



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIENCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOPROTETOR DO EXTRATO
HIDROALCOOLICO E METANÓLICO DE *ALOE VERA***

KIARA CRISSTELL PEREA LEMOS

Foz do Iguaçu
2024

**AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOPROTETOR DO EXTRATO
HIDROALCOOLICO E METANOLICO DE *ALOE VERA***

KIARA CRISSTELL PEREA LEMOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luis Maria Ruiz

Foz do Iguaçu
2024

KIARA CRISSELL PEREA LEMOS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOPROTETOR DO EXTRATO
HIDROALCOOLICO E METANOLICO DE *ALOE VERA***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Latino-
Americano de Ciências da Vida e da
Natureza da Universidade Federal da
Integração Latino-Americana, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luis Maria Ruiz
UNILA

Prof. Dra. Marciana Pierina Uliana
UNILA

Prof. Dr. Jean Franciesco Vettorazzi
UNILA

Foz do Iguaçu, 29 de abril de 2024.

Dedico este trabalho aos meus
pais e meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge Luis Maria Ruiz, pela confiança depositada neste projeto. Sua disposição em me introduzir a um novo campo de estudo e o suporte contínuo ao longo destes meses foram fundamentais para o meu desenvolvimento e progresso.

Aos meus pais, Kelly e Amurabi pelo carinho, a confiança e principalmente pela paciência durante meus anos de graduação. Agradeço também a Bella, minha irmã, por me acompanhar durante as noites em claro, mesmo que indiretamente. Ao meu irmão Lucas, por todos os abraços. A todos os meus tios e tias, especialmente aos meus tios Javier e Luci, que acreditaram em mim e me apoiaram durante todos estes anos.

Aos meus amigos, Gabi, Andrés e Mile. Obrigada pela companhia durante os períodos de estresse, pelos risos durante os períodos de lazer e pelas conversas, fazendo que os dias na faculdade sejam mais leves e felizes. E a todos os colegas que tive durante a graduação, que me permitiram ter experiências únicas, e superar o tempo durante a pandemia.

Aos meus colegas de laboratório, Johana, Jonathan e Grecia, por toda a ajuda e companheirismo ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

A cada um dos professores que marcaram presença ao longo do meu percurso acadêmico, oferecendo não apenas o seu conhecimento, mas também apoiando e influenciando decisivamente a minha trajetória profissional.

E por fim, à UNILA, por ter me dado a oportunidade de estudar em uma instituição pública e qualidade. Que possibilitou que eu encontrasse e interagisse com pessoas de diversas origens, enriquecendo minha experiência educacional e pessoal.

PEREA LEMOS, Kiara Crisstell. **AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOPROTETOR DO EXTRATO HIDROALCOOLICO E METANOLICO DE ALOE VERA.** 2024. 47 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Foz do Iguaçu, 2024.

RESUMO

A pele é o maior órgão do corpo humano, é uma camada que envolve nosso corpo que serve de proteção contra agentes externos, como luz do sol, que é composta por raios UV, e calor. O excesso de exposição a luz do sol pode causar câncer de pele, que corresponde a 25-30% dos tumores malignos diagnosticados no Brasil. As plantas medicinais são usadas desde os primórdios da humanidade, devido à sua característica de sintetizar vários compostos químicos. Ao redor do mundo milhares de espécies são usadas na preparação de remédios que derivam de saberes populares ou tradicionais de cada país. Um grupo de plantas que já pode ser considerada rotineira, devido a sua versatilidade são aquelas pertencentes ao gênero *Aloe*. *Aloe vera* já demonstrou sua efetividade em reduzir a porcentagem de radical DPPH, apresentando uma boa capacidade antioxidante, com isso mostrou-se um interesse nos estudos para avaliar sua ação frente à radiação UV. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade fotoprotetora do extrato hidroalcoólico e metanólico de *Aloe vera*. Para proceder com a avaliação após coleta e processamento do material vegetal, foi realizado o preparo dos dois extratos. O modelo de teste selecionado são células da linhagem HBMEC e MIA PaCa, que foram cultivadas de acordo com o protocolo já estabelecido. A citotoxicidade do extrato, citotoxicidade da UV e a atividade fotoprotetora dos extratos foi avaliada mediante a viabilidade celular com o teste de MTT. O cálculo e determinação do FPS foi realizado com a leitura das absorbâncias com Espectrofotômetro UV-VIS dos extratos que mostraram efetivamente o efeito fotoprotetor. Com o estudo concluiu-se que ambos os extratos de *Aloe vera* não possuem um efeito citotóxico frente as células, a UV irradiada a partir dos 13 minutos é capaz de reduzir em até 35% a viabilidade celular. Apenas o extrato hidroalcoólico na diluição de 25% apresentou um efeito fotoprotetor. Quando realizado a leitura da absorbância e os cálculos o extrato apresentou um FPS de 8, além de não apresentar degradação quando feita uma segunda leitura após irradiação de UV. Com os resultados obtidos, concluímos que pesquisas são fundamentais para o desenvolvimento de protetores solares eficientes e seguros a partir de substâncias naturais, promovendo a biodiversidade e o respeito ao conhecimento tradicional das plantas.

Palavras-chave: Radiação UV, *Aloe vera*, fotoprotetor, cultivo celular, câncer de pele.

PEREA LEMOS, Kiara Crisstell. **EVALUATION OF THE PHOTOPROTECTIVE EFFECT OF THE HYDROALCOHOLIC AND METHANOLIC EXTRACT OF ALOE VERA.** 47 pages. Course Completion Project (Bachelor in Biotechnology) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2024.

ABSTRACT

The skin is the largest organ of the human body, it is a layer that surrounds our body and serves as protection against external agents, such as sunlight, which is composed of UV rays, and heat. Excessive exposure to sunlight can cause skin cancer, which accounts for 25-30% of malignant tumors diagnosed in Brazil. Medicinal plants have been used since the dawn of humanity, due to their ability to synthesize various chemical compounds. Around the world, thousands of species are used in the preparation of remedies derived from popular or traditional knowledge of each country. A group of plants that can already be considered routine, due to their versatility, are those belonging to the genus Aloe. Aloe vera has already demonstrated its effectiveness in reducing the percentage of DPPH radical, showing a good antioxidant capacity, which has sparked interest in studies to evaluate its action against UV radiation. The aim of the study is to evaluate the photoprotective activity of hydroalcoholic and methanolic extracts of Aloe vera. To proceed with the evaluation after collection and processing of the plant material, the preparation of the two extracts was carried out. The selected test model consists of cells from the HBMEC and MIA PaCa lineages, which were cultivated according to the established protocol. The cytotoxicity of the extract, UV cytotoxicity, and the photoprotective activity of the extracts were evaluated by cell viability using the MTT test. The calculation and determination of SPF were performed by reading the absorbances with a UV-VIS Spectrophotometer of the extracts that effectively showed the photoprotective effect. The study concluded that both Aloe vera extracts do not have a cytotoxic effect on cells, UV irradiation from 13 minutos is capable of reducing cell viability by up to 35%. Only the hydroalcoholic extract at a dilution of 25% showed a photoprotective effect. When absorbance reading and calculations were performed, the extract showed an SPF of 8, and it did not show degradation when a second reading was taken after UV irradiation. With the obtained results, we conclude that research is fundamental for the development of efficient and safe sunscreens from natural substances, promoting biodiversity and respect for the traditional knowledge of plants.

Keywords: UV radiation, Aloe vera, photoprotector, cell culture, skin cancer.

PEREA LEMOS, Kiara Crisstell. **EVALUACIÓN DEL EFEITO FOTOPROTETOR DEL EXTRACTO HIDROALCOOLICO Y METANOLICO DE ALOE VERA.** 2024. 47 páginas. Trabajo de Conclusión de Curso (Graduación en Biotecnología) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana. Foz do Iguaçu, 2024.

RESUMEN

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, es una capa que envuelve nuestro cuerpo y sirve de protección contra agentes externos, como la luz solar, que está compuesta por rayos UV, y el calor. La exposición excesiva a la luz solar puede causar cáncer de piel, que corresponde al 25-30% de los tumores malignos diagnosticados en Brasil. Las plantas medicinales se han utilizado desde el inicio de la humanidad, debido a su capacidad para sintetizar varios compuestos químicos. En todo el mundo, miles de especies se utilizan en la preparación de medicamentos derivados de conocimientos populares o tradicionales de cada país. Un grupo de plantas que ya puede considerarse común, debido a su versatilidad, son aquellas pertenecientes al género Aloe. El Aloe vera ya ha demostrado su eficacia en la reducción del porcentaje de radical DPPH, mostrando una buena capacidad antioxidante, lo que ha despertado interés en los estudios para evaluar su acción frente a la radiación UV. El objetivo del estudio es evaluar la actividad fotoprotectora del extracto hidroalcohólico y metanólico de Aloe vera. Para llevar a cabo la evaluación después de la recolección y procesamiento del material vegetal, se prepararon los dos extractos. El modelo de prueba seleccionado son células de las líneas HBMEC y MIA PaCa, que fueron cultivadas según el protocolo establecido. La citotoxicidad del extracto, la citotoxicidad de la UV y la actividad fotoprotectora de los extractos se evaluaron mediante la viabilidad celular con la prueba de MTT. El cálculo y determinación del FPS se realizó mediante la lectura de las absorbancias con un espectrofotómetro UV-VIS de los extractos que mostraron efectivamente el efecto fotoprotector. Con el estudio, se concluyó que ambos extractos de Aloe vera no tienen un efecto citotóxico en las células, la UV irradiada a partir de los 13 minutos es capaz de reducir la viabilidad celular hasta en un 35%. Solo el extracto hidroalcohólico en una dilución del 25% presentó un efecto fotoprotector. Al realizar la lectura de la absorbancia y los cálculos, el extracto mostró un FPS de 8, además de no presentar degradación cuando se realizó una segunda lectura después de la irradiación UV. Con los resultados obtenidos, concluimos que las investigaciones son fundamentales para el desarrollo de protectores solares eficientes y seguros a partir de sustancias naturales, promoviendo la biodiversidad y el respeto al conocimiento tradicional de las plantas.

