



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS  
E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

**MARIA BEATRIZ FÉLIX MENDES NUNES**

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS  
CONTENDO EXTRATO DE *Mentha x villosa* Huds PARA  
APLICAÇÃO FOTOPROTETORA**

João Pessoa - PB

2025

MARIA BEATRIZ FÉLIX MENDES NUNES

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS  
CONTENDO EXTRATO DE *Mentha x villosa* Huds PARA  
APLICAÇÃO FOTOPROTETORA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.

**Orientador: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares**

**Coorientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior**

João Pessoa - PB

2025

**MARIA BEATRIZ FÉLIX MENDES NUNES**

**DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO  
EXTRATO DE *Mentha x villosa* Huds PARA APLICAÇÃO  
FOTOPROTETORA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: Farmacoquímica.

**Aprovada em:** 21/08/2025

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente



JOSEAN FECHINE TAVARES

Data: 02/09/2025 12:46:48-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Josean Fechine Tavares**

Orientador/Presidente – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



FRANCISCO HUMBERTO XAVIER JUNIOR

Data: 02/09/2025 14:12:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior**

Coorientador – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



SOCRATES GOLZIO DOS SANTOS

Data: 02/09/2025 14:32:43-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos**

Membro interno – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



ARNÓBIO ANTONIO DA SILVA JUNIOR

Data: 03/09/2025 16:31:17-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva Júnior**

Membro externo – Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

**Catalogação na publicação  
Seção de Catalogação e Classificação**

N972d Nunes, Maria Beatriz Félix Mendes.

Desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas contendo  
extrato de mentha x villosa huds para aplicação  
fotoprotetora / Maria Beatriz Félix Mendes Nunes. -

João Pessoa, 2025.

139 f. : il.

Orientação: Josean Fechine Tavares.

Coorientação: Francisco Humberto Xavier Júnior.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Mentha. 2. Nanocápsula polimérica. 3. Ácido  
rosmarínico. 4. Farmacoquímica. I. Tavares, Josean  
Fechine. II. Xavier Júnior, Francisco Humberto. III.  
Título.

UFPB/BC

CDU 615.32(043)

Aos meus pais, que trabalharam sob  
o peso dos dias para que eu  
pudesse estudar em paz, no abrigo  
do sonho.

À minha avó Adália, que, sem  
palavras escritas, me ensinou a  
essência da vida.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e por todas as graças que me concede a cada dia. À Nossa Senhora, por interceder por mim junto ao Seu Filho.

Aos meus pais, Erivaldo e Valéria, que dedicaram suas vidas para que eu pudesse crescer, ir em busca dos meus objetivos e me ensinarem a ser cada dia melhor a partir do amor que recebi de vocês.

À minha avó, Adália, por ser minha casa e ensinar tudo aquilo que os livros ainda não são capazes de mostrar: a sabedoria da vida.

Ao meu esposo, Yuri, por segurar minha mão em cada passo em busca dos meus sonhos e trazer a paz de um amor tranquilo.

À minhas tias, Geneci e Virgínia, e primo Uriel, por se fazerem presentes em todos os momentos e celebrarem minhas conquistas de pé.

Aos meus amigos de longa data, querido PW, por todo o apoio e caminho que trilhamos juntos. Pela graça de permanecer.

Aos amigos que a graduação me deu, em especial, Ana Luiza, Allessya, Paulo, Rebeca e Ramon, por cada risada, consolo e conhecimentos compartilhados. Nossa amizade dá forças e sentido a essa profissão que compartilhamos. E um agradecimento especial a Allessya, por ter sido meu braço direito no desenvolvimento do projeto e dividir a rotina de laboratório comigo, sua amizade é muito valiosa.

À Juliana Medeiros e Thalisson, meus “pais” científicos e amigos queridos, por todos os ensinamentos (não só químicos, mas também de vida), risadas e momentos compartilhados.

À toda equipe do LMCA, alunos, técnicos, servidores e professores, por todo acolhimento, ensinamentos e contribuições diretas e indiretas para a conclusão desse trabalho.

À toda equipe do BioTecFarm, que me adotou e acolheu tão bem, por todas boas risadas e conversas, assim como por todo auxílio para o desenvolvimento das atividades desse trabalho.

Ao professor doutor Josean Fechine, meu orientador, pelo acolhimento desde a iniciação científica e por todas as orientações e suporte oferecidos para que eu pudesse realizar pesquisa científica e me identificar nessa área.

Ao professor doutor Humberto Xavier, meu coorientador, por me acolher em seu laboratório e me integrar tão bem em sua equipe. Levarei seus ensinamentos para a vida e agradeço por todo empenho para tornar esse projeto realidade.

Ao laboratório Oncofar, parceiro durante o desenvolvimento deste trabalho, e em especial à Karinne Kelly, amiga de longa data, que foi essencial para a realização dos experimentos biológicos. Compartilhar essa profissão com uma amiga de infância torna o processo mais leve.

À professora Leônia Batista, por ter contribuído tanto para meu amadurecimento acadêmico desde a graduação no PET-Farmácia.

À banca de defesa de dissertação de mestrado, composta pelos professores doutores Sócrates Golzio dos Santos e Arnóbio Antônio da Silva Júnior, assim como os suplentes professores doutores Elquio Eleamen Oliveira e José Lamartine Soares Sobrinho. Obrigada por fazerem parte desse momento e contribuírem para a conclusão desse trabalho.

Minha gratidão ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, por ser a minha casa de formação profissional.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), que é minha instituição formadora.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio científico.

E a todos que fizeram parte desse processo e contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desse curso e o desenvolvimento dessa pesquisa.

Muito obrigada.

## RESUMO

A exposição à radiação solar, embora essencial para a manutenção da homeostase, pode causar sérios danos à saúde quando excessiva. Queimaduras, manchas, estresse oxidativo, mutações no ácido desoxirribonucleico (DNA) e imunossupressão estão entre os principais efeitos nocivos, aumentando o risco de câncer de pele e envelhecimento precoce. Diante disso, torna-se fundamental o uso de fotoprotetores eficazes e seguros, e nesse contexto, os produtos naturais, quando associados a sistemas nanotecnológicos, ganham destaque pela potencialização da eficácia, atividade antioxidante e menor impacto ambiental. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver nanocápsulas poliméricas contendo extrato de *Mentha x villosa* Huds com potencial aplicação fotoprotetora. Inicialmente, foram obtidos o extrato etanólico bruto (EEB) e o extrato desclorofilado, que por sua vez, apresentaram elevada concentração de ácido rosmariníco (76,24 mg/g para o EEB e 68,86mg/g para o extrato desclorofilado) e compostos fenólicos (263,44 ± 0,50 mg EAG/g no EEB e 324,23 ± 0,22 mg EAG/g no extrato desclorofilado). Em seguida, a atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de sequestro de radicais DPPH e ABTS, onde o EEB apresentou melhor atividade. Tendo isso em vista, realizou-se o estudo de pré-formulação com diferentes tipos de nanossistemas (nanocápsulas por dupla emulsão, lipossomas e carreadores lipídicos nanoestruturados), sendo as nanocápsulas poliméricas com EEB selecionadas por apresentarem melhor solubilidade e tamanho de partícula. A partir disso, foi conduzido o planejamento experimental do tipo Box-Behnken usando Tween®80 (50-100mg), extrato (1-9mg) e PCL-10 (30-70mg) como variáveis independentes. Essas formulações foram caracterizadas quanto ao diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão (Pdl), potencial zeta, morfologia, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análises térmicas (termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial), teor e eficiência de encapsulação de AR, fator de proteção solar (FPS), estabilidade físico-química, perfil de liberação *in vitro* e toxicidade celular em linhagem HaCaT. A formulação F18 (50mg de Tween®80, 5mg de extrato e 70mg de PCL-10) demonstrou melhor estabilidade durante o armazenamento de 90 dias, especialmente sob refrigeração à 4°C, além de perfil de liberação sustentada por 24 h, com maior liberação de AR em comparação à F17 (50mg de Tween®80, 3mg de extrato e 70mg de PCL-10). Em relação ao FPS, as formulações F17 e F18 apresentaram valores de 15,31 e 10,22, respectivamente, enquanto o extrato isolado obteve apenas 1,06, evidenciando o aumento significativo da atividade fotoprotetora após encapsulação. Ambas as formulações mostraram perfil de toxicidade dependente da concentração, onde mais de 85% da viabilidade celular foi mantida nas concentrações de 6,25 a 25µg/mL das nanoformulações, e o extrato apresentou efeito citoprotetor, que pode estar relacionado à elevada presença de AR. Dessa forma, os resultados demonstram que a nanoencapsulação do extrato de *M. x villosa* Huds em nanocápsulas poliméricas é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de protetores solares naturais, eficazes, seguros e ambientalmente sustentáveis.

**Palavras-chave:** Mentha. Ácido rosmarínico. Fotoproteção. Nanocápsula polimérica.

## ABSTRACT

Exposure to solar radiation, although essential for vitamin D synthesis and the maintenance of homeostasis, can cause serious health damage when excessive. Burns, hyperpigmentation, oxidative stress, deoxyribonucleic acid (DNA) mutations, and immunosuppression are among the main harmful effects, increasing the risk of skin cancer and premature aging. In this context, the use of effective and safe photoprotective agents becomes essential, and natural products, when associated with nanotechnological systems, stand out due to enhanced efficacy, antioxidant activity, and reduced environmental impact. This study aimed to develop polymeric nanocapsules containing *Mentha x villosa* Huds extract with potential photoprotective application. Both the crude ethanolic extract (CEE) and the dechlorophyllated extract were obtained, followed by quantification of phenolic compounds using the Folin-Ciocalteu method and of rosmarinic acid (RA) by high-performance liquid chromatography (HPLC). Antioxidant activity was evaluated using DPPH and ABTS radical scavenging assays. A preformulation study was then conducted using different types of nanosystems (double emulsion nanocapsules, liposomes, and nanostructured lipid carriers), with polymeric nanocapsules containing CEE being selected due to better solubility and particle size. Based on this, a Box-Behnken experimental design was applied using Tween®80 (50–100 mg), extract (1–9 mg), and PCL-10 (30–70 mg) as independent variables. The formulations were characterized in terms of hydrodynamic diameter, polydispersity index (PDI), zeta potential, morphology, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), thermal analyses (thermogravimetric analysis and differential scanning calorimetry), RA content and encapsulation efficiency, sun protection factor (SPF), physicochemical stability, in vitro release profile, and cellular toxicity in HaCaT cell line. The extracts showed a high concentration of rosmarinic acid (76.24 mg/g for CEE and 68.86 mg/g for the dechlorophyllated extract) and phenolic compounds ( $263.44 \pm 0.50$  mg GAE/g in CEE and  $324.23 \pm 0.22$  mg GAE/g in the dechlorophyllated extract). Formulation F18 (50 mg of Tween®80, 5 mg of extract, and 70 mg of PCL-10) demonstrated better stability during 90-day storage, particularly under refrigeration at 4°C, as well as a sustained release profile over 24 h, with greater RA release compared to F17 (50 mg of Tween®80, 3 mg of extract, and 70 mg of PCL-10). Regarding SPF, formulations F17 and F18 showed values of 15.31 and 10.22, respectively, while the isolated extract reached only 1.06, highlighting the significant enhancement of photoprotective activity after encapsulation. Both formulations exhibited a concentration-dependent toxicity profile, maintaining over 85% cell viability at concentrations ranging from 6.25 to 25 µg/mL of the nanoformulations. Moreover, the extract showed a cytoprotective effect, which may be related to the high RA content. Thus, the results demonstrate that nanoencapsulation of *M. x villosa* Huds extract in polymeric nanocapsules is a promising strategy for developing natural, effective, safe and environmentally sustainable sunscreens.

**Keywords:** *Mentha*. Rosmarinic acid. Photoprotection. Polymeric nanocapsule.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 – Distribuição geográfica mundial das espécies da família Lamiaceae.....</b>	22
<b>Figura 2 – Distribuição geográfica mundial das espécies do gênero <i>Mentha</i>.....</b>	25
<b>Figura 3 – <i>Mentha x villosa</i> Huds.....</b>	27
<b>Figura 4 – Penetração dos diferentes tipos de radiação ultravioleta nas camadas da pele.....</b>	32
<b>Figura 5 – Mecanismo celular do fotoenvelhecimento cutâneo induzido por radiação UV.....</b>	36
<b>Figura 6 – Estrutura química do Ácido Rosmarínico.....</b>	40
<b>Figura 7 – Biossíntese do Ácido Rosmarínico.....</b>	41
<b>Figura 8 – Equilíbrio tautomérico do avobenzona sob radiação UV.....</b>	45
<b>Figura 9 – Curva de calibração de quantificação de fenólicos totais empregando como substância de referência padrão o Ácido Gálico.....</b>	71
<b>Figura 10 – Cromatograma representativo do padrão de Ácido Rosmarínico (160 µg/mL) (a), EEB (b) e extrato desclorofilado (c) de <i>M. x villosa</i> Huds obtidos por CLAE a 330nm.....</b>	73
<b>Figura 11 – Curva de calibração de quantificação do AR por CLAE.....</b>	74
<b>Figura 12 – Diagrama de pareto para análise das varáveis tamanho (A), doseamento de AR (B) e eficiência de encapsulação de AR (C) obtidos através do design experimental Box-Behnken.....</b>	80
<b>Figura 13 – Superfície de resposta das variáveis independentes em função do tamanho das partículas.....</b>	84
<b>Figura 14 – Superfície de resposta das variáveis independentes em função do doseamento de AR.....</b>	86
<b>Figura 15 – Superfície de resposta das variáveis independentes em função da eficiência de encapsulação de AR.....</b>	88

<b>Figura 16 – As nanoformulações F17 (A) e F18 (B) em superfície 3D.....</b>	91
<b>Figura 17 – Análise comparativa dos espectros de FTIR dos componentes e formulações utilizados na produção da NCPs F17 e F18.....</b>	93
<b>Figura 18 – Análises térmicas - TG (A) e DSC (B) - das formulações F17 e F.....</b>	95
<b>Figura 19 – Comportamento do tamanho (A), Pdl (B) e potencial zeta (C) das NCPs quando submetidas a 4, 25 e 37°C.....</b>	97
<b>Figura 20 – Perfil da cinética de liberação de AR pelas formulações F17 e F18.....</b>	99
<b>Figura 21 – Valores de FPS do extrato de M. x villosa Huds, formulações F17, F18 e NCPs vazias.....</b>	101
<b>Figura 22 – Citotoxicidade dos compostos na linhagem HaCat, após tratamento por 24 horas, utilizando o ensaio do MTT.....</b>	104

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Variáveis independentes das nanocápsulas poliméricas de dupla emulsão.....	62
<b>Tabela 2</b> – Ponderação empregada no cálculo por espectrofotometria do FPS in vitro.....	65
<b>Tabela 3</b> – Parâmetros de análise dos nanossistemas no estudo de pré formulação.....	76
<b>Tabela 4</b> – Parâmetros de avaliação das formulações produzidas de acordo com o planejamento fatorial do tipo Box-Behnken.....	78
<b>Tabela 5</b> – Parâmetros de concentração e valores preditos pelo planejamento experimental Box-Behnken para as formulações otimizadas.....	89
<b>Tabela 6</b> – Parâmetros de concentração e dados de caracterização obtidos experimentalmente para as formulações otimizadas.....	90
<b>Tabela 7</b> – Concentrações das amostras que inibem 50% do crescimento celular ( $IC_{50}$ ) em HaCat após o tratamento com as amostras por 24 horas, utilizando o ensaio do MTT.....	104

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ζ** - Zeta

**%AS** – Atividade sequestradora

**APS** – Persulfato de amônio

**4CL** - 4-cumaroil-CoA ligase

**ABTS** - 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) diamônio

**AKT** - Proteína Cinase B

**ANOVA** – Análise de variância

**AP-1** – Proteína ativadora tipo 1

**AR** – Ácido Rosmarínico

**ATM** – Ataxia Telangiectasia Mutated

**ATR** – ATM and Rad3-related

**C4H** - Cinamato 4-hidroxilase

**CAT** – Catalase

**CE<sub>50</sub>** – Concentração efetiva que causa 50% do efeito

**CL<sub>50</sub>** – Concentração letal média

**CLAE** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**CLNs** – Nanocarreadores lipídicos

**COX-2** – Cicloxygenase-2

**cPLA2** – Fosfolipase A2 citosólica

**DMEM** – Dulbecco's Modified Eagle Medium

**DMSO** - Dimetilsulfóxido

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**DPPH** - 2,2-difenil-1-picrilidrazila

**DSC** – Calorimetria exploratória diferencial

**EE%** - Porcentagem de eficiência de encapsulação

**EEB** – Extrato etanólico bruto

**EPM** – Erro padrão da média

**ERK** - Cinase regulada por sinal extracelular

**ERNS** – Espécies reativas de Nitrogênio

**EROS** – Espécies reativas de Oxigênio

**FPS** – Fator de Proteção Solar

**FP-UVA** – Fator de Proteção UVA

**FTIR** – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

**GCLC** – Subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase

**GSS** – Glutationa sintetase

**GPx** – Glutationa peroxidase

**HLB** – Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico

**HOMO** - Orbital molecular ocupado mais alto

**IV** – Infravermelho

**LDL** – Lipoproteína de baixa densidade

**LOX** – Lipooxygenase

**LUMO** - Orbital Molecular Desocupado Mais Baixo

**MAPKs** – Proteínas cinases ativadas por mitógenos

**MCT** – Triglicerídeos de cadeia média

**MMPs** – Metaloproteinases de matriz

**MTT** - 3 (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** – Carbonato de sódio

**NCPs** – Nanocápsulas poliméricas

**NF-κB** – Fator nuclear Kappa B

**OP** – Óxido de piperitona

**PABA** – Ácido paraminobenzóico

**PBS** - Solução Salina Tamponada com Fosfato

**PAL** – Fenilalanina amônia-liase

**PCL** – Policaprolactona

**Pdl** – Índice de polidispersão

**PGE<sub>2</sub>** – Prostaglandina E2

**PI3K** – Fosfoinositídeo 3-quinase

**RDC** – Resolução da Diretoria Colegiada

**SASP** – Fenótipo secretor associado a senescência

**SDS** – Dodecil sulfato de sódio

**SOD** – Superóxido Dismutase

**SFB** – Soro fetal bovino

**STM** – Solução tampão modificada

**TG** – Termogravimetria

**TiO<sub>2</sub>** – Dióxido de titânio

**TNF-α** – Fator de necrose tumoral alfa

**UV** – Ultravioleta

**VIS** – Visível

**ZnO** – Óxido de zinco

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	22
2.1. Família Lamiaceae.....	22
2.2. Gênero <i>Mentha</i> .....	25
2.3. <i>Mentha x villosa</i> Huds.....	27
2.4. A radiação solar e os efeitos na pele humana.....	29
2.5. Radicais livres, estresse oxidativo e antioxidantes .....	34
2.6. Compostos fenólicos .....	38
2.7. Ácido Rosmarínico.....	40
2.8. Fotoproteção e Produtos Naturais .....	43
2.8.1. Protetores solares convencionais .....	43
2.8.2. Incorporação de produtos naturais com ação antioxidant e fotoprotetora .....	46
2.9. Nanotecnologia aplicada a fotoproteção .....	48
2.9.1. Nanocápsulas poliméricas .....	49
3. OBJETIVOS .....	52
3.1. Objetivo geral .....	52
3.2. Objetivos específicos .....	52
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	54
4.1. Local da pesquisa .....	54
4.2. Materiais.....	54
4.3. Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) de <i>Mentha x villosa</i> Huds	54
4.4. Desclorofilação do EEB de <i>Mentha x villosa</i> Huds .....	55
4.5. Determinação colorimétrica do teor de compostos fenólicos nos extratos .....	55
4.6. Determinação da atividade antioxidant <i>in vitro</i> .....	56
4.6.1. Método de Sequestro de Radicais DPPH .....	56
4.6.2. Ensaio de descoloração do radical ABTS .....	57
4.7. Doseamento do Ácido Rosmarínico nos extratos vegetais .....	58
4.8. Estudo de pré-formulação para produção de nanossistemas contendo o extrato de <i>Mentha x villosa</i> Huds .....	59
4.8.1. Produção das nanocápsulas poliméricas por dupla emulsão	59
4.8.2. Produção dos carreadores lipídicos nanoestruturados .....	60
4.8.3. Produção dos lipossomas .....	60

<b>4.9. Planejamento fatorial de produção das nanoformulações (tipo Box-Behnken).....</b>	<b>61</b>
<b>4.10. Caracterização das nanoformulações.....</b>	<b>62</b>
<b>4.10.1. Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão (Pdl) .....</b>	<b>62</b>
<b>4.10.2. Potencial zeta.....</b>	<b>62</b>
<b>4.10.3. Análise morfológica em perfilometria ótica .....</b>	<b>63</b>
<b>4.10.4. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier das NCPs .....</b>	<b>63</b>
<b>4.10.5. Análises térmicas das nanopartículas.....</b>	<b>63</b>
<b>4.11. Determinação do doseamento e eficiência de encapsulação (EE%) de Ácido Rosmarínico nas nanocápsulas por CLAE.....</b>	<b>64</b>
<b>4.12. Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) <i>in vitro</i> das duas nanoformulações .....</b>	<b>64</b>
<b>4.13. Estabilidade dos nanossistemas .....</b>	<b>65</b>
<b>4.14. Cinética de liberação <i>in vitro</i> de AR pelas nanopartículas .....</b>	<b>66</b>
<b>4.15. Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> .....</b>	<b>67</b>
<b>4.15.1. Linhagem de células humanas.....</b>	<b>67</b>
<b>4.15.2. Avaliação da atividade citotóxica <i>in vitro</i> do EEB de <i>M. x villosa</i> Huds e das nanoformulações .....</b>	<b>67</b>
<b>4.16. Análise estatística .....</b>	<b>68</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>70</b>
<b>5.1. Determinação do teor de compostos fenólicos e AR nos extratos com e sem clorofila.....</b>	<b>70</b>
<b>5.1.1. Obtenção dos extratos etanólico e desclorofilado de <i>Mentha x villosa</i> Huds.....</b>	<b>70</b>
<b>5.1.2. Quantificação colorimétrica de compostos fenólicos.....</b>	<b>70</b>
<b>5.1.3. Quantificação de ácido rosmarínico .....</b>	<b>72</b>
<b>5.2. Avaliação da atividade antioxidante dos extratos bruto e desclorofilado de <i>Mentha x villosa</i> Huds.....</b>	<b>75</b>
<b>5.3. Desenvolvimento e caracterização das nanoformulações contendo os extratos de <i>Mentha x villosa</i> Huds .....</b>	<b>76</b>
<b>5.3.1. Estudo de pré-formulação dos nanossistemas .....</b>	<b>76</b>
<b>5.3.2. Otimização do nanossistema .....</b>	<b>78</b>
<b>5.3.3. Análise morfológica .....</b>	<b>91</b>
<b>5.3.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier da NCPs .....</b>	<b>92</b>
<b>5.3.5. Análises térmicas .....</b>	<b>94</b>
<b>5.4. Estabilidade dos nanossistemas .....</b>	<b>96</b>

5.5.	Cinética de liberação <i>in vitro</i> de AR pelas NCPs.....	99
5.6.	Determinação do FPS <i>in vitro</i> .....	100
5.7.	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	102
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	107
7.	REFERÊNCIAS .....	110

# **Introdução**

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer de pele é uma patologia caracterizada pelo crescimento desordenado de células anormais na pele, sendo um dos tipos de câncer mais incidentes, onde em 2020 foram diagnosticados aproximadamente 325.000 novos casos e 57.000 mortes devido ao melanoma no mundo (Arnold *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2023). E o Brasil, por se localizar em região tropical próximo ao equador, recebe intensa radiação solar ao longo do ano, aumentando a exposição da população aos raios ultravioleta (UV), um dos principais causadores do câncer de pele (Melo; Ribeiro, 2015), e por isso, entre 2019 e 2023 foram registrados 399.230 casos de câncer de pele no Brasil (Camarço *et al.*, 2024).

Diante desse contexto, houve um aumento significativo no uso de fotoprotetores para prevenir os danos provenientes da radiação solar, tendo em vista que 40.000 toneladas de protetor solar foram utilizadas em 2020 (Costa, 2019). E, por isso, a indústria cosmética tem investido na pesquisa e produção de novos produtos com fator de proteção solar (FPS) para corresponder a demanda crescente por formulações eficazes e sustentáveis (Parwaiz, Khan, 2023).

Por outro lado, a utilização de fotoprotetores de origem sintética pode acarretar problemas para a saúde humana e para o meio ambiente. Relatos de alergias, irritações na pele e reações sistêmicas, como desregulação endócrina, foram associados ao uso de protetores solares contendo em sua composição filtros químicos como oxibenzona e octocrileno. Além disso, filtros derivados dos Cinamatos (Octinoxato) e Benzofenonas geram poluição ambiental, afetando populações de peixes e outros animais aquáticos e são bioacumulativos, persistindo até mesmo em água tratada (Santander Ballestín, Luesma Bartolome, 2023).

Uma alternativa promissora para contornar esses problemas decorrentes do uso de filtros solares sintéticos é a utilização de filtros derivados de plantas medicinas, pois a presença de diversos metabólitos bioativos, como os compostos fenólicos e flavonoides, apresentam propriedades antioxidantes e fotoprotetoras devido às suas estruturas químicas. E, por serem de origem

natural, podem ser mais seguros e apresentar menor potencial para causar reações adversas na pele humana, além de serem biodegradáveis, e, portanto, são considerados como opção eficaz, segura e biossustentável, atendendo ao conceito de One Health (Shomaker; Green; Yandow, 2013; Aguilera, Gracia-Cazana, Gilaberte, 2023).

Nesse viés, *Mentha x villosa* Huds é uma espécie amplamente cultivada no Brasil com diversas aplicações, desde o ramo alimentício até o emprego na medicina popular (Amaral *et al.*, 2015; Rodriguez; Tolosa; Legaspi, 2024). E devido a presença de diversos compostos bioativos, essa espécie apresenta muitas atividades farmacológicas, como antimicrobiana, antitumoral e antioxidante (Benabdallah *et al.*, 2018; Ćavar Zeljković *et al.*, 2022). Em estudos anteriores desenvolvidos na equipe (Gomes, 2022), *M. x villosa* Huds apresentou potencial capacidade fotoprotetora, apresentando FPS *in vitro* entre 13 e 15, o que motivou a continuidade das pesquisas, agora com foco em melhorar a eficácia e estabilidade do extrato por meio da nanotecnologia.

Neste contexto, a nanotecnologia tem emergido como uma ferramenta que vem sendo incorporada na formulação cosmética de protetores solares. Nessa perspectiva, as formulações fotoprotetoras podem ser veiculadas em nanopartículas, melhorando a estabilidade, proporcionando uma proteção mais uniforme e duradoura pela liberação sustentada dos compostos bioativos, e, portanto, aumentando a eficácia de fotoproteção. Somado a isso, a nanotecnologia permite reduzir as altas concentrações dos ingredientes ativos, e consequentemente, diminuir a ocorrência de efeitos adversos (Santos *et al.*, 2022).

Diante da presença expressiva de compostos fenólicos encontrada nas espécies da família Lamiaceae, especialmente no gênero *Mentha*, que se destaca por apresentar diversas atividades biológicas importantes, como a ação antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (Hejna *et al.*, 2021), este trabalho teve como propósito desenvolver nanocápsulas poliméricas contendo o extrato de *Mentha x villosa* Huds com atividade fotoprotetora.

# **Referencial teórico**

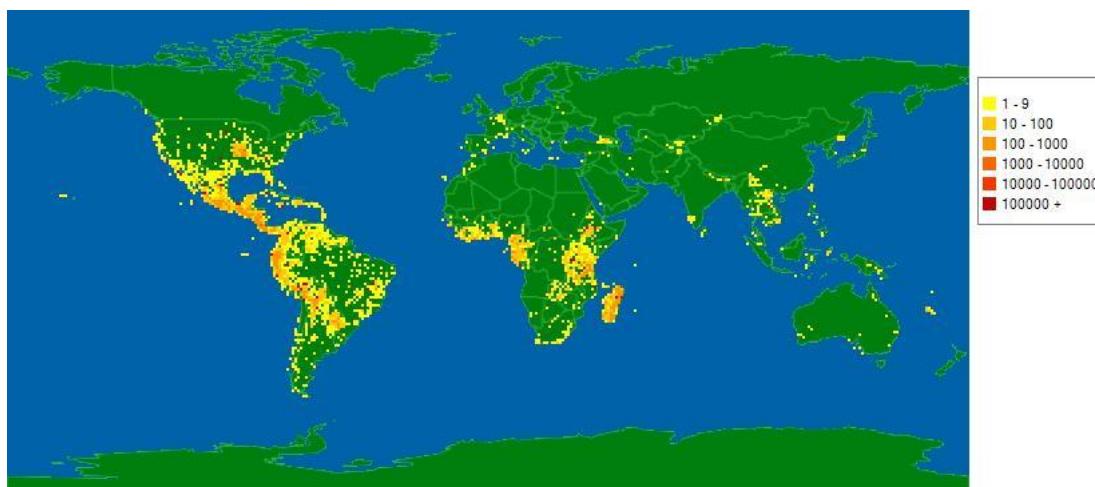
## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Família Lamiaceae

A família Lamiaceae, ou Labiate, é conhecida como a família da menta e seus óleos aromáticos, com aplicações culinárias e medicinais. Pertencente a ordem Lamiales, atualmente essa família compreende cerca de 230 gêneros e mais de 7.000 espécies foram catalogadas, e por isso, é considerada a sexta maior família de angiospermas. Além disso, existem 12 subfamílias de Lamiaceae: Ajugoideae, Callicarpoideae, Cymaroideae, Lamioideae, Nepetoideae, Peronematoideae, Premnoideae, Prostantheroideae, Scutellarioideae, Symphorematoideae, Tectonoideae e Viticoideae (Celep; Dirmenci, 2017; Frezza *et al.*, 2019).

Essa família é distribuída mundialmente (Figura 1), com destaque para regiões temperadas, subtropicais e tropicais, e também apresenta grande capacidade de adaptações ecológicas, podendo ser encontrada em diversos habitats, desde desertos secos a florestas úmidas (Uikey, 2024). Suas espécies estão abundantemente distribuídas na região Mediterrâneo e também por todo o território brasileiro, onde cerca de 52 gêneros e 524 espécies estão presentes com maior incidência nas regiões Sul, Norte e Nordeste, sendo ocorrente na Mata Atlântica, floresta amazônica e principalmente no Cerrado brasileiro (Silva *et al.*, 2021).

**Figura 1 – Distribuição geográfica mundial das espécies da família Lamiaceae.**



**Fonte:** Tropicos.org, 2025.

As plantas são geralmente ervas, subarbustos ou arbustos com aromas marcantes, devido a presença de glândulas produtoras de óleos essenciais distribuídas em suas folhas e caules, que somado ao formato quadrangular do caule e as folhas opostas, permite a identificação das espécies (Xu *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2021). E desde a antiguidade, os óleos essenciais, a erva seca e as folhas das espécies dessa família têm sido utilizados para fins alimentares, tais como: o orégano (*Origanum vulgare* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), sálvia (*Salvia officinalis*) e manjericão (*Ocimum* spp.), amplamente utilizados para aromatizar os alimentos. Além disso, várias espécies de hortelã, são bastante exploradas na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (CAROVIĆ-STANKO *et al.*, 2016; Oliveira; Rocha, 2016; Orso *et al.*, 2022).

A medicina tradicional também é beneficiada pelas espécies da família Lamiaceae, como o emprego de preparações caseiras (chás, decocções) de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) no auxílio de problemas digestivos (CAROVIĆ-STANKO *et al.*, 2016), erva-cidreira (*Melissa officinalis* L) como calmante, boldo (*Plectranthus barbatus*) no tratamento de distúrbios gástricos e digestivos, malvaricô (*Plectranthus amboinicus*) e hortelã ou “vick” (*Mentha spicata*) no manejo da gripe (Oliveira; Rocha, 2016).

Associado a isso, espécies da família Lamiaceae também têm sido amplamente exploradas pela indústria farmacêutica, servindo como fonte para produção de medicamentos. A espécie *Mentha arvensis*, por exemplo, deu origem à produção global de mentol, ativo muito utilizado em medicamentos com finalidade analgésica, anti-inflamatória, refrescante e antimicrobianas, administrados principalmente por via tópica (Faisal *et al.*, 2023). Já o gênero *Salvia* tem sido fonte de pesquisas em novos fármacos devido à presença expressiva de diterpenos, como os clerodanos, com efeitos cardiovasculares e *Marrubium vulgare* é uma importante fonte de compostos hipotensores que estão sendo estudados para o desenvolvimento de novos medicamentos para hipertensão (Panda *et al.*, 2022).

Além disso, a Lamiaceae tem sido alvo de estudos voltados a doenças negligenciadas, como a doença de Chagas e leishmaniose, onde mais de 4.150 metabólitos secundários provenientes dessa família estão sendo estudados para

combater essas doenças, com resultados *in vitro* promissores (De Menezes *et al.*, 2025). Somado a essas propriedades, essa família também apresenta atividade antifúngica e antimicrobiana, neuroprotetora, antidepressiva, anti-inflamatória, bem como estudos recentes apontam uma potencial atividade fotoprotetora e antioxidante (Da Silva *et al.*, 2021; El Aanachi *et al.*, 2021; Tsitsigianni *et al.*, 2023).

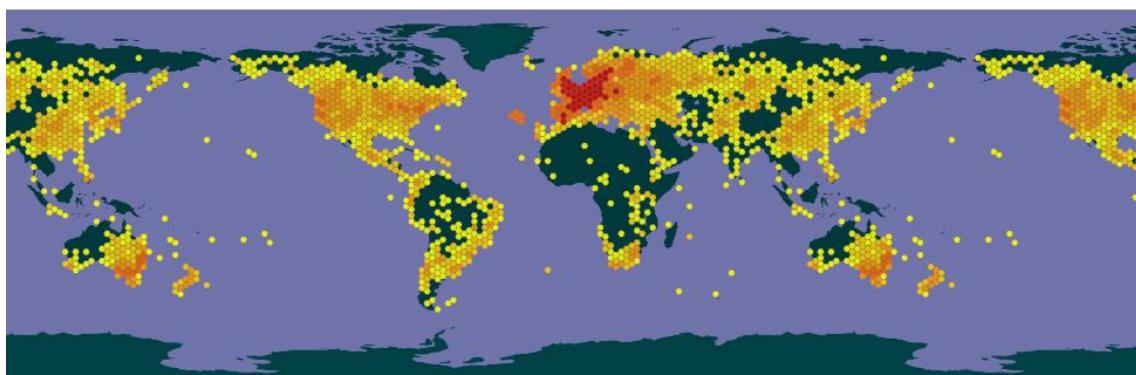
Em outro contexto, as espécies de Lamiaceae também são utilizadas em cosméticos para cuidados com a pele, como alecrim, manjericão, hortelã, sálvia, tomilho e lavanda. Por isso, esses vegetais têm sido aplicados em produtos com efeitos antienvelhecimento, propriedade parcialmente atribuída à presença de compostos fenólicos, como AR, ácido cafeico, ácido clorogênico, rutina e catequina, que possuem atividade antioxidante e anti-inflamatória que colaboram com a proteção da pele contra os danos provenientes do estresse oxidativo (Lee *et al.*, 2011).

