracts as antisolar agents. *International Journal of Cosmetic Science*, v.18, p.87-101, 1996.

RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P.; DELLAMORA-ORTIZ, G.M. Atividade fotoprotetora e estudos preliminares de fotodegradação dos extratos de *Aloe spp.* e *Hamamelis virginiana*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.24, n.2, p.179-187, 2003.

REIS, G.S.; VALADÃO, A. F.; LIMA, L. R. P.; MOREIRA, M.L. Preparation of a sunscreen and evaluation of the photoprotective action of the green propolis from Vale do Aço, Minas Gerais, Brazil. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, v.8, n.4, , p.282-288, July, 2009.

RIGEL, D.S. Cutaneous ultraviolet exposure and its relationship to the development of skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.38, n.5, p.S129-S132, 2008.

SANTOS, E.P.; BARTH, A.L.; REZENDE, V.P.; DORNELAS, C.B.; GARCIA, S. Fator de Proteção Solar verso Coeficiente de Carga de Filtros Solares Químicos. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.81, n.3/4, p.87-90, 2000.

SANTOS, E.P.; FREITAS, Z.M.; SOUZA, K.R.; GARCIA, S.; VERGANANINI, A. In vitro and in vivo determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate. *International Journal of Cosmetic Science*, v.21, p.1-5, 1999.

SANTOS, E.P.; RAMOS, M.F.S.; BIZARRI, C.H.B. Avaliação da utilização do extrato de própolis em preparações antisolares. *Revista de la O.F.I.L.*, v.2, p.160-164, 1992.

SILVA, J.F.M.; SOUZA, M.C.; MATTA, S. R.; ANDRADE, M.R.; VIDAL, F.V. N. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian própolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, v.96, p.431-435, 2006.

SINGH, R. P.; AGARWAL, R. Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer. *European Journal of Cancer*, v.41, n.12, p.1969-1979, 2005.

VANHAELLEN M., VANHAELLEN-FASTRE R., Propolis I. Origine, micrographie, composition chimique et activité thérapeutique, *Journal de Pharmacie de Belgique*, v.34, p.253-259, 1979.

VENDITTI, E.; SPADONI, T.; TIANO, L.; ASTOLFI, P.; GRECI, L.; LITTARRU, G.P.; DAMIANI, E. In vitro photostability and photoprotection studies of a novel 'multi-active' UV-absorber. *Free Radical Biology & Medicine*, v.45, p.345-354, 2008.

WAGNER, H., BLADT, S., ZGAINSKI, E.M. *Plant Drug Analysis*. Springer-Verlag. Berlin, 1984.

WALKER P., CRANE, E. Constituents of propolis. *Apidologie*, v.18, p.327-334, 1987.

WATANABE, E.; CHIKAMATSU, Y.; MIYASAKA, K. External preparation for skin. Patente nº JP2008260721-A. Publicada em 30/10/2008.

YUSUF, N.; IRBY, C.; KATIYAR, S.; ELMETS, C. Photoprotective effects of green tea polyphenols. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v.23, p.48-56, 2007.