Palabras clave: Radiación UV, Aloe vera, fotoprotector, cultivo celular, cáncer de piel.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Espectro da luz	15
Figura 2 - Surgimento do câncer	16
Figura 3 - Esquema da pele	17
Figura 4 - Ação do fotoprotetor	23
Figura 5 - Modo de sementeira de células na placa de 96 poços	27
Figura 6 - Processo de obtenção do gel seco de Aloe vera. A) Quantidade de folhas usadas, B) Gel de Aloe vera antes da secagem, C) Gel após um final de semana secando, D) Produto da secagem	31
Figura 7 - Resultado da evaporação dos extratos. A) Extrato hidroalcoólico, B) Extrato metanólico.....	32
Figura 8 - Efeito do extrato hidroalcoólico de Aloe vera, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células HBMEC. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.	33
Figura 9 - Efeito do extrato metanólico de Aloe vera, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células HBMEC. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.	33
Figura 10 - Efeito do extrato hidroalcoólico de Aloe vera, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células MIA PaCa. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.	34
Figura 11 - Efeito do extrato metanólico de Aloe vera, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células MIA PaCa. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.	34
Figura 12 - Placa de 96 poços em ordem decrescente de tempos de exposição à UV. Os poços em cor roxo intensa representam o controle.	36
Figura 13 - Efeito de diferentes tempos de exposição à UV sobre a viabilidade das células MIA PaCa. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.....	36
Figura 14 - Avaliação da viabilidade celular através do MTT, feita 24 horas após a exposição à UV com tratamento do extrato metanólico nas concentrações de 25% até 0,39%.	38
Figura 15 - Avaliação da viabilidade celular através do MTT, feita 24 horas após a exposição à UV com tratamento do extrato hidroalcoólico nas concentrações de 25% até 0,39%.	38
Figura 16 - Leitura dos compostos sem exposição à UV. A linha laranja representa o composto puro e a linha azul representa o extrato diluído com meio.	40
Figura 17 - Leitura dos compostos expostos à UV durante 2h. A linha laranja representa o composto puro e a linha azul representa o extrato diluído com meio.	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DMEM - Meio de Eagle modificado por Dulbecco

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribonucleico

HBMEC - Células Endoteliais Microvasculares do Cérebro Humano

IC50 - Concentração Inibitória Média

MIA PaCa –Carcinoma Pancreático Humano

SFB - Soro Fetal Bovino

PBS – Tampão fosfato Salino

UVR - Radiação Ultravioleta

UVA – Raio Ultravioleta A

UVB – Raio Ultravioleta B

UVC – Raio Ultravioleta C

µL – microlitro

mL – mililitro

rpm – rotação por minuto

Sumário

1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 RADIAÇÃO UV	15
2.2 CÂNCER.....	16
2.3 CÂNCER DE PELE	17
2.3.1 Anatomia da pele.....	17
2.3.2 Tipos de câncer de pele	18
2.4 PLANTAS MEDICINAIS	19
2.5 FAMILIA Xanthorrhoeaceae.....	20
2.6 ALOE VERA	20
2.6.1 Propriedades biológicas do <i>Aloe vera</i>	21
2.7 FOTOPROTETORES	22
2.7.1 Fotoprotetores orgânicos x inorgânicos	22
2.8 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR.....	24
3 OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	25
4 METODOLOGIA	26
4.1 PREPARO DOS EXTRATOS: HIDROALCÓOLICO E METÂNOLICO....	26
4.2 CULTIVO CELULAR DE HBMEC e MiaPaca	26
4.3 TESTE DE CITOTOXICIDADE	27
4.3.1 Teste de citotoxicidade do extrato	28
4.3.2 Teste de citotoxicidade da UV	28
4.3.3 Teste de fotoproteção do extrato	29
4.2 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS).....	29
4.5 Análise estatística	30
5 RESULTADOS E DISCUSÃO	31

5.1 PREPARO DOS EXTRATOS: HIDROALCOOLICO E METANOLICO	31
5.2 TESTE MTT PARA CITOTOCIXIDADE	32
5.2.1 Citotoxicidade dos extratos	32
5.2.2 Citotoxicidade da UV	35
5.2.3 Teste fotoproteção dos extratos	37
5.3 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS).....	39
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O sol desempenha um papel crucial como fonte de energia, essencial para a existência humana. Ele está envolvido em diversos ciclos biológicos, como a síntese de vitamina D na pele. No entanto, os raios ultravioletas (RUV) são os principais carcinógenos cutâneos. As alterações provocadas pelos RUV são influenciadas, sobretudo, pela intensidade, a qual depende da região geográfica e da exposição solar; e pelo fototipo cutâneo (AZULAY et al., 2015).

Diferentes substâncias presentes na pele, como a melanina, o DNA, o RNA, as proteínas, os aminoácidos aromáticos absorvem a radiação UV. A radiação ultravioleta (UV) é captada pelas camadas superficiais da pele, a epiderme e a derme, através dos melanócitos. Este processo desencadeia reações no DNA e RNA, alterando suas funções normais e a estrutura celular. Com exposição contínua e acumulativa aos raios UV, podem ocorrer mutações no DNA das células da pele, resultando em danos microscópicos e macroscópicos, que podem ser benignos ou malignos. A formação de câncer de pele, especialmente o tipo não melanoma, está fortemente associada à exposição direta e prolongada à radiação UV. (BEZERRA et al. 2011; do INCA 2019).

O câncer de pele é a doença mais comum em caucasianos em todo o mundo. No Brasil, o tumor maligno mais incidente é o câncer de pele do tipo não melanoma (31,3% do total de casos). Desse total o câncer de pele não melanoma representa por 30% de os casos de tumores malignos registrados no País. O restante corresponde aos casos do câncer de pele melanoma. Esse tipo de neoplasia é mais comum em pessoas com mais de 40 anos e é considerado raro em crianças e pessoas negras. Causado principalmente pela exposição excessiva ao sol. De 2023 a 2025 é esperado um aumento de 704 mil novos casos, a maioria deles de câncer de pele (INCA, 2022a).

A exposição ao sol sem a devida proteção é um risco conhecido para danos na pele. Protetores solares oferecem a vantagem direta de evitar queimaduras solares, o que originalmente impulsionou sua criação. No entanto, seu maior valor

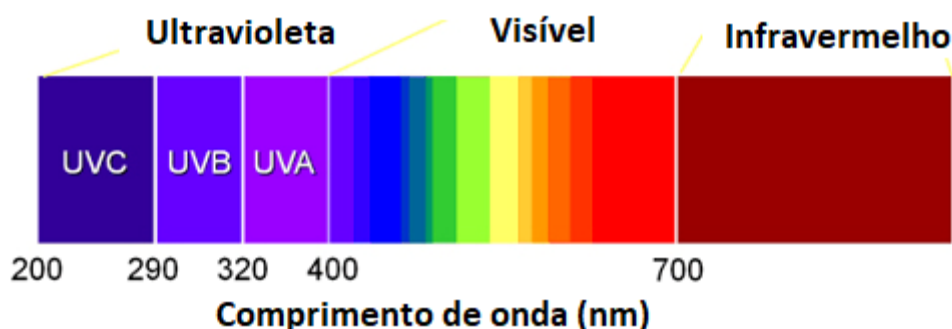
para a saúde pública é o papel que desempenham na prevenção do câncer de pele (SHALKA; STEINER; RAVELLI, 2014).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 RADIAÇÃO UV

O espectro eletromagnético é formado por ondas de rádio, micro-ondas, radiação infravermelha (calor), luz visível, raios X e radiação γ . Além de uma pequena parte conhecida como radiação ultravioleta (UVR). Esse tipo de radiação pode ser caracterizado de acordo com o comprimento de onda. A UVC de 200nm a 290nm. A UVB, situada entre 290nm e 320nm. E a UVA, que se inicia em 320nm indo até o visível (400nm) (CETESB, 2020)(Figura 1).

Figura 1 - Espectro da luz



Fonte: Instituto Newton C. Braga.

Aproximadamente 90–99% da energia solar UVR que atinge a superfície da Terra é UVA, enquanto a UVB representa somente 1–10% da energia. (RIIKKA, 2007).

Os efeitos carcinogênicos da radiação são consequência, em sua maioria, da incidência da radiação ultravioleta B (UVB) na pele. A UVB é mais intensa no final da manhã e quase toda a tarde. Já radiação ultravioleta A (UVA), induz ao

fotoenvelhecimento e parece estar relacionada com o desenvolvimento do melanoma maligno. A maior diferença entre a radiação UVA e UVB é que a intensidade da UVA é a mesma durante todo o dia e não muda com a estação do ano (SBCD, 2005).

2.2 CÂNCER

Câncer é a denominação para diversos tipos de doenças malignas cujo fator em comum é a divisão sem controle de células anormais. Por causa desta rápida divisão pode haver a formação de tumores agressivos que se espalham para outras regiões do corpo (INCA, 2022b) (Figura 2).

Figura 2 - Surgimento do câncer



Fonte: INCA

O câncer tem várias causas, que envolvem fatores genéticos, hábitos e contato com agentes nocivos. Além disso, o envelhecimento favorece o câncer. Esses fatores podem interagir ou se suceder para causar ou acelerar o câncer (INCA, 2022c; WORD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

Uma célula normal costuma adquirir características de uma célula tumoral como consequência de mutações genéticas que podem ser produzidas por diversos mecanismos, como a inativação de genes supressores de tumor, ativação de oncogenes e inativação de genes responsáveis pela apoptose (PEDRAZA-FARINA, 2006). O que traz como consequência o descontrole do ciclo celular permitindo o acúmulo de erros genéticos das células em divisão (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009). Ignorando sinais que uma célula normal teria, para criar seus próprios sinais favorecendo o crescimento celular, evitando a morte celular, e invadindo outros tecidos através de membranas basais e capilares (BHUTIA; MAITI,

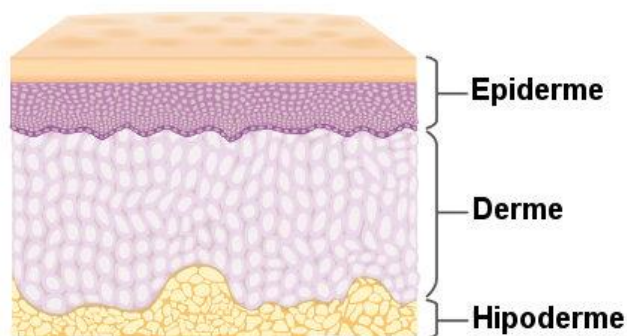
2008; HANAHAN; WEINBERG, 2011). Com a possibilidade de viajar pelo corpo, o câncer pode surgir em qualquer parte do organismo. Alguns órgãos são mais afetados do que outros; e cada órgão, por sua vez, pode ser acometido por tipos diferenciados de tumor, mais ou menos agressivos.

2.3 CÂNCER DE PELE

2.3.1 Anatomia da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, formada por diversos tecidos, é responsável por cerca de 16% do peso corporal e é constituída por três camadas: epiderme, derme e hipoderme (Figura 3).

Figura 3 - Esquema da pele



Fonte: Sociedade Brasileira de Dermatologia

Tem como principal função atuar como barreira fisiológica contra danos externos (DOMANSKY; BORGES *et al.*, 2012).