Dentre os principais compostos responsáveis pelas atividades terapêuticas da família estão os metabólitos secundários, especialmente os compostos fenólicos, amplamente distribuídos nas espécies da família Lamiaceae. Esses compostos atuam como potente antioxidante, uma vez que são capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROS/ERNS), inibir enzimas pró-oxidantes e modular os sistemas de defesa celular. Estudos *in vitro* demonstram que os fenólicos presentes nas Lamiaceae, como o AR, apresentam atividade antioxidante superior à das vitaminas C e E. Além disso, essas moléculas têm sido associadas a efeitos neuroprotetores, anticancerígenos, antiaterogênicos e na modulação da regulação metabólica através da sua atuação em vias como a MAPK e PI3K, inibição da oxidação de LDL (Lipoproteína de baixa densidade), modulação epigenética e também aprimora a eficiência da homeostase da glicose. Essas atividades têm sido estudadas em espécies como *Mentha hortensis*, *Rosmarinus officinalis* e *Ocimum canum*, e isso reforça a potencial aplicação da família Lamiaceae em diversas áreas da medicina e cosmética (Trivellini *et al.*, 2016; Spráa *et al.*, 2022).

## 2.2. Gênero *Mentha*

O gênero *Mentha* pertence à família Lamiaceae e está amplamente distribuído nos seis continentes (Figura 2), podendo ser encontrada em diversos ambientes (Drew; Sytsma, 2012; Salehi *et al.*, 2018). Esse gênero possui cerca de 42 espécies e 15 híbridos, com centenas de subsespécies e cultivares. Suas plantas se apresentam de forma perene, são produtoras de óleos essenciais e, por isso, são amplamente cultivadas por interesses industriais, como *Mentha aquatica* L., *Mentha canadensis* L., *Mentha spicata* L. e seus híbridos, como a *Mentha x piperita* L. (híbrido estéril e de primeira geração entre *M. aquatica* L. e *M. spicata*). Além disso, as folhas, flores e caules das espécies desse gênero têm sido tradicionalmente usados como chás medicinais, especiarias para adicionar aroma e sabor em alimentos, em produtos de higiene oral e em cosméticos (Salehi *et al.*, 2018).

**Figura 2 – Distribuição geográfica mundial das espécies do gênero *Mentha*.**



**Fonte:** Gbif Secretariat, 2021.

As plantas do gênero *Mentha* se destacam por sua riqueza em compostos bioativos, especialmente os polifenóis. Entre eles, encontram-se o ácido cafeico e seus derivados, como os ácidos caftárico, cinâmico, ferúlico e oleanólico. Além disso, essas espécies também apresentam uma ampla variedade de flavonoides, como luteolina, apigenina, acacetina, diosmina, salvigenina e timonina. Também estão presentes os flavonóis como catequina e epicatequina, além de cumarinas como esculetina e escopoletina (Tafrihi *et al.*, 2021).

Quanto às propriedades medicinais, espécies do gênero *Mentha* têm sido utilizadas para aliviar sintomas digestivos, problemas do trato respiratório, dores de cabeça, estimular a diurese e auxiliar em problemas de pele (Kee; Shori; Baba, 2017; Brahmi *et al.*, 2017; Mahboubi, 2021). Além disso, extratos e óleos essenciais de espécies de menta também tem papel importante na inibição da atividade da acetilcolinesterase e vasodilatação (Teles *et al.*, 2013), assim como apresenta propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e expectorante (Brahmi *et al.*, 2017).

É importante ressaltar que várias espécies do gênero *Mentha* contêm altos níveis de antioxidantes, como os compostos fenólicos, ácidos fenólicos, flavonoides, ácido ascórbico e carotenoides, que agem retardando ou inibindo a oxidação de diferentes moléculas, e dentre essas espécies estão: *M. piperita*, *M. pulegium*, *M. rotundifolia*, *M. spicata*, *M. longifolia*, *M. aquatica* I (Park *et al.*, 2019; Tafrihi *et al.*, 2021). Os óleos essenciais e extratos de *Mentha* também apresentam amplo espectro de atividade antibacteriana e isso pode estar relacionado com a presença de monoterpenos oxigenados e hidrocarbonetos monoterpênicos presentes nas espécies vegetais. E a presença de compostos polifenólicos, como os flavonoides, também conferem propriedades anticancerígenas, podendo induzir a apoptose e suprimir a proliferação de células cancerígenas (Yousefian; Esmaeili; Lohrasebi, 2023).

Além das conhecidas propriedades terapêuticas, os polifenóis presentes nas plantas do gênero *Mentha* também se destacam pelo potencial fotoprotetor, uma vez que esses compostos são capazes de absorver a radiação UV. E essa propriedade é respaldada pelo fato de que as próprias plantas produzem esses metabólitos como defesa natural contra a radiação solar. Estudos apontam que há um aumento significativo nos níveis de flavonoides e antocianinas em *Mentha aquatica* quando exposta à radiação UVB, principalmente durante as fases iniciais de crescimento, o que reforça seu papel na resposta ao estresse solar (Nazari; Zarinkamar, 2020). Além disso, o extrato aquoso de *Mentha pulegium* apresentou um promissor FPS de 35,58, sendo assim eficaz contra a radiação UVB (Yakoubi *et al.*, 2021).

Portanto, esses dados evidenciam o potencial do gênero *Mentha* não apenas como planta medicinal tradicional, mas também como uma rica fonte de ativos naturais para o desenvolvimento de produtos fotoprotetores e antioxidantes inovadores.

### 2.3. *Mentha x villosa* Huds

A *Mentha x villosa* Huds, conhecida popularmente como hortelã-da-folha-miúda, hortelã cubana ou hortelã-rasteira (Lima *et al.*, 2014; Amaral *et al.*, 2015), é uma planta herbácea, de baixo crescimento e se apresenta com ramos eretos, folhas opostas, pecioladas e ovais (Figura 3) com aroma forte e característico. Essa espécie é híbrida com origem a partir do cruzamento entre *Mentha spicata* L. e *Mentha suaveolens* Ehlh, e devido à dificuldade de diferenciar os numerosos híbridos provenientes dos cruzamentos espontâneos entre as espécies desse gênero, essa hortelã pode ser confundida com outras espécies, como com a *Mentha crispa* L.. A *M. x villosa* é de clima subtropical e de fácil cultivo, podendo resistir a condições extremas, entretanto, altas temperaturas e o déficit hídrico podem reduzir o seu teor de óleos essenciais, substâncias responsáveis pelo seu forte aroma. Dessa forma, seu crescimento é favorecido em solos leves, com matéria orgânica em abundância e com escoamento de água eficiente (Bezerra *et al.*, 2019; Lopes *et al.*, 2020).

**Figura 3 – *Mentha x villosa* Huds.**



**Fonte:** Nunes, 2023.

Essa espécie é amplamente cultivada no nordeste e sul do Brasil e é bastante utilizada no ramo alimentício no condimento para carnes, massas e saladas (Amaral *et al.*, 2015), podendo ser encontradas em feiras e supermercados (Bezerra *et al.*, 2019; Lopes *et al.*, 2020). Assim como outras espécies do gênero, essa hortelã também é muito utilizada na medicina popular, podendo ser empregada no tratamento de gripes, sinusites, indigestão, infecção intestinal, cólicas, inflamações e dores em geral (Cartaxo; De Almeida Souza; De Albuquerque, 2010; Naureen *et al.*, 2022; Rodriguez; Tolosa; Legaspi, 2024).

Em consonância, o uso de óleos essenciais dessa espécie é crescente e com aplicações na indústria de alimentos, medicamentos e cosméticos. No que tange a sua composição química desses óleos, estudos identificaram que os compostos majoritários são o óxido de piperitenona, alfa-pineno, sabineno, limoneno, gama-cadineno e shyobunol (Fonseca *et al.*, 2020). Além desses, Moetamedipoor e colaboradores (2021) identificaram outros compostos, como neo-mentol, 1,8-cienol, pulegona, (E)-cariofileno, geranil tiglato, germacreno-D, β-pineno e mentol.

Nesse sentido, o óleo essencial de *M. villosa* tem se destacado por apresentar diversas atividades biológicas importantes. Sousa e colaboradores (2009) observou que o óxido de piperitona (OP), constituinte importante do óleo, apresentou efeito antinociceptivo e antiespasmódico significativo sobre a musculatura lisa intestinal de porquinhos-da-índia, indicando sua potencial atividade no manejo de distúrbios gastrointestinais. Além disso, Fonseca e colaboradores (2020) apontaram que o OP apresenta atividade antiprotozoária, sendo eficaz no combate contra os agentes etiológicos da amebíase e giardíase, e por isso, esse composto já é utilizado em formulações farmacêuticas disponíveis no mercado, como no medicamento Giamebil®, evidenciando sua importância terapêutica.

Outro composto de destaque é a rotundifolona, que tem sido apontada como a principal responsável pela atividade larvicida do óleo essencial dessa espécie. Estudos demonstraram que o óleo apresentou CL<sub>50</sub> de 45 ppm e induziu 100% de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, vetor da dengue e outras

arboviroses, na concentração de 110 ppm, já a rotundifolona isolada apresentou CL<sub>50</sub> de 62,5 ppm, confirmando sua eficácia contra esse vetor (Lima *et al.*, 2014).

Além disso, outras ações biológicas já foram atribuídas ao óleo essencial de *M. villosa*, como a atividade hipotensora, antimicrobiana, antitumoral e esquistossomicida. Os compostos sabineno, β-pineno, mirceno, limoneno e germacreno D, presentes no óleo, apresentam atividade citotóxica e anticancerígena (Amaral *et al.*, 2015). E, mais recentemente, estudos apontaram que o óleo essencial dessa espécie enriquecido com carvona apresentou importante atividade antiviral contra o SARS-CoV-2, reforçando sua ampla aplicabilidade em atividades biológicas (Ćavar Zeljković *et al.*, 2022).

Outra propriedade importante atribuída ao óleo essencial de *M. villosa* é a atividade antioxidante, que pode ser justificada pela presença expressiva de monoterpenos oxigenados, como mentofurano, 1,8-cineol, rotunfolidolona, mentol e pulegona (Benabdallah *et al.*, 2018). Além disso, o extrato dessa espécie vegetal também apresenta atividade antioxidante, e isso pode estar fortemente correlacionado com os expressivos teores de compostos fenólicos em *M. villosa*, onde esses metabólitos conseguem agir doando hidrogênio, eliminando radicais e se comportando como agente redutor (Freitas *et al.*, 2014; Benabdallah *et al.*, 2016). TEKELOVÁ e colaboradores (2016) também observaram a presença marcante de compostos fenólicos em extratos de folhas *Mentha x villosa*, dentre eles o AR, e flavonoides do tipo luteolina-7-O-glicosídeo, que conferem a atividade antioxidante da espécie.

#### **2.4. A radiação solar e os efeitos na pele humana**

A radiação solar é uma fonte energética composta por ondas eletromagnéticas de diferentes comprimentos, que variam em energia e efeitos sobre os organismos vivos. Ao alcançar a superfície da Terra, essa radiação é dividida em três faixas do espectro: ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelho (IV) (Furukawa *et al.*, 2021)

A radiação ultravioleta abrange o intervalo entre 100 e 400 nm e apenas 10% dessa radiação atinge a superfície terrestre, mas ainda assim apresenta importantes efeitos biológicos. Os raios UV são subdivididos em três tipos: UVC (100 - 290 nm), UVB (290 - 320nm) e UVA (320 - 400nm). A radiação UVC é a

mais energética e nociva, mas é completamente absorvida pela camada de ozônio e não atinge à superfície da Terra. Por outro lado, os raios UVB são parcialmente filtrados e representa cerca de 5% da radiação UV total que alcança o solo, já a radiação UVA, a menos energética, mas com maior capacidade de penetração na terra, representa cerca de 95% da radiação UV que atinge a superfície terrestre (Solar, 1992; Nieradko-Iwanicka; Wysokinska, 2022; Maghrabi; Alharbi; Aldosari, 2024).

A radiação visível, que compreende de 400 a 760 nm, é percebida como luz pelo olho humano e representa cerca de 40% da radiação solar que incide sobre a Terra. E a exposição da pele humana a essa faixa do espectro tem sido associada a indução do estresse oxidativo, hiperpigmentação e contribuição para o envelhecimento cutâneo (Ezekwe; Maghfour, 2022). Por fim, a radiação infravermelho que se encaixa na faixa entre 750 e 3.000 nm, sendo subdividida em IVA (760 - 1.440 nm) e IVB (1.440 - 3.000 nm), é responsável por mais da metade da energia solar que atinge o solo e é percebida na forma de calor. Além disso, seus efeitos biológicos têm sido cada vez mais estudados, especialmente o potencial risco de danificar o colágeno dérmico e intensificar os efeitos do fotoenvelhecimento (Calles *et al.*, 2010; Tanaka, 2012; Souza, 2016; Addor, 2018).

Apesar da presença da camada de ozônio como uma forma de barreira natural formada pela atmosfera terrestre, fundamental para filtrar raios UVC e UVB, o afinamento dessa camada tem permitido que quantidades crescentes de radiação UV atravesse a atmosfera, aumentando os riscos associados à exposição solar (Umar; Tasduq, 2022; Mmbando; Gongolo, 2024). Somado a isso, variáveis como latitude, altitude, estação do ano, horário do dia e condições climáticas podem influenciar diretamente na intensidade da radiação. Nesse sentido, a incidência solar é significativamente maior em regiões próximas ao Equador e em altitudes elevadas, principalmente no verão (Stevens, 2010; Rathod; Mittal; Kumar, 2016).

Diante disso, torna-se evidente que a radiação solar é essencial para a vida na Terra, mas também pode apresentar risco à saúde humana, principalmente quando há exposição excessiva ou sem a devida proteção

(Weller, 2024). Dessa forma, o aumento dos níveis da radiação UV, devido às alterações atmosféricas e a exposição inadequada, ressalta a importância do conhecimento das formas de fotoproteção, bem como o desenvolvimento de novas estratégias para proteger a pele humana dos efeitos nocivos provenientes dessa fonte energética (Verschooten *et al.*, 2006; Gabros; Nessel; Zito, 2023).

A pele é o maior órgão do corpo humano e funciona como uma barreira entre o organismo e o ambiente externo, protegendo o corpo contra agentes físicos, químicos e biológicos, incluindo a radiação solar, um dos principais fatores ambientais responsáveis pelo fotoenvelhecimento precoce e o desenvolvimento de lesões cutâneas (GROMKOWSKA-KĘPKA *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2025).

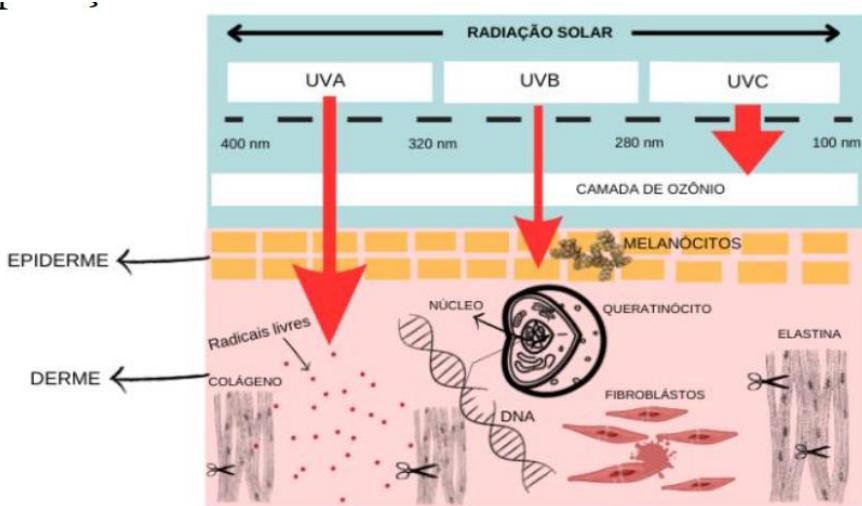
Anatomicamente, a pele é composta por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme. A camada mais externa, epiderme, é composta, predominantemente, por queratinócitos que se diferenciam e formam o estrato córneo, que atua como principal barreira física e química contra o meio externo. Além disso, também estão presentes os melanócitos, células que sintetizam a melanina (pigmento de proteção contra a radiação UV), além das células de Langerhans e células de Merkel que estão envolvidas com a função imunológica e na percepção sensorial, respectivamente (Bellavite; Imbriano, 2025).

Já a derme, situada logo abaixo da epiderme, é composta por tecido conjuntivo rico em fibras de colágeno e elastina, produzidos pelos fibroblastos presentes na região, conferindo firmeza, elasticidade e integridade estrutural da pele, além da presença de vasos sanguíneos, linfáticos, glândulas sudoríparas e folículos pilosos (Boraldi *et al.*, 2024; Brown; Krishnamurthy, 2024). Por fim, a hipoderme ou tecido subcutâneo, formado principalmente por tecido adiposo, atua como isolante térmico e reserva energética (Alexander *et al.*, 2015; Lotfollahi, 2024).

Dessa forma, a interação da radiação solar com as diferentes camadas da pele depende do comprimento de onda de cada tipo de radiação, e de forma geral, quanto menor o comprimento de onda, maior energia de radiação, e, portanto, maior o seu potencial de dano celular. Em contrapartida, quanto maior o comprimento de onda, maior sua capacidade de penetração cutânea (D’Orazio

*et al.*, 2013; Finlayson *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2023). Portanto, a radiação UVB atinge predominantemente a epiderme, enquanto a radiação UVA pode penetrar até a derme, já as radiações visível e infravermelha podem alcançar até a hipoderme (Figura 4). E dentre a ampla faixa do espectro solar, a radiação UV é a que causa mais efeitos deletérios na pele humana, como eritemas, queimaduras, pigmentação, imunossupressão, fotoenvelhecimento e câncer de pele (Montero *et al.*, 2023; Brar *et al.*, 2025).

**Figura 4 – Penetração dos diferentes tipos de radiação ultravioleta nas camadas da pele.**



**Fonte:** Adaptado de Pinto; Andrade, 2023.

Os raios UVA, por ser mais penetrante, é responsável pelos efeitos indiretos danosos, como a formação de EROs, capazes de danificar lipídeos, proteínas e DNA, e também podem induzir a expressão de metaloproteinases de matriz (MMPs), enzimas que degradam colágenos e outros componentes estruturais da derme, contribuindo diretamente para o processo de fotoenvelhecimento, causando flacidez, rugas profundas, hiperpigmentações e irregularidades na textura da pele. Além disso, a radiação UVA também tem potencial carcinogênico por promover danos oxidativos ao DNA e exercer efeitos imunossupressores (Herrmann *et al.*, 1993; Brem; Guven; Karran, 2017; GROMKOWSKA-KĘPKA *et al.*, 2021; Pourzand; Albieri-Borges; Raczek, 2022).

Por outro lado, a radiação UVB, por ser altamente energética, causa danos diretos ao DNA das células da epiderme, formando dímeros de pirimidina que, se não reparados, resultam em mutações genéticas associadas ao surgimento de diversos tipos de carcinoma cutâneo (Pfeifer, 2020). Exposições agudas promovem respostas inflamatórias típicas, como vermelhidão, edema e calor, e ativam mediadores inflamatórios como mediadores inflamatórios importantes, como TNF- $\alpha$ , cicloxygenase-2 (COX-2) e fosfolipase A2 citosólica (cPLA2) (Gresham *et al.*, 1996; Tanaka *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2022). Entretanto, exposições moderadas a UVB desempenha papel essencial na síntese cutânea de vitamina D, hormônio importante que influencia a saúde óssea, o sistema imune, o metabolismo da glicose e humor (Wacker; Holick, 2013; Rad *et al.*, 2014; Huiberts; Smolders, 2021).

Além da radiação UV, a radiação visível e infravermelha também exerce efeitos biológicos importantes. A VIS pode penetrar até a hipoderme e gerar radicais livres, contribuindo para o estresse oxidativo e para a pigmentação persistente, o que pode tornar a VIS como coadjuvante no surgimento de melasmas e hiperpigmentações pós-inflamatórias (Mann *et al.*, 2020). E a radiação IV é capaz de gerar EROs mitocondriais e alterar a expressão de genes associados à síntese de colágeno, à inflamação e à apoptose celular (Schieke *et al.*, 2002; Schroeder *et al.*, 2008).

Ademais, os efeitos da radiação solar também variam de acordo com o fototipo cutâneo, que é classificado pela Escala de Fitzpatrick (I a IV) a partir da resposta da pele ao sol, como o desenvolvimento de eritema e bronzeamento. Indivíduos de fototipos mais baixos (I-II), com pele mais clara, apresentam maior risco de reações à exposição solar e do desenvolvimento de câncer de pele do tipo melanoma e não melanoma (Ballester *et al.*, 2012).

Nesse contexto, o câncer de pele é uma das neoplasias mais comuns em todo o mundo e consiste na multiplicação anormal e descontrolada das células da pele. Existem dois tipos principais câncer de pele: o tipo melanoma, originado dos melanócitos, mais agressivo e letal, porém menos comum; e o não melanoma, que se origina dos queratinócitos, é mais frequente, mas tem melhor prognóstico, além de ser o mais incidente no Brasil (Ferreira; Nascimento, 2016;

Nascimento, 2021 Wang; Gao; Zhang, 2025). E a radiação ultravioleta se destaca como principal fator de risco para todos os tipos de câncer de pele, provocando danos cumulativos ao DNA e indução de mutações que levam à carcinogênese (Wild; Weiderpass; Stewart, 2020).

Por fim, vale destacar que a exposição solar também desencadeia a produção de melanina, gerando o bronzeamento cutâneo, podendo ser a partir da pigmentação imediata e reversível causado pela radiação UVA, envolvendo a fotooxidação da melanina pré-existente e redistribuição de grânulos de pigmentos, sem aumentar efetivamente a síntese de melanina; ou bronzeado mais duradouro provocado pela UVB, sendo resultado do aumento da melanogênese devido aos danos causados ao DNA das células epidérmicas. Esse efeito é muitas vezes desejado por razões estéticas, porém é uma resposta de defesa da pele frente à agressão da radiação (Brenner; Hearing, 2008; Garone; Howard; Fabrikant, 2015; Yardman-Frank; Fisher, 2021).

Dessa forma, a adoção de medidas preventivas contra os danos causados pela exposição solar indevida, como o uso diário de produtos com ação fotoprotetora e antioxidante, é essencial, principalmente em regiões como o Brasil, onde a incidência de radiação ultravioleta é elevada durante a maior parte do ano, sendo assim, fundamental para a preservação da saúde e integridade da pele a curto e longo prazo (Corrêa, 2015).

## **2.5. Radicais livres, estresse oxidativo e antioxidantes**

Durante o funcionamento normal do organismo, diversas reações bioquímicas ocorrem constantemente para a manutenção da homeostase, como o processo de respiração celular, resposta inflamatória e até mesmo a exposição a agentes externos (Chovatiya; Medzhitov, 2014). No entanto, como subprodutos dessas reações formam-se moléculas instáveis chamadas de radicais livres, sendo estes definidos como átomos ou grupos de átomos que possuem ao menos um elétron desemparelhado em sua camada mais externa, tornando-os altamente reativos. E essa reatividade pode desencadear sequências de reações químicas danosas ao organismo, principalmente quando essas espécies reagem com componentes fundamentais das células, como os lipídios

de membrana, proteínas estruturais e o DNA (Barreiros; David; David, 2006; Pham-Huy; He; Pham-Huy, 2008; Oliveira; Schoffen, 2010; Pizzino *et al.*, 2017).

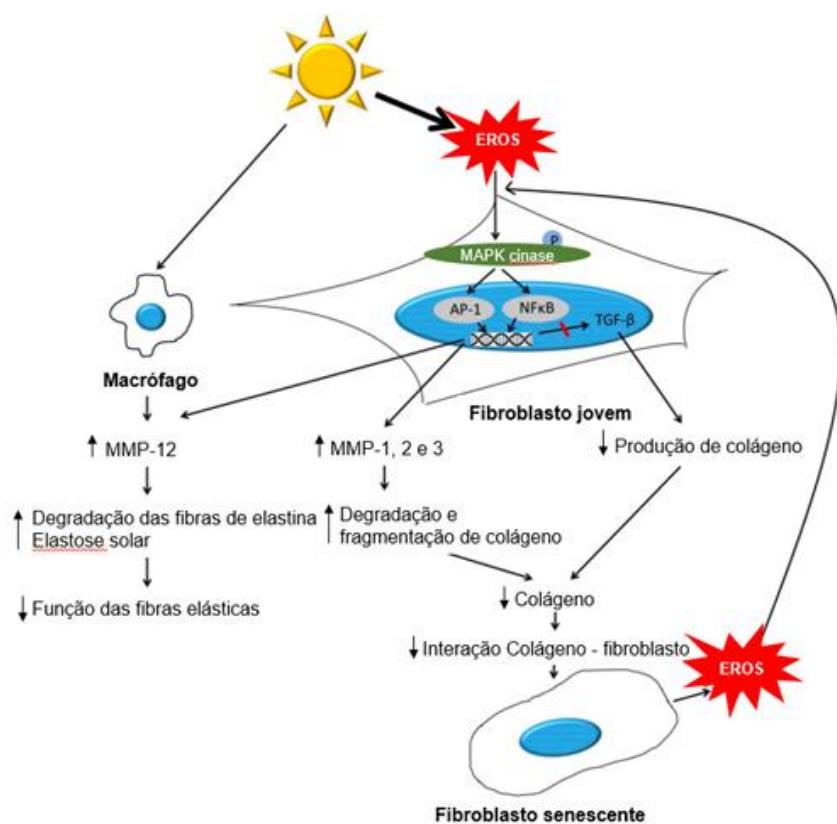
Entretanto, nem todas as moléculas com potencial oxidantes possuem elétrons desemparelhados, por isso o termo “espécies reativas” abrange tanto os radicais livres quanto outras moléculas instáveis de natureza oxidante. E no grupo das moléculas oxidantes, são destacadas as EROs e as ERNs, sendo representadas pelo ânion superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o radical hidroxila ( $\cdot OH$ ), o óxido nítrico ( $NO\cdot$ ) e o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) (Alkadi, 2020; Al-Shehri, 2021; Tauffenberger; Magistretti, 2021; Jomova *et al.*, 2023).

Essas espécies reativas, em quantidades controladas, exercem funções fisiológicas importantes, como sua participação na modulação de vias de sinalização celular, a promoção de apoptose de células danificadas, regulação do tônus vascular e da resposta imune. Porém, um desequilíbrio entre a produção dessas espécies e a capacidade do organismo de neutralizá-las acarreta no estresse oxidativo, que por sua vez, consiste em um estado de descompensação onde as EROs e ERNs atuam de forma descontrolada, danificando estruturas celulares e contribuindo para o desenvolvimento de diversas doenças crônicas, como diabetes, câncer, distúrbios neurodegenerativos, doenças cardiovasculares e inflamatórias (Chen *et al.*, 2018; Forrester *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019; Akhigbe; Ajayi, 2021; Chaudhary *et al.*, 2023; Jomova *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a radiação UV pode induzir ao estresse oxidativo na pele, sendo um dos principais fatores envolvidos no fotoenvelhecimento cutâneo e no desenvolvimento do câncer de pele (Wei *et al.*, 2024). No que tange a formação de rugas e ao envelhecimento, um dos mecanismos mais conhecidos é a produção de  $NO\cdot$  que ativa vias de sinalização do fator nuclear -kB (NF-kB), que por sua vez ativa a via das proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPKs), culminando na ativação da proteína ativadora tipo 1 (AP-1). Consequentemente, isso aumenta o nível do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e a expressão de metaloproteinases (MMPs) que estimulam a degradação da matriz extracelular e rompimento das fibras de colágeno, acelerando o processo de fotoenvelhecimento. E após o início do processo de senescência celular, as

enzimas quinases ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) e ATR (ATM and Rad3-related) atuam bloqueando a degradação autofágica da proteína GATA4 mediada por p62, e o acúmulo dessa proteína contribui para a ativação da via do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), promovendo a liberação de moléculas inflamatórias características do fenótipo secretor associado a senescência (SASP) (Figura 5) (Kang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2020; Calvo *et al.*, 2024).

**Figura 5 – Mecanismo celular do fotoenvelhecimento cutâneo induzido por radiação UV.**



A radiação solar induz a formação de EROS, que ativam a via de sinalização MAPK, estimulando os fatores de transcrição AP-1 e NF- $\kappa$ B nos fibroblastos. Essa ativação leva ao aumento da expressão de metaloproteínases, como MMP-1, MMP-2 e MMP-3, resultando na degradação e fragmentação do colágeno. Paralelamente, macrófagos ativados induzem ao aumento da MMP-12, que degrada fibras de elastina, contribuindo para a elastose solar e redução da função das fibras elásticas. E, de forma geral, essa sequência de eventos leva a menor interação entre colágeno e fibroblasto, favorecendo o surgimento de fibroblastos senescentes, que também contribuem para o acúmulo de EROS, retroalimentando positivamente esse processo, perpetuando o processo inflamatório e o envelhecimento da pele.

**Fonte:** Adaptado de Shin *et al.*, 2019.

E para controlar esses efeitos deletérios, o organismo dispõe de um sistema antioxidante complexo, dividido em mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. Dentre as enzimas com função antioxidante, atuando diretamente na neutralização de EROs, estão presentes a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutationa peroxidase (GPx). Já os antioxidantes não enzimáticos podem ser de origem endógena, como a glutationa, ou exógenos, obtidos a parte da dieta e de formulações cosmética, como vitaminas C e E, compostos fenólicos (como flavonoides e ácidos fenólicos), resveratrol, ácido ferúlico e quercetina (Baek; Lee, 2016; Lee; Park, 2021; Michalak, 2022; Gao *et al.*, 2023; Ezema *et al.*, 2024; Gulcin, 2025).

E no contexto dermatológico e fotoprotetor, esses compostos antioxidantes têm ganhado destaque pela sua ação protetora contra os danos oxidativos induzidos pela radiação solar, pois os filtros solares podem bloquear ou absorver a radiação solar, mas sua ação não é eficiente para impedir completamente a formação de radicais livres na pele. Por isso, a associação desses produtos com antioxidantes é uma estratégia eficaz para ampliar a proteção e inibir de forma mais efetiva a oxidação lipídica, preservar o colágeno dérmico, regular enzimas inflamatórias e proteger o DNA (Krutmann *et al.*, 2021; Kern *et al.*, 2022; Jesus *et al.*, 2023; Soares *et al.*, 2023; Tran *et al.*, 2023).

Contudo, a eficácia desses ativos depende da forma como são formulados, tendo em vista que a estabilidade química, a penetração até as camadas viáveis da epiderme e a permanência em concentrações adequadas por tempo suficiente para ação são aspectos cruciais que desafiam a incorporação eficiente de antioxidantes em cosméticos. E uma estratégia promissora para superar essas limitações é a nanotecnologia, pois ao encapsular esses compostos em sistemas nanoestruturados, a estabilidade do sistema é melhorada e permite melhor controle de liberação do ativo, potencializando a eficácia e proteção antioxidante nas camadas mais profundas na pele (Hatem *et al.*, 2018; Pandey *et al.*, 2024).

## 2.6. Compostos fenólicos

Uma das classes mais abundantes e diversificadas de metabólitos secundários presentes no reino vegetal são os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis, que são definidos estruturalmente pela presença de ao menos um anel aromático com grupos hidroxila. Sua síntese é majoritariamente por duas rotas biossintéticas: a via do ácido chiquímico, a partir de carboidratos, e a via do mevalonato, a partir de acetil-CoA e malonil-CoA. Dentre os compostos já identificados, encontram-se os flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, lignanas, estilbenos e cumarinas (Zagorskina *et al.*, 2023; Han; Miao, 2024).

Essa classe de metabólitos exerce funções essenciais nos processos fisiológicos das plantas, como reprodução e pigmentação, assim como na defesa contra fatores de estresse abiótico e biótico, a exemplo da radiação UV e a escassez hídrica. Além disso, a própria exposição solar pode estimular as vias biossintéticas dos polifenóis, especialmente dos flavonoides, que atuam como filtros naturais dos raios UV. Nesse contexto, esses metabólitos apresentam propriedades fotoprotetoras, além de atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas, imunomoduladoras e fotoprotetoras, e por isso, são alvo de interesse da indústria farmacêutica e cosmética (Stiller *et al.*, 2021; Dehghanian *et al.*, 2022; Shomali *et al.*, 2022; Singh; Singh; Choudhary, 2023; Di Salvo *et al.*, 2023; Milutinov *et al.*, 2024).

Sua atividade antioxidante se dá pelo sequestro de EROS, inibição da peroxidação lipídica, quelação de íons metálicos que catalisam reações oxidativas e regenerações de antioxidantes endógenos, como a coenzima Q10, esqualeno e alfa-tocoferol (KOSTYUK *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2020; Pop; Diaconeasa, 2021; Turcov; Zbranca-Toporas; Suteu, 2023; Rispo *et al.*, 2024). Dentre os compostos fenólicos, destacam-se moléculas como a quercetina, que atua doando elétrons ou hidrogênios para neutralizar espécies reativas, além de prevenir a peroxidação lipídica, regenerar antioxidantes endógenos como glutationa e vitamina E, e modular vias celulares antioxidantes como a Nrf2 (Merecz-Sadowska *et al.*, 2021). Já os ácidos cafeico e ferúlico, encontrados em extratos vegetais como o de *Polypodium leucotomos*, também se mostram eficazes na redução da peroxidação lipídica, na modulação da expressão de

MMPs e na regulação da via pró-inflamatória NF-κB, contribuindo assim para a proteção cutânea (Hooda; Madke; Chouchary, 2023). As antocianidinas, por sua vez, como a delphinidina, auxiliam na preservação da integridade dos lipídios de membrana, evitam danos oxidativos ao DNA e possuem importante efeito anti-inflamatório (Turcov; Zbranca-Toporas; Suteu, 2023).

E essa atividade torna esses metabólitos fortes candidatos para a proteção contra o estresse oxidativo induzido pela radiação solar (Meccariello; D'Angelo, 2021). Além disso, os polifenóis podem inibir vias inflamatórias relacionadas à exposição solar ao interferir na interação da fosfolipase A2 e ciclooxigenases (COX), reduzindo a produção de mediadores pró-inflamatórios como as prostaglandinas. E esse efeito anti-inflamatório contribui indiretamente para a proteção da pele contra os efeitos deletérios provenientes do estresse oxidativo (Nichols; Katiyar, 2010; Gál *et al.*, 2023). Outrossim, os compostos fenólicos podem interferir em processos de hiperpigmentação cutânea causados pela radiação solar, uma vez que alguns flavonoides e ácidos fenólicos apresentam estrutura semelhante a tirosina, podendo agir como inibidores competitivos da tirosinase, enzima envolvida na melanogênese (Obaid *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2023).

Por essas razões, diversos extratos vegetais têm sido estudados por serem ricos em polifenóis e apresentaram potencial atividade fotoprotetora. Os extratos de *Lippia microphylla* e *Dimorphandra gardneriana* apresentaram resultados promissores quanto à proteção solar e atividade antioxidante, e essas atividades foram atribuídas a presença dos flavonoides sakuranetina e dos glicosídeos de queracetina presentes nas espécies (Nunes *et al.*, 2018). Gomes August e colaboradores (2025) também observaram a influência desses compostos nas atividades antioxidantes e fotoprotetoras do extrato de *Psidium guajava* L., onde a presença de ácido vanílico, ácido ascórbico, flavonoides, taninos, ácido gálico e catequina foram correlacionadas como responsáveis por essas atividades biológicas.

Portanto, os polifenóis têm se consolidado como ativos naturais estratégicos na formulação de fotoprotetores tópicos, pois apresentam atividade multifuncional e baixa toxicidade comparada a antioxidantes sintéticos (Castro;

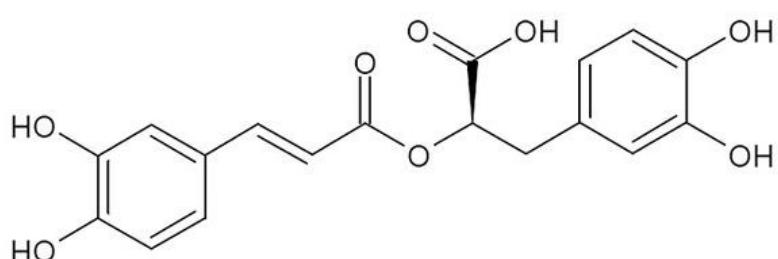
Mota; Cazedey, 2022; Lee *et al.*, 2024). Ainda assim, desafios relacionados à sua estabilidade e biodisponibilidade cutânea têm impulsionado o uso de tecnologias como a nanoencapsulação para evitar a degradação dos compostos e favorecer sua retenção na pele, garantindo eficácia e segurança dos produtos (Figueroa-Robles; Antunes-Ricardo; Guarjardo-Flores, 2021; Singh; Fatima; Srivastava, 2025).

## 2.7. Ácido Rosmarínico

O AR é um composto fenólico pertencente ao grupo dos ácidos hidroxicinâmicos. Sua estrutura química se caracteriza pela presença de dois anéis fenólicos com a presença de grupos hidroxila (Figura 6), conferindo a esse ácido a capacidade de doar prótons, tornando-o um eficiente sequestrador de radicais livres (Guan *et al.*, 2022). E devido a sua estrutura química, o AR apresenta boa solubilidade em solventes polares, como água e etanol e solubilidade limitada em meios lipofílicos, e por isso, seu coeficiente de partição é baixo (log P negativo ou próximo de zero) (Zibetti *et al.*, 2016; Lau; Chua, 2019).

Derivado da via dos fenilpropanoides, a partir da L-tirosina e fenilalanina, esse éster natural foi isolado pela primeira vez em 1958, a partir da planta *Rosmarinus officinalis*, e desde então tem sido identificado em várias espécies vegetais, principalmente na família Lamiaceae, com destaque para ervas aromáticas como *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* e no gênero *Mentha*. Além disso, esse composto pode ser obtido sinteticamente a partir da esterificação do ácido cafeico com o ácido 3,4-dihidroxifenilacético (Al-Dhabi *et al.*, 2014; Kola *et al.*, 2023).

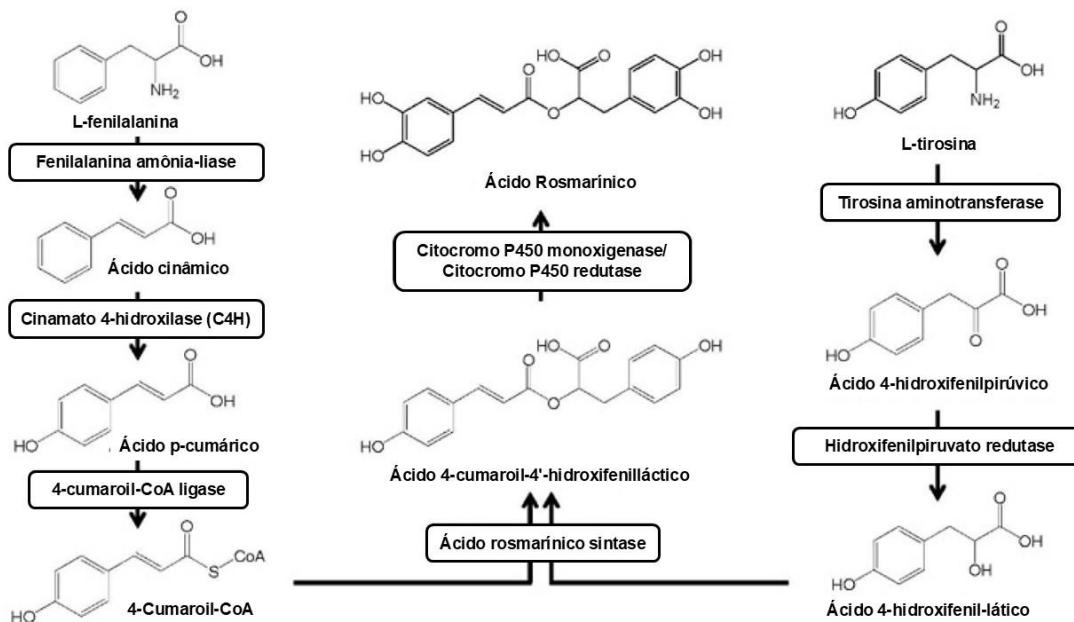
**Figura 6 – Estrutura química do Ácido Rosmarínico.**



**Fonte:** Hitl *et al.*, 2021.

Nas plantas, a biossíntese do AR envolve a atuação de duas rotas metabólicas distintas, partindo de diferentes aminoácidos (Figura 7). Em uma delas, a L-fenilalanina dá início ao processo ao ser convertida, passo a passo, em ácido cinâmico, depois em ácido p-cumárico, e, por fim, em 4-cumaroil-CoA. Essas transformações são catalisadas por enzimas específicas: a fenilalanina amônia-liase (PAL), a cinamato 4-hidroxilase (C4H) e a 4-cumaroil-CoA ligase (4CL). Paralelamente, a L-tirosina também atua como precursora em outra via biossintética, sendo convertida em ácido 4-hidroxifenilpirúvico por meio da ação da tirosina aminotransferase, e posteriormente transformada em ácido 4-hidroxifenil-lático pela enzima hidroxifenilpiruvato redutase. Essas duas vias convergem na formação do AR quando os compostos intermediários — p-cumaroil-CoA e ácido 4-hidroxifenil-lático — são unidos por ação da enzima ácido rosmarínico sintase. Esse processo conta ainda com a participação de uma monoxigenase do citocromo P450 e sua redutase associada, que auxiliam na etapa final de modificação estrutural, completando a síntese dessa molécula bioativa (Guan *et al.*, 2022).

**Figura 7 – Biossíntese do Ácido Rosmarínico.**



**Fonte:** Adaptado de Guan *et al.*, 2022.

Ensaios bioquímicos realizados com AR demonstram sua capacidade de neutralizar EROs como radical superóxido, ânion hipoclorito e o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), assim como a sua capacidade de impedir a lipoperoxidação e quesar metais catalíticos como ferro (Topal; Gulcin, 2022). Em estudos realizados com queratinócitos humanos (células HaCaT), o AR foi capaz de fortalecer as defesas antioxidantes da pele, por meio do aumento da expressão de enzimas essenciais, como GCLC (subunidade catalítica da glutamato-cisteína ligase) e GSS (glutationa sintetase), envolvidas na síntese de glutationa, um dos principais antioxidantes celulares. Além disso, foi observado que o composto estimulou a translocação do fator de transcrição Nrf2 para o núcleo das células, ativando vias intracelulares importantes, como AKT (Proteína Cinase B) e ERK (Cinase regulada por sinal extracelular), contribuindo para a regulação do equilíbrio redox e proteção das células frente ao estresse oxidativo (Piao *et al.*, 2024).

Estudos em modelo de estresse induzido em fibroblastos humanos mostraram que o tratamento com AR aumentou a expressão de genes antioxidantes ligados ao sistema glutatiônico e proteínas-chave como GPx-1, Trx-1 e Prx-1 via Nrf2, mitigando o acúmulo de ROS após exposição ao peróxido de hidrogênio (Charoensin; Dansakda, 2023).

A atividade anti-inflamatória do AR também é descrita, inibindo enzimas como a COX e a lipooxygenase (LOX), modulando a via do TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral -  $\alpha$ ) e suprimindo a produção de prostaglandinas e citocinas inflamatórias, e por isso, têm-se associado a eficácia do efeito do AR em doenças inflamatórias como artrite, colite, dermatite atópica, asma e rinite alérgica (Luo *et al.*, 2020). Somado a isso, esse ácido também apresenta ação antimicrobiana (Moreno *et al.*, 2006), neuroprotetora (Ravaria *et al.*, 2023), antiviral (Samy *et al.*, 2023) e anticancerígena (Sirajudeen *et al.*, 2024).

Paralelamente, o AR tem ganhado destaque com sua atividade fotoprotetora, onde estudos demonstram que a sua incorporação em formulações cosméticas potencializa o FPS e reduz os efeitos deletérios causados pelo estresse oxidativo induzido pela radiação solar (Bispo *et al.*, 2023). Além disso, sua veiculação em sistemas nanoestruturados têm

demonstrado maior eficácia da atividade antioxidante do composto, assim como sua ação anti-inflamatória e antibacteriana foi aprimorada em comparação ao composto livre (Huerta-Madronal *et al.*, 2021).

## 2.8. Fotoproteção e Produtos Naturais

### 2.8.1. Protetores solares convencionais

Os protetores solares representam a primeira linha de defesa tópica contra os danos causados pelos raios UV, prevenindo a pele de queimaduras solares, hiperpigmentações, envelhecimento extrínseco e até mesmo o câncer de pele. Eles podem ser encontrados na forma de cremes, loções, géis, bastões ou sprays (Guan; Lim; Mohammad, 2021; Portilho *et al.*, 2023) e segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 629 de 10 de março de 2022, a definição de protetor solar consiste em qualquer preparação cosmética destinada a proteger a pele e os lábios contra a radiação UVB e UVA absorvendo, dispersando ou refletindo essa radiação. Além disso, a RDC nº 752 de 19 de setembro de 2022 classifica os protetores como produtos cosméticos de grau 2, sendo necessário a comprovação de segurança e eficácia antes da comercialização, e a RDC nº 600 de 9 de fevereiro 2022 estabelece quais filtros ultravioletas e concentrações são permitidos. E os filtros solares podem ser classificados quanto à natureza química (orgânicos ou inorgânicos) (Ngoc *et al.*, 2019) e ao espectro de ação (UVA, UVB ou de amplo espectro) (Geoffrey; Mwangi; Maru, 2019).

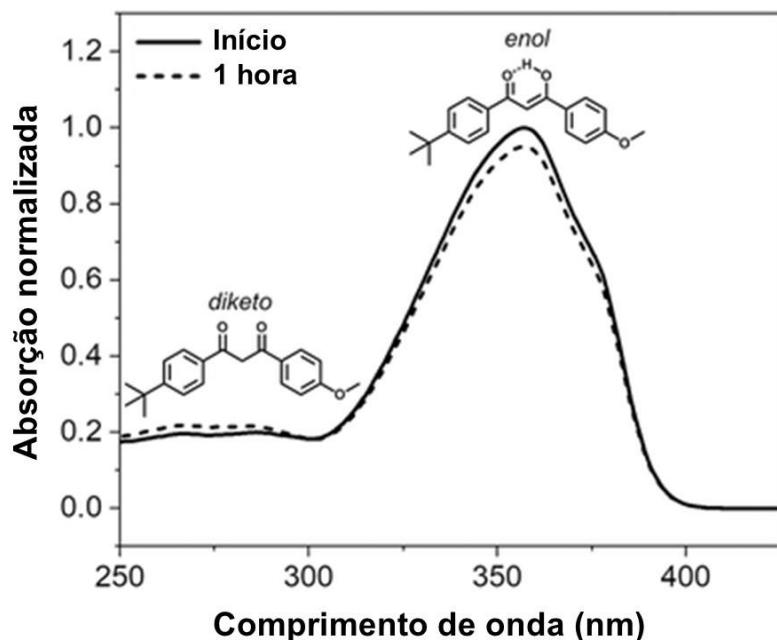
Nesse contexto, os filtros orgânicos ou químicos são moléculas aromáticas que absorvem os raios UV e transformam essa energia em calor ou luz visível, a exemplo do octocrileno, avobenzona, ácido p-aminobenzóico (PABA), salicilatos e metoxicinamato de etilhexila. Sua ação se dá a partir da absorção de um fóton UV, que promove a mudança de elétrons que estavam em seu orbital molecular mais alto ocupado (HOMO) para o seu orbital molecular desocupado mais baixo (LUMO), e ao retornar para o estado inicial, liberam a energia absorvida na forma de calor e fosforescência (Nunes *et al.*, 2018; Araki; Baby, 2025). E sua eficácia depende de sua estrutura química e estabilidade à luz (Kryczyk-Poprawa; Kwiecien; Opoka, 2019). Por outro lado, os filtros inorgânicos, ou físicos, agem pela reflexão e dispersão da radiação UV,

formando uma barreira física sobre a pele, apresentam melhor estabilidade e são menos irritantes, e são representantes dessa classe o dióxido de titânio ( $TiO_2$ ) e o óxido de zinco ( $ZnO$ ) (Rodrigues, 2019).

A eficácia de um protetor solar é avaliada por parâmetros como o FPS, o Fator de Proteção UVA (FP-UVA) e o comprimento de onda crítico. O FPS está relacionado a capacidade do produto em proteger a pele contra os efeitos eritematosos da radiação UVB, cujo o cálculo é baseado na dose mínima de radiação necessária para causar eritema em pele protegida versus pele desprotegida. Já o FP-UVA representa a proteção contra os efeitos cumulativos da radiação UVA (Addor *et al.*, 2022), enquanto o comprimento de onda crítico corresponde ao ponto em que 90% da absorção UV ocorre até 400 nm (Schalka *et al.*, 2014). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), por meio do Manual de Regularização de Protetor Solar de 2024, preconiza que um protetor solar eficaz deve apresentar  $FPS \geq 6$ ,  $FP-UVA \geq \frac{1}{3}$  do FPS e o comprimento de onda crítico  $\geq 370$  nm.

Embora os filtros solares sejam indispensáveis na proteção da pele contra os danos da radiação ultravioleta, há uma crescente preocupação quanto à segurança dos ativos de origem sintética. Por exemplo, muitos filtros químicos apresentam baixa fotoestabilidade, como a avobenzona, eficiente filtro UVA em sua forma ativa (enol) (figura 8), mas quando exposta prolongadamente à luz, pode converter-se em uma forma inativa (diketo) que absorve em comprimentos de onda UVC, comprometendo sua eficácia fotoprotetora (Holt *et al.*, 2021).

**Figura 8 – Equilíbrio tautomérico do avobenzona sob radiação UV.**



Espectro de absorção UV-Vis normalizado da avobenzona no início da exposição e após 1 hora, demonstrando a diminuição da absorbância máxima (~360 nm). Esse evento pode ser associado à fotodegradação da forma enólica (ativa) e à presença da forma dicetônica (menos eficaz na absorção UV).

**Fonte:** Holt *et al.*, 2021.

Somado a isso, esse filtro tem sido relatado como capaz de proliferar células de câncer de mama MCF-7 *in vitro* e efeitos antiandrogênicos foram observados a partir do uso de oxibenzona (Schneider; Lim, 2019). Além disso, filtros orgânicos sintéticos podem penetrar camadas mais profundas da pele e atingir a corrente sanguínea, como o filtro UVB benzofenona-3, que ao ser absorvido pode se ligar à albumina plasmática e interferir na ação de hormônios e medicamentos, além de atravessar barreiras biológicas importantes, como a hematoencefálica, podendo causar efeitos endócrinos e neurológicos (Wnuk *et al.*, 2019; Mustieles *et al.*, 2023).

Do ponto de vista ambiental, os riscos também são significativos, tendo em vista que compostos como oxibenzona, octocrileno e metoxicinamato de etilhexila podem gerar impactos em organismo marinhos quando liberados em ambientes aquáticos, levando ao branqueamento e morte dos recifes de corais e bioacumulação em animais marinhos, podendo gerar consequências ecológicas e toxicológicas ao longo da cadeia alimentar (Schneider; Lim, 2019;

Chatzgianii *et al.*, 2022). Além disso, filtros inorgânicos considerados como mais seguros, como óxido de zinco e dióxido de titânio, apresentam desafios estéticos, como resíduos esbranquiçados sobre a pele, tornando-os menos atrativos do ponto de vista estético (Morquette; Waples; Heath, 2022).

Diante desses aspectos, o uso de filtros sintéticos deve ser cuidadosamente avaliado quanto à segurança para o organismo humano quanto para o meio ambiente, incentivando a busca por alternativas mais sustentáveis e menos agressivas (Just-Sarobé, 2025).

### **2.8.2. Incorporação de produtos naturais com ação antioxidante e fotoprotetora**

Diante das limitações e riscos associados ao uso de filtros sintéticos, cresce o interesse por alternativas mais seguras, eficazes e sustentáveis. Portanto, os compostos de origem natural vêm ganhando destaque, principalmente aqueles com reconhecida ação antioxidante, capazes de atuar em sinergia com a filtração UV, potencializando a fotoproteção e reduzindo os efeitos colaterais (Thompson *et al.*, 2021).

Diversas espécies vegetais têm se mostrado promissoras nesse contexto, ao apresentar propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e proteção contra os danos causados pela radiação ultravioleta. O extrato de *Antidesma thwaitesianum*, fruta tropical rica em compostos fenólicos como ácido ferúlico e cafeico, conseguiu reduzir significativamente os danos oxidativos em queratinócitos humanos expostos à radiação UVB, assim como inibiu a expressão de mediadores inflamatórios como COX-2 e Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), revelando seu potencial atividade fotoprotetora, antioxidante e anti-inflamatória (Natewong *et al.*, 2022). Outro exemplo relevante é a *Dalbergia monetaria*, planta amazônica cujo extrato etanólico apresentou FPS acima de 6, valor mínimo exigido pela ANVISA para ser considerado com atividade fotoprotetora (Paixão *et al.*, 2023), e somado a esse FPS, o extrato também apresentou potente capacidade antioxidante, sugerindo seu uso como agente bioativo em formulações cosméticas (De Araújo *et al.*, 2023).

Além disso, plantas da família Lamiaceae, como *Plectranthus amboinicus*, também é destaque na área fotoprotetora e antioxidante, onde formulações

contendo 10% de extrato apresentou valor de FPS superior a 13, e essa atividade foi atribuída a presença de flavonoides e ácidos fenólicos presentes nessas espécies, que também contribuem no controle do estresse oxidativo e da inflamação cutânea (Gomes *et al.*, 2021; Terto, 2021). Além disso, extratos de *Salvia officinalis* contêm AR e carnosol, que aumentam a produção de antioxidantes endógenos e reduzem marcadores inflamatórios e enzimas anti-envelhecimento, revelando seu potencial aplicação em formulações cosméticas fotoprotetores e antioxidantes (Michalak, 2023). Outra espécie importante dessa família, é o Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cujo os níveis de ácido rosmariníco aumentam sob radiação UVB, reforçando sua atividade fotoprotetora natural, além de sua capacidade antioxidante e antimicrobiana (Kumari; Prasad, 2013).

Dentre as diversas espécies vegetais com potencial fotoprotetor, *Mentha x villosa* vem se destacando por apresentar uma combinação promissora de compostos fenólicos com reconhecida atividade biológica. Estudos prévios demonstraram que o extrato aquoso das folhas dessa espécie apresentaram altos teores de compostos fenólicos e derivados de flavonoides, incluindo o ácido rosmariníco e a luteolina-7-O-rutenosídeo, marcadores mais importantes dessa espécie, assim como o extrato de *M. x villosa* apresentou eficácia nas reações de captura de radicais, revelando sua proteção contra o estresse oxidativo e também estudos sazonais da atividade fotoprotetora dessa espécie demonstrou altos valores de FPS, entre 13 e 15, revelando sua potencial aplicação fotoprotetora (Fialova *et al.*, 2015; Gomes, 2022).

Diante desses resultados promissores, o presente trabalho dá continuidade às pesquisas com a espécie, buscando incorporar o extrato de *Mentha x villosa* em sistemas nanoestruturados, com o obtivo de potencializar suas ações biológicas e superar limitações comuns a compostos naturais em formulações tópicas, como estabilidade, liberação controlada e prolongada do ativo sobre a pele e redução da penetração cutânea dos compostos, tornando o uso tópico mais seguro.

## 2.9. Nanotecnologia aplicada a fotoproteção

A nanotecnologia tem se consolidado como uma ferramenta promissora na inovação de produtos cosméticos e cosmecêuticos, permitindo a manipulação de materiais em escala nanométrica e abrindo novas possibilidades para o cuidado com a pele, inclusive na fotoproteção. Sua aplicação proporciona vantagens significativas, como maior biodisponibilidade dos ativos, prolongamento da ação, controle da liberação e maior aderência cutânea, resultando em formulações mais eficazes e atrativas para os consumidores. Dessa forma, surgem os nanocosmecêuticos, desenvolvidos a partir da incorporação de compostos bioativos em nanossistemas como lipossomas, etossomas, nanocápsulas, nanopartículas lipídicas sólidas, dendrímeros, cubossomos e nanoemulsões, protegendo-os da degradação, mascarando odores indesejáveis e melhorando a estabilidade das formulações (Gupta *et al.*, 2022).

No campo da fotoproteção, a nanotecnologia tem revolucionado o desenvolvimento de filtros solares, especialmente com o uso de nanopartículas inorgânicas como ZnO e TiO<sub>2</sub>, melhorando a transparência visual, evitando o efeito esbranquiçado na pele, ao mesmo tempo que mantêm ou até aumenta a eficácia de absorção da radiação UV (Schneider; Lim, 2019). Estudos recente conduzidos por Barbosa e colaboradores (2019) mostraram que os sistemas nanotecnológicos podem melhorar a performance de filtros solares químicos, como a incorporação da benzofenona-3 em nanocápsulas de óleo de cenoura e poli ( $\epsilon$ -caprolactona) que resultou na maior estabilidade da molécula e atividade fotoprotetora sinérgica, além de não irritar a pele.

Nessa perspectiva, houve um crescente interesse no desenvolvimento de nanofotoprotetores a partir de espécies vegetais, especialmente aquelas ricas em compostos fenólicos, como flavonoides e ácidos fenólicos, com o objetivo de promover liberação controlada dos ativos e proteção contra a degradação fotoquímica, aliando a eficácia dos ativos naturais com a proteção e benefícios dos nanossistemas (Hedge *et al.*, 2024).

Taniyadukkam e colaboradores (2023) desenvolveram formulações fotoprotetoras contendo nanopartículas sólidas de *Spinacia oleracea* e

observaram altos valores de FPS *in vitro* e *in vivo*, superiores a 14 e quando submetidas a testes de irritação cutânea, não houve reações de hipersensibilidade, revelando uma potencial aplicação fotoprotetora segura da formulação. E Cefali e colaboradores (2019) também observou que formulações desenvolvidas a partir de nanopartículas com extratos vegetais enriquecidos com flavonoides (*Ginkgo biloba* L., *Dimorphandra mollis* Benth, *Ruta graveolens* e *Vitis vinifera* L.) apresentaram fotoestabilidade, liberação controlada de flavonoides e manutenção desses ativos na pele em maior extensão, sendo um produto promissor para proteger a pele contra danos da radiação solar.

Portanto, a nanotecnologia aplicada à fotoproteção representa uma estratégia altamente eficiente e inovadora, tanto para aumentar a estabilidade e eficácia dos ativos quanto para reduzir seus riscos à saúde humana.

### **2.9.1. Nanocápsulas poliméricas**

As nanocápsulas poliméricas (NCPs) são partículas de tamanho entre 10 a 1.000 nm, formadas por um núcleo oleoso envolto por uma membrana polimérica e estabilizado por surfactantes, onde o fármaco ou ativo encontra-se disperso na matriz, dissolvido no núcleo ou adsorvido à superfície das nanopartículas. A produção desses nanossistemas envolve a escolha de materiais que confira alta estabilidade e eficiência, garantindo o tamanho desejado para as nanopartículas e as características necessárias para as diferentes aplicações (Louchard, 2016; Luzenti, 2022; Yu *et al.*, 2023).

Os polímeros empregados na produção dessas nanocápsulas são geralmente materiais biocompatíveis e biodegradáveis, de origem sintética ou natural, que confere ao sistema alta estabilidade e eficiência. Nesse sentido, a poli-e-policaprolactona (PCL) é um polímero versátil, biocompatível e de natureza hidrofóbica, cujo o aumento do tamanho da sua cadeia polimérica influencia no tamanho da partícula (diretamente proporcional) e estabilidade do sistema (Woodruff; Hutmacher, 2010; Mohammadian *et al.*, 2023).

Nesse viés, a fase oleosa deve possuir miscibilidade com a fase polimérica para garantir a tensão superficial do sistema e deve evitar a difusão e cristalização do ativo no meio externo aquoso (Dong *et al.*, 2009). Já o surfactante influencia no tamanho das partículas ao participar da formação e

estabilidade das NCPs, onde menores concentrações desse componente acarreta na geração de partículas maiores, pois a formação da barreira interfacial é menos eficiente, o que facilita a coalescência entre as gotículas da emulsão, assim como a carga superficial também é reduzida, diminuindo a repulsão entre elas (Zyl *et al.*, 2004; Szczepanowicz *et al.*, 2017).

Uma das estratégias mais utilizadas para a obtenção de nanocápsulas poliméricas, especialmente para encapsular ativos hidrossolúveis, é a técnica de dupla emulsão, geralmente associada ao método de evaporação de solvente. Essa abordagem baseia-se na formação de emulsões do tipo água-em-óleo-emágua (A1/O/A2), em que a fase aquosa interna (A1), contendo o ativo hidrofílico, é dispersa em uma fase oleosa (O) com o polímero e um emulsificante lipofílico. Essa emulsão primária é, então, novamente emulsificada em uma segunda fase aquosa externa (A2), que contém um emulsificante hidrofílico, formando a emulsão dupla, e em seguida, ocorre a evaporação controlada do solvente orgânico presente na fase oleosa, o que induz a precipitação e endurecimento do polímero ao redor do ativo, originando as nanocápsulas. Essa técnica permite alta eficiência de encapsulamento, proteção do ativo e, frequentemente, uma liberação mais controlada, sendo uma alternativa promissora para fármacos ou compostos bioativos sensíveis à degradação (Iqbal *et al.*, 2015).

Dessa forma, a incorporação de ativos em nanocápsulas têm atraído atenção crescente no desenvolvimento de cosméticos, especialmente em formulações de protetores solares, uma vez que esses sistemas permitem encapsular filtros UV, aumentando o FPS, promovendo maior estabilidade frente à radiação e reduzindo a penetração sistêmica dos ativos (Zhou *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2023).

# Objetivos

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Desenvolver nanossistemas contendo extrato de *Mentha x villosa* Huds para aplicação fotoprotetora.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Produzir o extrato etanólico bruto (EEB) e desclorofilado a partir das partes aéreas secas de *Mentha x villosa* Huds;
- Desenvolver nanoformulações com os extratos de *Mentha x villosa* Huds em diferentes parâmetros e técnicas para determinar o melhor método e composição do sistema;
- Otimizar a produção através da utilização de um planejamento experimental do tipo Box-Behnken;
- Caracterizar os nanossistemas através de análises de tamanho, índice de polidispersão, potencial zeta, doseamento e eficiência de encapsulação do ácido rosmarínico, morfologia, espectroscopia de infravermelho e análises térmicas;
- Determinar o fator de proteção solar dos nanossistemas na base final do produto;
- Determinar a estabilidade dos nanossistemas otimizados sob diferentes temperaturas;
- Realizar teste de cinética de liberação *in vitro* do ácido rosmarínico a partir dos nanossistemas otimizados;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* das nanocápsulas frente a células HaCat.

# **Materiais e métodos**

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Local da pesquisa**

A obtenção e caracterização analítica das amostras foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) localizado no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM/UFPB). A produção e caracterização das nanoformulações foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Farmacêutica (BioTecFarm), também localizado no IPeFarM/UFPB. As análises térmicas foram realizadas no Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos (NCQMC) localizado no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CSS/UFPE). Já a morfologia das partículas por perfilômetro foi realizada no Laboratório Integrado de Biomateriais (LABIO), localizado no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFPB. No que diz respeito a avaliação da toxicidade celular *in vitro* das nanoformulações foi realizada no Laboratório de OncoFarmacologia (OncoFar), localizado no IPeFarM/UFPB.

### **4.2. Materiais**

Os materiais empregados para o desenvolvimento do estudo foram: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), 2,2'-Azino-bis(ácido 3 etilbenztiazolina-6-sulfônico (ABTS), trolox, reagente Folin-Ciocalteu, ácido gálico, ácido ascórbico, ácido rosmarínico, carbonato de sódio, persulfato de amônio, policaprolactona 10.000 kDa, Span®60, Tween®80, 3 (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo (MTT), estreptomicina, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) e DMSO (Dimetilsulfóxido) (Sigma-Aldrich®) todos obtidos da Sigma Aldrich®, EUA; álcool n octílico P.A. (Dinâmica – Química contemporânea LTDA, Brasil), Metanol para cromatografia líquida (grau HPLC, LiChrosolv®) e soro fetal bovino (GIBCO®, Grand Island, NY, EUA).

### **4.3. Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) de *Mentha x villosa* Huds**

As partes aéreas (folhas) de *Mentha x villosa* Huds foram coletadas no Horto do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (7°08'29.875" S / 34°50'48.757" W), localizado no Campus I da Universidade Federal da Paraíba,

em João Pessoa – PB. A coleta foi realizada em 15 de janeiro de 2024, momento em que a espécie estava com aproximadamente três meses de idade, totalizando 1,5 kg de folhas frescas. E para fins de registro e rastreabilidade, um exemplar da planta coletada foi identificado e depositado no Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará (Fortaleza – CE), sob o número 14.996. O acesso ao patrimônio genético também foi devidamente registrado na plataforma do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (SISGEN), sob o número A3BA60D.

Após a coleta, as folhas foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante por 72 horas, resultando em 98 g de material seco. Em seguida, a extração foi realizada por meio de turbólise em equipamento Ultraturrax (KA Dispersadores, T18 digital ULTRA-TURRAX®) a 5.000 rpm, utilizando 1,96 L de etanol 70%. A extração foi conduzida em quatro ciclos de 30 segundos, intercalados por 5 minutos de intervalos entre eles, e a solução foi então concentrada em rotaevaporador.

#### **4.4. Desclorofilação do EEB de *Mentha x villosa* Huds**

O extrato foi desclorofilado para comparar o aspecto visual das formulações com o extrato bruto e inicialmente foram solubilizados 20g do extrato em 245mL de uma solução de metanol:água (7:3, v/v) para promover a flocação da clorofila devido a sua baixa solubilidade no meio. A solução foi mantida em repouso por 30 minutos na geladeira, permitindo a agregação dos pigmentos lipofílicos. Em sequência, a mistura hidrometanólica foi submetida à filtração a vácuo em um funil de Buchner de vidro com placa porosa 1 coberto por Celite®, foi realizada a lavagem com a solução de metanol:água e então, o filtrado (desclorofilado) foi concentrado em rotaevaporador (Ferri, 1996; Borges *et al.*, 2007; Magalhães, Rosa, Bara, 2011).

#### **4.5. Determinação colorimétrica do teor de compostos fenólicos nos extratos**

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada segundo o método descrito por Gulcin e colaboradores (2004), o qual emprega o ácido gálico como composto padrão. Para isso, preparou-se uma solução a 10% do reagente de Folin-Ciocalteu em água destilada e em seguida, 500 µL dessa

solução foram incubados com 120 µL das soluções aquosas dos extratos (com clorofila e sem clorofila, separadamente) na concentração de 1mg/mL, ao abrigo da luz e sob temperatura ambiente. Após um repouso de 8 minutos, a reação foi neutralizada com a adição de 400 µL de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 7,5% e a mistura permaneceu em repouso por 120 minutos. Após esse período, alíquotas de 200 µL dessa reação foram transferidas para uma placa de 96 poços, e a leitura foi realizada em leitor de microplacas (modelo H1M, BIOTEK), com comprimento de onda de 765 nm. Como branco, foi empregado uma alíquota de 200 µL de uma mistura contendo 120 µL da amostra e 900 µL de metanol. Todas as análises foram realizadas em triplicata e a quantificação foi determinada a partir da equação de regressão linear gerada pela curva de calibração do ácido gálico, nas concentrações de 100, 150, 200, 250 e 300 µg/mL. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g de extrato).

#### **4.6. Determinação da atividade antioxidante *in vitro***

##### **4.6.1. Método de Sequestro de Radicais DPPH**

Para avaliar a atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH, foi seguido o método descrito por Garcez e colaboradores (2009), sendo o metanol o solvente utilizado. Inicialmente, foi preparada uma solução de DPPH a 0,3 mM, da qual 100 µL foram adicionados a 100 µL da solução dos extratos (com e sem clorofila) em diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL) em uma placa de 96 poços. Para controle positivo, foi empregado a ácido ascórbico, nas mesmas condições, e controle negativo, empregou-se uma mistura de 100 µL da solução de DPPH e 100 µL de metanol, representando a condição de 100% de radicais livres não sequestrados, enquanto o branco foi composto por 100.µL das amostras e 100 µL metanol.

Após a mistura, as reações foram mantidas em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente e protegidas da luz. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância em leitor de microplacas (modelo H1M, BIOTEK), com comprimento de onda de 517 nm. Todas as análises foram executadas em triplicata.

A partir dos dados obtidos, calculou-se a porcentagem de atividade sequestradora (% AS) de radicais livres, conforme a equação 1. Os valores

obtidos de % AS em função das concentrações testadas foram utilizados para construção das curvas de calibração de cada amostra, o que permitiu a determinação da CE<sub>50</sub> — concentração necessária do extrato (em µg/mL) para reduzir 50% dos radicais DPPH.

**Equação 1 – Cálculo da porcentagem da atividade sequestradora (%AS) de radical.**

$$\%AS = \frac{ABS_{controle\ negativo} - ABS_{amostra}}{ABS_{controle\ negativo}} \times 100 \quad (1)$$

ABS = Absorbância.

#### 4.6.2. Ensaio de descoloração do radical ABTS

Conforme descrito por Moreira (2019) foi realizada a avaliação da atividade antioxidante pelo método de descoloração do radical ABTS [2,2'-Azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]. O radical ABTS<sup>•+</sup> foi gerado a partir da reação entre 500 µL da solução de ABTS a 7 mM e 5,05 µL persulfato de amônio (APS) a 245 mM. Essa mistura foi incubada em ambiente escuro, à temperatura ambiente, por um período de 12 a 16 horas. Em seguida, foi diluído 10 µL do radical ABTS em 1 mL de água ultrapura, cujo o objetivo foi garantir que a solução diluída do radical absorva 0,700 a 734 nm, cuja análise foi realizada em leitor de microplacas (modelo H1M, BIOTEK).

Como padrão de referência antioxidante, utilizou-se o Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid) solubilizado em metanol, nas concentrações de 12,5; 25; 50; 100 e 200 µg/mL. Já o extrato bruto e desclorofilado foram preparados também em metanol, nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500 µg/mL. Para o ensaio, foram depositados 10 µL de cada amostra (ou padrão) em poços de uma placa de 96 poços, seguidos da adição de 190 µL da solução do radical ABTS<sup>•+</sup>. A leitura foi realizada após 5 minutos de reação, no comprimento de onda de 734 nm. O branco foi composto por 10 µL das amostras e 190 µL de água ultrapura. O controle negativo, correspondente a 100% da atividade do radical, foi preparado com 10 µL da solução do ABTS<sup>•+</sup> e 190 µL de metanol.