- **Epiderme:** é a camada mais externa da pele, composta em sua maioria de queratinócitos, apresenta também três tipos de células não queratinócitos além das camadas específicas. As células de Langerhans, células de Merkel e Melanócitos. Os melanócitos produzem melanina, o pigmento responsável pela coloração da pele, olhos e cabelos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A melanina é a encarregada de proteger a camada basal contra o efeito prejudicial dos raios

ultravioleta (UV) do sol. Quanto maior a exposição à luz solar, aumenta a produção de melanina dentro dos melanócitos, bronzeando a pele (GRAFF, 2003).

- Derme: camada mais profunda e espessa que a epiderme, é constituída por duas camadas denominadas de camada papilar da derme e de camada reticular da derme, as quais prendem à epiderme a derme e contribuem para a elasticidade da pele (TORTORA; GRABOWSKI, 2002).
- Hipoderme: possui a função de depósito nutritivo de reserva, participa no isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo às pressões e traumatismo externos e facilita a motilidade da pele em relação às estruturas subjacentes (SAMPAIO; RIVITTI 2001).

2.3.2 Tipos de câncer de pele

A pele humana exposta constantemente à Radiação UV pode gerar reação na mesma, que podem ser classificadas em reações agudas ou crônicas. As reações agudas se desenvolvem de imediato e desaparecem rapidamente, como o bronzeamento e queimaduras. Já as reações crônicas, se apresentam a longo prazo, ou seja, aparecem gradualmente e possuem longa duração, como o fotoenvelhecimento e o câncer de pele (INPE).

O câncer de pele é o tipo mais comum de neoplasia maligna que atinge o mundo. E de acordo ao tipo de célula acometida pode ser classificado em:

- Não melanoma: mais comum no Brasil. O termo câncer de pele não melanoma engloba o conhecido carcinoma basocelular (formado por blocos de células tumorais semelhantes às da camada basal da epiderme), mais frequente, e o espinocelular (originário dos queratinócitos ou dos anexos da epiderme) (QUINN, PERKINS, 2010). Os dois apresentam formas diferentes no exame clínico e no exame histopatológico. Mas o prognóstico é quase o mesmo para ambos: possuem baixa letalidade, é raro a ocorrência de morte e as metástases são raras. Mesmo não apresentando risco à vida, este tipo de câncer causa um grande impacto na saúde pública, pois com a maior exposição

ao sol, acomete mais pessoas. Pode surgir em regiões como a cabeça, o pescoço e especialmente a face (BATH-HEXTALL, PERKINS, BONG, WILLIAMS, 2007).

- Melanoma: neoplasia fundamentada no crescimento e proliferação anormais de células dendríticas pigmentadas conhecidas como melanócitos (Azulay & Azulay, 2017). Mesmo sendo responsável por apenas 3-5% dos casos de neoplasias malignas cutâneas, o melanoma corresponde a mais de 80% das mortes por câncer de pele no Brasil (Cavarsan *et al.*, 2019). É caracterizada como uma mancha de contornos irregulares, em diferentes tons de castanho e negro. Seu tratamento é principalmente cirúrgico, precedido por exames histopatológicos para que se determine a profundidade da invasão e as eventuais possibilidades de metástase (INPE).

2.4 PLANTAS MEDICINAIS

O uso de plantas medicinais é uma prática que acompanha o desenvolvimento das sociedades e atravessa milênios, envolvendo questões como senso comum, cultura e saúde, inseridos em um contexto histórico (MAHARJAN & NAMPOOTHIR, 2014). Com a chegada de novos tempos, o interesse no uso de plantas para fins medicinais tem sido renovado, provocado pela busca de conhecimentos dos fármacos originados delas, incluindo questões de composição química e como a variação morfológica afeta essa composição. Para que as plantas sejam aptas na utilização para fins terapêuticos, devem-se atender todos os critérios de eficácia, de segurança e qualidade, além de apresentarem propriedades terapêuticas reprodutíveis e uma padronização em sua composição química (SILVA *et al.*, 2014).

Uma planta muito usada para fins fitoterápicos é o *Aloe vera*, pertencente à família Xanthorrhoeaceae, conhecida popularmente como babosa, é quase unânime o uso desta planta para tratamento e cuidados da pele e cabelos, sendo utilizada pelo há mais de 5.500 anos para tratamentos medicinais. Diante

da importância da fitoterapia e da escassa difusão de pesquisa na medicina, tornou-se necessário o estudo dos efeitos terapêuticos da Babosa (*Aloe vera*) (BARBOSA & PINTO, 2003).

2.5 FAMILIA XANTHORRHOEACEAE

Antigamente conhecida como *Liliaceae*, recentemente encontrada também como *Asphodelaceae* é conhecida por possuir cerca de 15 gêneros e mais de 500 espécies (FREITAS VS, *et al.*, 2014). É representada por ervas perenes, rizomatosas e bulbosas, bulbo fibroso, inflorescência racemosa, haste da inflorescência folhosa e sementes castanho-claros. A família não é endêmica do Brasil, mas pode ser encontrada em regiões do sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e possivelmente no Espírito Santo) e no sul (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina) (DUTILH JHA e CAMPOS-ROCHA A, 2023). O gênero mais conhecido dentro desta família é *Aloe*, que abarca mais de 400 espécies que possuem ocorrência, em sua maioria, em ambientes mais quentes e secos, como a Península Arábica, ilhas do Oceano Índico e no sudeste do continente Africano. A África do Sul é o país com maior incidência e abundância da planta, com 140 espécies encontradas desse gênero (GRACE OM, 2011; KLOPPER RR, *et al.*, 2009). As espécies do gênero *Aloe* são plantas xerófitas adaptadas para sobreviverem em locais áridos (QUEIROGA VP *et al.*, 2019).

2.6 ALOE VERA

Aloe vera é uma erva suculenta perene que cresce em partes temperadas e subtropicais do mundo. É membro da família Xanthorrhoeaceae, conhecida comumente como Aloé, babosa grande, babosa medicinal (JOSEPH; JUSTIN, 2010). A babosa é uma planta que pode atingir até 1 metro de altura. Suas folhas têm uma coloração verde ou verde-acinzentada, com manchas esbranquiçadas quando jovens. Elas são espessas, carnudas e apresentam uma parte superior côncava e uma parte inferior convexa. As folhas têm de 30 a 60 centímetros de comprimento por 7 a 8 centímetros de largura e possuem pequenos espinhos nas extremidades (Secretaria de Saúde do DF, 2019).

Aloe vera contém 75 constituintes potencialmente ativos: vitaminas, enzimas, minerais, açúcares, lignina, saponinas, ácidos salicílicos e aminoácidos (ATHERNON, 1997), muitos destes compostos, mesmo que indiretamente, tem sido amplamente utilizado empiricamente no tratamento de muitos distúrbios, como queimaduras e feridas em civilizações antigas (SHELTON, 1991). É indicada como cicatrizante em casos de queimaduras e ferimentos superficiais da pele, hemorroidas inflamadas, contusões, entorses e dores reumáticas, além de ser muito usada pelas mulheres para o trato dos cabelos (LORENZI & MATOS, 2002). A planta tem sido usada em várias culturas para o tratamento de lesões na pele (HASHEMI *et al.*, 2015), há um grande interesse nas glicoproteínas e lectinas encontradas na planta, devido às atividades de proliferação celular associadas a esses compostos (REYNOLDS & DWECK, 1999).

2.6.1 Propriedades biológicas do *Aloe vera*

As propriedades curativas da *Aloe vera* são conhecidas há milhares de anos. Culturas como os egípcios, romanos, gregos, árabes e indianos já empregavam a planta em diversos tratamentos. Como medicina tradicional é usada para curar feridas, aliviar coceira e inchaço, e é conhecida por suas propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas. Atualmente existem diversos estudos em vários campos diferentes que pesquisam sobre o uso do Aloe e seu potencial farmacológico (Quadro 1).

Quadro 1

Ação	Resultados	Autor
Ação antidiabética	Observou que a <i>Aloe vera</i> diminui a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) e pode inibir o aumento da glicose pós-prandial, sugerindo que a planta pode prevenir complicações do diabetes.	MuñizRamirez <i>et al.</i> (2020)
Ação antibiótica	O pó de gel de <i>Aloe vera</i> pode ser usado como agente antibacteriano e antioxidante na	Gorsi <i>et al.</i> (2019)

	conservação de alimentos e na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.	
Ação regeneradora celular	Os dados indicaram que o gel de Aloe vera melhorou significativamente a cicatrização de feridas em queratinócitos epidérmicos primários humanos.	Moriyam <i>et al.</i> (2016)

Fonte: Adaptado de BARBOSA FILHO et al., 2022.

2.7 FOTOPROTETORES

Entende-se como fotoproteção o conjunto de medidas que é tomado para diminuir ou mitigar a exposição aos raios solares, a fim de proteger a pele de danos. Um fotoprotetor é o produto que usa de mecanismos químicos, físicos ou biológicos para proteger a pele, os lábios e os cabelos dos efeitos nocivos das radiações ultravioletas (PURIM; LEITE, 2010). Existem diversos tipos de fotoproteção: a natural, a física ou inorgânica, a química ou orgânica e a proteção oferecida pelo vestuário e acessórios. As estratégias de fotoproteção levam a uma redução da exposição solar, o que leva à redução do dano imediato e a longo prazo causado pela radiação ultravioleta. No entanto, a eficácia da fotoproteção depende da implementação de um conjunto de medidas, que deve ser adaptado individualmente, levando em consideração informações como tipo de pele, padrão de vida, exposição ocupacional, localização geográfica e história familiar de câncer de pele (NICHOLS; SANTOSH; KATIYAR, 2010). Sua qualidade é determinada pelo seu fator de proteção solar (FPS) e de suas propriedades físico-químicas (formação de uma película ideal sobre a pele, estabilidade, baixa hidrossolubilidade e hipoalergenicidade) (PETRI, 2005).

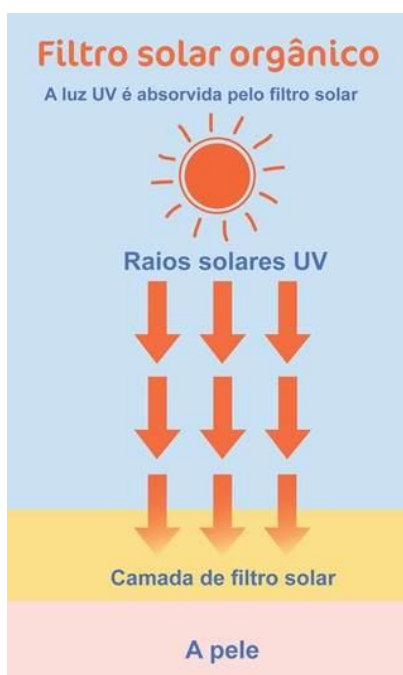
2.7.1 Fotoprotetores orgânicos x inorgânicos

Os fotoprotetores inorgânicos são compostos metálicos que agem como uma barreira física não permitindo a passagem da radiação, refletindo e

dispersando a radiação ultravioleta. Estes compostos são uma das formas mais seguras e eficazes para a proteção da pele, uma vez que apresentam baixo potencial de irritação, fotoestabilidade e não são absorvidos sistemicamente (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012). Os principais representantes dessa classe de produto são: dióxido de titânio e óxido de zinco. Com menor importância, temos ainda: o talco, o carbonato de cálcio, o caulim, o óxido de ferro e o petrolato vermelho (CABRAL et al., 2011).

Conhecidos também como fotoprotetores químicos, os fotoprotetores orgânicos são grupos cromóforos que dependendo da sua estrutura química, conseguem absorver a UVR dentro de uma faixa específica de comprimento de onda (Figura 4) (GUARATINI et al., 2009).

Figura 4 - Ação do fotoprotetor



Fonte: Petquímica – UFC, 2018

O fotoprotetor, ao absorver energia, passa do estado fundamental para um estado excitado de alta energia (KAIMAL; ABRAHAM, 2011). Com a absorção da energia, pode ocorrer três processos:

- Filtro fotoestável: libera a energia absorvida para o ambiente na forma de energia térmica e retorna ao estado fundamental. É capaz de absorver mais RUV.

- Filtro fotoinstável: após absorver energia UV, sofre alteração em sua estrutura química ou degradação.
- Filtro fotorreativo: interage com as moléculas circundantes, incluindo outros ingredientes do protetor solar, oxigênio, proteínas e lipídios da pele. Isso leva à produção de espécies reativas, que podem ter efeitos biológicos indesejados. (KAIMAL; ABRAHAM, 2011).

2.8 FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

É eficácia de um protetor solar (ARAUJO e SOUZA, 2008) em função de seu fator de proteção solar (FPS), o qual indica quantas vezes o tempo de exposição ao sol, sem o risco de eritema, pode ser aumentado com o uso do protetor. O FPS é aplicado exclusivamente às radiações UVB, pois estas são as causadoras de eritemas.

É definido pela razão que compara o tempo necessário para a radiação ultravioleta provocar uma dose mínima eritematosa (DME), numa pele protegida com filtro solar, em relação à DME na mesma pele não protegida pelo filtro, de acordo com a Equação 1 (TEIXEIRA, 2012).

Equação 1: Cálculo da DME para o FPS

$$DME: \frac{DME \text{ (na pele protegida)}}{DME \text{ (na pele desprotegida)}}$$

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar extrato hidroalcolico de *Aloe vera* como potencial fotoprotetor em células das linhagens MIA PaCa e HBMEC como modelo in vitro.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar a dose toxica mínima de UVR irradiada em células HBMEC e MIA PaCa.
- Avaliar a citotoxicidade do extrato obtido de *Aloe vera* na linhagem celular HBMEC e MIA PaCa.
- Determinar o fator de proteção solar do extrato em diferentes comprimentos de onda.

4 METODOLOGIA

4.1 PREPARO DOS EXTRATOS: HIDROALCÓOLICO E METÁNOLICO

Para extrair o extrato, 4 folhas grandes da planta foram higienizadas com água corrente, os espinhos foram retirados com auxílio de uma faca. Foi retirado também a casca superior da folha, para fazer a extração do gel com auxílio de um bisturi, tomando cuidado para não coletar o látex da folha junto. Após esse processo 300 g de gel de *Aloe vera* foram desidratados em estufa ao longo durante 48h, a uma temperatura de 52°C. Após a secagem, o gel foi cuidadosamente removido com um bisturi, transferido para um tubo de 50 mL e pesado. Seguindo o procedimento, uma porção do gel seco foi dividida e alocada em dois tubos distintos. No primeiro tubo, adicionou-se 10 mL de uma solução etanol/água na proporção de 70/30, enquanto no segundo, incorporou-se 10 mL de metanol. Para assegurar uma mistura homogênea, empregou-se um agitador Vórtex. Posteriormente, a mistura foi deixada para evaporar por 24h sob fluxo laminar, com o motor em funcionamento. Finalmente, a solução resultante foi filtrada utilizando um filtro de 0,22 µm para garantir a esterilidade e, em seguida, armazenada sob refrigeração a 4°C até o momento de sua utilização. (JAFARIAN; GHANNADI; MOHEBI, 2014).

4.2 CULTIVO CELULAR DE HBMEC e MiaPaca

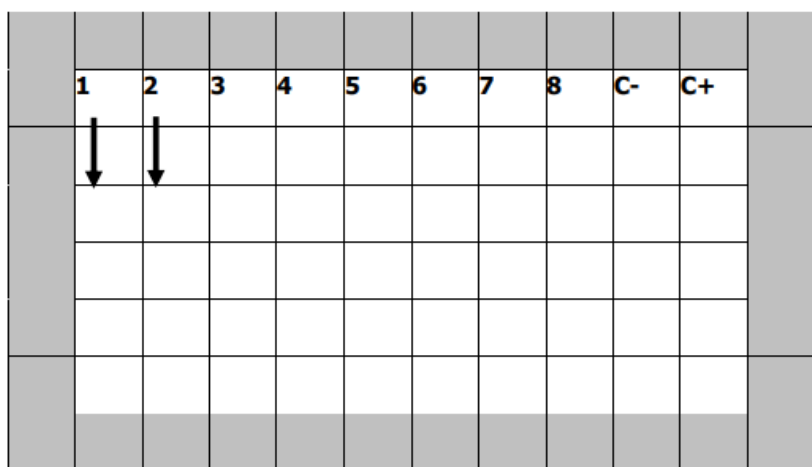
As células HBMEC (Creative Bioarray SCELL-12199) e Mia Paca-2 (ATCC CRL-1420™), obtidas do banco de células do laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde da UNILA, foram cultivadas em meio de cultura DMEN (Meio Essencial Mínimo), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de penicilina/estreptomicina (100 U/mL de penicilina e 100 ug/mL de estreptomicina), e colocadas no seu respectivo recipiente de cultivo na estufa em condições padrão (37 °C, 5% de CO₂ e 95% de ar umidificado). O crescimento do cultivo foi monitorado a cada 3 dias.

4.3 TESTE DE CITOTOXICIDADE

Para avaliar a citotoxicidade dos extratos um ensaio colorimétrico de citotoxicidade celular foi conduzido utilizando o brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Após as garrafas de cultivo chegarem em 90%, o meio de foi removido para realizar uma dupla lavagem nas células com solução salina de fosfatos (PBS 1x). Em seguida, o PBS foi descartado e 2,5 mL de solução de tripsina foram adicionadas, deixando-as incubadas de 2-5 minutos, em estufa, a 37° C. Para inativação da enzima, foram adicionados 2,5 mL de meio completo no frasco. Fazendo uso pipetas estéreis, o conteúdo do frasco foi transferido para tubos Falcon de 15 mL. Os frascos foram centrifugados então por 10 minutos, a 1200 rpm, até a formação de um pellet. O meio dos tubos foi descartado, e o pellet resuspendido em 1 mL de meio completo. O qual foi usado para realizar a contagem de células para determinar sua densidade por mililitro de meio.

A suspensão celular obtida no processo de contagem foi então cultivada em uma placa de 96 poços, na densidade de 1×10^4 células/poço, e 50 uL por poço. Em seguida, a placa foi incubada em estufa, a 37° C. Para o controle negativo, foram utilizados 50 uL por poço de meio completo.

Figura 5 - Modo de semeadura de células na placa de 96 poços



Fonte: Nota: Os poços numerados de 1 a 8 indicam as diferentes concentrações testadas, Os poços C- representam o controle negativo, Os poços C+ representam o controle positivo

Já como controle positivo, foi utilizada a solução de DMSO 10%. Após 24h, foram adicionadas aos poços o tratamento. Os poços permaneceram com o tratamento durante mais 24 horas, após esse período 10 µl de solução MTT (5 mg/ml) foram adicionados em todos os poços e a placa incubada por mais 4 horas a 37°C. Feito isto, o meio foi retirado e os cristais formados diluídos com 100 µl de DMSO. Os resultados da diluição dos cristais foram lidos em espectrofotômetro, para determinar a absorção em longitude de onda de 570 nm e 630 nm. Para os testes usando HBMEC, foram usadas a passagem de 1 a 6 da linhagem celular, já para os testes com MIA PaCa, foram usadas as passagens de 1 a 4.

4.3.1 Teste de citotoxicidade do extrato

As células previamente cultivadas foram plaqueadas em uma placa de 96 poços para cada tipo celular e incubadas a 37°C e 5% CO₂ por 24 horas em estufa de cultura de células. Após o período, as concentrações volume de extrato pelo volume de solução (v/v) foi adicionado, sendo as diluições: 25%, 12,5%, 6,23%, 3,13%, 1,56%, 0,78%, 0,39% e 0,19% para os dois tipos de extratos. A diluição foi realizada com meio de cultivo completo. Todas as diluições foram adicionadas em triplicatas, e incubadas por mais 24h. Passado o tempo, prosseguiu-se o experimento adicionando o MTT conforme descrito no item 4.3.

4.3.2 Teste de citotoxicidade da UV

Uma vez semeadas, as células foram incubadas por 24 horas para garantir uma adesão adequada. Posteriormente, a placa foi exposta à radiação UV. A tampa da placa foi coberta com papel alumínio para evitar que a luz UV chegue nos poços antes do tempo, com isso, quando a coluna devida ser exposta, a tampa foi retirada. Para o teste, foi usado a lâmpada UV germicida contida no Fluxo Laminar da marca SIMBLAB. A irradiação começou pela primeira coluna da placa, com duração de treze minutos, e aumentou-se o tempo de exposição em treze minutos para cada coluna subsequente, respeitando a sequência anterior, até que o tempo total estipulado fosse atingido. A primeira coluna foi a única a receber a irradiação completa de 120 minutos, enquanto a última coluna foi submetida a apenas treze minutos de

tratamento. Para controle do experimento, uma coluna foi mantida sem qualquer exposição à radiação UV.

4.3.3 Teste de fotoproteção do extrato

Nas células já plaqueadas e incubadas foram adicionadas às concentrações determinadas do extrato de *Aloe vera*. Quando todos os poços estiveram com o tratamento, as placas foram deixadas na estufa durante 10 minutos, passado esse tempo, todos os poços com células, exceto o controle, foram irradiados durante 10 minutos. Para este teste, além dos controles padrão, foi adicionado também um controle UV, onde uma coluna deixou de ser irradiada. Após este procedimento prosseguiu-se com o teste MTT padrão.