A partir das leituras de absorbância, foi calculada a porcentagem de descoloração do radical (% redução), conforme a equação 2, indicando a

capacidade sequestradora de radicais da amostra. Os valores obtidos para cada concentração foram utilizados para construção das curvas de calibração, o que possibilitou a determinação da CE<sub>50</sub>, definida como a concentração do extrato (µg/mL) capaz de reduzir 50% dos radicais ABTS<sup>•</sup>.

**Equação 2 - Cálculo da porcentagem de descoloração do ABTS.**

$$\% \text{Descoloração do ABTS} = \frac{\text{ABScontrole negativo} - \text{ABSamostra}}{\text{ABScontrole negativo}} \times 100 \quad (2)$$

ABS = Absorbância.

#### **4.7. Doseamento do Ácido Rosmarínico nos extratos vegetais**

A quantificação do AR nos extratos vegetais foi realizada com base na construção de uma curva de calibração utilizando o padrão analítico (pureza 96%, Sigma-Aldrich) nas concentrações de 80, 120, 160, 200, 240 e 280 µg/mL. As amostras foram preparadas na concentração de 1 mg/mL, injetadas em triplicata, e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A análise cromatográfica foi realizada utilizando fase móvel A e B, compostas por água acidificada com 0,1% de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e metanol, respectivamente, e a solução diluente utilizada foi uma mistura de metanol e água acidificada com 0,1% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> na proporção 50:50. Já o sistema foi operado em modo gradiente, iniciado com 38% de fase móvel B, permanecendo assim até o 5º minuto, então a proporção de metanol aumentou gradualmente: 42% aos 9 minutos, 45% aos 12 minutos, 50% aos 15 minutos, mantendo-se em 50% até os 20 minutos. Em seguida, retornou a 38% no 24º minuto, totalizando 24 minutos de corrida cromatográfica. Além disso, o fluxo foi mantido constante em 1 mL/min, com a temperatura do forno ajustada em 26 °C e o volume de injeção de amostra foi de 20 µL e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 330 nm.

As análises foram conduzidas em um sistema CLAE modelo Prominence (Shimadzu®), composto por um autoinjetor SIL-20A HT, módulo de bombeamento de solventes quaternário LC-20AT, sistema de desgaseificação DGU-20A5R, forno de coluna CTO-2A, detector de arranjo de diodos SPD-M20A e unidade de controle CBM-20A. A separação foi realizada em uma coluna C18

(250 mm × 4,6 mm, 5 µm de diâmetro de partícula; Shimadzu®) acoplada com uma pré-coluna (pré-coluna Shim-pack GIST (G), C18, 5 µm, 4.0 × 10 mm, com cartucho; Shimadzu®). A aquisição e o processamento dos dados cromatográficos foram realizados por meio do software LC Solution® (Shimadzu, Japão).

#### **4.8. Estudo de pré-formulação para produção de nanossistemas contendo o extrato de *Mentha x villosa* Huds**

Considerando o objetivo de desenvolver nanoformulações contendo o extrato de *Mentha x villosa* Huds. para aplicação em formulações fotoprotetoras, foram elaborados três tipos distintos de nanossistemas, cada um contendo, separadamente, o extrato bruto e o extrato desclorofilado, para avaliar qual seria o melhor sistema do ponto de vista físico-químico para seguir com os estudos. Os sistemas desenvolvidos foram: nanocápsulas poliméricas obtidas por técnica de dupla emulsão (NCPs), carreadores lipídicos nanoestruturados (NLCs) e lipossomas.

##### **4.8.1. Produção das nanocápsulas poliméricas por dupla emulsão**

O desenvolvimento das nanocápsulas poliméricas seguiu o método descrito por Iqbal e colaboradores (2015), onde a fase oleosa foi composta por 50 mg de policaprolactona-10 (PCL-10), 30 mg de monoestearato de sorbitano (Span®60) e 1 mL de diclorometano, sendo esta fase solubilizada em banho de gelo por meio de um sonicador ultrassônico de células 550w (Ultronique®20MHz) operando a 50% de potência por 15 segundos. Em seguida, a fase aquosa 1, constituída por 500 µL de água ultrapura e 10 mg do extrato bruto, foi gotejada lentamente na fase oleosa. Então, a emulsão resultante foi submetida à homogeneização utilizando o sonicador ultrassônico na potência máxima por 2,5 minutos.

Posteriormente, adicionou-se a fase aquosa 2, composta por 100 mg de polissorbato 80 (Tween®80) e 10 mL de água ultrapura, à emulsão formada anteriormente, durante agitação em sonicador ultrassônico na potência média (50%) por 3 minutos. Por fim, a formulação foi transferida para um balão de fundo redondo e este foi acoplado a um rotaevaporador para evaporação do solvente orgânico, até atingir um volume final de 5 mL da formulação.

O mesmo procedimento foi repetido utilizando o extrato desclorofilado na composição da fase aquosa 1, substituindo o extrato etanólico bruto.

#### **4.8.2. Produção dos carreadores lipídicos nanoestruturados**

Para a produção do carreador lipídico nanoestruturado (CLN), foi seguido a técnica proposta por Dos Santos Sales e colaboradores (2024). Inicialmente foram preparadas duas fases: a fase oleosa, composta por 10 mg de Precirol®, 140 mg de triglicerídeos de cadeia média (MCT), 20 mg de Lipoid® e 2 mg do extrato bruto; e a fase aquosa, constituída por 25 mg de Kolliphor® e água ultrapura em quantidade suficiente para 1 mL. Ambas as fases foram aquecidas (com controle de temperatura até 65°C) separadamente em banho-maria sob agitação magnética 600 rpm até a completa solubilização dos componentes.

Em seguida, a fase aquosa foi vertida lentamente sobre a fase oleosa sob agitação magnética contínua por 2 minutos. Então, a emulsão formada foi submetida à homogeneização em sonicador ultrassônico de células (Ultronique®20MHz, 550w) operando a 70% de potência por 1 minuto.

O mesmo procedimento foi repetido utilizando o extrato desclorofilado na fase oleosa, em substituição ao extrato bruto. E por fim, as formulações foram armazenadas a 4°C para análise dos parâmetros físico-químicos.

#### **4.8.3. Produção dos lipossomas**

A produção dos lipossomas seguiu o método de Bangham ou técnica de hidratação do filme lipídico (Ávila *et al.*, 2023). Para compor a fase lipídica, foram utilizados 150 mg de fosfatidilcolina e 19 mg de colesterol, solubilizados em 10 mL de uma solução clorofórmio:metanol (3:1, v/v) sob agitação até completa homogeneização. Em seguida, essa mistura foi transferida para um balão de fundo redondo e submetida à evaporação a 37 °C em rotaevaporador, com o objetivo de formar um filme lipídico uniforme.

Após a secagem, foi realizada a redispersão do filme com 2 mL de uma solução aquosa do extrato (0,57 mg/mL), por meio de movimentos circulares suaves. Então, a dispersão obtida foi submetida a homogeneização em sonicador ultrassônico de células (Ultronique®20Mhz, 550w) por 2 minutos com 60% de potência. Por fim, a suspensão foi filtrada em filtro de seringa 0,45 µm

(membrana de nylon; Whatman Uniflo, GE Healthcare Life Sciences) e foi obtido o nanossistema lipossomal.

O mesmo protocolo foi replicado utilizando o extrato desclorofilado em substituição ao extrato bruto.

#### **4.9. Planejamento fatorial de produção das nanoformulações (tipo Box-Behnken)**

Com base na análise dos dados obtidos no estudo de pré-formulação, o nanossistema selecionado para dar continuidade aos testes foi a nanocápsula polimérica obtida por dupla emulsão (NCPs). A partir disso, foi desenvolvido um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, com o objetivo de otimizar a formulação por meio da avaliação de variáveis independentes críticas para a formação eficiente das partículas (EBRAHIMI *et al.*, 2021).

Dessa forma, as variáveis independentes foram as concentrações de polímero (30, 50 e 70mg) na fase orgânica, bem como as concentrações de tensoativo (50, 75 e 100mg) e extrato (1, 5 e 9mg) na fase aquosa. Já como variáveis dependentes, foram considerados o diâmetro hidrodinâmico médio das partículas, o teor de AR e a eficiência de encapsulação. A otimização das formulações foi avaliada com base nos resultados obtidos, por meio da construção de gráficos tridimensionais de superfície de resposta no software Statistica® 7 (StatSoft Inc.). E dessa forma, diferentes proporções das variáveis independentes foram aplicadas na produção das NCPs, seguindo a metodologia descrita anteriormente, conforme detalhado na tabela 1.

**Tabela 1 - Variáveis independentes das nanocápsulas poliméricas de dupla emulsão.**

	<b>Tween 80</b>	<b>Extrato</b>	<b>PCL10</b>
<b>F01</b>	0 (75mg)	0 (5mg)	0 (50mg)
<b>F02</b>	-1 (50mg)	1 (9mg)	0 (50mg)
<b>F03</b>	-1 (50mg)	0 (5mg)	1 (70mg)
<b>F04</b>	1 (100mg)	1 (9mg)	0 (50mg)
<b>F05</b>	-1 (50mg)	-1 (1mg)	0 (50mg)
<b>F06</b>	0 (75mg)	0 (5mg)	0 (50 mg)
<b>F07</b>	0 (75mg)	1 (9mg)	1 (70mg)
<b>F08</b>	1 (100mg)	-1 (1mg)	0 (50mg)
<b>F09</b>	1 (100mg)	0 (5mg)	-1 (30mg)
<b>F10</b>	0 (75mg)	-1 (1mg)	-1 (30mg)
<b>F11</b>	0 (75mg)	1 (9mg)	-1 (30mg)
<b>F12</b>	1 (100mg)	0 (5mg)	1 (70mg)
<b>F13</b>	-1 (50mg)	0 (5mg)	-1 (30mg)
<b>F14</b>	0 (75mg)	-1 (1mg)	1 (70mg)
<b>F15</b>	0 (75mg)	0 (5mg)	0 (50mg)

**Fonte:** Nunes, 2025.

## 4.10. Caracterização das nanoformulações

### 4.10.1. Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão (Pdl)

O diâmetro hidrodinâmico médio e o Pdl das nanopartículas foram avaliados por meio da técnica de Dispersão de Luz Dinâmica (DLS), utilizando o equipamento Zetasizer Lab® (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido). As amostras otimizadas foram previamente diluídas em água ultrapura na proporção 1:100 e analisadas a 25 °C, com detecção em ângulo de 90°.

### 4.10.2. Potencial zeta

Por outro lado, o potencial zeta ( $\zeta$ ) reflete a magnitude da repulsão eletrostática entre as partículas, medindo assim o potencial elétrico na camada difusa dos íons ao redor da partícula, sendo, portanto, parâmetro de estabilidade. É determinado pela dispersão da luz eletroforética empregando o aparelho Zetasizer Lab®. Para isso, as amostras otimizadas foram diluídas em solução salina (NaCl 1 mmol/L) na proporção 1:100 sob temperatura de 25°C.

#### **4.10.3. Análise morfológica em perfilometria ótica**

A análise morfológica superficial das nanopartículas otimizadas (F17 e F18) foi realizada por meio da técnica de perfilometria ótica utilizando o equipamento Talysurf CCI MP-Lite (Taylor Hobson, Inglaterra). O objetivo foi confirmar o tamanho e analisar a morfologia das nanocápsulas. Para isso, foram preparadas lâminas com esfregaço das amostras, que foram analisadas sob lente de aumento de 50 $\times$ , com resolução de 1024×1024 pixels, utilizando o modo de amostragem para materiais de baixa refletância. Os dados obtidos foram processados e convertidos em gráficos de superfície tridimensionais pelo software TalyMap Lite 7.2.7481 para visualização topográfica detalhada das nanopartículas analisadas.

#### **4.10.4. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier das NCPs**

A identificação dos grupos funcionais presentes nas formulações (F17 e F18) e em seus constituintes foi realizada por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, empregando o acessório de refletância total atenuada (FTIR-ATR) no equipamento Shimadzu® Cary 630. Foram feitas 256 varreduras espectrais de 400 a 4000 cm $^{-1}$ , resolução de 1 cm $^{-1}$ , permitindo a obtenção dos espectros característicos das amostras. Para as formulações, 20  $\mu$ L foram adicionados diretamente sobre o cristal de leitura, aguardando-se a secagem natural do solvente aquoso para obtenção dos espectros. Já as amostras sólidas foram depositadas diretamente sobre o cristal e levemente prensadas para análise.

#### **4.10.5. Análises térmicas das nanopartículas**

A estabilidade térmica das formulações otimizadas foi investigada por meio das técnicas de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Para isso, alíquotas das amostras foram acondicionadas em cadinhos de platina e analisadas sob atmosfera inerte de nitrogênio. As análises termogravimétricas foram conduzidas em uma termobalança modelo STA7300 (Hitachi, Chiyoda, Japão), enquanto as análises calorimétricas foram realizadas em um equipamento DSC25 (TA Instruments, New Castle, Delaware, EUA). Para ambas as técnicas, foi empregado um protocolo de aquecimento contínuo, com

taxa de 10 °C/min, fluxo de gás 50 mL/min, em faixa de temperatura entre 25 °C e 300 °C.

#### **4.11. Determinação do doseamento e eficiência de encapsulação (EE%) de Ácido Rosmarínico nas nanocápsulas por CLAE**

A quantificação do AR nas NCPs foi realizada conforme o mesmo protocolo empregado para a análise dos extratos vegetais. No entanto, devido às menores concentrações observadas nas amostras, foi necessária a construção de uma nova curva de calibração, e esta foi elaborada utilizando o mesmo composto padrão de AR (96%, Sigma-Aldrich) nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 25 µg/mL.

Para a determinação do teor total de AR nas formulações, alíquotas de 100 µL das amostras foram diluídas em 1 mL de metanol em microtubos tipo Eppendorf®, seguidas de centrifugação a 10.000 rpm por 10 minutos. Então, o sobrenadante obtido foi coletado e submetido à análise por CLAE conforme metodologia previamente descrita.

Já a EE% foi determinada a partir da quantificação do teor de AR total e livre na formulação. Para determinar o teor de AR livre, utilizou-se o processo de ultrafiltração, no qual 400 µL da formulação foi adicionado a um filtro Amicon® Ultra (10 kDa) e submetido à centrifugação a 5.000 rpm por 10 minutos. O filtrado obtido foi diluído em metanol na proporção 1:3 e posteriormente analisado por CLAE.

O valor da EE% foi calculado com base na diferença entre o teor total e o teor livre de AR, conforme a equação 3.

##### **Equação 3 – Determinação da eficiência de encapsulação**

$$\text{EE (\%)} = \frac{\text{Quantidade total do composto} - \text{Quantidade do composto não encapsulado}}{\text{Quantidade total do composto}} \times 100 \quad (3)$$

#### **4.12. Determinação do Fator de Proteção Solar *in vitro* das duas nanoformulações**

A determinação do FPS *in vitro* foi realizada conforme o método descrito por Mansur e colaboradores (1986). Para a avaliação do EEB de *Mentha x villosa* Huds., foi preparada uma solução etanólica com o extrato a 0,02 mg/mL. Da

mesma forma, as nanoformulações otimizadas F17 e F18 foram diluídas em etanol até alcançar a mesma concentração final de 0,02 mg/mL de extrato, garantindo uniformidade na comparação dos resultados. Além disso, foi analisada uma formulação controle isenta de extrato, representando o branco das nanoformulações, com o objetivo de avaliar a interferência da matriz nanoestruturada no perfil de absorção UV.

A partir disso, essas amostras foram submetidas a um escaneamento em espectrofotômetro UV-Vis, registrando-se os valores de absorbância entre 290 e 320 nm, em intervalos de 5 nm. O FPS foi calculado pela Equação 4, na qual os valores dos produtos das variáveis EE (espectro de efeito eritemal), I (intensidade da radiação UV) e CF (fator de correção) são pré-estabelecidos na literatura, conforme descrito na tabela 2 (Sayre *et al.*, 1979). Isso permite quantificar o FPS a partir da análise do espectro de absorbância das formulações com finalidade fotoprotetora ao longo da faixa de UV especificada.

**Equação 4 – Determinação do FPS *in vitro*.**

$$\text{FPS} = FC \sum_{290}^{320} EE(\lambda) * I(\lambda) * ABS(\lambda) \quad (4)$$

FC = 10 (FPS 4 em Homossalato a 8%), EE ( $\lambda$ ) = efeito eritematogênico, I ( $\lambda$ ) = intensidade do sol.

**Tabela 2 - Ponderação empregada no cálculo por espectrofotometria do FPS *in vitro*.**

Comprimento de onda (nm)	EE ( $\lambda$ ) * I ( $\lambda$ ) (normalizado) - Valores relativos
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
<b>Total</b>	<b>1,000</b>

**Fonte:** Sayre *et al.*, 1979.

#### 4.13. Estabilidade dos nanossistemas

Para avaliação da estabilidade das NCPs foram monitorados o diâmetro hidrodinâmico médio, o Pdl e o potencial zeta ao longo de 90 dias, nos tempos 0, 7, 15, 30, 45, 60 e 90 dias. As análises foram realizadas em triplicata, sob três

condições de armazenamento: 4 °C (refrigeração), 25 °C (temperatura ambiente) e 35 °C (condição acelerada em estufa).

#### **4.14. Cinética de liberação *in vitro* de AR pelas nanopartículas**

O ensaio de cinética liberação *in vitro* do AR a partir das nanoformulações foi realizado conforme descrito por Nguyen e colaboradores (2019). Para simular as condições fisiológicas da pele, foi empregado como meio de liberação uma solução tampão com pH 5,5, preparada a partir de um tampão ftalato neutralizado. Inicialmente, foram preparadas duas soluções-mãe: uma de biftalato de potássio 0,2 M e outra de hidróxido de sódio (NaOH) 0,2 M. E para a formulação de 500 mL da solução do tampão ftalato neutralizado, foram utilizados 125 mL da solução de biftalato, 97 mL da solução de NaOH e água ultrapura para completar o volume para 500 mL (Marques, 2012).

Por fim, preparou-se uma solução de liberação contendo 80 mL do tampão ftalato neutralizado e 0,4 g de Tween®80, denominada neste trabalho como solução tampão modificada (STM), para favorecer a solubilização do AR no meio.

Para o ensaio, foram preparadas as formulações otimizadas, as quais 2 mL de cada foram transferidos individualmente para membranas de diálise de celulose (cut-off 10,000), cujas extremidades foram devidamente seladas. Em seguida, as bolsas foram imersas em tubos do tipo Falcon® contendo 20 mL da STM e submetidas à agitação constante em agitador magnético a 400 rpm à 25°C.

Então, nos tempos determinados (0,5; 1; 2; 4; 8; 12 e 24 horas), alíquotas de 1 mL do meio externo (meio de liberação) foram retiradas e analisadas por CLAE para quantificação do AR liberado. E imediatamente após cada coleta, 1 mL de solução STM foi reposto no sistema, a fim de garantir o volume constante ao longo de todo o ensaio.

#### **4.15. Ensaio de viabilidade celular *in vitro***

##### **4.15.1. Linhagem de células humanas**

A linhagem celular HaCat (queratinócitos saudáveis humanos) foi utilizada para a avaliação da citotoxicidade das amostras. As células foram cultivadas em meio DMEM, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de solução antibiótica composta por 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina. A manutenção das culturas ocorreu em incubadora a 37 °C, sob uma atmosfera controlada contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

##### **4.15.2. Avaliação da viabilidade celular *in vitro* do EEB de *M. x villosa* Huds e das nanoformulações**

Para o experimento, células HaCat foram semeadas em placas de 96 poços (100 µL por poço) na concentração de 3 × 10<sup>5</sup> células/mL, respectivamente. Após 24 horas, as amostras de nanopartículas e extrato foram diluídas em meio de cultura e preparadas nas concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50; 10 µg/mL (para F17, F18 e NCPs vazias) e 18,75; 37,5; 75; 150 e 300 µg/mL (para o extrato). As substâncias isoladas foram previamente solubilizadas em DMSO (Dimetilsulfóxido) 1% e diluídas no meio de cultura. As células foram incubadas por 24 horas a 37 °C, sob uma atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>.

Após a incubação, 110 µL do sobrenadante foi removido e substituído por 10 µL de solução de MTT [5 mg/mL em Solução Salina Tamponada com Fosfato (PBS)]. As placas foram mantidas por mais 4 horas de incubação, seguidas da adição de 100 µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10% para solubilização dos cristais de formazan durante a noite. A absorbância foi medida a 570 nm em um leitor de microplacas (BioTek®Instruments, Synergy HT, Winooski, VT, EUA).

Três experimentos foram realizados de forma independente, cada um em triplicata. Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) e analisados por análise de variância (ANOVA) One-way, seguida pelo teste de Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para p<0,05. A concentração que inibe 50% a viabilidade celular (CI<sub>50</sub>) foi determinada por regressão não linear.

#### **4.16. Análise estatística**

A análise estatística foi realizada por comparação estabelecida através da análise de Variância (ANOVA) one way ou two-way e os resultados foram considerados estatisticamente diferentes quando  $p<0,05$  (teste de Tukey), cujo o nível de significância empregado foi de 95%, e quando necessário, também foi utilizado o teste t. Os programas GraphPad Prism 8.0.2 (Graphpad Software Inc, San Diego, CA, EUA) e Excel® versão 2019 foram utilizados para estas análises e expressão de resultados.

# Resultados e Discussão

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Determinação do teor de compostos fenólicos e AR nos extratos com e sem clorofila

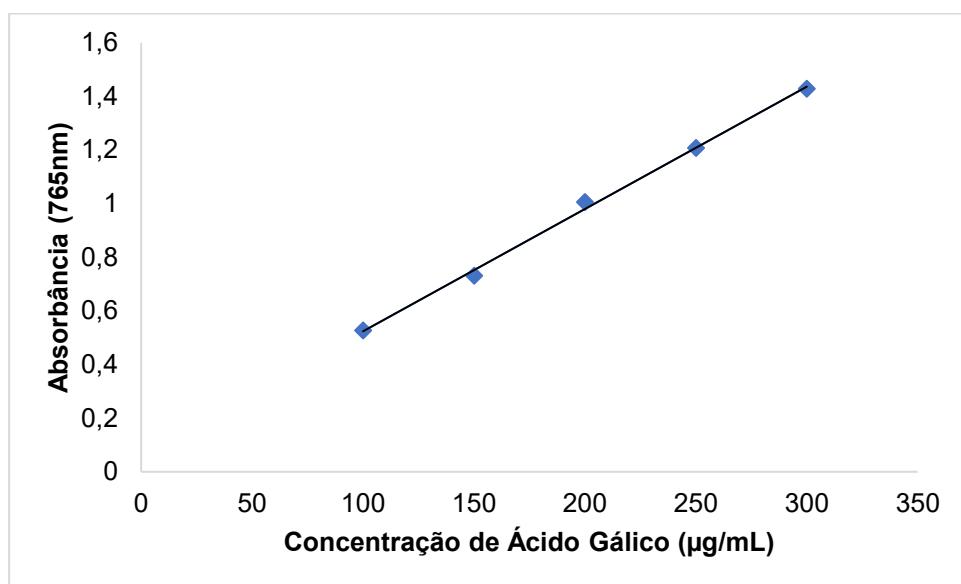
#### 5.1.1. Obtenção dos extratos etanólico e desclorofilado de *Mentha x villosa* Huds

Após o processo extrato e concentração em rotaevaporador, foi obtido 20,68 g de extrato bruto e 6,82 g de extrato desclorofilado de *M. x villosa* Huds., correspondendo a um rendimento de 32,97 % em relação ao extrato inicial. Essa redução expressiva na massa pode estar associada à remoção de pigmentos lipofílicos, como a clorofila, e de outras substâncias pouco solúveis na solução hidrometanólica empregada na extração.

#### 5.1.2. Quantificação colorimétrica de compostos fenólicos

Para a quantificação dos compostos fenólicos totais, foi empregado o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. A curva de calibração foi construída a partir de cinco concentrações do padrão ácido gálico (100, 150, 200, 250 e 300 µg/mL), resultando em uma equação de regressão linear com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) igual a 0,9978, conforme apresentado na figura 9. Essa equação serviu de base para interpolação dos dados obtidos dos extratos, possibilitando o cálculo do teor de fenólicos totais, expressos em mg equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g). A análise foi realizada a partir de uma solução aquosa dos extratos na concentração de 1 mg/mL, onde o EEB de *Mentha x villosa* Huds e o extrato desclorofilado apresentaram  $263,44 \pm 0,50$  mg EAG/g de extrato e  $324,23 \pm 0,22$  mg EAG/g de extrato ( $p<0,05$ ), respectivamente.

**Figura 9 - Curva de calibração de quantificação de fenólicos totais empregando como substância de referência padrão o Ácido Gálico.**



$$y = 0,0046x + 0,0678$$

$$R^2 = 0,9978$$

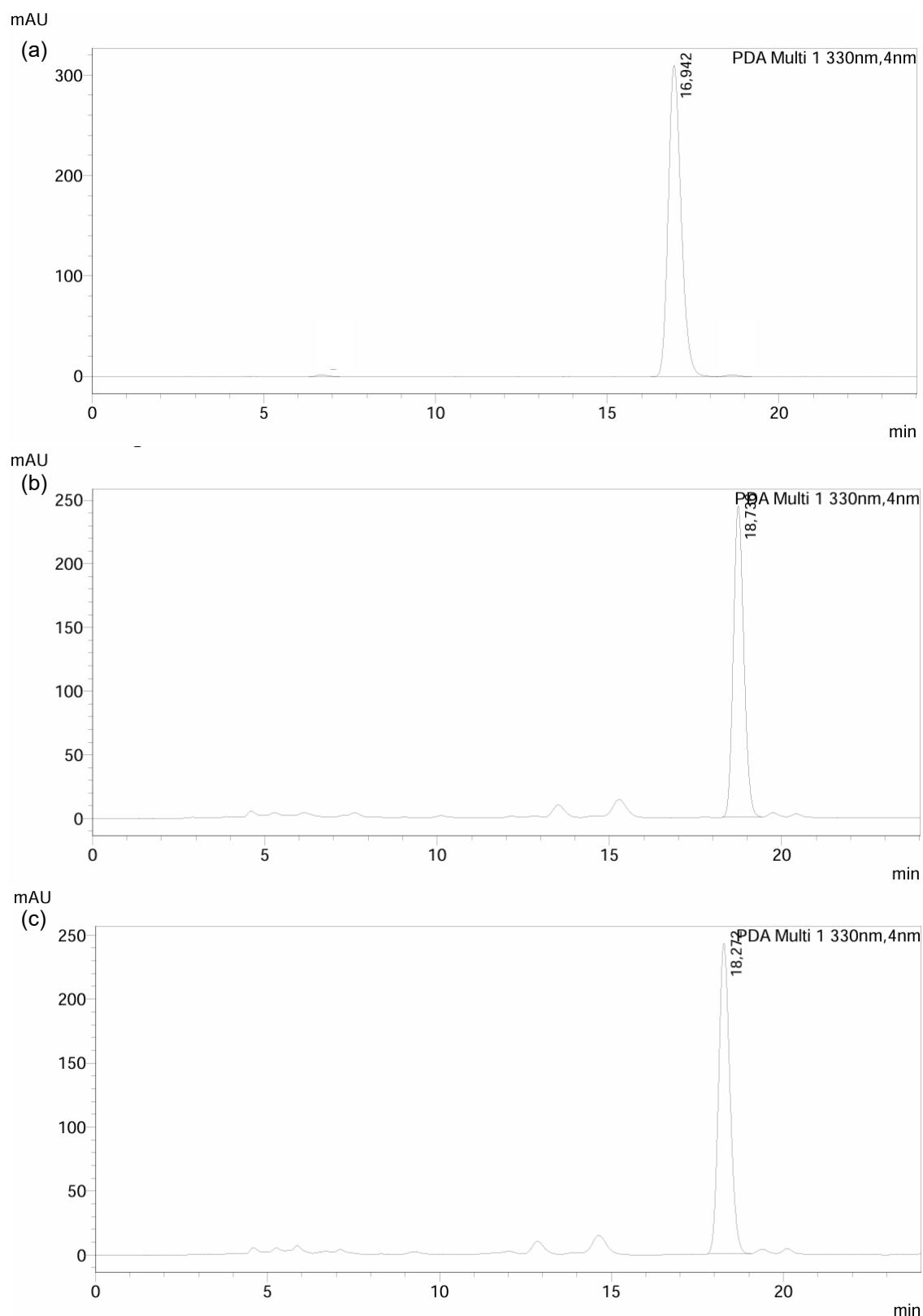
**Fonte:** Nunes, 2025.

Os resultados obtidos foram satisfatórios, pois foram valores superiores aos de outras espécies de *Mentha*, como no estudo de Cavar Zeljkovic e colaboradores (2021), onde *M. suaveolens* apresentou  $58,93 \pm 8,39$  mg EAG/g de extrato e *M. longifolia*  $16,83 \pm 1,45$  mg EAG/g de extrato. Por outro lado, a maior concentração de compostos fenólicos totais observada no extrato desclorofilado pode estar relacionado ao efeito de concentração, onde a remoção dos pigmentos apolares e redução da massa do extrato, podem ter provocado a concentração dos compostos fenólicos na fração extraída, o que eleva o teor por grama (Tzima; Brunton; Rai, 2020).

### 5.1.3. Quantificação de ácido rosmarínico

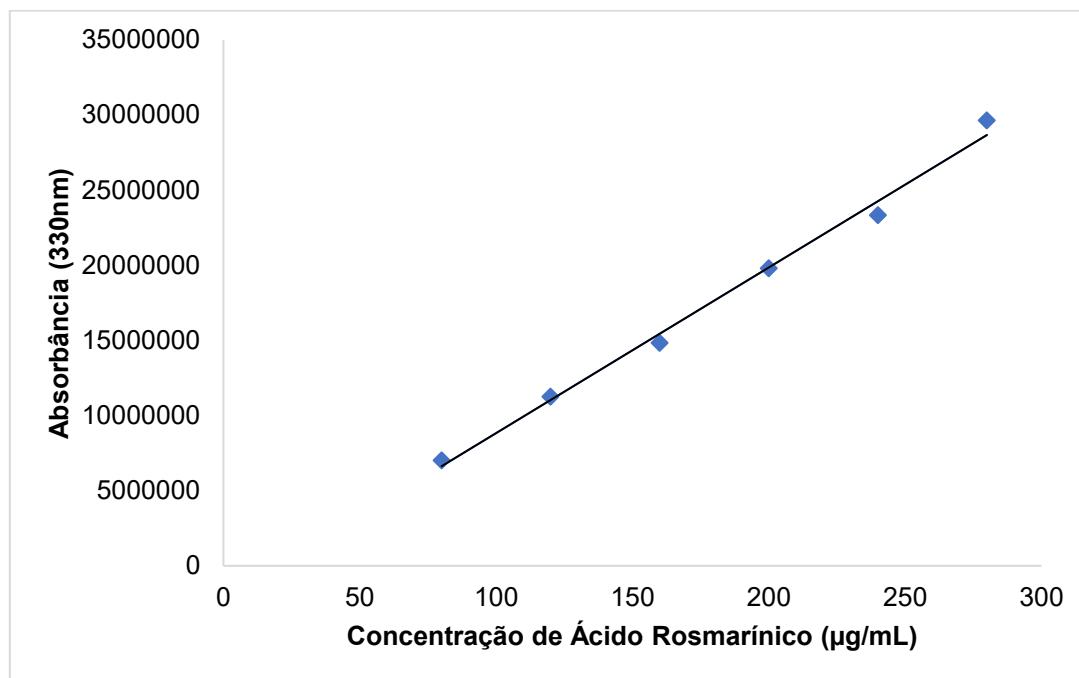
Complementarmente, os dois extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação do teor de AR. A quantificação foi realizada com base na interpolação dos valores de área dos picos cromatográficos na equação da curva de calibração construída a partir do padrão de AR (figura 11) cujo valor de  $R^2$  foi 0,99 e as concentrações utilizadas foram 80, 120, 160, 200 e 240 µg/mL. A figura 11 apresenta o cromatograma do padrão de AR na concentração de 160 µg/mL, um dos pontos utilizados na construção da curva de calibração. Observou-se que o EEB apresentou teor de 76,24 mg/g, enquanto o extrato desclorofilado apresentou 68,86 mg/g. Os cromatogramas dos extratos com e sem clorofila encontram-se representados, respectivamente na Figura 10, evidenciando o pico característico de AR em ambos.

**Figura 10 – Cromatograma representativo do padrão de Ácido Rosmarínico (160 µg/mL) (a), EEB (b) e extrato desclorofilado (c) de *M. x villosa* Huds obtidos por CLAE a 330nm.**



**Fonte:** Nunes, 2025.

**Figura 11 – Curva de calibração de quantificação do AR por CLAE.**



$$y = 110.215,44x - 2.188.769,99$$

$$R^2 = 0,99$$

**Fonte:** Nunes, 2025.

Dessa forma, o processo de desclorofilação não alterou significativamente a concentração de AR no extrato de *Mentha x villosa* Huds. Afonso e colaboradores (2013) e Brown, John e Shahidi (2019) observaram que a remoção de clorofila não implica diretamente na alteração da concentração compostos fenólicos, como o AR, nos extratos vegetais, o que demonstra seletividade da metodologia de remoção do pigmento. E isso pode ser justificado pela diferença de polaridade entre os compostos, AR e clorofila, sendo o primeiro mais polar e solúvel em água e álcoois, enquanto a clorofila é mais apolar, portanto, o AR é eluido com a solução hidrometanólica, ao passo que o pigmento é retido na coluna de celite durante a filtração (Upadhyay *et al.*, 2015).

Além disso, há uma discrepância nos tempos de retenção do pico referente ao AR do padrão analítico e dos extratos vegetais, sendo respectivamente, 16,942; 18,730 e 18,272 minutos. E isso pode ser justificado pela presença de outros metabólitos presentes nos extratos, como pigmentos, açúcares e flavonoides, que podem interferir na eluição, competindo com o AR

pelas interações com a fase estacionária, gerando um atraso no tempo de retenção (Silva *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2023).

### **5.2. Avaliação da atividade antioxidante dos extratos bruto e desclorofilado de *Mentha x villosa* Huds**

Ambos os extratos (bruto e desclorofilado) foram avaliados quanto à atividade antioxidante pelo método DPPH, com  $CE_{50}$  de  $51,95 \pm 0,44 \mu\text{g/mL}$  e  $58,37 \pm 0,27 \mu\text{g/mL}$  ( $p<0,05$ ), respectivamente, e o controle Ácido Ascórbico  $13,10 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$ . Já com relação ao ensaio ABTS, o extrato bruto e desclorofilado apresentaram  $CE_{50}$  de  $322,87 \pm 0,87$  e  $372,84 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$  ( $p<0,05$ ), respectivamente, ao passo que o controle Trolox teve  $CE_{50}$  de  $118,30 \pm 3,59 \mu\text{g/mL}$ .

Os resultados encontrados pela metodologia de sequestro de radicais DPPH são promissores e até melhores que de outras espécies do gênero, como Yousuf e colaboradores (2021) que observaram que o óleo de *Mentha arvensis* L. apresentou  $CE_{50}$  de  $72,58 \pm 6,16 \mu\text{g/mL}$  e Povh e Costa (2025) que também relataram que o extrato de *Mentha pulagium* L. teve  $CE_{50}$  de  $127,1 \pm 3,8 \mu\text{g/mL}$  nessa mesma metodologia. E essa atividade antioxidante do gênero *Mentha* pode estar diretamente aos compostos fenólicos presentes nas espécies, uma vez que são substâncias capazes de doar hidrogênio para reduzir o radical oxidado (Vuolo; Lima; Júnior, 2019; Shi *et al.*, 2022), sendo esse dado respaldado pela alta concentração de polifenóis visualizada no teste de Folin-Ciocalteu.

Já com relação as análises envolvendo o radical ABTS, o cenário se inverte, uma vez que Aprotozoaie e colaboradores (2018) apontou que o óleo essencial de *Mentha gattefossei* demonstrou  $CE_{50}$   $254.12 \pm 8.40$  e Nickavar, Alinaghi e Kamalinejad (2008) encontraram  $CE_{50}$  de  $173,80$  para *M. spicata*., revelando maior dificuldade *Mentha x villosa* descolorir o radical ABTS quando comparado a outras espécies do gênero. E isso pode ser resultado do curto tempo de reação empregado na metodologia, o que acarreta em uma menor interação entre o radical e o ativo antioxidante, dificultando assim a sua ação de redução (ILYASOV *et al.*, 2020).

Além disso, há diferença estatisticamente significativa entre os valores de CE<sub>50</sub> do extrato bruto e desclorofilado em ambos os testes. Tzima, Brunton e Rai (2020) também observaram que a capacidade antioxidante foi reduzida em extratos desclorofilados, indicando que a clorofila também contribui de forma relevante a atividade antioxidante.

### **5.3. Desenvolvimento e caracterização das nanoformulações contendo os extratos de *Mentha x villosa* Huds**

#### **5.3.1. Estudo de pré-formulação dos nanossistemas**

O estudo de pré-formulação é essencial para selecionar os excipientes, proporções e parâmetros de processo que garantam formulações com estabilidade físico-química, eficiência de encapsulação desejada e liberação controlada do ativo. Por isso, é importante a realização de testes preliminares de compatibilidade entre o fármaco e os excipientes para orientar a escolha da matriz lipídica e dos surfactantes mais adequados (Hedayati et al., 2023).

Dessa forma, durante a etapa de pré-formulação, foram avaliados diferentes sistemas de nanoencapsulação com o objetivo de identificar a composição mais adequada para veicular o extrato de *Mentha x villosa* Huds. Inicialmente, foram testados três métodos distintos de nanoencapsulação (nanocápsulas poliméricas por dupla emulsão, carreador lipídico nanoestruturado e lipossomas) nos extratos da espécie em estudo, com e sem clorofila, a fim de selecionar qual dessas amostras seguirá para os testes posteriores. Para isso, foi avaliado qual apresentava melhores parâmetros de tamanho, Pdl e potencial zeta (tabela 3).

**Tabela 3 – Parâmetros de análise dos nanossistemas no estudo de pré-formulação.**

Nanossistema	Amostra	Tamanho de partículas (nm)	Pdl	Potencial Zeta (mV)
Nanocápsulas poliméricas por dupla emulsão	Extrato bruto	207,9 ± 3,48	0,17 ± 0,02	-26,3 ± 0,60
	Extrato desclorofilado	225,9 ± 4,23	0,13 ± 0,01	-27,7 ± 0,34
Carreadores lipídicos nanoestruturados	Extrato bruto	98,8 ± 0,69	0,12 ± 0,02	-20,8 ± 0,56
	Extrato desclorofilado	86,9 ± 0,25	0,09 ± 0,01	-24,3 ± 2,50
Lipossomas	Extrato bruto	133,2 ± 2,82	0,28 ± 0,01	-21,8 ± 0,38
	Extrato desclorofilado	121,3 ± 3,86	0,37 ± 0,02	-22,0 ± 1,62

**Fonte:** Nunes, 2025.

Tendo em vista os resultados obtidos, a formulação que apresentou os maiores tamanhos de partículas foi a de nanocápsulas poliméricas por dupla emulsão, portanto, esse foi o nanossistema escolhido para seguir os testes posteriores. Essa escolha se baseia no fato de que, para formulações tópicas para aplicação como fotoprotetores, o ideal é que as nanopartículas possuam diâmetros maiores para que não sejam absorvidas pela pele. Esse aumento no tamanho das nanopartículas contribui para uma maior retenção na superfície cutânea, garantindo assim uma ação localizada e minimizando o risco de absorção sistêmica (Poletto *et al.*, 2011; Pohlmann *et al.*, 2016).

No que diz respeito aos componentes das NCPs, foi empregado na fase oleosa PCL-10 e Span®60, enquanto na fase aquosa Tween®80. O primeiro componente é um polímero hidrofóbico, biodegradável e biocompatível amplamente utilizado em sistemas de liberação controlada, uma vez que é capaz de formar matrizes poliméricas estáveis que protegem os compostos ativos encapsulados de reações de degradação. Além disso, a presença de PCL tem sido associada a alta eficiência de encapsulação e estabilidade físico-química, sendo adequadas para aplicações tópicas (Holanda, 2024; Dallemand *et al.*, 2023).

Já o Span®60 e o Tween®80 são tensoativos não iônicos que são fundamentais para a formação e estabilização de emulsões. O Span®60 possui baixo valor de equilíbrio hidrofílico-lofófílico (HLB = 4,3) e estabiliza a fase interna da emulsão (A/O), enquanto o Tween®80, com alto HLB (15), estabiliza a fase externa (O/A), facilitando a formação de duplas emulsões estáveis. Dessa forma, a combinação desses tensoativos favorece a formação de nanocápsulas com características desejáveis, como tamanho de partícula adequado e distribuição homogênea (Debraj; Carpenter; Vatti, 2023; Rhyaf *et al.*, 2023).

Além disso, a presença desses tensoativos pode contribuir para a estabilidade fotoquímica das formulações ao proteger os compostos encapsulados da fotodegradação. Estudos mostram que esses tensoativos na composição das nanocápsulas pode melhorar a fotoproteção de ativos sensíveis

à luz, como a quercetina e o metoxicinamato de octila, devido ao aumento do espalhamento de luz pelas nanocápsulas (Marco, 2009).

Por outro lado, após os testes de pré-formulação com os extratos bruto e desclorofilado optou-se pela utilização do extrato bruto na nanoformulação, pois os nanossistemas contendo o EEB apresentaram aparência homogênea e sem a formação de precipitados, enquanto aquelas com o extrato desclorofilado mostraram formação de precipitados, indicando menor solubilidade e estabilidade físico-química. E nesse contexto, a presença de clorofila pode contribuir para a estabilidade das nanoformulações. Estudos demonstram que esse pigmento, quando encapsulado em sistemas nanoestruturados, pode conferir estabilidade frente à luz, calor e variação de pH, além de potencializar as propriedades antioxidantes da formulação (Janiz-Zabrotowicz *et al.*, 2020; Agarry *et al.*, 2022).

### 5.3.2. Otimização do nanossistema

O design experimental do tipo Box-Behnken foi realizado a partir de 15 formulações diferentes de NCPs, onde essas apresentaram aparência macroscópica em tom levemente esverdeado sobre fundo branco, com tamanhos variando de 182,73 a 248,74 nm, Pdl de 0,1278 a 0,2112, potencial zeta de -26,82 a -35,88 mV, concentração total de AR 11,99 a 253,42 µg/mL e EE% de 13,23 a 72,10% (Tabela 4).

**Tabela 4 – Parâmetros de avaliação das formulações produzidas de acordo com o planejamento fatorial do tipo Box-Behnken.**

NCPs	Variáveis independentes			Tamanho (nm)	Pdl	Potencial Zeta (mV)	Concentração de AR	
	Tween®80	Extrato	PCL®10				Total (µg/mL)	(EE%)
F1	75	5	50	215,23	0,1344	-35,53	83,50	17,81
F2	50	9	50	230,03	0,1347	-33,36	253,42	20,72
F3	50	5	70	247,50	0,1767	-35,88	94,93	72,10
F4	100	9	50	190,53	0,2059	-30,03	148,66	48,04
F5	50	1	50	226,13	0,1665	-32,28	21,42	19,01
F6	75	5	50	221,83	0,1458	-33,92	112,81	24,15
F7	75	9	70	230,87	0,1708	-33,93	123,02	29,03
F8	100	1	50	222,60	0,1593	-29,13	21,87	52,38
F9	100	5	30	189,97	0,1825	-30,80	103,17	32,06
F10	75	1	30	188,93	0,2112	-26,82	11,99	29,76
F11	75	9	30	182,73	0,2012	-27,59	155,11	66,49
F12	100	5	70	223,23	0,1390	-27,73	120,59	38,63
F13	50	5	30	209,63	0,1278	-27,48	81,22	13,23
F14	75	1	70	248,47	0,1324	-26,93	14,69	36,68
F15	75	5	50	222,43	0,1530	-29,92	99,30	24,24

**Fonte:** Nunes, 2025.

O modelo estatístico ajustado demonstrou desempenho satisfatório na previsão dos parâmetros avaliados. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) obtidos foram de 0,9946 para o tamanho das nanocápsulas, 0,9925 para o teor de AR e 0,9938 para a EE%. Esses valores indicam que mais de 99% da variação observada nos dados experimentais foi explicada pelas variáveis analisadas no modelo em cada uma dessas respostas. E esse alto grau de correlação reforça a confiabilidade das estimativas geradas e confirma que o modelo é adequado para descrever e prever o comportamento do sistema em estudo.

As equações ajustadas obtidas a partir da análise estatística descreveram o comportamento das variáveis dependentes em função das concentrações de Tween 80 (Tw), extrato vegetal (Ext) e PCL. Para o tamanho das nanocápsulas (nm), a equação obtida foi:  $Y = 341,804 - 5,94719 \cdot Tw + 0,0405767 \cdot Tw^2 + 7,2974 \cdot Ext - 0,271615 \cdot Ext^2 - 1,56042 \cdot PCL - 0,00853125 \cdot PCL^2 - 0,0300417 \cdot Tw \cdot Ext + 0,0005625 \cdot Tw \cdot Ext^2 - 0,000436667 \cdot Tw^2 \cdot Ext + 0,1073 \cdot Tw \cdot PCL - 0,000730667 \cdot Tw^2 \cdot PCL - 0,035625 \cdot Ext \cdot PCL$ .

Para o teor de AR, a equação ajustada foi:  $Y = -529,712 + 12,0616 \cdot Tw - 0,084914 \cdot Tw^2 + 33,4626 \cdot Ext + 6,7788 \cdot Ext^2 + 11,0571 \cdot PCL - 0,0421221 \cdot PCL^2 - 0,923403 \cdot Tw \cdot Ext - 0,0949548 \cdot Tw \cdot Ext^2 + 0,010733 \cdot Tw^2 \cdot Ext - 0,179686 \cdot Tw \cdot PCL + 0,00121029 \cdot Tw^2 \cdot PCL - 0,108723 \cdot Ext \cdot PCL$ .

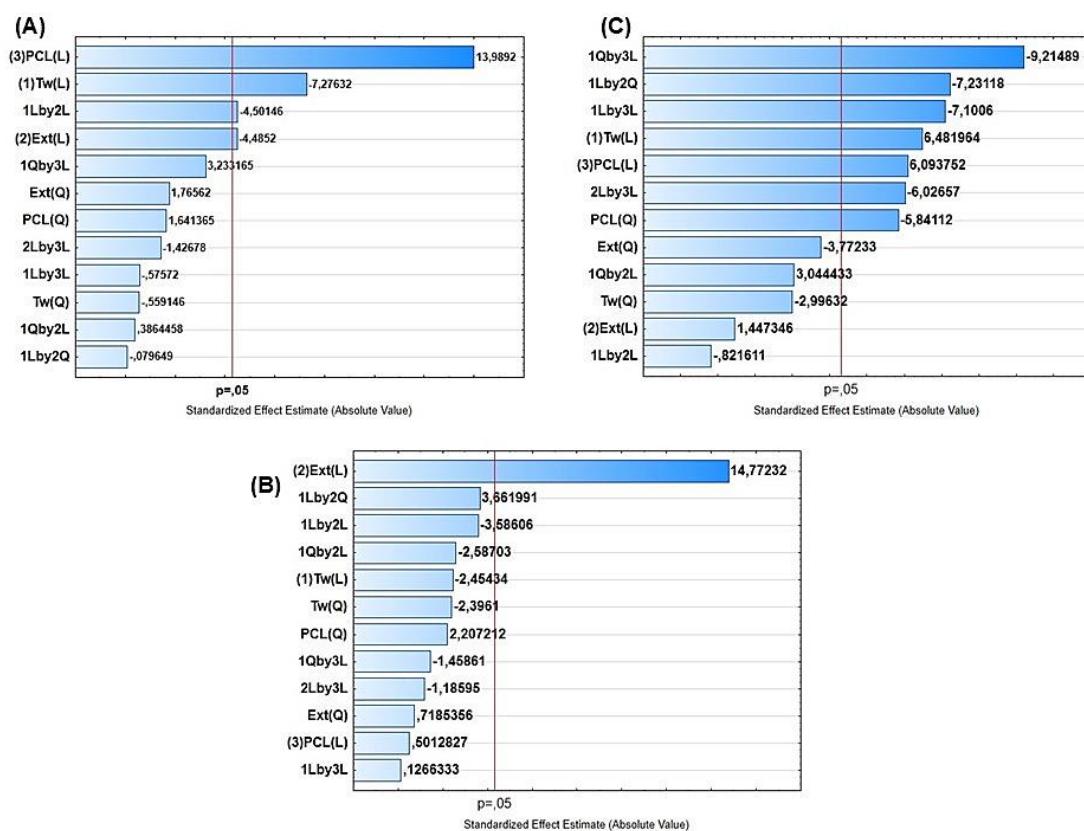
Já para a EE%, a equação ajustada foi:  $Y = -501,379 + 13,0538 \cdot Tw - 0,0709351 \cdot Tw^2 + 22,8371 \cdot Ext - 3,07861 \cdot Ext^2 + 10,2718 \cdot PCL + 0,0279846 \cdot PCL^2 - 0,0102157 \cdot Tw \cdot Ext + 0,0470724 \cdot Tw \cdot Ext^2 - 0,00317091 \cdot Tw^2 \cdot Ext - 0,314078 \cdot Tw \cdot PCL + 0,00191954 \cdot Tw^2 \cdot PCL - 0,138702 \cdot Ext \cdot PCL$ .

Essas expressões demonstram a influência individual e combinada das variáveis sobre as respostas avaliadas, reforçando a importância da utilização do modelo na predição do comportamento do sistema e na otimização das formulações desenvolvidas.

A análise de dados a partir do diagrama de Pareto permitiu identificar as variáveis com maior influência sobre o tamanho das NCPs (Figura 12A), doseamento de AR (Figura 12B) e EE% (Figura 12C), em termos lineares (L) e

quadráticos (Q). Em modelos de análise estatística, os efeitos lineares representam as relações proporcionais diretas entre as variáveis independentes e a resposta avaliada. Já os efeitos quadráticos compreendem o comportamento não linear do sistema, indicando interações mais complexas, como a curvatura da resposta em gráficos de superfície (Ockuly *et al.*, 2017).

**Figura 12 – Diagrama de pareto para análise das varáveis tamanho (A), doseamento de AR (B) e eficiência de encapsulação de AR (C) obtidos através do design experimental Box-Behnken.**



**Fonte:** Nunes, 2025.

Tendo em vista que o este estudo se trata do desenvolvimento de fotoprotetor a partir de nanopartículas contendo o extrato de *Mentha x villosa* Huds, é importante garantir que o tamanho das partículas seja maior para evitar a penetração cutânea profunda. Nesse contexto, observou-se que o PCL-10 apresentou o maior efeito positivo sobre o tamanho das NCPs, ou seja, seu

aumento levou ao crescimento do diâmetro das partículas. Isso é esperado pois polímeros hidrofóbicos de maior massa molar, como o PCL, tendem a formar partículas maiores por elevar a viscosidade da fase orgânica, o que dificulta a formação das partículas menores (Cho *et al.*, 2006).

Em contrapartida, o surfactante Tween®80 teve efeito negativo, o que demonstra que o aumento de sua concentração é capaz de reduzir o tamanho das partículas, uma vez que esse surfactante auxilia na redução da tensão interfacial entre a fase oleosa e a fase aquosa, o que facilita o processo de emulsificação e estabiliza as fases, e, portanto, gera gotículas menores (Kaur; Singh, Sharma, 2021; Knoch *et al.*, 2021).

Além disso, a concentração do extrato de *Mentha x villosa* Huds também demonstrou exercer papel significativo no tamanho final das NCPs de forma negativa, onde níveis mais elevados do extrato estiveram associados à formação de partículas menores. Sutradhar e Saha (2015) observaram que houve redução no diâmetro de nanopartículas com o aumento da concentração de extratos ricos em compostos fenólicos, uma vez que esses metabólitos, especialmente os que contêm grupos carboxila e polióis, podem participar da formação e estabilização das nanopartículas, formando uma camada protetora em torno das partículas e limitando seu crescimento.

A interação entre Tween®80 e o extrato de *Mentha x villosa* também apresentou um efeito linear significativo negativo, com a tendência de reduzir o tamanho das NCPs. Esse efeito sinérgico pode estar relacionado à natureza hidrossolúvel dos compostos fenólicos presentes no extrato, que, ao se associarem ao surfactante Tween®80, colaboram para a formação de uma emulsão mais eficiente e homogênea, favorecendo a formação de partículas menores (Sutradhar; Saha, 2015; Kaur; Singh, Sharma, 2021; Knoch *et al.*, 2021).

Já a análise do diagrama de Pareto do doseamento de AR revela que a variável com influência significativa linear foi a concentração do extrato. Esse resultado indica que, à medida que a quantidade de extrato aumenta, a concentração de AR presente na nanoformulação também cresce de forma substancial.

Por fim, com relação ao parâmetro de EE%, o maior fator que influencia negativamente nesse aspecto foi a interação quadrática entre a concentração de Tween®80 e PCL. Esse resultado indica que quando o surfactante está em baixas concentrações e o polímero em níveis mais elevados, há significativa redução da EE%. O desequilíbrio hidrofóbico-hidrofílico (baixa disponibilidade de Tween®80 e excesso de polímero) pode dificultar a formação das nanopartículas de forma organizada e estável, o que pode resultar em perdas do ativo (Vrignaud; Benoit; Saulnier, 2011).

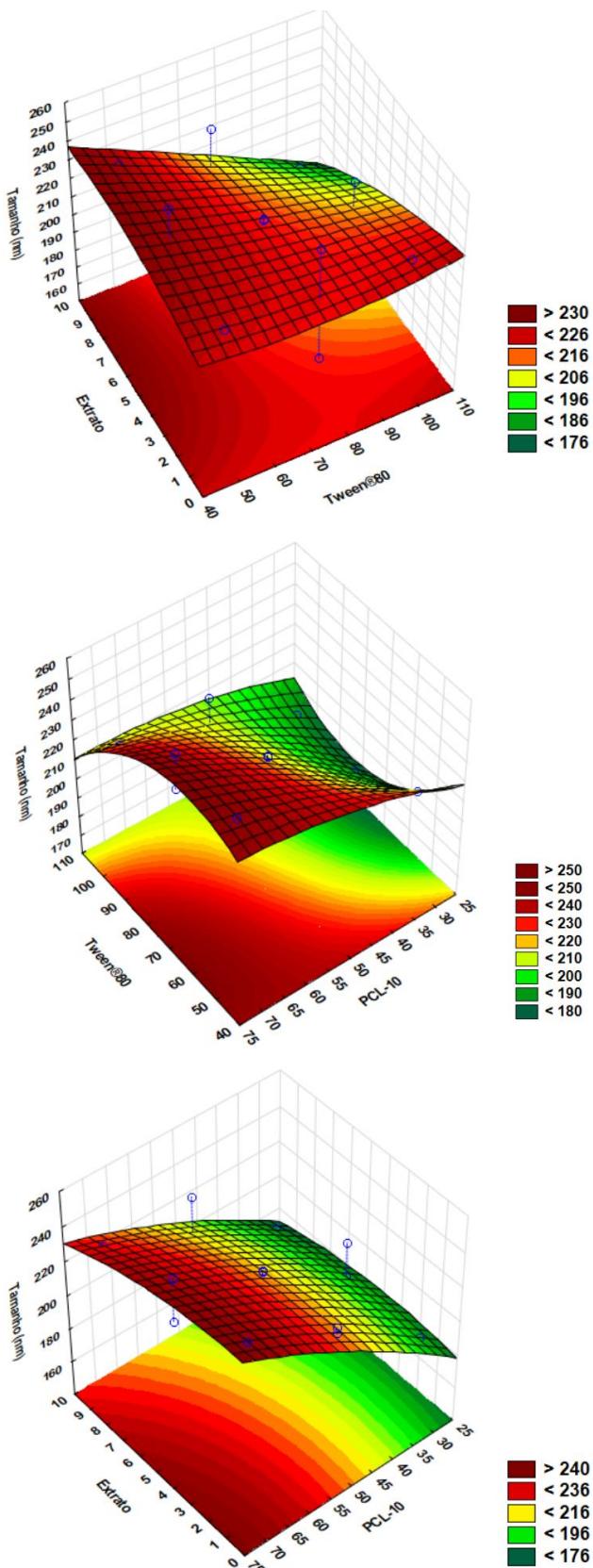
O Tween®80, em baixas concentrações, também participa de outras interações significativas negativas, como com o extrato em média concentração e PCL em baixos níveis. Isso reforça a importância desse tensoativo na estabilidade e formação da dupla emulsão, ao reduzir a tensão interfacial e manter a emulsão estável durante a solidificação das nanocápsulas (Zhi *et al.*, 2024).

Em consonância a esses dados, o efeito linear positivo do Tween®80 demonstra a importância desse tensoativo na eficiência de encapsulação, tendo em vista que os surfactantes são responsáveis por auxiliar na estabilização da interface óleo-água durante a formação da emulsão dupla, o que facilita o aprisionamento do ativo dentro das nanopartículas, assim como foi visto no trabalho realizado por Yousef e colaboradores (2023), em que o aumento da concentração desse tensoativo foi correlacionado a aumento da EE%.

Já o polímero PCL apresentou efeito linear positivo, sugerindo que o aumento da concentração desse componente aumenta a capacidade da matriz aprisionar o AR, devido a formação de estruturas densas que cercam o ativo (Gan *et al.*, 2017; Gilani, Bin-Jumah, Fátima, 2023). Porém, também houve o efeito quadrático negativo do polímero, indicando a presença de um “ponto ótimo” para a concentração de PCL na formulação, ou seja, o emprego de quantidades em excesso desse componente passa a reduzir a eficiência. Isso pode acontecer pelo aumento excessivo da viscosidade ou formação de estruturas densas que dificultam a incorporação do extrato nas nanopartículas (Ibqal *et al.*, 2015).

Em outra perspectiva, os gráficos tridimensionais de superfície de resposta com relação ao tamanho das nanocápsulas (Figura 13) forneceram informações adicionais sobre a influência das variáveis independentes escolhidas. Os diagramas indicam que partículas maiores podem ser obtidas a partir do aumento da concentração de PCL-10 e extrato, ao passo que Tween®80 é um modulador para limitar o tamanho das nanocápsulas, diminuindo seu diâmetro hidrodinâmico.

**Figura 13 – Superfície de resposta das variáveis independentes em função do tamanho das partículas.**



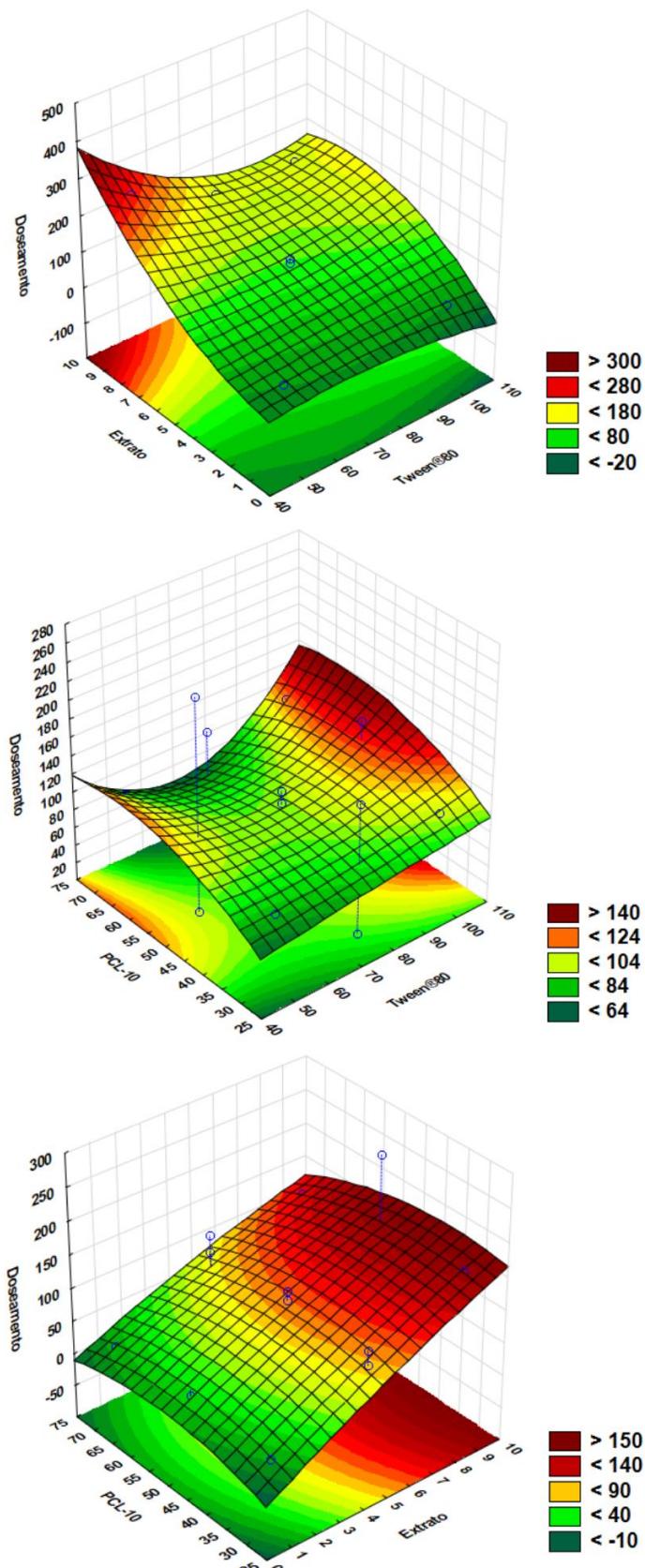
Fonte: Nunes, 2025.

Fraj e colaboradores (2019) realizaram um estudo de caracterização físico-química de nanocápsulas de policaprolactona com óleo essencial de óregano (*Origanum vulgare L.*) e constataram que houve aumento do tamanho das partículas à medida que a concentração de PCL foi elevada, e Bradi e colaboradores (2017) observaram esse mesmo efeito do polímero no aumento dos diâmetros das partículas em contraste a influência do Tween®80 ao reduzir o tamanho das nanopartículas. A influência do polímero se dá pelo aumento da viscosidade na fase orgânica, retardando a difusão do solvente para a fase aquosa fazendo com que o polímero seja precipitado mais lentamente e consiga interagir entre si, formando estruturas maiores (Bradi *et al.*, 2017; Tavares *et al.*, 2017). Já a função do surfactante em reduzir o diâmetro das nanocápsulas, pode ser explicado pela sua capacidade de reduzir a tensão interfacial entre as fases, o que permite a formação de partículas menores e mais estáveis (Sukmawati *et al.*, 2018; Bu *et al.*, 2020).

Além disso, o aumento da concentração do extrato implicou aumento de tamanho das partículas, sendo isso também observado no estudo de Cola (2021), onde a incorporação de ativos vegetais em nanocarreadores também resultou em nanopartículas acima de 200nm. Essa relação pode ser explicada pela expressiva presença de compostos fenólicos e hidrofílicos do extrato presente na fase aquosa 1, que aumentam a viscosidade dessa fase, o que dificulta o processo de homogeneização e aumenta a necessidade energética para quebra efetiva das gotículas, resultando em nanocápsulas maiores (Zhu *et al.*, 2008; Artiga-artigas *et al.*, 2019; Herranz *et al.*, 2019; Pham *et al.*, 2019).

Por outro lado, dados presentes na figura 14 mostram as interações das variáveis e seus efeitos no doseamento de AR nas nanoformulações.

**Figura 14 – Superfície de resposta das variáveis independentes em função do doseamento de AR.**



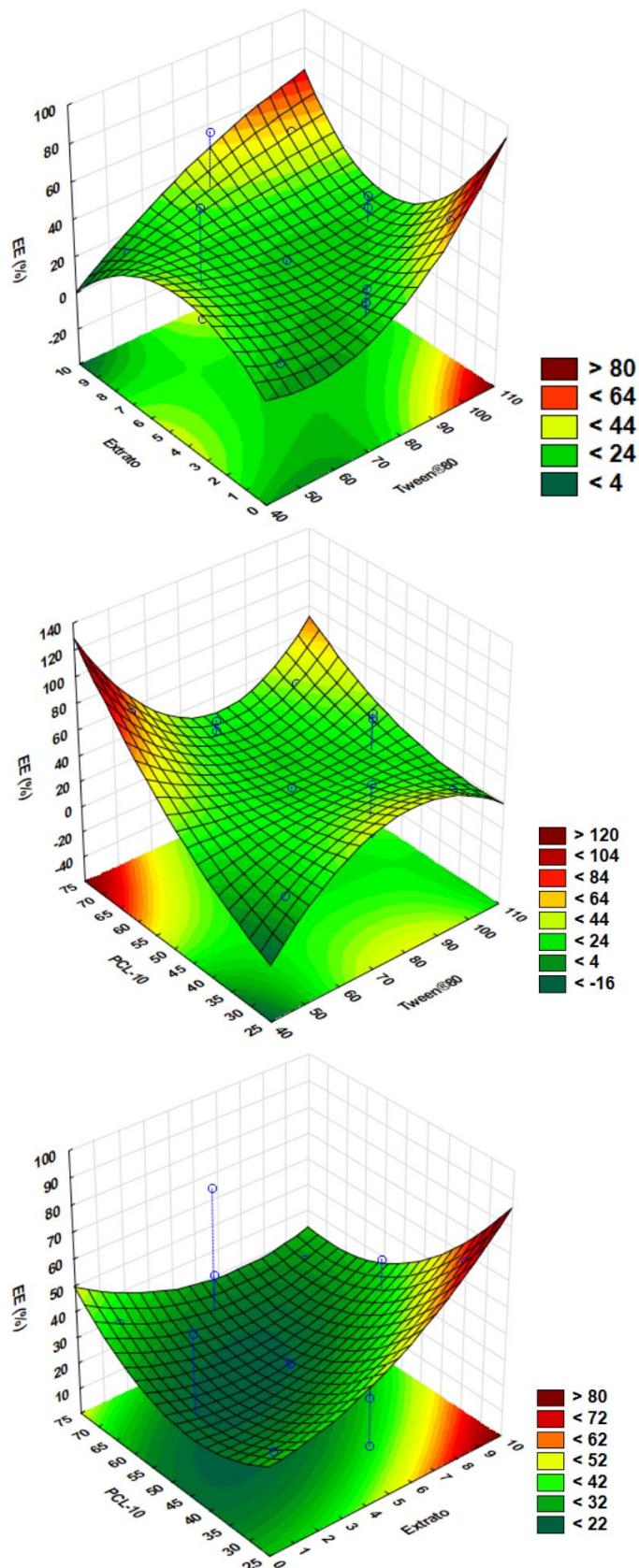
**Fonte:** Nunes, 2025.

A interação entre extrato e Tween®80 em concentrações mais elevadas resultam no teor de AR na formulação, e esse comportamento é justificado pela capacidade de tensoativos reduzirem a tensão interfacial da emulsão, o que favorece a difusão do ativo e sua maior disponibilidade no meio, assim como foi observado no estudo realizado por Park, Mun e Kim (2020), em que a adição de Tween aumentou a solubilização do extrato de alecrim na formulação.

Outro resultado importante mostra a interação entre PCL e extrato, onde se torna evidente que altas concentrações de PCL associadas a maiores teores de extrato promovem significativa redução no doseamento. Isso sugere que o excesso de polímero pode formar uma matriz mais densa, dificultando a difusão do AR (Bhadran *et al.*, 2023). Por outro lado, a interação entre PCL e Tween®80 aponta para um ponto ótimo de doseamento do AR em concentrações intermediárias de ambas as variáveis. Isso acontece porque a matriz polimérica se torna muito compacta quando é utilizado níveis muito baixos de tensoativo e alto de polímero, limitando a difusão do ativo no meio. Já concentrações muito altas de Tween®80 em combinação com baixos níveis de PCL pode resultar em uma rápida liberação do ativo ou até instabilidade na formulação, destacando assim, a importância do equilíbrio entre surfactante e polímero para estabilidade coloidal e liberação controlada de ativos (Torchilin, 2001).

A figura 15 contendo os gráficos de superfície apontam que a eficiência de encapsulação atinge resultados satisfatórios, entre 60 a 80%, quando os níveis de Tween®80 e PCL estão altos, especialmente combinados com concentrações moderadas a altas do extrato.

**Figura 15 – Superfície de resposta das variáveis independentes em função da eficiência de encapsulação de AR.**



**Fonte:** Nunes, 2025.

Sobti e colaboradores (2023) realizou um trabalho com objetivo de encapsular *Mentha piperita* e obteve de 7 a 66% de eficiência. E Mahar, Chakraborty; Nainwal (2023) também observaram que o aumento de PCL e Tween®80 na formulação resultou em maior eficiência de encapsulação de resveratrol.

Esses fenômenos acontecem pois o PCL confere alta permeabilidade à temperatura ambiente, e isso facilita a passagem do ativo para a fase contínua (Budianto; Fachrudin, 2020). Além disso, a presença do emulsificante Tween®80 facilitou a redução da tensão interfacial entre a fase oleosa e aquosa na emulsão e fornece proteção aos compostos bioativos no processo de secagem, possibilitando sua preservação no meio (Borompichaichartkul; Hamad; Suriyarak, 2020). E, com relação a influência exercida pelo extrato, a solubilidade do ativo no núcleo ou na fase de encapsulamento são importantes para a sua efetiva internalização na fase interna (Trojer *et al.*, 2013).

A partir dos dados obtidos foi possível desenvolver novas formulações variando a concentração do extrato (3 e 5 mg) e mantendo fixo as concentrações de Polissorbato-60 e PCL-10 (50 mg e 70 mg, respectivamente) para obter nanossistemas que atendam os critérios de tamanho superior a 200nm e maior eficiência no doseamento e EE% do AR. Os parâmetros de concentração dos componentes e os dados de caracterização estão descritos em duas tabelas: a tabela 5 com os valores preditos pelo software Statistica®, com base no planejamento experimental Box-Behnken, enquanto a tabela 6 mostra os valores reais obtidos experimentalmente.