4.2 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

O FPS foi determinado através da metodologia desenvolvida por Mansur *et al.* (1986). O Fator de Proteção Solar (FPS) determinado *in vitro*, é calculado por espectrofotometria, através de soluções diluídas que contêm o filtro solar. Este método não pode ser empregado para a avaliação de fotoprotetores contendo filtros físicos. Foi preparado 2 mL das concentrações que demonstraram efeito fotoprotetor. Como controle foi usado o solvente de cada extrato. Após a preparação foi realizado a mediação em espectrofotômetro nos comprimentos de onda entre 190 e 320 nm, em intervalos de 5 nm usando um. O FPS foi calculado aplicando a Equação 2, também desenvolvida por Mansur *et al.* (1986):

Equação 2:

$$FPS: CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Onde EE é o espectro do efeito da dose eritematosa, I é o espectro da intensidade solar, Abs. é a absorvância e CF é o fator de correção (= 10). Os valores de $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ podem ser observados na tabela abaixo.

Tabela 1 – Comprimentos de onda e a multiplicação do efeito eritematogênico pela intensidade solar. Fonte: Mansur *et al.* (1986).

λ (NM)	EE (λ) X I (λ) I (normalizado) (valores relativos)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
TOTAL	1

Também será realizada uma segunda medição no espectrofotômetro, nos comprimentos de onda entre 270 até 400 nm. A mediação foi realizada para avaliar a estabilidade dos extratos após 2h de exposição à UV. E para ampliar o espectro, incluindo uma parte da radiação UVC, a UVB e UVA.

4.5 Análise estatística

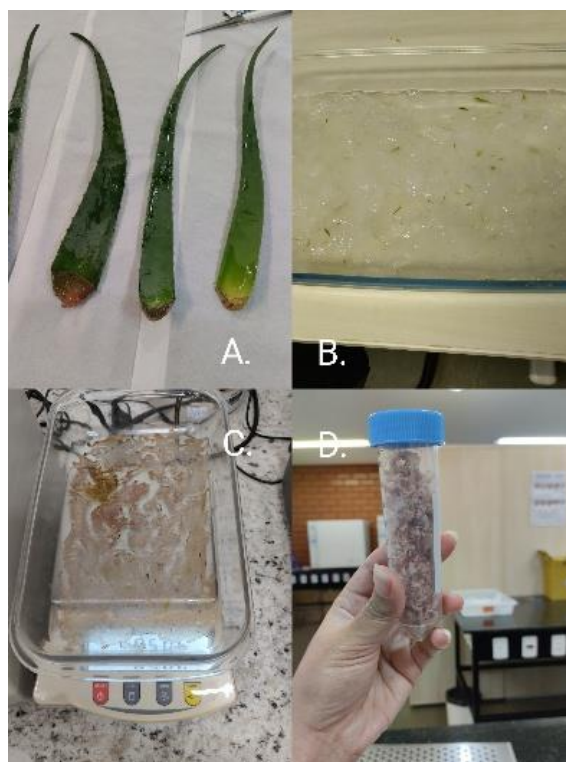
Os dados de viabilidade celular, obtidos através do ensaio de viabilidade celular, foram tratados e normalizados através de uma regressão não linear e o IC50 foi determinado com o auxílio do programa *GraphPad Prism 8*. A análise dos dados do teste de fotoproteção foi realizada através do teste ANOVA.

5 RESULTADOS E DISCUSÃO

5.1 PREPARO DOS EXTRATOS: HIDROALCOOLICO E METANOLICO

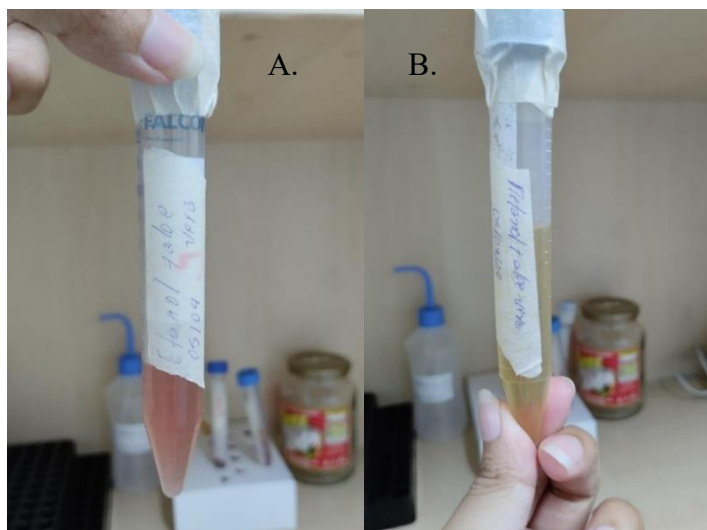
Após o processo de obtenção do gel e do tempo na estufa, se obteve um total de 2,2 grama do gel seco de *Aloe vera* (Figura 6).

Figura 6 - Processo de obtenção do gel seco de Aloe vera. A) Quantidade de folhas usadas, B) Gel de Aloe vera antes da secagem, C) Gel após um final de semana secando, D) Produto da secagem



Após evaporação obteve-se, para o extrato hidroalcolico, uma mistura em um tom mais avermelhado, enquanto o extrato metanólico apresentou uma coloração mais amarelada (Figura 7). Cada um dos extratos resultou em 8 mL concentrados que foram então armazenados a uma temperatura de 4°C até o momento de sua utilização.

Figura 7 - Resultado da evaporação dos extratos. A) Extrato hidroalcolólico, B) Extrato metanólico



Esta diferença de cor entre os extratos, poderia ser explicada devido ao método usado para a evaporação. Bennour *et al.* (2020), compararam diversos métodos de evaporação para o extrato de *Moringa oleífera*. A evaporação com luz, a temperatura ambiente ao ar durante 24 horas, empregada também no nosso estúdio, apresentou como resultado uma quantidade maior de conteúdo total de taninos condensados, em comparação com o método de extração usando o rotaevaporador. Enquanto o conteúdo total de flavonoides, foi inferior usando o método de evaporação ao ar, e maior ao usar o rotaevaporador (BENNOUR *et al.*, 2020)

5.2 TESTE MTT PARA CITOTOCIXIDADE

5.2.1 Citotoxicidade dos extratos

Em um primeiro momento, foram usadas somente células HBMEC. Para estas os extratos testados não demonstraram alterações significativas na viabilidade em nenhuma das concentrações aplicadas. Este resultado indica que a variação das concentrações dos extratos não afeta a sobrevivência celular. A análise detalhada dos dados revelou que nenhuma das concentrações utilizadas foi capaz de

modificar a viabilidade das células HBMEC, nem induzir a morte celular, como observado nas Figuras 8 e 9.

Figura 8 - Efeito do extrato hidroalcoólico de Aloe vera, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células HBMEC. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

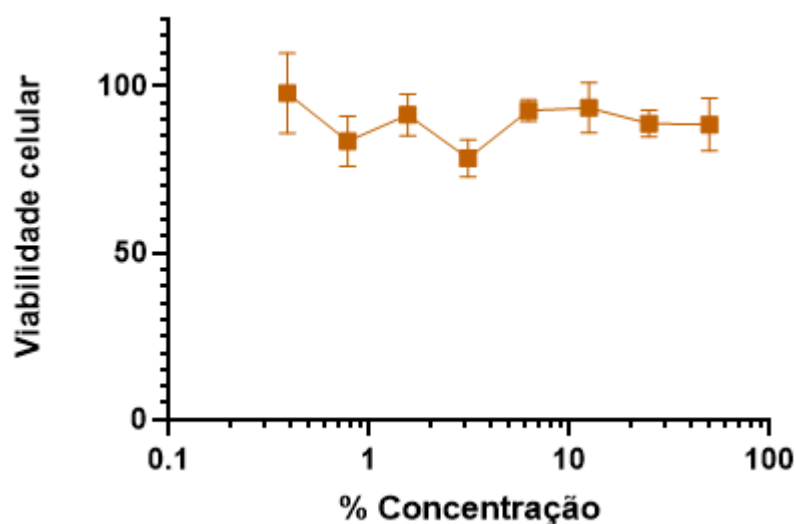
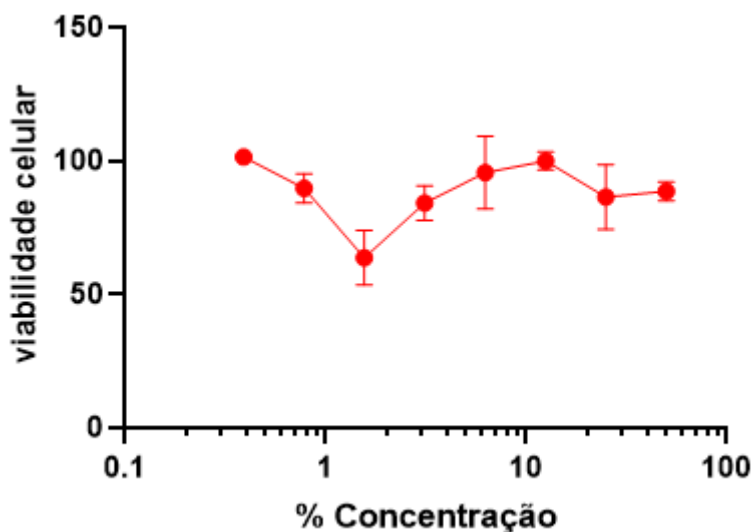


Figura 9 - Efeito do extrato metanólico de Aloe vera, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células HBMEC. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.



Para a linhagem MIA PaCa, obteve-se um resultado similar ao das células HBMEC. A análise das Figuras 10 e 11 revelam que, após um período de incubação de 24 horas

com os extratos hidroalcolico e metanólico de *Aloe vera* não se observa uma alteração significativa na viabilidade celular, indicando assim a ausência de um efeito citotóxico. A inexistência de uma curva de viabilidade celular pronunciada reforça a ideia de que o extrato não compromete a integridade das células.