**Tabela 5 - Parâmetros de concentração e valores preditos pelo planejamento experimental Box-Behnken para as formulações otimizadas.**

NCPs	Variáveis independentes			Tamanho (nm)	Teor de AR Total (µg/mL)	EE%
	Tween®80	Extrato	PCL®10			
F17	50	3	70	253,13	67,77	37,76
F18	50	5	70	250,80	107,28	37,61

**Fonte:** Nunes, 2025.

**Tabela 6 - Parâmetros de concentração e dados de caracterização obtidos experimentalmente para as formulações otimizadas.**

NCPs	Variáveis independentes			Tamanho (nm)	Pdl	Potencial Zeta (mV)	Teor de AR Total (µg/mL)	AR encapsulado (µg/mL)	EE%
	Tween ®80	Extrato	PCL ®10						
F17	50	3	70	236,23	0,1636	-33,39	64,85	34,6	53,35
F18	50	5	70	249,90	0,1320	-29,15	131,50	60,2	45,80

**Fonte:** Nunes, 2025.

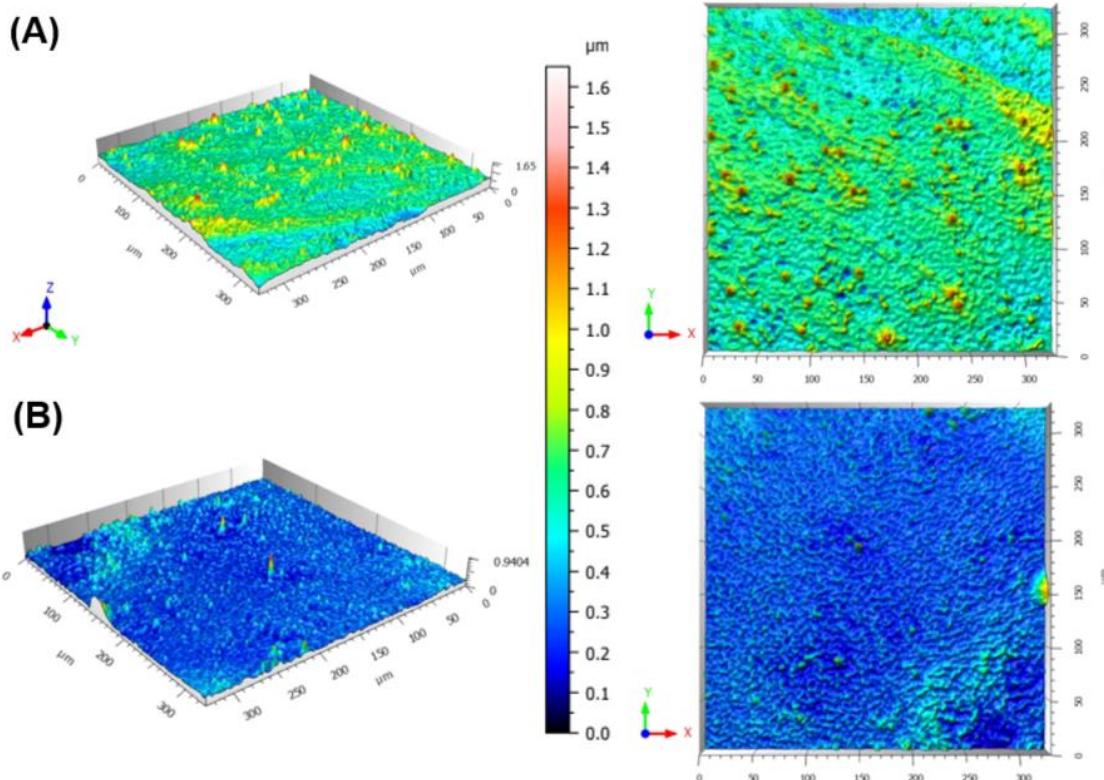
Ao comparar os valores preditos pelo planejamento experimental Box-Behnken com os dados obtidos experimentalmente, observa-se uma boa concordância em relação ao tamanho médio das nanocápsulas, com variações inferiores a 10 nm entre os valores estimados e os medidos, indicando que o modelo estatístico foi eficaz na previsão desse parâmetro. No entanto, quanto ao teor de AR total e a EE%, há discrepâncias mais acentuadas entre os valores esperados e os reais, principalmente com a formulação F18, que apresentou um teor total de AR superior ao previsto, o que contribuiu para um aumento considerável da EE% em comparação ao valor estimado (de 37,61% para 46,80%). Essas diferenças podem estar associadas com as variações de eficiência de mistura durante a emulsificação ou as interações específicas entre os componentes da formulação, que podem ter favorecido uma maior incorporação do ativo na matriz polimérica durante os experimentos (Lee *et al.*, 2021). E isso reforça que a importância de realizar a validação experimental dos modelos estatísticos é necessário para confirmar o desempenho real das formulações otimizadas.

Dessa forma, foi observado que a F17, com 3 mg de extrato, formou partículas menores e maior eficiência de encapsulação do AR, ao passo que a F18, com 5 mg de *Mentha x villosa* Huds, apresentou maiores nanopartículas e mais AR disponível na formulação, porém com menor eficiência de encapsulação. Tendo em vista os perfis complementares dos dois sistemas e das vantagens individuais de cada, optou-se por dar continuidade aos testes com as duas formulações, para analisar mais detalhadamente seu comportamento, estabilidade e desempenho biológico.

### 5.3.3. Análise morfológica

O perfilômetro é um equipamento capaz de mapear a topografia de superfície e gerar um perfil com informações de suas dimensões físicas, como altura, largura e profundidade, assim como pode também informar detalhes acerca da rugosidade e textura do material (Savio *et al.*, 2024). Diante disso, as NCPs produzidas apresentaram na análise por perfilômetro uma forma esférica não agregadas e com tamanhos inferiores a 300 nm (Figura 16).

**Figura 16 – As nanoformulações F17 (A) e F18 (B) em superfície 3D.**



**Fonte:** Nunes, 2025.

As análises de superfície revelam que a F17 apresentou superfície mais homogênea e menos rugosa em comparação com F18, tendo em vista que esta apresentou picos e depressões maiores, evidências características de heterogeneidade estrutural. No desenvolvimento de formulações farmacêuticas, formulações mais estáveis (do ponto de vista físico) está associado com

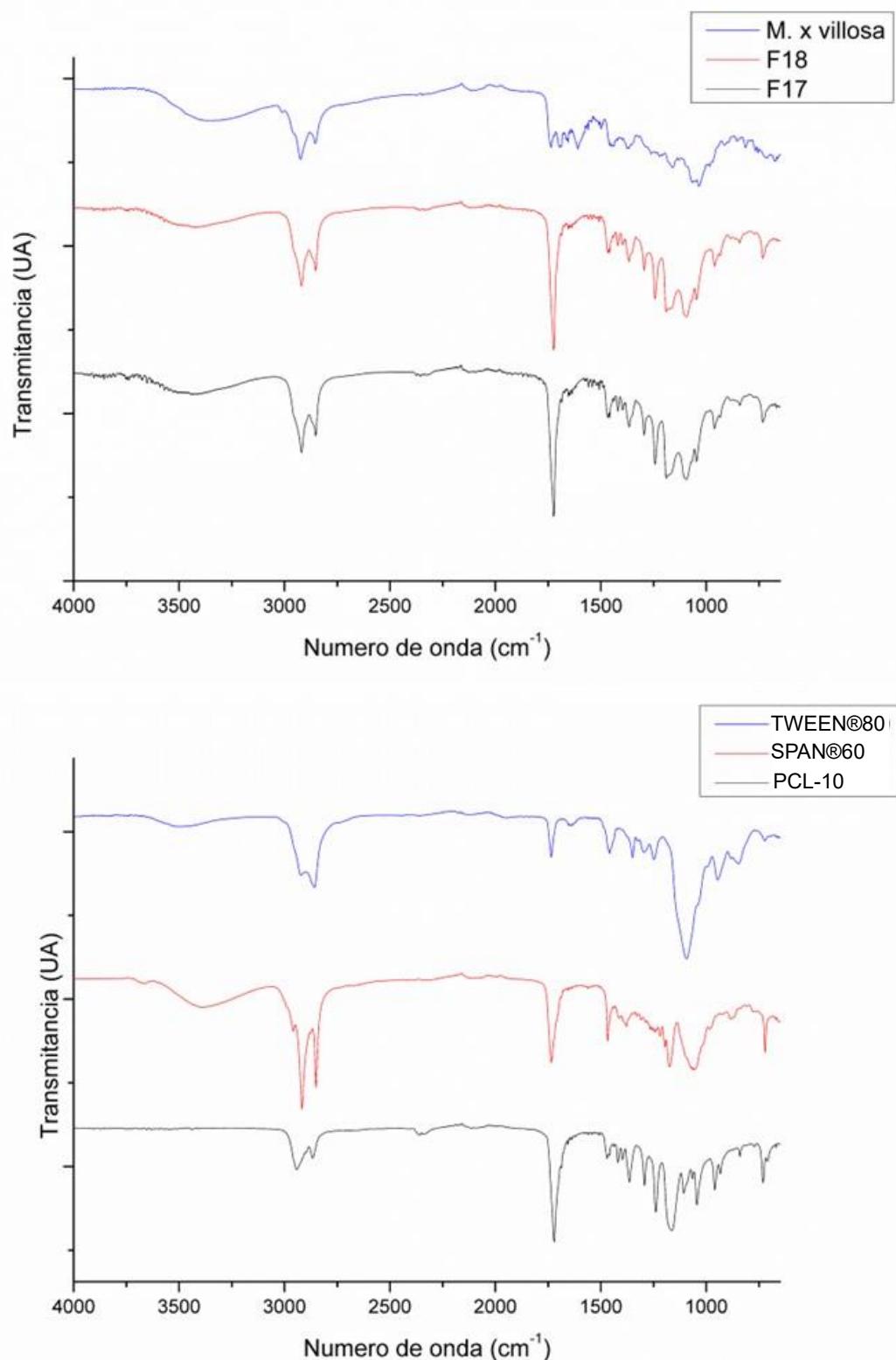
superfícies com menor tamanho de irregularidades. Tan, Chan e Heng (2018) relataram que partículas com rugosidades micrométricas reduzidas resultaram em superfícies mais regulares e estabilidade melhorada da amostra.

Além disso, as morfologias esféricas da nanocápsulas, associado ao tamanho apropriado, torna esse nanossistema em um meio com propriedades ideais para a liberação de fármacos e alta eficiência de encapsulação (Deng et al., 2020).

#### **5.3.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier da NCPs**

Tendo em vista o objetivo de confirmar a composição química das formulações com base em seus grupos funcionais, as nanocápsulas foram analisadas por FTIR (figura 17).

**Figura 17 – Análise comparativa dos espectros de FTIR dos componentes e formulações utilizados na produção da NCPs F17 e F18.**



Fonte: Nunes, 2025.

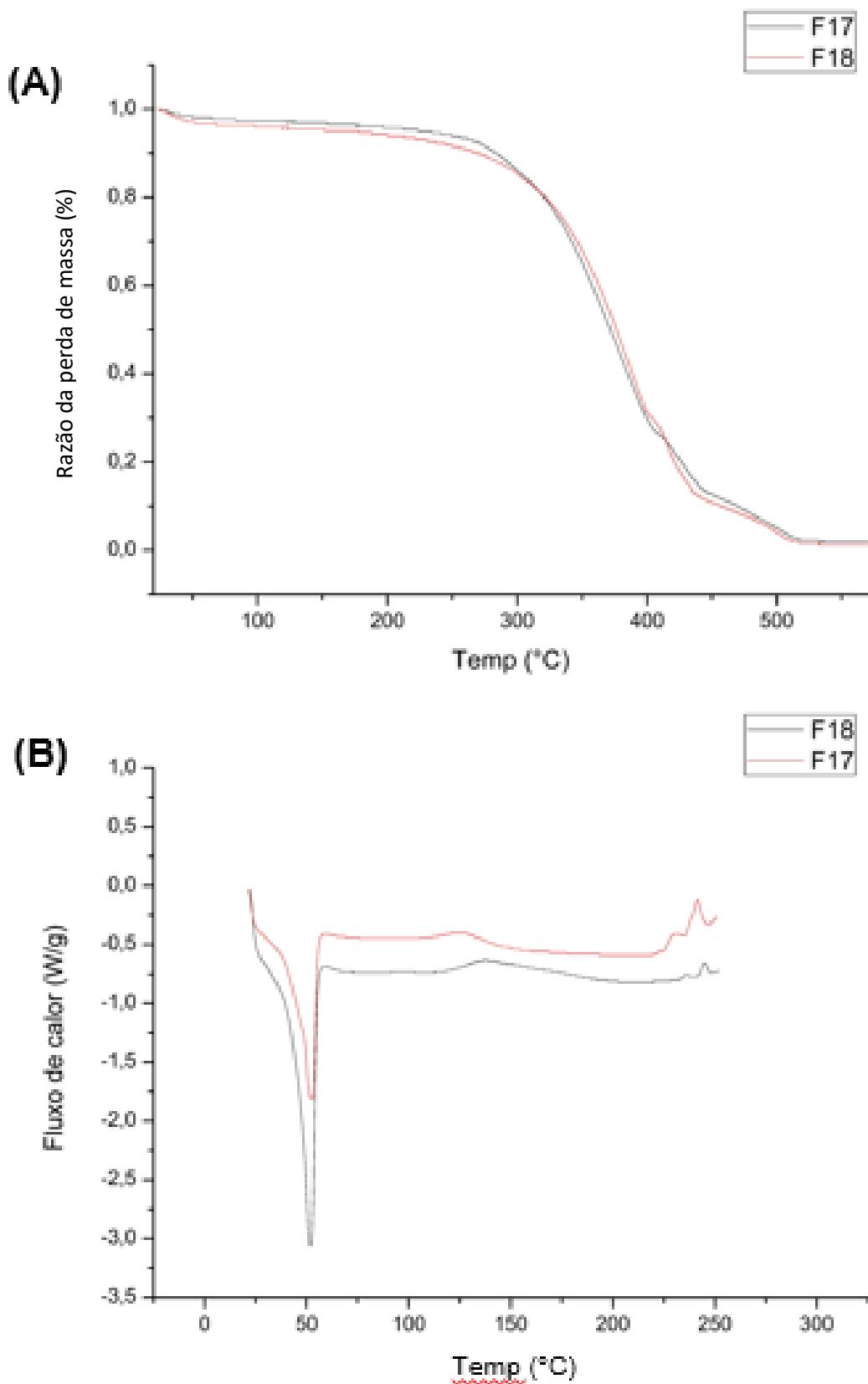
A análise por espectroscopia no infravermelho permitiu identificar os principais grupos funcionais presentes tanto no extrato de *Mentha x villosa* Huds quanto nas formulações F17 e F18. O espectro do extrato apresentou uma banda larga próximo a  $3300\text{ cm}^{-1}$  característico do estiramento O-H presente em compostos fenólicos e flavonoides, além de bandas próximas a  $1600\text{ cm}^{-1}$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$  que podem ser atribuídas ao estiramento C=C de compostos aromáticos e C=O de ácidos carboxílicos, respectivamente, o que corrobora com o perfil químico já descrito da espécie (Gomes, 2022). Já nos espectros das formulações F17 e F18 também foram vistas essas bandas, porém com menor intensidade ou leve deslocamento, o que pode sugerir a encapsulação parcial dos compostos do extrato e a interação destes com a matriz polimérica (Akcicek *et al.*, 2021).

Por volta de  $1720\text{ cm}^{-1}$  têm-se a presença de uma banda mais intensa nos espectros das formulações, podendo ser atribuída ao grupo carbonila do PCL-10, já os sinais na região de  $1100\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  são característicos às vibrações C-O-C dos ésteres, tanto do polímero quanto dos tensoativos Tween®80 e Span®60. Além disso, a atenuação da banda O-H nos espectros das formulações em comparação ao extrato sugere a formação de interações de Hidrogênio, principalmente entre os grupos fenólicos do extrato e os componentes do nanossistema (Chu *et al.*, 2013). Portanto, esses achados reforçam que o extrato foi eficientemente incorporado ao nanossistema, tanto no interior das nanocápsulas como disperso no meio externo.

### 5.3.5. Análises térmicas

A caracterização térmica das formulações F17 e F18 foi realizada pelas técnicas de TG e DSC e revelou que os perfis das amostras são semelhantes entre si, ou seja, a composição e a estabilidade térmica são compatíveis (figura 18).

Figura 18 – Análises térmicas - TG (A) e DSC (B) - das formulações F17 e F18.



Fonte: Nunes, 2025.

Na análise termogravimétrica, houve uma discreta perda de massa de aproximadamente 4% na faixa de temperatura entre 30 e 150°C, e isso pode ser atribuído à evaporação de água ou solventes voláteis em sistemas poliméricos, enquanto na faixa entre 200 e 300 °C verificou-se aproximadamente 12% de perda de massa, podendo ser relacionado à degradação térmica dos surfactantes presentes no meio, conforme já descrito por Carter, Kelly e Jenkins (2023). Em seguida, a perda de 60 a 70% de massa ocorreu entre 350 e 450 °C, correspondendo a degradação do polímero presente na formulação, assim como Ruseckaite e Jiménez (2003) observaram a degradação polimérica por volta de 432°C. Por fim, após 500°C a perda de massa se estabilizou, o que indica a decomposição total dos componentes orgânicos.

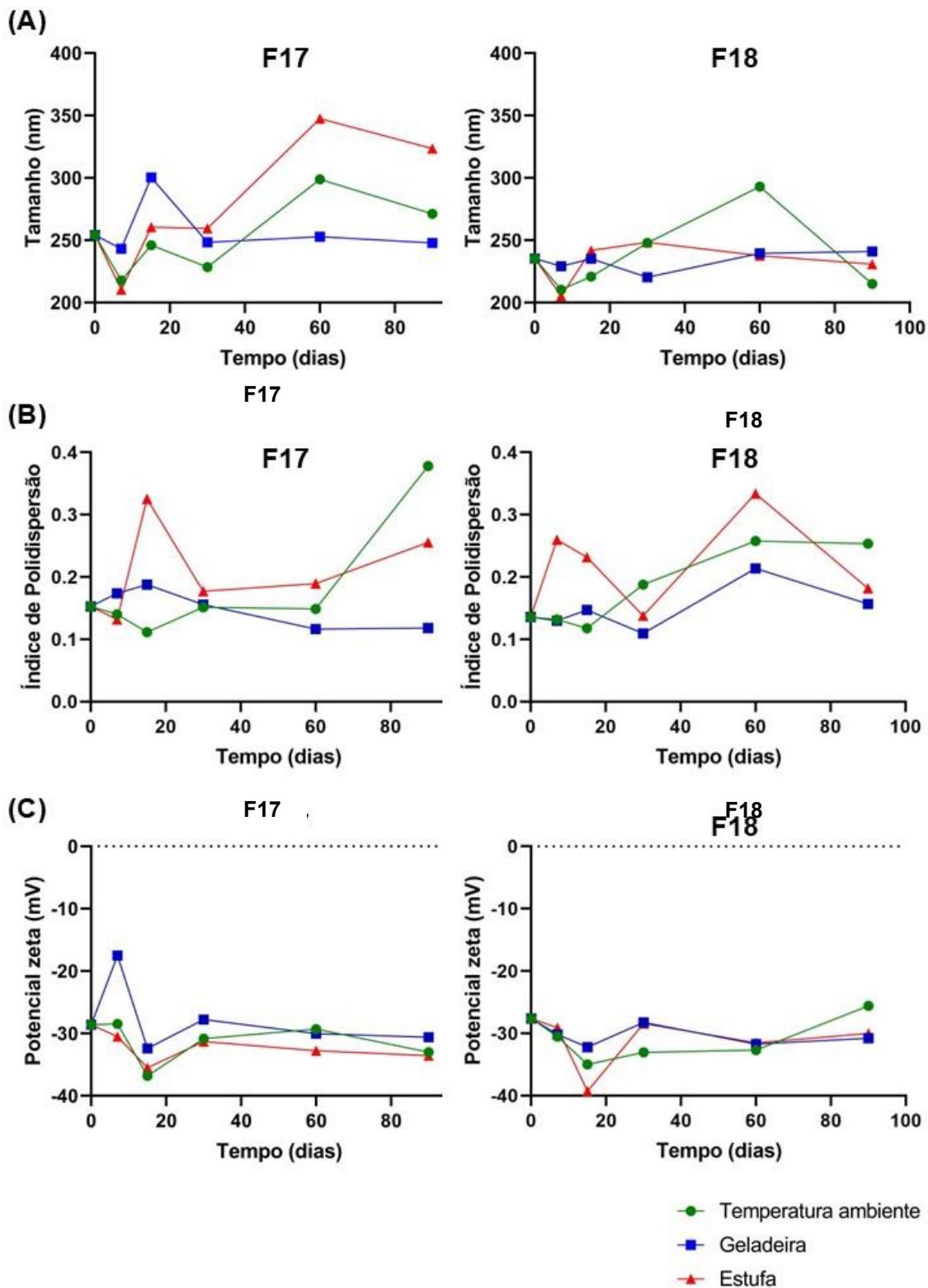
Em paralelo, a análise DSC de ambas as formulações revela um pico endotérmico entre 50 e 60°C, correspondente ao ponto de fusão da policaprolactona com natureza semicristalina (Campos; Marconato; Franchetti, 2010). Por outro lado, houve uma pequena diferença na intensidade desse pico entre as formulações, o que pode ser justificado por variações na organização da matriz polimérica influenciadas por interações com o extrato vegetal incorporado no nanossistema. Acima de 200°C há a presença de pequenos picos endotérmicos que podem estar relacionados com a transição de componentes menos estáveis, como os tensoativos (Kishore *et al.*, 2011), complementando o que foi observado na perda de massa na análise termogravimétrica.

Diante desses resultados, as formulações F17 e F18 podem ser consideradas adequadas para aplicações tópicas e liberação controlada, tendo em vista a sua estabilidade mesmo em temperaturas superiores às condições fisiológicas, assim como a eficácia do sistema polimérico como matriz carreadora.

#### **5.4. Estabilidade dos nanossistemas**

A análise de estabilidade dos parâmetros tamanho, Pdl e potencial zeta foram realizadas a partir do armazenamento das amostras F17 e F18 em três temperaturas distintas: geladeira (4°C), temperatura ambiente (25°C) e em condição acelerada (37°C). Os testes foram realizados nos dias 0, 7, 15, 30, 60, 90 (Figura 19).

**Figura 19 - Comportamento do tamanho (A), Pdi (B) e potencial zeta (C) das NCPs quando submetidas a 4, 25 e 37°C.**



**Fonte:** Nunes, 2025.

As formulações permaneceram macroscopicamente estáveis, sem alteração visual na cor ou separação de fases. Já com relação ao tamanho das partículas, foi observado que a F17 apresentou maior variação ao longo do tempo, principalmente a alíquota armazenada em estufa, atingindo valores até 350 nm. Essa alteração já foi relatada por Pyo e colaboradores (2017) e isso pode estar relacionado a agregação de partículas ocasionadas por temperaturas elevadas, comprometendo assim, a estabilidade coloidal do sistema (Beirowski *et al.*, 2011). Por outro lado, a F18 apresentou comportamento mais estável nesse parâmetro, com variações menos acentuadas, que pode ser atribuída à presença mais elevada de *M. x villosa*, cujo os metabólitos podem interagir com a superfície das nanopartículas e reduzir a chance de agregação e variação no tamanho das partículas (LIU; CHANG; CHEN, 2018).

Já o índice de polidispersão permaneceu abaixo de 0,3 na maioria dos pontos em ambas as formulações, indicando homogeneidade na distribuição de tamanho. E segundo Danaei e colaboradores (2018), valores de Pdl menor que 0,3 são considerados aceitáveis e ideais para nanossistemas particulados com potencial para aplicação farmacêutica, e apesar de algumas variações, ambas as formulações estão adequadas para prosseguir os estudos.

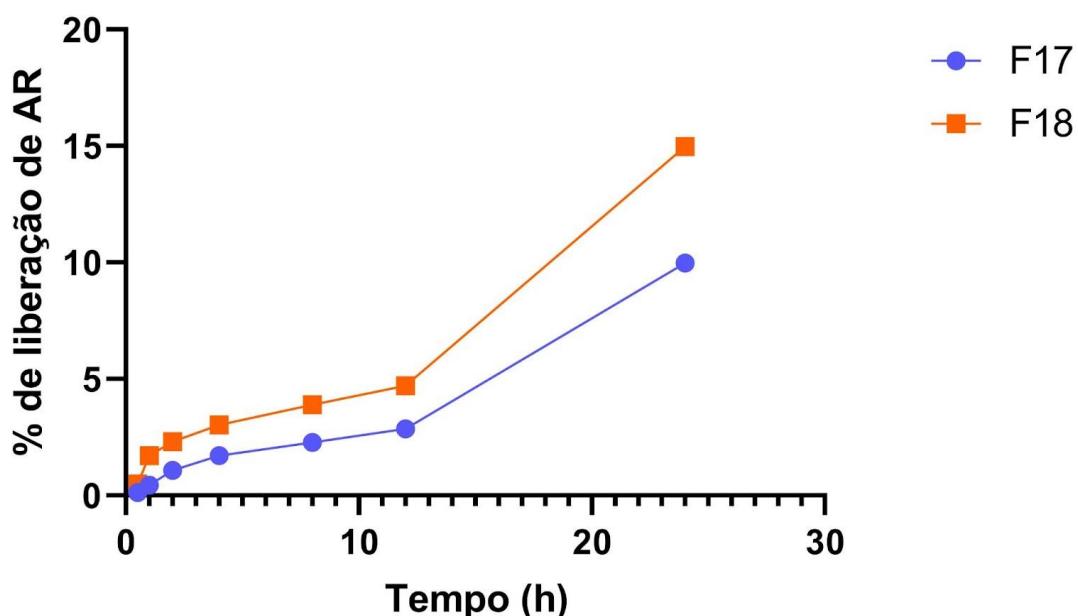
Quanto ao potencial zeta, F17 e F18 apresentaram valores negativos entre -25 e -35 mV em todas as condições de armazenamento. Esses valores indicam que há repulsão eletrostática entre as partículas capaz de manter a estabilidade coloidal, e potenciais zeta acima de +30 mV ou abaixo de -30 mV confere maior prevenção contra agregação das partículas por aumentar as forças repulsivas, sendo assim, aumenta a estabilidade do sistema (Honary; Zahir, 2013).

Diante disso, os dados sugerem que a F18 apresentou melhor perfil de estabilidade físico-química ao longo do período de armazenamento, principalmente acerca do tamanho das partículas e do Pdl. Além disso, as amostras armazenadas sob refrigeração foram mais preservadas, tendo em vista que temperaturas mais baixas reduzem a energia cinética do sistema, reduzindo a ocorrência de fusão, agregação ou degradação dos componentes (Ball; Bajaj; Whitehead, 2017; Velgosova *et al.*, 2017).

### 5.5. Cinética de liberação *in vitro* de AR pelas NCPs

A cinética de liberação de AR *in vitro* pelas nanoformulações foi realizada para analisar a quantidade de ativo que é disponibilizado no meio com o decorrer do tempo. Dessa forma, foram coletadas amostras do meio de liberação nos tempos: 30 minutos, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 horas, os resultados da concentração do ativo em ug/mL foram obtidos por CLAE e a porcentagem de liberação acumulada do ativo foi calculada e um gráfico (figura 20) foi gerado com esses resultados.

**Figura 20 – Perfil da cinética de liberação de AR pelas formulações F17 e F18.**



**Fonte:** Nunes, 2025.

Diante disso, as formulações F17 e F18 apresentaram um perfil sustentado de liberação semelhante ao longo de 24 horas, sendo a F18 com liberação discretamente mais acentuada durante todo o período avaliado. Essa discrepância pode ser atribuída a maior concentração de extrato presente na formulação F18 (5 mg) em comparação a F17 (3mg), o que aumenta o gradiente de concentração e, por consequência, favorece a difusão do ativo para o meio externo. Somado a isso, o excesso de AR na pode dar origem a formação de

canais na matriz polimérica do nanossistema, devido à natureza semicristalina do PCL, permitindo a liberação controlada do ativo (Rosenberg *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2023).

No entanto, deve-se destacar que os baixos percentuais de liberação observados ao longo de 24 horas podem ser atribuídos a alta afinidade e interação dos compostos fenólicos do extrato, incluindo o AR, com a membrana de celulose, causando potencial adsorção das moléculas e retenção sobre a superfície da membrana, dificultando sua difusão para o meio receptor (Costa; Rogez; Pena, 2015; Phan *et al.*, 2015), e por isso, pode ter subestimado a fração efetivamente liberada pelo sistema.

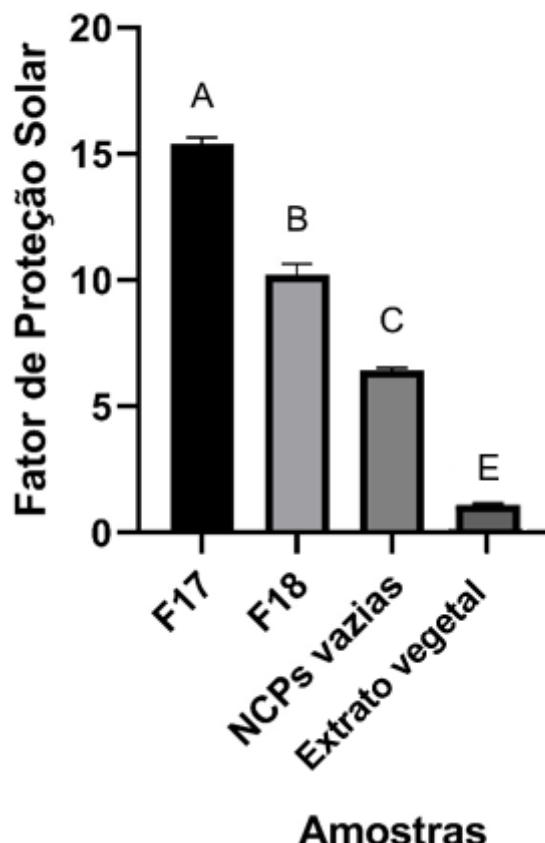
Ainda assim, tendo em vista que o objetivo final dessas nanoformulações é a aplicabilidade em fotoproteção, o perfil de liberação sustentada apresenta vantagens ao permitir uma ação prolongada do ativo, auxiliando na manutenção da eficácia ao longo do tempo de exposição solar (De Araújo *et al.*, 2024). Além disso, a liberação gradual minimiza os riscos de toxicidade ou degradação acelerada do ativo (Vettor *et al.*, 2008; Gholap *et al.*, 2023).

### **5.6. Determinação do FPS *in vitro***

Foi realizada uma varredura em espectrofotômetro para obtenção dos valores de absorbância de 290 a 320 nm em intervalos de 5 nm e os resultados foram adicionados a equação 4. Dessa forma, a F17 apresentou FPS de 15,31  $\pm$  0,23, enquanto F18 atingiu valor de 10,22  $\pm$  0,42. Já as nanocápsulas vazias, sem o extrato vegetal, apresentaram FPS de 6,53 e o extrato isolado exibiu FPS de 1,06 (figura 21). Portanto, o encapsulamento do extrato em um nanossistema promoveu ação fotoprotetora significativamente maior do que seus compostos isolados.

**Figura 21 – Valores de FPS do extrato de *M. x villosa* Huds, formulações F17, F18 e NCPs vazias.**

## Resultado do FPS



### Amostras

Amostras que não compartilham a mesma letra apresentam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ), conforme determinado por ANOVA seguida de pós-teste de Tukey.

**Fonte:** Nunes, 2025.

O baixo desempenho fotoprotetor observado no presente estudo pode ser atribuído à concentração reduzida do extrato utilizada no teste *in vitro* (0,02 mg/mL), a qual foi escolhida intencionalmente para refletir com fidelidade a dosagem presente na nanoformulação, em contraste ao valor de FPS de 14,79 na concentração de 0,2mg/mL em estudos anteriores, evidenciando seu potencial de proteção contra a radiação UV devido a presença de compostos fenólicos e flavonoides no extrato (Gomes, 2022). E essa abordagem de empregar menores concentrações do ativo em sistemas encapsulados é respaldado na literatura com o objetivo de garantir maior estabilidade, segurança e compatibilidade com a matriz polimérica. Além disso, o sistema final

nanoparticulado permite aumentar a proteção UV empregando menor concentração de ativos (Chang *et al.*, 2023).

Já as nanocápsulas vazias, sem o extrato vegetal, demonstrou proteção significativa quando comparado ao extrato puro, o que sugere que o próprio nanossistema é capaz de dispersar e absorver a radiação UV ao formar um filme uniforme na superfície da pele (Frank *et al.*, 2022). Barbosa e colaboradores (2019) também observaram que as nanocápsulas vazias apresentaram FPS de 6,84, ao passo que o óleo de cenoura isolado foi de 6,80 e o valor atribuído a formulação com filtro encapsulado foi de 8,64, portanto, a estrutura da nanocápsula propriamente dita contribuiu significativamente na proteção solar.

Diante disso, o aumento significativo dos valores de FPS em F17 e F18 reforça a hipótese de um efeito sinérgico entre o extrato de *Mentha x villosa* e o nanossistema. Além disso, a formulação com maior eficácia foi a F17, e isso pode estar relacionado com o equilíbrio entre a menor concentração do extrato e a sua incorporação em nanocápsulas poliméricas ter influenciado na maior estabilidade e dispersão do ativo na formulação, diferentemente da F18 que empregou maior dosagem da espécie vegetal, mas obteve resultado inferior de FPS. De Araújo e colaboradores (2024) também observaram que uma formulação com redução de 10% de filtros UV superou a proteção solar comparada à formulação padrão com maior quantidade de filtro, devido a maior proteção e estabilidade proporcionadas pelo encapsulamento.

Portanto, esses resultados ressaltam o potencial das nanopartículas poliméricas como alternativa promissora para liberação de ativos naturais com atividade fotoprotetora e também capaz de melhorar a eficácia de proteção sem a utilização de altas concentrações de extrato ou a adição de filtros solares sintéticos. Por isso, o estudo se destaca por valorizar o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras seguras, sustentáveis e com grandes chances de incorporação no mercado.

### **5.7. Ensaio de viabilidade celular *in vitro***

O ensaio de redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) foi utilizado para avaliar a citotoxicidade das amostras na linhagem celular HaCat por meio da manutenção ou redução da viabilidade

celular. Esse método permite quantificar a viabilidade e a proliferação celular com base na conversão do MTT, um corante amarelo solúvel em água, em cristais de formazan azul-púrpura. Essa conversão ocorre devido à clivagem do anel de tetrazólio por desidrogenases mitocondriais e outras enzimas lisossomais em células metabolicamente ativas. A solubilização dos cristais permite a quantificação espectrofotométrica, sendo a intensidade da coloração proporcional ao número de células viáveis (MOSMANN, 1983; KUMAR *et al.*, 2018).

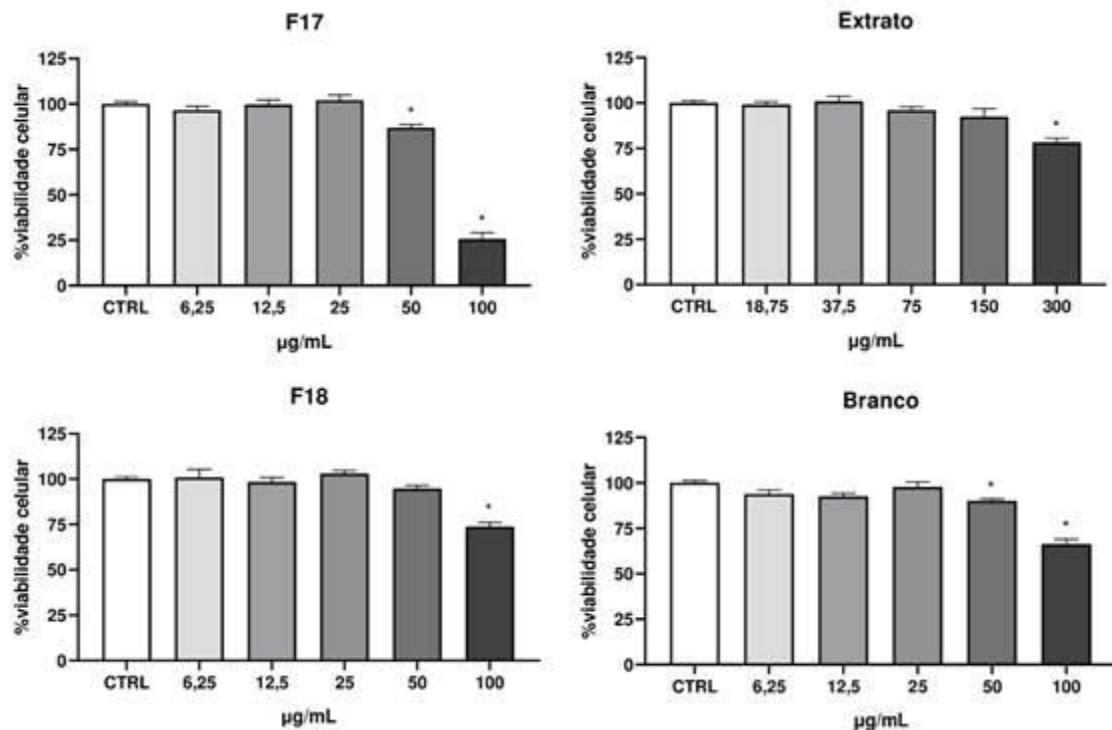
Os resultados são expressos na Tabela 7 e figura 22, que mostra as concentrações capazes de inibir 50% da viabilidade celular ( $IC_{50}$ ) para amostra após o tratamento por 24 horas.

**Tabela 7 - Concentrações das amostras que inibem 50% do crescimento celular ( $IC_{50}$ ) em HaCat após o tratamento com as amostras por 24 horas, utilizando o ensaio do MTT.**

Amostra	$IC_{50}$
F17	78,06 ± 1,89
F18	<100
Extrato	<100
Branco	<100

**Fonte:** Nunes, 2025.

**Figura 22 – Citotoxicidade dos compostos na linhagem HaCat, após tratamento por 24 horas, utilizando o ensaio do MTT.**



Os dados foram comparados por análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Dunnett.  
\* $p < 0,05$  comparado ao grupo controle.

**Fonte:** Nunes, 2025.

Os resultados obtidos no ensaio de viabilidade celular indicam que as formulações F17 e F18 apresentam perfil de toxicidade dependente da concentração. As duas formulações mantiveram a viabilidade celular acima de 85% nas concentrações de 6,25 a 50  $\mu\text{g/mL}$ , mas a viabilidade reduziu a partir de 100  $\mu\text{g/mL}$ , principalmente no ensaio da F17, cuja taxa caiu para 25%. Esse comportamento sugere que os componentes do nanossistema, em altas concentrações, podem comprometer a viabilidade celular (Youm *et al.*, 2014; Voigt *et al.*, 2014), conforme evidenciado também no controle branco. Além disso, o encapsulamento pode ter favorecido maior internalização dos compostos, levando a uma concentração intracelular que ultrapassa a tolerância da linhagem HaCat (Ma *et al.*, 2011).

Além disso, cabe destacar que a formulação F17 possui menor teor de extrato por partícula, o que exigiu uma maior quantidade de nanopartículas no meio de cultivo para atingir as concentrações desejadas de extrato. Esse aumento na carga de partículas implica também em maior quantidade dos componentes da matriz nanoestruturada, o que pode gerar estresse celular, comprometendo a viabilidade. Esse fator pode explicar, pelo menos em parte, o perfil de citotoxicidade observado na F17, particularmente nas maiores doses testadas. E apesar das formulações apresentarem indícios de toxicidade em concentrações mais altas, esses efeitos só ocorrem em níveis mais elevados que os empregados em outras análises, ou seja, dentro das concentrações usuais, o sistema se mantém seguro.

Outro ponto relevante a ser considerado é o possível efeito citoprotetor do extrato vegetal utilizado, que pode ser atribuído a presença expressiva de AR que já possui atividade citoprotetora conhecida (Chamnanthongpiwan; Palanuvej; Ruangrungsi, 2021). A manutenção da viabilidade celular elevada nas amostras tratadas com o extrato, mesmo em concentrações elevadas, pode ser atribuída a presença de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e protetoras da integridade celular, como compostos fenólicos e flavonoides (Lahlou *et al.*, 2024). Este efeito parece, inclusive, mitigar parcialmente a citotoxicidade observada nas formulações nanoestruturadas F17 e F18 quando comparadas ao controle Branco (nanoformulações sem extrato), indicando que o extrato exerce um papel benéfico na proteção da linhagem HaCaT contra os efeitos deletérios dos componentes da formulação, destacando o potencial antioxidante e anti-inflamatório de *Mentha x villosa* Huds na proteção de células da pele (Fialova *et al.*, 2015)

# Considerações finais

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de nanoformulações contendo o extrato de *Mentha x villosa* Huds mostrou-se uma estratégia promissora para a criação de sistemas fotoprotetores eficazes, estáveis e seguros. Nesse sentido, estudos de pré-formulação e do planejamento fatorial acarretou na escolha das nanocápsulas poliméricas obtidas por dupla emulsão como nanossistema a ser estudado e otimizado, que findou na obtenção das formulações F17 e F18 como sistemas finais de análise.

Dessa forma, F17 e F18 apresentaram características físico-químicas apropriadas para aplicação tópica sem absorção sistêmica, como tamanho de partículas superior a 200 nm, e estabilidade coloidal adequada com o índice de polidispersão reduzido e potencial zeta negativo. Além disso, foi possível alcançar valores próximos a 50% da eficiência de encapsulação do AR, principal marcador da espécie vegetal, o que favorece uma ação bifásica, com ação fotoprotetora imediata e prolongada, contribuindo para a manutenção da eficácia ao longo da exposição solar.

No que tange a caracterização das amostras, as análises térmicas demonstraram o comportamento termicamente estável das formulações, que foi corroborada pelo estudo de estabilidade físico-química, onde os sistemas mantiveram suas propriedades ao longo de 90 dias, principalmente quando sob refrigeração. Também foi analisado o perfil de liberação sustentada do AR ao longo de 24 horas de ambas as formulações, sendo mais proeminente na F18. Somado a isso, o estudo do FPS evidenciou a eficácia fotoprotetora das formulações, especialmente a F17, com valor de FPS significativamente superior ao extrato e às nanocápsulas vazias, e esse resultado destaca que a nanoencapsulação estabiliza o ativo e também potencializa a eficácia fotoprotetora do extrato. Quanto a segurança, as formulações demonstraram perfil seguro para uso tópico, com baixa citotoxicidade e indícios de efeito citoprotetor promovido pelo extrato vegetal.

Portanto, os resultados obtidos neste trabalho apontam que as nanocápsulas poliméricas desenvolvidas oferecem uma alternativa eficiente para o encapsulamento de extratos vegetais com atividade fotoprotetora, aliando

estabilidade, perfil de liberação controlado, eficácia fotoprotetora e segurança celular. E isso reforça o potencial dessas nanoformulações como candidatas promissoras para aplicações futuras em produtos cosméticos e dermatológicos voltados à proteção solar, com base em ativos naturais e tecnologia de liberação inteligente.

# Referências

## 7. REFERÊNCIAS

- ADDOR, Flavia Alvim Sant'Anna. Beyond photoaging: additional factors involved in the process of skin aging. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**, p. 437-443, 2018.
- ADDOR, Flavia Alvim Sant'anna *et al.* Sunscreen lotions in the dermatological prescription: review of concepts and controversies. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 97, n. 2, p. 204-222, 2022.
- AFONSO, Milessa S. *et al.* Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. **Nutrition & metabolism**, v. 10, p. 1-9, 2013.
- AGARRY, Israel Emiezi *et al.* Utilization of different carrier agents for chlorophyll encapsulation: Characterization and kinetic stability study. **Food Research International**, v. 160, p. 111650, 2022.
- AGUILERA, José; GRACIA-CAZAÑA, Tamara; GILABERTE, Yolanda. New developments in sunscreens. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 22, n. 10, p. 2473-2482, 2023.
- AKCICEK, Alican *et al.* Encapsulation of olive pomace extract in rocket seed gum and chia seed gum nanoparticles: Characterization, antioxidant activity and oxidative stability. **Foods**, v. 10, n. 8, p. 1735, 2021.
- AKHIGBE, Roland; AJAYI, Ayodeji. The impact of reactive oxygen species in the development of cardiometabolic disorders: a review. **Lipids in Health and Disease**, v. 20, n. 1, p. 23, 2021.
- AL-DHABI, Naif Abdullah *et al.* Recent studies on rosmarinic acid and its biological and pharmacological activities. **EXCLI journal**, v. 13, p. 1192, 2014.
- ALEXANDER, Caroline M. *et al.* Dermal white adipose tissue: a new component of the thermogenic response. **Journal of lipid research**, v. 56, n. 11, p. 2061-2069, 2015.
- ALKADI, Hourieh. A review on free radicals and antioxidants. **Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)**, v. 20, n. 1, p. 16-26, 2020.
- AL-SHEHRI, Saad S. Reactive oxygen and nitrogen species and innate immune response. **Biochimie**, v. 181, p. 52-64, 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Manual de Regularização de Protetor Solar.** Distrito Federal, 2024.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Resolução - RDC N° 629, de 10 de março de 2022.** Distrito Federal, 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Resolução - RDC N° 752, de 19 de setembro de 2022.** Distrito Federal, 2022.

APROTOSSOAI, Ana Clara *et al.* Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Mentha gattefossei* maire essential oil. **Farmacia**, v. 66, n. 5, p. 778-782, 2018.

ARAKI, Stephany Mayumi; BABY, André Rolim. New Perspectives on Titanium Dioxide and Zinc Oxide as Inorganic UV Filters: Advances, Safety, Challenges, and Environmental Considerations. **Cosmetics**, v. 12, n. 2, p. 77, 2025.

ARAÚJO, Vaneska Aimee Paranhos *et al.* Optimization of polyphenol extraction with potential application as natural food preservatives from brazilian amazonian species *Dalbergia monetaria* and *Croton cajucara*. **Processes**, v. 11, n. 3, p. 669, 2023.

ARNOLD, Melina *et al.* Global burden of cutaneous melanoma in 2020 and projections to 2040. **JAMA dermatology**, v. 158, n. 5, p. 495-503, 2022.

ARTIGA-ARTIGAS, María *et al.* Formation of double (W 1/O/W 2) emulsions as carriers of hydrophilic and lipophilic active compounds. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, p. 422-435, 2019.

ÁVILA, Mariana Teixeira de; CONTESSA, Camila Ramão; MICHELON, Mariano; MORAES, Caroline Costa; BURKET, Janaína Fernandes de Medeiros. Técnicas de síntese de lipossomas aplicados à bacteriocinas. In: AGRON FOOD ACADEMY (Org.). **Ciência e tecnologia de alimentos: pesquisas e avanços.** [S.I.]: Agron Food Academy, 2023. Cap. 4. Disponível em: <https://agronfoodacademy.com/tecnicas-de-sintese-de-lipossomas-aplicados-a-bacteriocinas/>. Acesso em: 13 maio 2025.

BADRI, Waisudin *et al.* Effect of process and formulation parameters on polycaprolactone nanoparticles prepared by solvent displacement. **Colloids and surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, v. 516, p. 238-244, 2017.

BAEK, Jinok; LEE, Min-Geol. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. **Redox Report**, v. 21, n. 4, p. 164-169, 2016.

BALL, Rebecca L.; BAJAJ, Palak; WHITEHEAD, Kathryn A. Achieving long-term stability of lipid nanoparticles: examining the effect of pH, temperature, and lyophilization. **International journal of nanomedicine**, p. 305-315, 2017.

BALLESTER, I. et al. Multicenter case-control study of risk factors for cutaneous melanoma in Valencia, Spain. **Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)**, v. 103, n. 9, p. 790-797, 2012.

BARBOSA, Thallysson Carvalho et al. Development, cytotoxicity and eye irritation profile of a new sunscreen formulation based on benzophenone-3-poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules. **Toxics**, v. 7, n. 4, p. 51, 2019.

BARREIROS, André LBS; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.

BEIROWSKI, Jakob et al. Freeze drying of nanosuspensions, 2: The role of the critical formulation temperature on stability of drug nanosuspensions and its practical implication on process design. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 100, n. 10, p. 4471-4481, 2011.

BELLAVITE, Paolo; IMBRIANO, Alice. Skin Photoaging and the Biological Mechanism of the Protective Effects of Hesperidin and Derived Molecules. **Antioxidants**, v. 14, n. 7, p. 788, 2025.

BENABDALLAH, Amina et al. Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild *Mentha* species from northeastern Algeria. **South African Journal of Botany**, v. 116, p. 131-139, 2018.

BENABDALLAH, Amina et al. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 6, n. 9, p. 760-766, 2016.

BEZERRA, Ana Carolina et al. Structural characterization of mint (*Mentha x villosa* Huds.) stem and leaf. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 36, n. 2, p. 1-6, 2019.

BHADRAN, Abhi et al. Recent advances in polycaprolactones for anticancer drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 7, p. 1977, 2023.

BISPO, Maíra de Oliveira et al. Photoprotective Efficacy of the Association of Rosmarinic Acid 0.1% with Ethylhexyl Methoxycinnamate and Avobenzene. **Cosmetics**, v. 10, n. 1, p. 11, 2023.

BORALDI, Federica *et al.* The role of fibroblasts in skin homeostasis and repair. **Biomedicines**, v. 12, n. 7, p. 1586, 2024.

BORGES, Fábio Cardoso *et al.* Potencial alelopático de duas neolignanas isoladas de folhas de Virola surinamensis (Myristicaceae). **Planta Daninha**, v. 25, p. 51-59, 2007.

BOROMPICHAICHARTKUL, Chaleeda; HAMAD, Alwani; SURIYARAK, Sarisa. Encapsulation of curcumin by spray drying using the combination of tween 80 and chitosan. **Journal of Food Technology, Siam University**, v. 15, n. 2, p. 96-109, 2020.

BRAHMI, Fatiha *et al.* Chemical composition and biological activities of *Mentha* species. In: **Aromatic and medicinal plants-Back to nature**. IntechOpen, 2017.

BRAR, Gurjasan *et al.* A Comprehensive Review of the Role of UV Radiation in Photoaging Processes Between Different Types of Skin. **Cureus**, v. 17, n. 3, 2025.

BREM, Reto; GUVEN, Melisa; KARRAN, Peter. Oxidatively-generated damage to DNA and proteins mediated by photosensitized UVA. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 107, p. 101-109, 2017.

BRENNER, Michaela; HEARING, Vincent J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. **Photochemistry and photobiology**, v. 84, n. 3, p. 539-549, 2008.

BROWN, Nicole; JOHN, Jenny A.; SHAHIDI, Fereidoon. Polyphenol composition and antioxidant potential of mint leaves. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2019.

BROWN, T. M.; KRISHNAMURTHY, K. Histology, Dermis.[Updated 2022 Nov 14]. **StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**, 2024.

BU, Xiaotong *et al.* The combination of starch nanoparticles and Tween 80 results in enhanced emulsion stability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 2048-2059, 2020.

BUDIANTO, E.; FACHRUDIN, I. Encapsulation efficiency and in vitro dissolution test of captopril microcapsule from polyblend poly (D-lactic acid) and polycaprolactone. In: **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing, 2020.

CALLES, Christian *et al.* Infrared A radiation influences the skin fibroblast transcriptome: mechanisms and consequences. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 130, n. 6, p. 1524-1536, 2010.

CALVO, María José *et al.* Antioxidants in photoaging: from molecular insights to clinical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 4, p. 2403, 2024.

CAMARÇO, Maria Gabryella Pereira da Silva *et al.* PERFIL EPIDEMIOLOGICO DO CÂNCER DE PELE, NO BRASIL, DE 2019 A 2023. **Periódicos Brasil. Pesquisa Científica**, v. 3, n. 2, p. 1001-1009, 2024.

CAMPOS, Adriana de; MARCONATO, José C.; FRANCHETTI, Sandra MM. Biodegradação de Filmes de PP/PCL em Solo e Solo com Chorume. **Polímeros**, v. 20, p. 295-300, 2010.

CAMPOS, Débora A. *et al.* Optimization of the production of solid Witepsol nanoparticles loaded with rosmarinic acid. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 115, p. 109-117, 2014.

CAROVIĆ-STANKO, Klaudija *et al.* Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods-a review. **Czech journal of food sciences**, v. 34, n. 5, p. 377-390, 2016.

CARTAXO, Sarahbelle Leitte; DE ALMEIDA SOUZA, Marta Maria; DE ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, 2010.

CARTER, Joseph L.; KELLY, Catherine A.; JENKINS, Mike J. Processing optimization of PEDOT: PSS and PEDOT: PSS/Tween 80 films. **Polymer Journal**, v. 55, n. 3, p. 253-260, 2023.

CASTRO, Tailaine Nascimento de; MOTA, Milleno Dantas; CAZEDEY, Edith Cristina Laignier. Photoprotective and antioxidant activity of phenolic compounds: a systematic review of in vitro tests. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 51, n. 2, p. 557-588, 2022.

ČAVAR ZELJKOVIĆ, Sanja *et al.* Phenolic compounds and biological activity of selected Mentha species. **Plants**, v. 10, n. 3, p. 550, 2021.

ČAVAR ZELJKOVIĆ, Sanja *et al.* Antiviral activity of selected Lamiaceae essential oils and their monoterpenes against SARS-CoV-2. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 893634, 2022.

CEFALI, Letícia Caramori *et al.* Ensaio in vitro de FPS e fotoestabilidade de emulsão contendo nanopartículas com extratos vegetais ricos em flavonoides. **Aaps Pharmscitech**, v. 20, n. 1, p. 9, 2018.

CELEP, Ferhat; DIRMENCI, Tuncay. Systematic and biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. **Natural Volatiles and Essential Oils**, v. 4, n. 4, p. 14-27, 2017.

CHAMNANTHONGPIWAN, Ploychat; PALANUVEJ, Chanida; RUANGRUNGSI, Nijsiri. Pharmacognostic specification of *Mentha cordifolia* Leaf and stem with special reference to Rosmarinic Acid contents. **Interprofessional Journal of Health Sciences**, v. 19, n. 1, p. 33-44, 2021.

CHANG, Jungsoo *et al.* Nanoparticles as a therapeutic delivery system for skin cancer prevention and treatment. **JID Innovations**, v. 3, n. 4, p. 100197, 2023.

CHAROENSIN, Suphachai; DANSAKDA, Suwatsak. Modulatory effect of rosmarinic acid on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced adaptive glycolytic response in dermal fibroblasts. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5599, 2023.

CHATZIGIANNI, Myrto *et al.* Environmental impacts due to the use of sunscreen products: a mini-review. **Ecotoxicology**, v. 31, n. 9, p. 1331-1345, 2022.

CHAUDHARY, Priya *et al.* Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. **Frontiers in chemistry**, v. 11, p. 1158198, 2023.

CHEN, Qishan *et al.* Reactive oxygen species: key regulators in vascular health and diseases. **British journal of pharmacology**, v. 175, n. 8, p. 1279-1292, 2018.

CHEN, Yun-Chu *et al.* Control of drug release kinetics from hot-melt extruded drug-loaded polycaprolactone matrices. **Journal of Controlled Release**, v. 359, p. 373-383, 2023.

CHO, Eun Chul *et al.* Effect of particle size, composition, and thermal treatment on the crystalline structure of polycaprolactone nanoparticles. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 5, p. 1679-1685, 2006.

CHOVATIYA, Raj; MEDZHITOY, Ruslan. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. **Molecular cell**, v. 54, n. 2, p. 281-288, 2014.

CHU, Wei-Cheng *et al.* Hydrogen bonding-mediated microphase separation during the formation of mesoporous novolac-type phenolic resin templated by

the triblock copolymer, PEO-b-PPO-b-PEO. **Materials**, v. 6, n. 11, p. 5077-5093, 2013.

COLA, Diego Faria. **Efeito de nanocarreadores de zeína contendo associação entre isolados vegetais e ivermectina em Rhipicephalus microplus**. 2021. 84f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Sorocaba. 2021. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/92cd8dd3-d58b-4d7e-a304-047e91131eb2/content>. Acesso em: 26 jun. 2025.

CORRÊA, Marcelo de Paula. Solar ultraviolet radiation: properties, characteristics and amounts observed in Brazil and South America. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 90, p. 297-313, 2015.

COSTA, Danilo Aparecido. **Efeitos de protetores solares comerciais na sobrevivência, reprodução e desenvolvimento embrionário de caramujo Biomphalaria glabrata (SAY, 1818)**. 2019. 76 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) — Universidade de Brasília, Brasília, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/35259>. Acesso em: 23 abr. 2023

COSTA, Telma dos Santos; ROGEZ, Hervé; PENA, Rosinelson da Silva. Adsorption capacity of phenolic compounds onto cellulose and xylan. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 35, n. 2, p. 314-320, 2015.

D'ORAZIO, John *et al.* UV radiation and the skin. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 6, p. 12222-12248, 2013.

DA SILVA, Luiz Renan Ramos *et al.* Lamiaceae essential oils, phytochemical profile, antioxidant, and biological activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, n. 1, p. 6748052, 2021.

DALLEMOLE, Danieli R. *et al.* Nanocápsulas de núcleo lipídico: preparação, caracterização e aplicações biológicas. **Química Nova**, v. 46, n. 10, p. 983-997, 2023.

DANAEI, M. R. M. M. *et al.* Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 57, 2018.

DE ARAÚJO, Margarete M. *et al.* NLC-based sunscreen formulations with optimized proportion of encapsulated and free filters exhibit enhanced UVA and UVB photoprotection. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 3, p. 427, 2024.

DE MENEZES, Renata Priscila Barros *et al.* Exploring Lamiaceae diterpenoids as potential multitarget therapeutics for leishmaniasis and chagas disease. **Molecular Diversity**, p. 1-20, 2025.

DEBRAJ, Devangshi; CARPENTER, Jitendra; VATTI, Anoop Kishore. Understanding the effect of the oil-to-surfactant ratio on eugenol oil-in-water nanoemulsions using experimental and molecular dynamics investigations. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 62, n. 41, p. 16766-16776, 2023.

DEHGHANIAN, Zahra *et al.* Reinforcing the bulwark: unravelling the efficient applications of plant phenolics and tannins against environmental stresses. **Helion**, v. 8, n. 3, 2022.

DENG, S. *et al.* Polymeric Nanocapsules as Nanotechnological Alternative for Drug Delivery System: Current Status, Challenges and Opportunities. **Nanomaterials (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 5, 28 abr. 2020.

DI SALVO, Eleonora *et al.* Polyphenols from mediterranean plants: Biological activities for skin photoprotection in atopic dermatitis, psoriasis, and chronic urticaria. **Plants**, v. 12, n. 20, p. 3579, 2023.

DONG, Xiaowei *et al.* Development of new lipid-based paclitaxel nanoparticles using sequential simplex optimization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, n. 1, p. 9–17, 2009.

DOS SANTOS SALES, Samilly Gabrielly *et al.* Ensaio de pré-formulação e desenvolvimento de carreador lipídico nanoestruturado visando a terapia antileishmaniose. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 27, n. 1Supl, p. 93-110, 2024.

DREW, Bryan T.; SYTSMA, Kenneth J. Phylogenetics, biogeography, and staminal evolution in the tribe Mentheae (Lamiaceae). **American journal of botany**, v. 99, n. 5, p. 933-953, 2012.

EL AANACHI, Soukaina *et al.* In vitro study of the antioxidant, photoprotective, anti-tyrosinase, and anti-urease effects of methanolic extracts from leaves of six Moroccan Lamiaceae. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 2, p. 1785-1795, 2021.

EL GAMOUZ, Sabah *et al.* A Comparative Study of Phytochemical Profile of Different Solvents' Effects on Total Phenolic Content and Antioxidant Activities of Various Parts of Halimium halimifolium. **Journal of Chemistry**, v. 2022, n. 1, p. 3847716, 2022.

EZEKWE, Nneamaka; MAGHFOUR, Jalal; KOHLI, Indermeet. Visible light and the skin. **Photochemistry and photobiology**, v. 98, n. 6, p. 1264-1269, 2022.

EZEMA, Benjamin O. et al. Antioxidant-enzyme Interaction in Non-communicable Diseases. **Journal of Exploratory Research in Pharmacology**, v. 9, n. 4, p. 262-275, 2024.

FAISAL, Shah et al. Exploring the antibacterial, antidiabetic, and anticancer potential of *Mentha arvensis* extract through in-silico and in-vitro analysis. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 23, n. 1, p. 267, 2023.

FERREIRA, Flávia Regina; NASCIMENTO, Luiz Fernando Costa. Mortality due to cutaneous melanoma in south region of Brazil: a spatial approach. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 4, p. 437-441, 2016.

FERRI, P.H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas medicinais**: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar São Paulo: Fundação Editora Unesp, 1996. cap. 10, p.129-156.

FIALOVA, Silvia et al. Water extract of *Mentha x villosa*: Phenolic fingerprint and effect on ischemia-reperfusion injury. **Natural product communications**, v. 10, n. 6, p. 1934578X1501000636, 2015.

FIGUEROA-ROBLES, Alejandra; ANTUNES-RICARDO, Marilena; GUAJARDO-FLORES, Daniel. Encapsulation of phenolic compounds with liposomal improvement in the cosmetic industry. **International journal of pharmaceutics**, v. 593, p. 120125, 2021.

FINLAYSON, Louise et al. Depth penetration of light into skin as a function of wavelength from 200 to 1000 nm. **Photochemistry and Photobiology**, v. 98, n. 4, p. 974-981, 2022.

FONSECA, Magda et al. The impact of flavonoid-loaded nanoparticles in the UV protection and safety profile of topical sunscreens. **Biomolecules**, v. 13, n. 3, p. 493, 2023.

FONSECA, Maira Christina Marques et al. Effect of drying temperature on the yield and phytochemical quality of the essential oil of mint (*Mentha x villosa* Huds.). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 81101-81112, 2020.

FORRESTER, Steven J. et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. **Circulation research**, v. 122, n. 6, p. 877-902, 2018.

FRAJ, Asma et al. A comparative study of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil-based polycaprolactone nanocapsules/microspheres: Preparation,

physicochemical characterization, and storage stability. **Industrial crops and products**, v. 140, p. 111669, 2019.

FRANK, Luiza Abrahão *et al.* Evaluation of an efficient and skin-adherent semisolid sunscreen nanoformulation. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 35, n. 5, p. 291-298, 2022.

FREITAS, Rosangela Correia *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies Plectranthus amboinicus (Lour.) e Mentha x villosa (Huds.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, 2014.

FREZZA, Claudio *et al.* Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceutics of Lamiaceae. **Studies in natural products chemistry**, v. 62, p. 125–178, 2019.

FURUKAWA, Juliana Yuka *et al.* Skin impacts from exposure to ultraviolet, visible, infrared, and artificial lights—a review. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 23, n. 1-2, p. 1-7, 2021.

GABROS, Sarah; NESSEL, Trevor A.; ZITO, Patrick M. Sunscreens and photoprotection. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2023.

GÁL, Roland *et al.* Resveratrol and beyond: the effect of natural polyphenols on the cardiovascular system: a narrative review. **Biomedicines**, v. 11, n. 11, p. 2888, 2023.

GAN, Mengyue *et al.* The influence of mPEG-PCL and mPEG-PLGA on encapsulation efficiency and drug-loading of SN-38 NPs. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 45, n. 2, p. 389-397, 2017.

GARONE, Michael; HOWARD, John; FABRIKANT, Jordan. A review of common tanning methods. **The Journal of clinical and aesthetic dermatology**, v. 8, n. 2, p. 43, 2015.

GBIF SECRETARIAT. **Global Biodiversity Information Facility**. 2021.

GEOFFREY, Kiriiri; MWANGI, A. N.; MARU, S. M. Sunscreen products: Rationale for use, formulation development and regulatory considerations. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 7, p. 1009-1018, 2019.

GHOLAP, Amol D. *et al.* Drug delivery strategies for avobenzone: A case study of photostabilization. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 3, p. 1008, 2023.

GILANI, Sadaf Jamal; BIN-JUMAH, May Nasser; FATIMA, Farhat. Development of Statistically Optimized Piperine-Loaded Polymeric Nanoparticles for Breast Cancer: In Vitro Evaluation and Cell Culture Studies. **ACS omega**, v. 8, n. 46, p. 44183-44194, 2023.

GOMES AUGUST, Elaine Mara *et al.* Seasonal Phenolic Profile, Antioxidant, and Photoprotective Activities of Psidium guajava L. Leaves. **Chemistry & Biodiversity**, v. 22, n. 5, p. e202402852, 2025.

GOMES, Juliana de Medeiros *et al.* Seasonal variations of polyphenols content, sun protection factor and antioxidant activity of two Lamiaceae species. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 1, p. 110, 2021.

Gomes, Juliana de Medeiros. **Avaliação da atividade fotoprotetora, antioxidante e variação sazonal do extrato padronizado de *Mentha x villosa***. 2022. 171f. Tese (Doutorado em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), Programa de Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 2022.

GRESHAM, ALANE *et al.* Increased synthesis of high-molecular-weight cPLA2 mediates early UV-induced PGE2 in human skin. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 270, n. 4, p. C1037-C1050, 1996.

GROMKOWSKA-KĘPKA, Krystyna Joanna *et al.* The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging—review of in vitro studies. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 20, n. 11, p. 3427-3431, 2021.

GUAN, Huaquan *et al.* A comprehensive review of rosmarinic acid: from phytochemistry to pharmacology and its new insight. **Molecules**, v. 27, n. 10, p. 3292, 2022.

GUAN, Linna L.; LIM, Henry W.; MOHAMMAD, Tasneem F. Sunscreens and photoaging: a review of current literature. **American journal of clinical dermatology**, v. 22, n. 6, p. 819-828, 2021.

GULCIN, İlhami. Antioxidants: a comprehensive review. **Archives of Toxicology**, p. 1-105, 2025.

GUPTA, Vaibhav *et al.* Nanotechnology in cosmetics and cosmeceuticals—a review of latest advancements. **Gels**, v. 8, n. 3, p. 173, 2022.

FLIEGER, Jolanta *et al.* Selective Removal of Chlorophyll and Isolation of Lutein from Plant Extracts Using Magnetic Solid Phase Extraction with Iron

Oxide Nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 6, p. 3152, 2024.

HAN, Taotao; MIAO, Guopeng. Strategies, achievements, and potential challenges of plant and microbial chassis in the biosynthesis of plant secondary metabolites. **Molecules**, v. 29, n. 9, p. 2106, 2024.

HATEM, Shymaa *et al.* Recent advances in antioxidant cosmeceutical topical delivery. **Current Drug Delivery**, v. 15, n. 7, p. 953-964, 2018.

HEDAYATI, Sara *et al.* Encapsulation of mint essential oil: Techniques and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 321, p. 103023, 2023.

HEGDE, Aswathi Raju *et al.* Advancements in sunscreen formulations: integrating polyphenolic nanocarriers and nanotechnology for enhanced UV protection. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 26, p. 38061-38082, 2024.

HEJNA, Monika *et al.* Mint oils: In vitro ability to perform anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial activities and to enhance intestinal barrier integrity. **Antioxidants**, v. 10, n. 7, p. 1004, 2021.

HERRANZ, Beatriz *et al.* Phenolic compounds, microstructure and viscosity of onion and apple products subjected to in vitro gastrointestinal digestion. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 51, p. 114-125, 2019.

HERRMANN, Gernot *et al.* UVA irradiation stimulates the synthesis of various matrix-metalloproteinases (MMPs) in cultured human fibroblasts. **Experimental dermatology**, v. 2, n. 2, p. 92-97, 1993.

HITL, Maja *et al.* Rosmarinic acid–human pharmacokinetics and health benefits. **Planta medica**, v. 87, n. 04, p. 273-282, 2021.

HOLANDA, Bruna Fernanda de Lima Arruda. **Otimização de nanopartículas de poli (E - caprolactona) carregadas com resveratrol para tratamento do câncer de mama**. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2024. Disponível em:  
<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/59893/1/DISERTA%C3%87%C3%83O%20Bruna%20Fernanda%20de%20Lima%20Arruda%20Holanda.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2025.

HOLT, Emily L. et al. Determining the photostability of avobenzone in sunscreen formulation models using ultrafast spectroscopy. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 23, n. 42, p. 24439-24448, 2021.

HONARY, Soheyla; ZAHIR, Foruhe. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 2). **Tropical journal of pharmaceutical research**, v. 12, n. 2, p. 265-273, 2013.

HOODA, Reet; MADKE, Bhushan; CHOUDHARY, Ankita. Photoaging: reversal of the oxidative stress through dietary changes and plant-based products. **Cureus**, v. 15, n. 4, 2023.

HUANG, J. et al. Global incidence, mortality, risk factors and trends of melanoma: a systematic analysis of registries. **American journal of clinical dermatology**, v. 24, n. 6, p. 965-975, 2023.

HUERTA-MADRONAL, Miguel et al. Chitosan–Rosmarinic acid conjugates with antioxidant, anti-inflammatory and photoprotective properties. **Carbohydrate polymers**, v. 273, p. 118619, 2021.

HUIBERTS, Laura M.; SMOLDERS, Karin CHJ. Effects of vitamin D on mood and sleep in the healthy population: Interpretations from the serotonergic pathway. **Sleep medicine reviews**, v. 55, p. 101379, 2021.

ILYASOV, I. R. et al. ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 1131, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/3/1131>. Acesso em: 26 out. 2022.

INFANTE, Victor Hugo Pacagnelli et al. Influence of physical–mechanical properties on SPF in sunscreen formulations on ex vivo and in vivo skin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 598, p. 120262, 2021.

IQBAL, Muhammad et al. Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 173-190, 2015.

IQBAL, Muhammad et al. Preparation of biodegradable PCL particles via double emulsion evaporation method using ultrasound technique. **Colloid and Polymer Science**, v. 293, p. 861-873, 2015.

JANIK-ZABROTOWICZ, Ewa et al. Stability of chlorophyll a monomer incorporated into cremophor el nano-micelles under dark and moderate light conditions. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5059, 2020.

JESUS, Ana *et al.* Antioxidants in sunscreens: which and what for?. **Antioxidants**, v. 12, n. 1, p. 138, 2023.

JOMOVA, Klaudia *et al.* Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Archives of toxicology**, v. 97, n. 10, p. 2499-2574, 2023.

JUST-SAROBÉ, Miquel. Sunscreens and Their Impact on Human Health and the Environment: A Review. **International Journal of Dermatology**, 2025.

KANG, Chanhee *et al.* The DNA damage response induces inflammation and senescence by inhibiting autophagy of GATA4. **Science**, v. 349, n. 6255, p. aaa5612, 2015.

KAUR, Gurkirat; SINGH, Prastuty; SHARMA, Savita. Physical, morphological, and storage studies of cinnamon based nanoemulsions developed with Tween 80 and soy lecithin: A comparative study. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 3, p. 2386-2398, 2021.  
<https://doi.org/10.1007/s11694-021-00817-w>

KEE, Leong Ay; SHORI, Amal Bakr; BABA, Ahmad Salihin. Bioactivity and health effects of *Mentha spicata*. **Integr. Food Nutr. Metab**, v. 5, n. 1, p. 1-2, 2017.