Figura 10 - Efeito do extrato hidroalcolico de *Aloe vera*, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células MIA PaCa. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

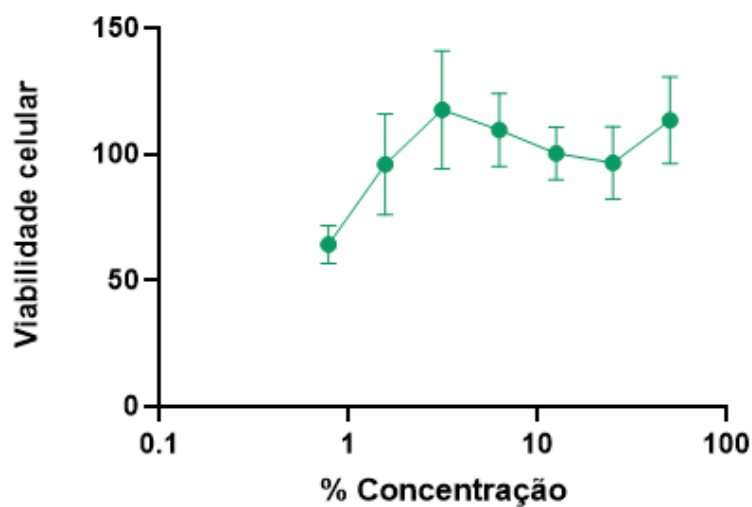
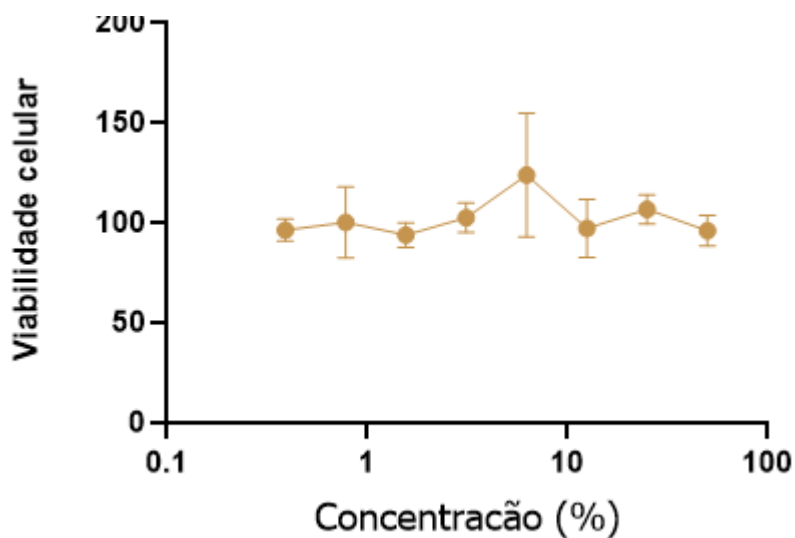


Figura 11 - Efeito do extrato metanólico de *Aloe vera*, em diferentes concentrações, sobre a viabilidade das células MIA PaCa. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

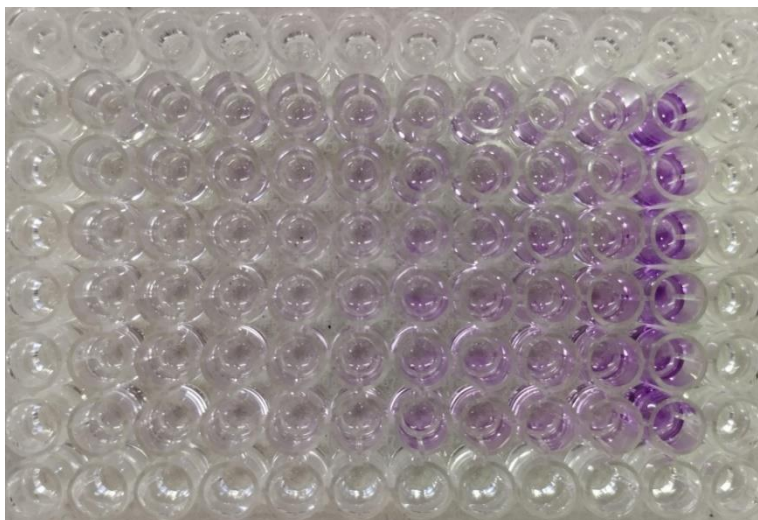


Como nos resultados obtidos em ambas as linhagens celulares é observado que nenhuma concentração testada apresenta uma diminuição significativa da viabilidade em referência ao controle, não foi possível calcular determinar um valor de IC50. Isto está alinhado com os resultados de vários prévios já feitos sobre a citotoxicidade do extrato de Aloe vera. Por exemplo Du Plessis e Hamman (2014) estudaram a citotoxicidade de plantas como *Aloe marlothii*, *Aloe speciosa* e *Aloe ferox*, todas pertencentes a família *Xanthorrhoeaceae*, contra células hepatocelulares humanas (HepG2), células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) e células epiteliais de adenocarcinoma humano (HeLa). Os autores aplicaram o gel e evidenciaram que, quando aplicado em concentrações baixas similares às deste estudo, não apresenta efeitos tóxicos às células (DU PLESSIS; HAMMAN, 2014). Já Basak; Paul; Majumder (2017) empregaram o extrato liofilizado da folha inteira e o extrato macerado da folha de Aloe vera (L) Burm.f, frente a células de câncer de mama e células mononucleares de sangue periférico (PBMC). Os autores descobriram que o extrato não apresente citotoxicidade para as células PBMC, mas que é tóxico para as células de câncer de mama.

5.2.2 Citotoxicidade da UV

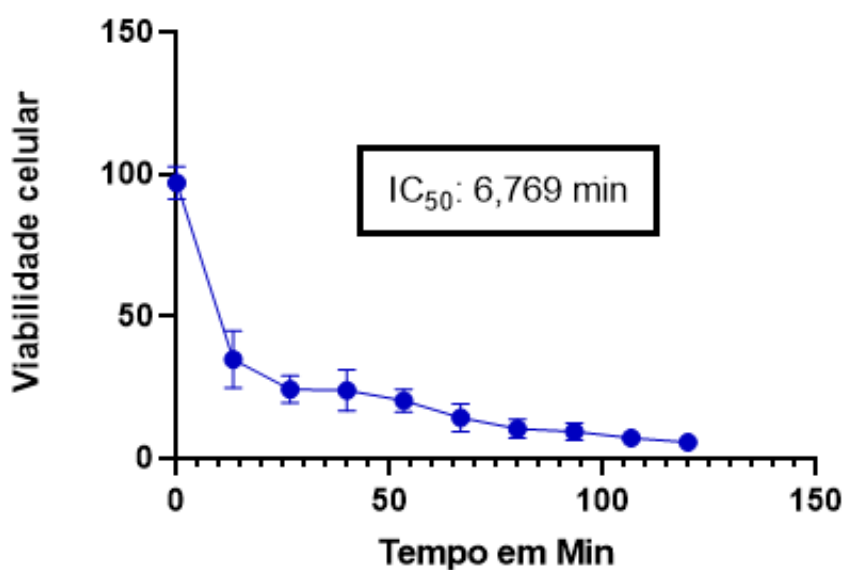
Foi realizado o ensaio MTT, que permitiu quantificar a viabilidade das células em cada poço após serem tratadas com UV e deixadas na estufa por por 24 horas. Na Figura 12, observou-se a placa de 96 poços ao término do ensaio. Notou-se que nos poços onde o tempo de exposição foi maior a coloração é menos intensa, aumentando progressivamente à medida que o tempo de exposição decresceu.

Figura 12 - Placa de 96 poços em ordem decrescente de tempos de exposição à UV. Os poços em cor roxo intensa representam o controle.



Portanto, a partir dos dados de absorvância, foi viável elaborar o gráfico da Figura 13. Este gráfico ilustra, de maneira mais evidente, a variação da viabilidade celular em função do tempo de exposição, após um período de incubação de 24 horas. Os resultados adquiridos indicam que a irradiação UV resultou em uma diminuição significativa da viabilidade das células MIAPACA.

Figura 13 - Efeito de diferentes tempos de exposição à UV sobre a viabilidade das células MIA PaCa. Cada ponto representa a média \pm desvio padrão.

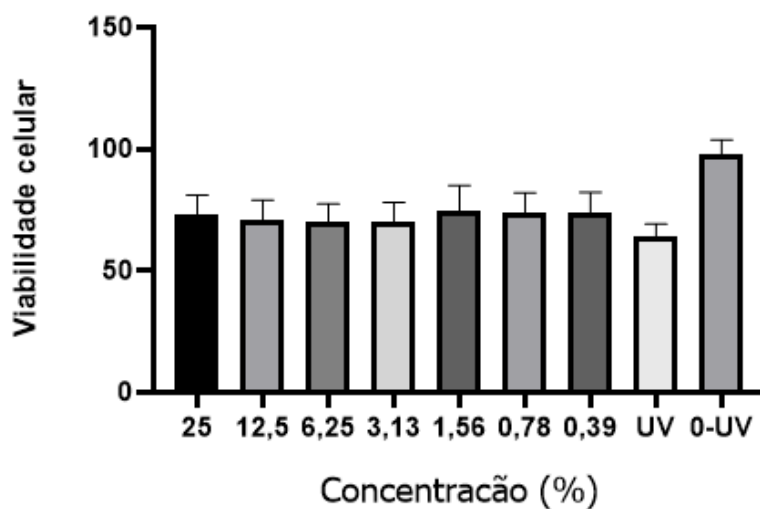


Finalmente, com a obtenção de uma curva de viabilidade significativa, estabeleceu-se um valor de IC50 correlacionado aos períodos de exposição. Assim, o estudo revela que, para as células da linhagem Mia Paca submetidas à radiação UV, o IC50 corresponde a 6,769 minutos. Para os resultados do teste UV, obteve-se que, no espectro em que foi irradiada, 190 - 290 nm, as células MIA PaCa mostraram uma diminuição na viabilidade celular, notada especialmente nos poços em o tempo de exposição foi maior. Resultado este que é oposto do descoberto por Hanamura *et al.* (2020). Onde determinam que a irradiação de células com luz UV a 222nm não afeta a viabilidade delas. Já nosso experimento houve uma redução de 95% nos poços que completaram OS 120 minutos de tratamento, e de 35% naqueles que tiveram apenas 13 minutos de tratamento. Por outro lado, Karagoz e Simitcioglu (2024), observaram que após duas horas de exposição à UV, obteve-se como resultado a morte celular completa das células. Devido à ausência de algumas informações como a exatidão dos comprimentos de ondas aplicados ou a intensidade das mesmas, detalhes que estão presentes no trabalho de Hanamura *et al.* (2020), o teste poderia ser repensado, empregando um sistema fechado para evitar interferência e para poder quantificar a energia luminosa irradiada, por exemplo, fazendo uso de um transluminador.