KIM, Hee-Do *et al.* Naturally-occurring tyrosinase inhibitors classified by enzyme kinetics and copper chelation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 9, p. 8226, 2023.

KISHORE, Ravuri SK *et al.* Degradation of polysorbates 20 and 80: studies on thermal autoxidation and hydrolysis. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 100, n. 2, p. 721-731, 2011.

KNOCH, Hannah *et al.* Complex micellization behavior of the polysorbates Tween 20 and Tween 80. **Molecular pharmaceutics**, v. 18, n. 8, p. 3147-3157, 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.1c00406>

KOLA, Arian *et al.* A combined NMR and UV–Vis approach to evaluate radical scavenging activity of rosmarinic acid and other polyphenols. **Molecules**, v. 28, n. 18, p. 6629, 2023.

KOSTYUK, Vladimir *et al.* Natural Substances for Prevention of Skin Photoaging: Screening Systems in the Development of Sunscreen and Rejuvenation Cosmetics. **Rejuvenation Research**, v. 21, n. 2, p. 91–101, abr. 2018.

KRUTMANN, Jean *et al.* Daily photoprotection to prevent photoaging. **Photodermatology, photoimmunology & photomedicine**, v. 37, n. 6, p. 482-489, 2021.

KRYCZYK-POPRAWA, Agata; KWIECIEŃ, Anna; OPOKA, Włodzimierz. Photostability of topical agents applied to the skin: A review. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 1, p. 10, 2019.

KUMARI, Rima; PRASAD, Majeti Narasimha Vara. Medicinal plant active compounds produced by UV-B exposure. In: **Sustainable Agriculture Reviews: Volume 12**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. p. 225-254.

LAHLOU, Radhia Aitfella *et al.* Antioxidant, Phytochemical, and Pharmacological Properties of Algerian *Mentha aquatica* Extracts. **Antioxidants**, v. 13, n. 12, p. 1512, 2024.

LAU, Cher Haan; CHUA, Lee Suan. Solubility models for the recovery of rosmarinic acid from orthosiphon aristatus extract using solid phase extraction. **ChemEngineering**, v. 3, n. 3, p. 64, 2019.

LEE, Chia-Jung *et al.* The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. **Food chemistry**, v. 124, n. 3, p. 833-841, 2011.

LEE, Chiang-Wen *et al.* Effect of *Artocarpus communis* extract on UVB irradiation-induced oxidative stress and inflammation in hairless mice. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 2, p. 3860-3873, 2013.

LEE, Kil Ho *et al.* Polymer concentration maximizes encapsulation efficiency in electrohydrodynamic mixing nanoprecipitation. **Frontiers in nanotechnology**, v. 3, p. 719710, 2021.

LEE, Seung Eun; PARK, Yong Seek. The emerging roles of antioxidant enzymes by dietary phytochemicals in vascular diseases. **Life**, v. 11, n. 3, p. 199, 2021.

LEE, Su Jin *et al.* Hyaluronic acid/polyphenol sunscreens with broad-spectrum UV protection properties from tannic acid and quercetin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 257, p. 128585, 2024.

LEE, Te-An *et al.* Critical roles of irradiance in the regulation of UVB-induced inflammasome activation and skin inflammation in human skin keratinocytes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 226, p. 112373, 2022.

LIMA, Tamires Cardoso *et al.* Larvicidal activity of *Mentha x villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and derivatives. ***Chemosphere***, v. 104, p. 37-43, 2014.

LIU, Yee-Shing; CHANG, Yung-Chung; CHEN, Hui-Huang. Silver nanoparticle biosynthesis by using phenolic acids in rice husk extract as reducing agents and dispersants. ***Journal of food and drug analysis***, v. 26, n. 2, p. 649-656, 2018.

LOPES, Rafaela Fonseca *et al.* Multiplicação e conservação in vitro de *Mentha x villosa*. ***Revista Brasileira de Plantas Medicinais/Brazilian Journal of Medicinal Plants***, v. 22, n. 4, p. 200-209, 2020.

LOTFOLLAHI, Zahra. The anatomy, physiology and function of all skin layers and the impact of ageing on the skin. ***Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association***, v. 32, n. 1, p. 6-10, 2024.

LOUCHARD, Bianca Oliveira. **Desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas contendo óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.): Caracterização e avaliação biológica.** 2016. 179f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos), Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, 2016.

LUO, Chunxu *et al.* A review of the anti-inflammatory effects of rosmarinic acid on inflammatory diseases. ***Frontiers in pharmacology***, v. 11, p. 153, 2020.

Luzenti, Andréia Marincek. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas poliméricas contendo extratos de própolis e avaliação de suas atividades biológicas em células de câncer de próstata.** 2022. 38f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2022. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-14062022-144124/publico/Dissertacao\\_corrigida\\_simplificada.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-14062022-144124/publico/Dissertacao_corrigida_simplificada.pdf). Acesso em: 21 jul. 2025.

MA, Yuandong *et al.* Novel docetaxel-loaded nanoparticles based on PCL-Tween 80 copolymer for cancer treatment. ***International journal of nanomedicine***, p. 2679-2688, 2011.

MAGALHÃES, Juliana Cristina; ROSA, Annylory Lima; BARA, Maria Teresa Freitas. Desenvolvimento de uma formulação semi-sólida contendo extrato seco de *Symphytum officinale* L. ***Confrei). Seminário de Iniciação Científica da UFG-PIVIC***, p. 1-5, 2011. Disponível em: <https://www.sbpnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pivic/trabalhos/Juliana%20Cristin a%20Magalhaes-PIVIC.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2025.

MAGHRABI, Abdullrahman; ALHARBI, Badr; ALDOSARI, Abdulah. Examining UV radiation patterns in relation to particulate matter and atmospheric conditions in arid, unclouded skies. **Atmosphere**, v. 15, n. 5, p. 577, 2024.

MAHAR, Riya; CHAKRABORTY, Arpita; NAINWAL, Nidhi. Formulation of resveratrol-loaded polycaprolactone inhalable microspheres using tween 80 as an emulsifier: factorial design and optimization. **AAPS PharmSciTech**, v. 24, n. 5, p. 131, 2023.

MAHBOUBI, Mohaddese. *Mentha spicata L.* essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 11, n. 2, p. 75-81, 2021.

MANN, Tobias *et al.* High-energy visible light at ambient doses and intensities induces oxidative stress of skin—Protective effects of the antioxidant and Nrf2 inducer Licochalcone A in vitro and in vivo. **Photodermatology, photoimmunology & photomedicine**, v. 36, n. 2, p. 135-144, 2020.

MARCO, Samuel Luiz. **Propriedades físico-químicas de nanocápsulas contendo um antioxidante e um filtro solar químico co-encapsulados**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: [https://lume.ufrgs.br/handle/10183/77884?utm\\_source=chatgpt.com](https://lume.ufrgs.br/handle/10183/77884?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 05 jun. 2025.

MARQUES, Margareth. *Buffer Solutions*. In: UNITED STATES PHARMACOPEIA. *Solutions*. In: *United States Pharmacopeia – National Formulary (USP–NF)*. 37(4). Compendial Approvals for USP35–NF30, Second Supplement. Official from December 1, 2012. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2012. Disponível em: <https://www.uspnf.com/>. Acesso em: 14 maio 2025.

MARTINS, Tércio Elyan Azevedo *et al.* Contribution of topical antioxidants to maintain healthy skin—A review. **Scientia Pharmaceutica**, v. 88, n. 2, p. 27, 2020.

MECCARIELLO, Rosaria; D'ANGELO, Stefania. Impact of polyphenolic-food on longevity: An elixir of life. An overview. **Antioxidants**, v. 10, n. 4, p. 507, 2021.

MELO, Mayara Motta; DE CARVALHO RIBEIRO, Clarissa Santos. Novas Considerações sobre a Fotoproteção no Brasil: Revisão de Literatura/New Considerations on the Photoprotection in Brazil: Literature Review. **HSJ**, v. 5, n. 3, p. 80-96, 2015.

MERECH-SADOWSKA, Anna *et al.* Antioxidant properties of plant-derived phenolic compounds and their effect on skin fibroblast cells. **Antioxidants**, v. 10, n. 5, p. 726, 2021.

MICHALAK, Monika. Plant extracts as skin care and therapeutic agents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 20, p. 15444, 2023.

MICHALAK, Monika. Plant-derived antioxidants: Significance in skin health and the ageing process. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 2, p. 585, 2022.

MILUTINOV, Jovana *et al.* The potential of natural compounds in UV protection products. **Molecules**, v. 29, n. 22, p. 5409, 2024.

MMBANDO, Gideon Sadikiel; NGONGOLO, Kelvin. Environmental & health impacts of ultraviolet radiation: Current trends and mitigation strategies. **Discover Sustainability**, v. 5, n. 1, p. 436, 2024.

MOETAMEDIPOR, Seyed Ali *et al.* Essential oil chemical diversity of Iranian mints. **Industrial Crops and Products**, v. 172, p. 114039, 2021.

MOHAMMADIAN, Samaneh *et al.* Polycaprolactone-based Nanocarriers Containing 5-fluorouracil as a Therapeutic Guided Drug Delivery Approach for Enhancing Anticancer Activity. **Current Cancer Drug Targets**, v. 23, n. 7, p. 524–533, ago. 2023.

MONTERO, Paula *et al.* Damaging effects of UVA, blue light, and infrared radiation: in vitro assessment on a reconstructed full-thickness human skin. **Frontiers in Medicine**, v. 10, p. 1267409, 2023.

MORENO, Silvia *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. **Free radical research**, v. 40, n. 2, p. 223-231, 2006.

MORQUETTE, Alexandra J.; WAPLES, Erica R.; HEATH, Candice R. The importance of cosmetically elegant sunscreen in skin of color populations. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 21, n. 4, 2022.

MOSA, Fathia A.; ALSAADY, Fatima Z.; NASER, Hanya I. Determination of Sun Protection Factor (SPF) Number of Some Aqueous Botanical Extracts by Ultraviolet Spectrophotometry. **Journal of Science**, v. 15, p. 17-24, 2022.

MUSTIELES, Vicente *et al.* Benzophenone-3: Comprehensive review of the toxicological and human evidence with meta-analysis of human biomonitoring studies. **Environment international**, v. 173, p. 107739, 2023.

NASCIMENTO, Maria Isabel. Trends in non-Melanoma Skin Cancer Mortality in Brazil and its Macroregions. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 68, n. 1, e-022083, 2021.

NATEWONG, Sutthibhon *et al.* Photo-protective and anti-inflammatory effects of Antidesma thwaitesianum Müll. Arg. fruit extract against UVB-induced keratinocyte cell damage. **Molecules**, v. 27, n. 15, p. 5034, 2022.

NAUREEN, Irum *et al.* Chemical composition and therapeutic effect of mentha species on human physiology. **Scholars Bulletin**, v. 8, n. 1, p. 25-32, 2022.

NAZARI, Mehrdad; ZARINKAMAR, Fatemeh. Ultraviolet-B induced changes in *Mentha aquatica* (a medicinal plant) at early and late vegetative growth stages: investigations at molecular and genetic levels. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112618, 2020.

NGOC, Le Thi Nhu *et al.* Recent trends of sunscreen cosmetic: An update review. **Cosmetics**, v. 6, n. 4, p. 64, 2019.

NICHOLS, Joi A.; KATIYAR, Santosh 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.

NICKAVAR, B.; ALINAGHI, A.; KAMALINEJAD, M. Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 203-209, 2008.

NIERADKO-IWANICKA, Barbara; WYSOKINSKA, Klaudia. Chemical and physical UV filters. **Polish Journal of Public Health**, v. 132, n.1, p.48-51. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/366944250\\_Chemical\\_and\\_physical\\_UV\\_filters](https://www.researchgate.net/publication/366944250_Chemical_and_physical_UV_filters). Acesso em: 16 jul. 2025

NUNES, Alesandra R. *et al.* Use of flavonoids and cinnamates, the main photoprotectors with natural origin. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2018, n. 1, p. 5341487, 2018.

NUNES, Alesandra Ricardo *et al.* Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 189, p. 119-123, 2018.

OBAID, Rami J. *et al.* Natural and synthetic flavonoid derivatives as new potential tyrosinase inhibitors: A systematic review. **RSC advances**, v. 11, n. 36, p. 22159-22198, 2021.

OCKULY, Rebecca A. *et al.* Response surface experiments: A meta-analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 164, p. 64-75, 2017.

OLIVEIRA, Monique Cristine de; SCHOFFEN, João Paulo Ferreira. Oxidative stress action in cellular aging. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, p. 1333-1342, 2010.

ORSO, Graziella *et al.* Lamiaceae as feed additives in fish aquaculture. **Fishes**, v. 7, n. 6, p. 349, 2022.

PAIXÃO, Thiago Portalda *et al.* Plants from Brazil with Potential Photoprotective Activity: A. **Pharmacognosy Reviews**, v. 17, n. 33, p. 204-213, 2023.

PANDA, Sujogya Kumar *et al.* Ethnopharmacology of the lamiaceae: Opportunities and challenges for developing new medicines. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 961486, 2022.

PANDEY, Anjali S. *et al.* Nanocosmetics and skin health: a comprehensive review of nanomaterials in cosmetic formulations. **Cureus**, v. 16, n. 1, 2024.

PARK, Shinjae; MUN, Saehun; KIM, Yong-Ro. Influences of added surfactants on the water solubility and antibacterial activity of rosemary extract. **Food science and biotechnology**, v. 29, p. 1373-1380, 2020.

PARK, Yun Ji *et al.* Metabolic profiling of nine *Mentha* species and prediction of their antioxidant properties using chemometrics. **Molecules**, v. 24, n. 2, p. 258, 2019.

PARWAIZ, Shaikh; KHAN, Mohammad Mansoob. Recent developments in tuning the efficacy of different types of sunscreens. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 46, n. 12, p. 1711-1727, 2023.

PFEIFER, Gerd P. Mechanisms of UV-induced mutations and skin cancer. **Genome instability & disease**, v. 1, n. 3, p. 99-113, 2020.

PHAM, Loc B. *et al.* Complexation between flaxseed protein isolate and phenolic compounds: Effects on interfacial, emulsifying and antioxidant properties of emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 20-29, 2019.

PHAM-HUY, Lien Ai; HE, Hua; PHAM-HUY, Chuong. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International journal of biomedical science: IJBS**, v. 4, n. 2, p. 89, 2008.

PHAN, Anh Dao T. *et al.* Binding of dietary polyphenols to cellulose: Structural and nutritional aspects. **Food Chemistry**, v. 171, p. 388-396, 2015.

PIAO, Mei Jing *et al.* Rosmarinic acid inhibits ultraviolet b-mediated oxidative damage via the AKT/ERK-NRF2-GSH pathway in vitro and in vivo. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 32, n. 1, p. 84, 2024.

PINTO, Camilla Silva; ANDRADE, Mariana Moreira. Influência dos raios ultravioletas na fisiopatologia de disfunções estéticas: uma revisão integrativa. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 10, p. 2208-2227, 2023.

PIZZINO, Gabriele *et al.* Oxidative stress: harms and benefits for human health. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2017, n. 1, p. 8416763, 2017.

POP, Teodora Daria; DIACONEASA, Zorita. Recent advances in phenolic metabolites and skin cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 18, p. 9707, 2021.

PORTILHO, Lucas *et al.* Effectiveness of sunscreens and factors influencing sun protection: a review. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, p. e20693, 2023.

POURZAND, Charareh; ALBIERI-BORGES, Andrea; RACZEK, Nico N. Shedding a new light on skin aging, iron-and redox-homeostasis and emerging natural antioxidants. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 471, 2022.

POVH, Juliana Aparecida; Costa, Érika Ferreira. Atividade antioxidante de três espécies pertencentes à família Lamiaceae mais utilizada pela população de Ituiutaba, MG. **Ethnoscientia**, v.10, n.1, 2025. DOI: 10.18542/ethnoscientia.v10i1/16702

PYO, Sung Min *et al.* Dermal miconazole nitrate nanocrystals–formulation development, increased antifungal efficacy & skin penetration. **International journal of pharmaceutics**, v. 531, n. 1, p. 350-359, 2017.

RAD, Esmaeil Yousefi *et al.* The effects of vitamin D supplementation on glucose control and insulin resistance in patients with diabetes type 2: a randomized clinical trial study. **Iranian journal of public health**, v. 43, n. 12, p. 1651, 2014.

RATHOD, Arun Pratap Singh; MITTAL, Poornima; KUMAR, Brijesh. Analysis of factors affecting the solar radiation received by any region. In: **2016 International Conference on Emerging Trends in Communication Technologies (ETCT)**. IEEE, 2016. p. 1-4.

RAVARIA, Pooja *et al.* Molecular mechanisms of neuroprotective offerings by rosmarinic acid against neurodegenerative and other CNS pathologies. **Phytotherapy Research**, v. 37, n. 5, p. 2119-2143, 2023.

RHYAF, Atiaf *et al.* In vitro and in vivo functional viability, and biocompatibility evaluation of bovine serum albumin-ingrained microemulsion: a model based on sesame oil as the payload for developing an efficient drug delivery platform. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 4, p. 582, 2023.

RISPO, Francesca *et al.* An extensive review on phenolic compounds and their potential estrogenic properties on skin physiology. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 11, p. 1305835, 2024.

RODRIGUES, Ursula Amendola. **Composição, caracterização e potencial fotoprotetor do óleo da semente da macaíba *Acrocomia intumences drude (Arecaceae)* e sua utilização no desenvolvimento de formulação cosmética**. 2019. 70f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2019. Acesso em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/55426/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Ursula%20Amendola%20Rodrigues.pdf>. Disponível em 12 julho 2025.

RODRIGUEZ, Jade P.; TOLOSA, Essel N.; LEGASPI, Charisse Leanne B. Pharmacologic Activities of Yerba Buena (*Mentha x villosa* Huds Fam. Lamiaceae): An Overview. **Acta Medica Philippina**, v. 58, n. 21, p. 60, 2024.

ROSENBERG, R. *et al.* Anomalous release of hydrophilic drugs from poly ( $\epsilon$ -caprolactone) matrices. **Molecular pharmaceutics**, v. 4, n. 6, p. 943-948, 2007.

RUSECKAITE, Roxana A.; JIMÉNEZ, Alfonso. Thermal degradation of mixtures of polycaprolactone with cellulose derivatives. **Polymer Degradation and Stability**, v. 81, n. 2, p. 353-358, 2003.

SALEHI, Bahare *et al.* Plants of genus *Mentha*: From farm to food factory. **Plants**, v. 7, n. 3, p. 70, 2018.

SAMY, Christy Rani Arokia *et al.* (R)-(+)-Rosmarinic acid as an inhibitor of herpes and dengue virus replication: an in silico assessment. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 33, n. 3, p. 543-550, 2023.

SANTANDER BALLESTÍN, S.; LUESMA BARTOLOMÉ, M. J. Toxicity of different chemical components in sun cream filters and their impact on human health: a review. **Applied Sciences**, v. 13, n. 2, p. 712, 2023.

SANTOS, Ana Cláudia *et al.* Nanotechnology-based sunscreens—a review. **Materials Today Chemistry**, v. 23, p. 100709, 2022.

SAVIO, Luca *et al.* Profilometry: a non-intrusive active stereo-vision technique for wave-profile measurements in large hydrodynamic laboratories. **Experiments in Fluids**, v. 65, n. 9, p. 137, 6 set. 2024.

SCHALKA, Sérgio *et al.* Brazilian consensus on photoprotection. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 89, n. 6 suppl 1, p. 1-74, 2014.

SCHIEKE, Stefan M. *et al.* Infrared-A radiation-induced matrix metalloproteinase 1 expression is mediated through extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in human dermal fibroblasts. **Journal of investigative dermatology**, v. 119, n. 6, p. 1323-1329, 2002.

SCHNEIDER, Samantha L.; LIM, Henry W. A review of inorganic UV filters zinc oxide and titanium dioxide. **Photodermatology, photoimmunology & photomedicine**, v. 35, n. 6, p. 442-446, 2019.

SCHROEDER, Peter *et al.* Infrared radiation-induced matrix metalloproteinase in human skin: implications for protection. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 128, n. 10, p. 2491-2497, 2008.

SHI, Linghong *et al.* Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 54, p. 81112-81129, 2022.

SHIN, Jung-Won. *et al.* Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 9, p. 2126, 29 abr. 2019.

SHOMAKER, T. Samuel; GREEN, Eleanor M.; YANDOW, Suzanne M. Perspective: one health: a compelling convergence. **Academic Medicine**, v. 88, n. 1, p. 49-55, 2013.

SHOMALI, Aida *et al.* Diverse physiological roles of flavonoids in plant environmental stress responses and tolerance. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3158, 2022.

SILVA, Carolina M. et al. The role of matrix effects on the quantification of abscisic acid and its metabolites in the leaves of Bauhinia variegata L. using liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, p. 223-232, 2012.

SILVA, Luiz Renan et al. Lamiaceae essential oils, phytochemical profile, antioxidant, and biological activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, n. 1, p. 6748052, 2021.

SINGH, Anshu; FATIMA, Zeeshan; SRIVASTAVA, Dipti. A Comprehensive Review on Polyphenols based Nanovesicular System for Topical Delivery. **Current Drug Delivery**, v. 22, n. 2, p. 123-139, 2025.

SINGH, Pooja; SINGH, Amantika; CHOUDHARY, Krishna Kumar. Revisiting the role of phenylpropanoids in plant defense against UV-B stress. **Plant Stress**, v. 7, p. 100143, 2023.

SIRAJUDEEN, Fazila et al. Exploring the potential of rosemary derived compounds (rosmarinic and carnosic acids) as cancer therapeutics: current knowledge and future perspectives. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 32, n. 1, p. 38, 2024.

SOARES, Bruna dos Santos et al. In vitro approaches to antioxidant screening for the development of a sunscreen formulation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, p. e23228, 2023.

SOBTI, Bhawna et al. Encapsulation properties of mentha piperita leaf extracts prepared using an ultrasound-assisted double emulsion method. **Foods**, v. 12, n. 9, p. 1838, 2023.

SOLAR, I. A. R. C. Ultraviolet radiation. Lyon, France: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer. **World Health Organization**, 1992. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK401584/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK401584/?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 16 jul. 2025.

SOUSA, Pergentino José da Cunha et al. Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, p. 655-659, 2009.

Souza, Carla. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de fotoprotetores com ação em toda a região do espectro solar**. 2016. 149f. Tese (Doutorado em Ciências), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2016. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde->

12122016-152647/publico/Tese\_corrigida\_completa.pdf. Acesso em: 16 jul. 2025.

ŠPAGLOVÁ, Miroslava *et al.* Role of Emulsifiers and SPF Booster in Sunscreen Performance: Assessing SPF, Rheological Behavior, Texture, and Stability. **Cosmetics**, v. 12, n. 3, p. 118, 2025.

SPRÉA, Rafael Mascoloti *et al.* Comparative study on the phenolic composition and in vitro bioactivity of medicinal and aromatic plants from the Lamiaceae family. **Food Research International**, v. 161, p. 111875, 2022.

Stevens, Alison. Introduction to the Basic Drivers of Climate. **Nature Education Knowledge**, v. 3, n.10, p.10. 2010. Disponível em:  
[https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/introduction-to-the-basic-drivers-of-climate-13368032/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/introduction-to-the-basic-drivers-of-climate-13368032/?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 16 de jul. 2025.

SUKMAWATI, Anita *et al.* Effect of tween 80 on nanoparticle preparation of modified chitosan for targeted delivery of combination doxorubicin and curcumin analogue. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2018. p. 012024.

SUN, Yu *et al.* Advances and novel intervention in photodermatology. **Frontiers in Medicine**, v. 12, p. 1601630, 2025.

SUTRADHAR, Prasanta; SAHA, Mitali. Size-controlled synthesis of silver nanoparticles using Zizyphus mauritiana fruit extract. **Main Group Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 47-55, 2015. Doi:10.3233/MGC-150182

SZCZEPANOWICZ, Krzysztof *et al.* Co-adsorption of polyanions and esterquat surfactants; effect on formation and stability of micellar core nanocapsules. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 519, p. 117-124, 2017.

TAFRIHI, Majid *et al.* The wonderful activities of the genus Mentha: Not only antioxidant properties. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 1118, 2021.

TAN, Bernice Mei Jin; CHAN, Lai Wah; HENG, Paul Wan Sia. Characterizing the surface roughness length scales of lactose carrier particles in dry powder inhalers. **Molecular pharmaceutics**, v. 15, n. 4, p. 1635-1642, 2018.

TANAKA, Sachiko *et al.* Prevention of UVB-induced photoinflammation and photoaging by a polymethoxy flavonoid, nobiletin, in human keratinocytes in vivo and in vitro. **Biochemical pharmacology**, v. 68, n. 3, p. 433-439, 2004.

TANAKA, Yohei. Impact of near-infrared radiation in dermatology. **World Journal of Dermatology**, v. 1, n. 3, p. 30, 2012.

TANIYADUKKAM, Vijisha et al. Development and evaluation of sunscreen cream containing solid lipid nanoparticles of Spinacia oleraceae. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 18, p. 51782-51791, 2023.

TAUFFENBERGER, Arnaud; MAGISTRETTI, Pierre J. Reactive oxygen species: beyond their reactive behavior. **Neurochemical Research**, v. 46, n. 1, p. 77-87, 2021.

TAVARES, Marina Rodrigues et al. Surface-coated polycaprolactone nanoparticles with pharmaceutical application: Structural and molecular mobility evaluation by TD-NMR. **Polymer Testing**, v. 60, p. 39-48, 2017.

TEKEĽOVÁ, Daniela et al. Fenolové látky v listových inzerciách Mentha x villosa Huds. cv. Snežná. **Česká a slovenská farmacie**, v. 4, pág. 161-165, 2016.

TELES, Simone et al. Effect of geographical origin on the essential oil content and composition of fresh and dried Mentha x villosa Hudson leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 1-7, 2013.

TERTO, Márcio Vinícius Cahino. **Atividade fotoprotetora e análise de variação sazonal de Plectranthus amboinicus**. 2021. 222f. Tese (Doutorado em Farmacoquímica), Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 2021.

THOMPSON, Aubri J. et al. Safer sunscreens: investigation of naturally derived UV absorbers for potential use in consumer products. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 9, n. 27, p. 9085-9092, 2021.

TOPA, Meryem; GULCIN, İlhami. Evaluation of the in vitro antioxidant, antidiabetic and anticholinergic properties of rosmarinic acid from rosemary (Rosmarinus officinalis L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 43, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102417>

TORCHILIN, Vladimir P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. **Journal of controlled release**, v. 73, n. 2-3, p. 137-172, 2001.

TRAN, Jasmine Thuy et al. Evidence-based utility of adjunct antioxidant supplementation for the prevention and treatment of dermatologic diseases: A comprehensive systematic review. **Antioxidants**, v. 12, n. 8, p. 1503, 2023.

TRIVELLINI, Alice *et al.* Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: Bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 241-254, 2016.

Tropicos.org. Jardim Botânico do Missouri. 20 de julho de 2025  
<<https://tropicos.org/name/42000291>>

TSITSIGIANNI, Eleni *et al.* Biological Activities of Lamiaceae Species: Bio-Guided Isolation of Active Metabolites from *Salvia officinalis* L. **Agronomy**, v. 13, n. 5, p. 1224, 2023.

TURCOV, Delia; ZBRANCA-TOPORAS, Anca; SUTEU, Daniela. Bioactive compounds for combating oxidative stress in dermatology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 24, p. 17517, 2023.

TURCOV, Delia; ZBRANCA-TOPORAS, Anca; SUTEU, Daniela. Bioactive compounds for combating oxidative stress in dermatology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 24, p. 17517, 2023.

TZIMA, Katerina; BRUNTON, Nigel P.; RAI, Dilip K. Evaluation of the impact of chlorophyll removal techniques on polyphenols in rosemary and thyme by-products. **Journal of food biochemistry**, v. 44, n. 3, p. e13148, 2020.

UIKEY, Jyoti. Reviewing of plant beloing to lamiaceae family. **International Journal of Scientific Development and Research**, v. 9, n. 3, 2024. ISSN: 2455-2631. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Jyoti-Uikey/publication/382996305\\_REVIEWS\\_OF\\_PLANT\\_BEONGING\\_TO\\_LAMIACEAE\\_FAMILY/links/66b654ef299c327096bc0edd/REVIEWS-OF-PLANT-BEONGING-TO-LAMIACEAE-FAMILY.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jyoti-Uikey/publication/382996305_REVIEWS_OF_PLANT_BEONGING_TO_LAMIACEAE_FAMILY/links/66b654ef299c327096bc0edd/REVIEWS-OF-PLANT-BEONGING-TO-LAMIACEAE-FAMILY.pdf). Acesso em: 03 jul. 2025.

UMAR, Sheikh Ahmad; TASDUQ, Sheikh Abdullah. Ozone layer depletion and emerging public health concerns-an update on epidemiological perspective of the ambivalent effects of ultraviolet radiation exposure. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 866733, 2022.

UPADHYAY, Rohit *et al.* Appropriate solvents for extracting total phenolics, flavonoids and ascorbic acid from different kinds of millets. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 472-478, 2015.

VELGOSOVA, Oksana *et al.* Effect of storage conditions on long-term stability of Ag nanoparticles formed via green synthesis. **International Journal of Minerals, Metallurgy, and Materials**, v. 24, p. 1177-1182, 2017.

VERSCHOOTEN, Lien *et al.* New strategies of photoprotection. **Photochemistry and Photobiology**, v. 82, n. 4, p. 1016-1023, 2006.

VETTOR, M. *et al.* Poly (d, l-lactide) nanoencapsulation to reduce photoinactivation of a sunscreen agent. **International journal of cosmetic science**, v. 30, n. 3, p. 219-227, 2008.

VOIGT, Nadine *et al.* Toxicity of polymeric nanoparticles in vivo and in vitro. **Journal of nanoparticle research**, v. 16, p. 1-13, 2014.

VRIGNAUD, Sandy; BENOIT, Jean-Pierre; SAULNIER, Patrick. Strategies for the nanoencapsulation of hydrophilic molecules in polymer-based nanoparticles. **Biomaterials**, v. 32, n. 33, p. 8593-8604, 2011.

VUOLO, Milena Morandi; LIMA, Verena Silva; JUNIOR, Mário Roberto Maróstica. Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In: **Bioactive compounds**. Woodhead Publishing, 2019. p. 33-50.

WACKER, Matthias; HOLICK, Michael F. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. **Dermato-endocrinology**, v. 5, n. 1, p. 51-108, 2013.

WANG, Mingyue; GAO, Xinghua; ZHANG, Li. Recent global patterns in skin cancer incidence, mortality, and prevalence. **Chinese Medical Journal**, v. 138, n. 2, p. 185-192, 2025.

WANG, Yujia *et al.* NF-κB signaling in skin aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 184, p. 111160, dez. 2019.

WEI, Min *et al.* Role of reactive oxygen species in ultraviolet-induced photodamage of the skin. **Cell division**, v. 19, n. 1, p. 1, 2024.

WELLER, Richard B. Sunlight: time for a rethink?. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 144, n. 8, p. 1724-1732, 2024.

WILD, C.P.; WEIDERPASS, E.; STEWART, B.W. **Relatório Mundial sobre o Câncer: Pesquisa sobre o câncer para a prevenção do câncer**. Lyon (FR): Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer; 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK606505/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

WNUK, Agnieszka *et al.* Prenatal exposure to benzophenone-3 impairs autophagy, disrupts RXRs/PPAR $\gamma$  signaling, and alters epigenetic and post-translational statuses in brain neurons. **Molecular neurobiology**, v. 56, n. 7, p. 4820-4837, 2019.

WOODRUFF, Maria Ann; HUTMACHER, Dietmar Werner. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in polymer science**, v. 35, n. 10, p. 1217-1256, 2010.

XU, Tao *et al.* Oxidative stress in cell death and cardiovascular diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, n. 1, p. 9030563, 2019.

XU, Zhenghao *et al.* Lamiaceae. **Identification and Control of Common Weeds**: v. 3, p. 181-265, 2017.

YAKOUBI, Rima *et al.* Photoprotective, antioxidant, anticholinesterase activities and phenolic contents of different Algerian *Mentha pulegium* extracts. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 34, p. 102038, jul. 2021.

YANG, Jing-Wen *et al.* The role and safety of UVA and UVB in UV-induced skin erythema. **Frontiers in Medicine**, v. 10, p. 1163697, 2023.

YARDMAN-FRANK, Joseph Michael; FISHER, David E. Skin pigmentation and its control: From ultraviolet radiation to stem cells. **Experimental dermatology**, v. 30, n. 4, p. 560-571, 2021.

YOUM, Ibrahima *et al.* Influence of surface chemistry on cytotoxicity and cellular uptake of nanocapsules in breast cancer and phagocytic cells. **The AAPS journal**, v. 16, p. 550-567, 2014.

YOUSEFI, Shahryar *et al.* Encapsulation of sesamol and retinol using alginate and chitosan-coated W/O/W multiple emulsions containing Tween 80 and Span 80. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 242, p. 124766, 2023.

YOUSEFIAN, Shirin; ESMAEILI, Fazileh; LOHRASEBI, Tahmineh. A comprehensive review of the key characteristics of the Genus *Mentha*, Natural compounds and Biotechnological approaches for the production of secondary metabolites. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 21, n. 4, p. e3605, 2023.

YOUSUF, Tanjina *et al.* Evaluation of acute oral toxicity, cytotoxicity, antidepressant and antioxidant activities of Japanese mint (*Mentha arvensis* L.) oil. **Phytomedicine Plus**, v. 1, n. 4, p. 100140, 2021.

YU, Zhecheng *et al.* Smart polymeric nanoparticles in câncer immunotherapy. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 3, p. 775, 2023.

ZAGOSKINA, Natalia V. *et al.* Polyphenols in plants: structure, biosynthesis, abiotic stress regulation, and practical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 18, p. 13874, 2023.

ZHAO, Fei *et al.* An updated tribal classification of Lamiaceae based on plastome phylogenomics. **BMC biology**, v. 19, p. 1-27, 2021.

ZHAO, Jing *et al.* ATM is a key driver of NF-κB-dependent DNA-damage-induced senescence, stem cell dysfunction and aging. **Aging (Albany NY)**, v. 12, n. 6, p. 4688, 2020.

ZHI, Zijian *et al.* Destabilization of a model O/W/O double emulsion: From bulk to interface. **Food Chemistry**, v. 445, p. 138723, 2024.

ZHOU, Hong *et al.* Current advances of nanocarrier technology-based active cosmetic ingredients for beauty applications. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, p. 867-887, 2021.

ZHU, Fan *et al.* Efeito de compostos fenólicos nas propriedades de pasta e textura do amido de trigo. **Starch-Stärke**, v. 60, n. 11, p. 609-616, 2008.

ZIBETTI, André Wüst *et al.* Correlation of solubility and prediction of the mixing properties of rosmarinic acid in different pure solvents and in binary solvent mixtures of ethanol+ water and methanol+ water from (293.2 to 318.2) K. **Journal of Molecular Liquids**, v. 216, p. 370-376, 2016.

ZYL, A. J. P. VAN *et al.* The role of surfactant in controlling particle size and stability in the miniemulsion polymerization of polymeric nanocapsules. **European Polymer Journal**, v. 40, n. 12, p. 2717–2725, dez. 2004.