5.2.3 Teste fotoproteção dos extratos

Avaliou-se inicialmente a eficácia do extrato metanólico na proteção de células submetidas à radiação UV. Os dados obtidos revelaram que, nas concentrações testadas, o extrato não exerceu um impacto significativo na preservação da viabilidade celular. Tal observação foi reforçada ao comparar-se com células que não receberam tratamento. Células não expostas à UV mantiveram alta viabilidade, em contraste com as células que, após exposição à UV, demonstraram reduzida viabilidade (Figura 14). A análise dos poços tratados com diferentes concentrações do extrato mostrou uma viabilidade celular similar ao controle dos poços expostos à UV sem tratamento

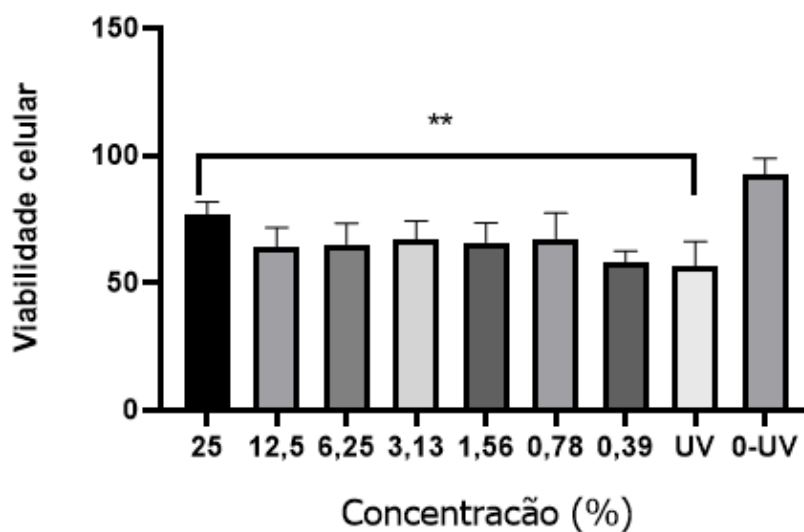
Figura 14 - Avaliação da viabilidade celular através do MTT, feita 24 horas após a exposição à UV com tratamento do extrato metanólico nas concentrações de 25% até 0,39%.



Portanto, que o extrato metanólico testado não apresenta propriedades fotoprotetoras, uma vez que nenhuma das concentrações avaliadas produziu valores de $p < 0,05$ quando comparadas ao controle irradiado com UV.

Na avaliação do extrato hidroalcolólico de Aloe vera, observou-se que, das sete concentrações examinadas, apenas a de 25% exibiu resultados positivos, com um valor de p significativo de 0,001 (Figura 15).

Figura 15 - Avaliação da viabilidade celular através do MTT, feita 24 horas após a exposição à UV com tratamento do extrato hidroalcolólico nas concentrações de 25% até 0,39%.



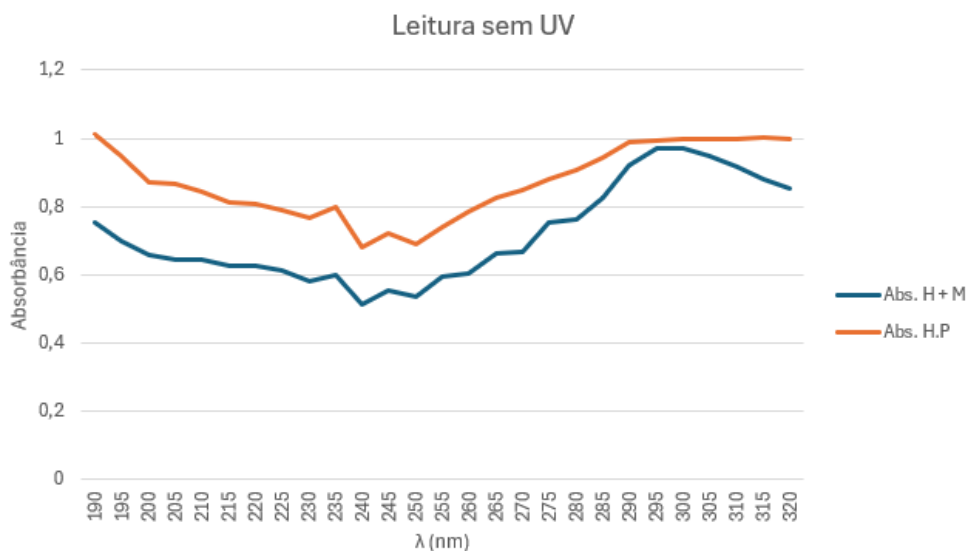
Isso indica que, embora a viabilidade celular nesta concentração não seja idêntica à dos poços não expostos à UV, ela é superior quando comparada à dos poços que receberam tratamento UV. O valor de p alcançado permite refutar a hipótese nula, confirmando a existência de uma diferença significativa na viabilidade celular entre a concentração de 25% e o controle submetido à irradiação UV. Portanto, pode-se afirmar que o extrato hidroalcológico em questão demonstra uma eficaz atividade fotoprotetora sobre as células tratadas.

Estudos sobre a fotoproteção do gel de Aloe vera já foram realizados. Mas ao contrário do trabalho, que se utilizou de um extrato diluído, a atividade fotoprotetora estudada por Karagoz e Simitcioglu (2024) se baseou na utilização do gel puro de Aloe vera. Para irradiar UV os autores usaram um Transluminador (DNR-IS) no espectro UVC com comprimento de onda de 254 nm. No trabalho o gel foi usado para formar uma camada e cobrir as células previamente cultivadas em placas de petri, para os resultados ele observaram sua morfologia após serem expostas durante 1, 2 e 3 horas à luz UV. Em ambos os estudos, o gel de Aloe vera apresentou satisfatoriamente um o efeito de proteção frente as células irradiadas com UV (KARAGOZ, I.D; SIMITCIOGLU, B. 2024).

5.3 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

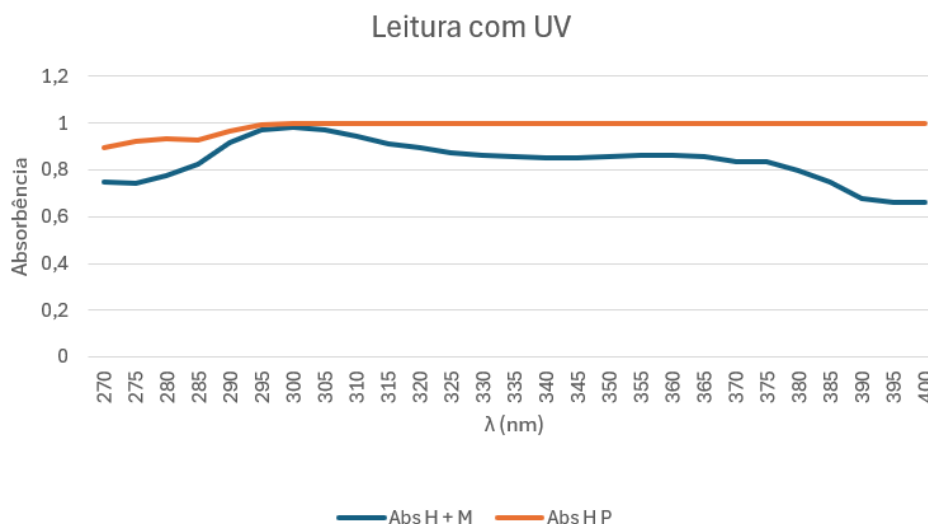
Para a leitura foi usado um Espectrofotômetro UV-VIS (mono-feixe) da marca WEBLABORSP com cubeta de vidro. Como resultado obteve-se o seguinte gráfico (Figura 16). A linha azul representa o extrato diluído e a linha laranja o extrato puro. Nesta primeira leitura pode-se observar que ambos os extratos possuem um comportamento parecido, com a absorbância sofrendo uma queda pela metade já no começo e logo após um crescimento no final no espectro UVC. Porém, já no espectro UVB as amostras se diferenciam pois o extrato diluído volta a ter uma queda e o extrato puro se mantém estável.

Figura 16 - Leitura dos compostos sem exposição à UV. A linha laranja representa o composto puro e a linha azul representa o extrato diluído com meio.



Como mostrado no gráfico a curva, tanto o extrato puro como a diluição, quando atingem o comprimento de onda de 270 nm, começa a ter um crescimento. Em vista disso optou-se por realizar uma segunda leitura, abrangendo o intervalo de 270 nm até os 400 nm. Este intervalo abrange uma parte do espectro UVC, e os espectros de UVB e UVA completos. Adicionalmente, antes da leitura, os compostos foram expostos à irradiação UV por duas horas. Este procedimento foi aplicado para verificar a estabilidade dos compostos ou a ocorrência de degradação, o que poderia comprometer sua eficácia. O gráfico obtido pode ser observado a seguir (Figura 17).

Figura 17 - Leitura dos compostos expostos à UV durante 2h. A linha laranja representa o composto puro e a linha azul representa o extrato diluído com meio.



Dos 270 até os 320 nm, em ambos os compostos é observado o mesmo comportamento do gráfico anterior. Mas a partir dos 325 nm o extrato diluído apresenta uma queda na absorbância que se estende até o final do espectro UVA. Já o extrato puro, mantém sua absorbância alta até o final da leitura aos 400 nm.

Os resultados do FPS calculado das estão contidos na Tabela 2. Os cálculos foram feitos com a utilização da Equação 1, substituindo pelos valores padronizados (Tabela 1).

Tabela 2 - Avaliação do FPS seguindo a equação de Mansur

	SEM UV		COM UV	
	H + M	H.P	H + M	H.P
FPS	8,68585	9,968924	9,056636	9,916949

Nota: H + M representa o composto diluído e H.P representa o composto puro.

Os resultados obtidos para a determinação do FPS demonstram que embora o composto diluído a 25% sem exposição a UV tenha um FPS de 8, não é muito diferente do composto puro. Também as duas amostras, o extrato puro

concentrado e o diluído em meio, mesmo após exposição à UV durante 2h, não apresentou uma diminuição no FPS, o que pode indicar que o composto é estável e não sofreu degradação.

Isso pode ser explicado devido a capacidade das plantas de se protegerem contra a radiação solar. Especialmente a Aloe vera, que é característica de ambientes seco. Durante o ano, espécies são expostas a variadas intensidades de radiação solar por períodos prolongados. Naturalmente, espera-se que desenvolvam mecanismos de defesa para prevenir danos celulares. A estabilidade de compostos ativos naturais diante da radiação UV representa um aspecto crucial no desenvolvimento de formulações fotoprotetoras (ABURJAI; NATSHEH, 2003).

Este experimento traz relevância quando comparado ao trabalho de Rodrigues (2020). Que investiga o Fator de Proteção Solar (FPS) de nanopartículas lipídicas sólidas de Aloe vera. Os resultados dos testes in vitro, empregando o método de Mansur, mostram um FPS de $16,9 \pm 2,44$. Mesmo que o valor obtido por Rodrigues seja quase o dobro dos valores obtidos pelos nossos experimentos tem que se levar em consideração que, além de serem nanopartículas lipídicas, foi adicionado ingredientes para a preparação de um creme, o que pode ter interferido na hora de realizar a leitura da absorbância e consequente diferença no cálculo de FPS (RODRIGUES; JOSE, 2020).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados apresentados ao longo deste trabalho pode-se concluir que os extratos do gel de Aloe vera, metanólico e hidroalcólico, não apresentam citotoxicidade e por consequente não alteram as condições de viabilidade celular. Apesar de terem sido testadas diversas concentrações dos extratos em busca de um efeito fotoprotetor, apenas a concentração de 25% do extrato hidroalcólico, apresentou efeito esperado. Com o teste de determinação do FPS, pode-se entender que o composto, seja diluído ou puro, não apresenta uma grande variação em relação ao FPS. Descobriu-se também que o composto é estável, visto que, mesmo após duas horas de exposição à radiação UV, mostrou um FPS parecido ao daquele calculado na primeira leitura. O estudo também validou a eficácia do procedimento desenvolvido por Mansur *et al.* (1986) para determinar tanto um valor teórico para o fator de proteção solar. A pesquisa sobre extratos com efeitos fotoprotetores é de extrema importância para o desenvolvimento de produtos que protejam a pele dos danos causados pela radiação solar. Estes estudos são essenciais para entender como substâncias naturais podem ser utilizadas para criar protetores solares mais eficazes e seguros, oferecendo alternativas sustentáveis aos filtros químicos tradicionais. Além disso, a investigação destes extratos contribui para a biodiversidade e para a valorização do conhecimento tradicional associado ao uso de plantas.

REFERÊNCIAS

- ABURJAI, T.; NATSHEH, F. M. Plants used in cosmetics. **Phytotherapy research : PTR**, v. 17, n. 9, p. 987–1000, nov. 2003.
- ATHERTON, Peter. *Aloe vera* revisited. *British Journal of Phytotherapy*, v. 4, p. 176-183, 1997.
- ATHERTON, Peter. *The essential Aloe vera: The actions and the evidence*. Mill Enterprises, 1997.
- AZULAY, Rubem David et al. *Azulay Dermatologia*. 6a. ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- BARBOSA, W. L. R. 1., PINTO, L.N. (2003). Documentação e variação da fitoterapia tradisna Kaiap nas aldeias A Ukre e pycanu – sudeste do Pará. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 13, 47-49.
- BATH-HEXTALL FJ, PERKINS W, BONG J, WILLIAMS HC. Interventions for basal cell carcinoma of the skin. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;24(1):CD003412
- BASAK, P.; PAUL, S.; MAJUMDER, R. **Invitro cytotoxic study of aloe vera whole leaf extract on PBMC and breast cancer cell line**. 2017 2nd International Conference for Convergence in Technology (I2CT). **Anais...IEEE**, abr. 2017.
- BENNOUR, N. et al. Effect of solvent evaporation method on phenolic compounds and the antioxidant activity of *Moringa oleifera* cultivated in Southern Tunisia. **South African journal of botany**, v. 129, p. 181–190, 1 mar. 2020.
- BEZERRA, Sarita Maria de Fátima Martins de Carvalho et al. Efeitos da radiação solar crônica prolongada sobre o sistema imunológico de pescadores profissionais em Recife (PE), Brasil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86, p. 222-233, 2011.
- BHUTIA, S. K.; MAITI, T. K. Targeting tumors with peptides from natural sources. *Trends Biotechnol*, v. 26, n. 4, p. 210-7, Apr 2008.
- BONTEMPO, M. *O livro definitivo da Aloe vera, a planta milenar da saúde*. Brasília:Thesaurus, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Câncer de pele. 2022a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva O que é câncer? 2022b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Como surge o câncer? 2022c.

CETESB, Informações de Radiação, Agência do Governo do Estado de São Paulo – Brasil, 2020.

CABRAL, L.D.S.; PEREIRA, S.O.; PARTATA, A.K. Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados no Brasil. Revista Científica do ITPAC, Araguaína, v.4, n.3, 2011.

DIEPGEN TL, FARTASCH M, DREXLER H, SCHIMITT J. Occupational skin cancer induced by ultraviolet radiation and its prevention. Br J Dermatol. 2012 Aug;167(Suppl 2):76-84

DOMANSKY, C.R; BORGES, L.E. Manual para prevenção de lesões de pele. Recomendações baseadas em evidências. Rio de Janeiro: Editora Rubio,2012.

DU PLESSIS, L. H.; HAMMAN, J. H. In vitro evaluation of the cytotoxic and apoptogenic properties of aloe whole leaf and gel materials. **Drug and chemical toxicology**, v. 37, n. 2, p. 169–77, abr. 2014.

DUTILH JHA e CAMPOS-ROCHA, A. Liliaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2023.

GORSI, F.I., KAUSAR, T. & MURTAZA, M.A. (2019). Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) gel powder using different solvents. Pure and Applied Biology. 8(2), 1265-70.

GRACE, O. M. Current perspectives on the economic botany of the genus Aloe L. (Xanthorrhoeaceae). v. 77, n. 4, p. 980–987, 1 out. 2011.

GRAFF, Van De. Anatomia humana. 6.ed. São Paulo: Manole, 2003.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell, v. 144, n. 5, p. 646-74, Mar 4 2011.

HANAMURA, N. et al. Viability evaluation of layered cell sheets after ultraviolet light irradiation of 222 nm. **Regenerative therapy**, v. 14, p. 344–351, jun. 2020.

HASHEMI, S.A., Madani, S.A., & Abediankenari, S. (2015). The review on properties of *Aloe vera* in healing of cutaneous wounds (2015) BioMed Research International, art. no. 714216, 6 pages

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Câncer de pele melanoma. 2019 Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-melanoma>

INPE, Instituto Nacional de Pesquisa Espacial: Radiação UV e Saúde Humana. Disponível em http://satelite.cptec.inpe.br/uv//docs/RUV_Saude_revisado1.pdf

JAFARIAN, A.; GHANNADI, A.; MOHEBI, B. Cytotoxic effects of chloroform and hydroalcoholic extracts of aerial parts of *Cuscuta chinensis* and *Cuscuta epithymum*

on Hela, HT29 and MDA-MB-468 tumores cells. *Research in Pharmaceutical Sciences*, v. 9, n. 2, p. 115–122, 2014.

JOSEPH, B.; JUSTIN, S. PHARMACOGNOSTIC AND PHYTOCHEMICAL PROPERTIES OF *ALOE VERA* LINN -AN OVERVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v. 4, n. 2, 2010.

Journal of Radiation Oncology Biology* Physics*, v. 32, n. 4, p. 1047-1052, 1995.
JUCHEM PP, HOCHBERG J, WINOGRON A, ARDENGHY M, English R. Health Risks of Ultraviolet Radiation. *Rev. Bras. Cir. Plást.* 1998;13(2):31-60

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 5

KAIMAL, S.; ABRAHAM, A. Sunscreens. ***Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology***, v. 77, n. 2, p. 238, 1 mar. 2011.

KAMETANI, Saeda *et al.*. Mechanism of growth inhibitory effect of cape aloe extract in Ehrlich ascites tumor cells. ***Journal of nutritional science and vitaminology***, v. 53, n. 6, p. 540-546, 2007.

KARAGOZ, I. D., SIMITCIOGLU, B., “Ex vivo UV-C Protective Effect of Aloe vera”, *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, vol. 13, no. 1, pp. 23–29, 2024, doi: 10.17798/bitlisfen.1309376.

KLOPPER, R. R. *et al.*. *Aloe* in Angola (Asphodelaceae: Alooideae). v. 39, n. 1, p. 19–35, 11 ago. 2009.

LOPES, F. M.; CRUZ, R. O.; BATISTA, K. A. Radiação ultravioleta e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, v. 16, n. 4, p. 183-199, 2012.

LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. 2002. *Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, Plantarum

MAHARJAN, H. R., & NAMPOOTHIR, P. L. (2014). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review.

MANSUR, João de Souza *et al.*. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. ***An. Bras. Dermatol***, p. 121-4, 1986.

MORIYAMA, M. (2016). Beneficial Effects of the Genus *Aloe* on Wound Healing, Cell Proliferation, and Differentiation of Epidermal Keratinocytes. *PLoS One*. 11(10), e0164799.

MOSMANN, T. R. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 16 dez. 1983.

MUÑIZ-RAMIREZ, A., PEREZ, R.M., GARCIA, E. & GARCIA, F.E. (2020). Antidiabetic Activity of Aloe vera Leaves. *Evid Based Complement Alternat Med*. 6371201.

NICHOLS, J. A.; SANTOSH, •; KATIYAR, K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. [s.d.].

PEDRAZA-FARINA, L. G. Mechanisms of oncogenic cooperation in cancer initiation and metastasis. *Yale J Biol Med*, v. 79, n. 3-4, p. 95-103, Dec 2006.

PETRI, V. Fotobiologia: conceitos básicos. Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina – Departamento de Dermatologia, 2005.

PURIM, K. S. M.; LEITE, N. Fotoproteção e exercício físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, n. 3, p. 224–229, jun. 2010.

QUEIROGA VP. *Aloe vera* (babosa): tecnologias de plantio em escala comercial para o semiárido e utilização. 1 ed. Campina Grande: AREPB, 2019; 153p

QUINN AG, PERKINS W. Non-melanoma skin cancer and other epidermal skin tumors. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editors. *Rook's textbook of dermatology*. 8th ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2010. p. 52.1.

RIIKKA PASTILA; LESZCZYNSKI, D. Ultraviolet-A radiation induces changes in cyclin G gene expression in mouse melanoma B16-F1 cells. v. 7, n. 1, p. 7–7, 2 maio 2007.

ROBERTS, Dianna B.; TRAVIS, Elizabeth L. Acemannan-containing wound dressing gel reduces radiation-induced skin reactions in C3H mice. *International*

RODRIGUES, L. R.; JOSE, J. Exploring the photo protective potential of solid lipid nanoparticle-based sunscreen cream containing Aloe vera. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 17, p. 20876–20888, 1 jun. 2020.

SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. *Dermatologia*. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001.

Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, v. 110, n. 11, p. 876-884, 1990.

Secretaria de Saúde do Distrito Federal. Roda de Conversa sobre plantas medicinais: *Aloe vera* 2019 - Farmácia Viva - Sistema Único de Saúde – SUS. Disponível em: <<https://www.saude.df.gov.br/roda-de-conversa-farmacia-viva>>.

SHALKA, S.; STEINER, D.; RAVELLI, F. N. Consenso Brasileiro de Fotoproteção. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. numero 6 S, 2014

SHELTON, R.M. 1991. *Aloe vera*. Its chemical and therapeutic properties. *International Journal of Dermatology*, 30, 679-683.

SILVA, A. B. M. B. OLIVEIRA, A. B., & REIS A. B. (2015). Bio-inspired *Aloe vera* sponges for biomedical applications,

STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, P. A. The cancer genome. *Nature*, v. 458, n. 7239, p. 719-24, Apr 9 2009.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S.R. *Princípios de anatomia e fisiologia*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.