

Universidade Federal do Sul da Bahia - UFSB
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - IFBA
Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais - PPGCTA

Nilson Marques Silva Júnior

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETOR EM
PLANTAS COLETADAS NA MATA ATLÂNTICA DO SUL DA BAHIA**

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lima

Co-orientador: Prof. Dr. Marcus Luciano Souza de Ferreira
Bandeira

PORTO SEGURO - BA

JULHO – 2021

Nilson Marques Silva Júnior

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETOR EM
PLANTAS COLETADAS NA MATA ATLÂNTICA DO SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Sul da Bahia e Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais para obtenção do Título de Mestre em Ciências e Tecnologias Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lima

Co-orientador: Prof. Dr. Marcus Luciano Souza de Ferreira
Bandeira

PORTO SEGURO - BA

JULHO – 2021

Dados internacionais de catalogação na publicação (CIP)

S586a Silva Júnior, Nilson Marques

Avaliação do potencial antioxidante e fotoprotetor em plantas coletadas na Mata Atlântica do sul da Bahia / Nilson Marques Silva Júnior. – Porto Seguro, 2021.

42 f. : il. (algumas color.)

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lima

Coorientador: Prof. Dr. Marcus Luciano Souza de Ferreira Bandeira.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA), Campus Porto Seguro. Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB), Campus Sosígenes Costa. Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais.

1. Plantas medicinais 2. Extrato de plantas 3. Antioxidante 4. Fotoprotetor 5. Compostos fenólicos 6. Mata Atlântica 7. Bahia (BA) I. Título.

CDD: 572

Elaborada por Jakeline Vilela de Pádua – CRB-5/1573

COMISSÃO JULGADORA

Allison Gonçalves Silva

Prof. Dr Allison Gonçalves Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia

Bruna Carmo Rehem

Prof^a Dra. Bruna Carmo Rehem
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia

Sérgio Anunciação Rocha

Prof. Dr. Sérgio Anunciação Rocha
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Aprovada em: ____/____/____

Local da Defesa: _____

Dedico este trabalho à minha
esposa e minhas filhas por todo
apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dá o dom da vida e colocar sentido nela. A minha família, em especial minha esposa Raquel Marques, sempre com seu apoio fundamental e serenidade nos meus momentos de angústia. As minhas filhas, Alice e Isadora, sempre prontas a me alegrar, buscarei sempre ser exemplo para elas. As tias Gilsa e Dadá, fundamentais nessa caminhada, presente nos momentos mais difíceis e complicados de trabalho e mestrado, ajudando no cuidado das minhas filhas. Aos meus pais, irmã e sobrinhas. Agradeço aos colegas, em especial Leinah e Raquel, sempre disponíveis a ajudar.

Agradeço ao meu orientador, Luciano da Silva Lima, sempre paciente e disponível e a Marcus Luciano Souza de Ferreira Bandeira, coorientador, que também não mediu esforços para as explicações e apoio. Obrigado a vocês pelo apoio e as orientações.

Enfim, agradeço a todos os amigos e colegas que contribuíram para esse crescimento pessoal e profissional!

Se conseguir enxergar longe é
porque procurei olhar acima
dos ombros dos gigantes.
Isaac Newton

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
INTRODUÇÃO GERAL.....	13
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	15
Artigo 1.....	16
Atividade fotoprotetora e inibitória da Tirosinase <i>in vitro</i> em Plantas Brasileiras: Uma revisão associativa.....	17
1 Introdução.....	17
2 Material e métodos.....	18
3 Resultados e discussão.....	19
4 Conclusão.....	24
5 Referências bibliográficas.....	25
ARTIGO 2.....	28
Avaliação do potencial antioxidante e fotoprotetor de plantas da Mata Atlântica do Sul da Bahia..	29
1. INTRODUÇÃO.....	29
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	30
2.1 Preparo dos Extratos por Planejamento das misturas.....	31
2.2 Fenólicos Totais (FT).....	31
2.3 Atividade Antioxidante (AA).....	32
2.4 Atividade Fotoprotetora.....	32
2.5 Análise Estatística.....	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1 Planejamento de mistura e Fenólicos Totais.....	33
3.2 Avaliação Antioxidante.....	35
3.3 Avaliação da Atividade Fotoprotetora.....	37
4. CONCLUSÃO.....	38
5. AGRADECIMENTOS.....	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
CONCLUSÃO GERAL.....	42

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETOR DE PLANTAS COLETADAS NA MATA ATLÂNTICA DO SUL DA BAHIA

RESUMO GERAL

As plantas medicinais são utilizadas no tratamento de enfermidades há muito tempo. A grande diversidade de espécies vegetais e o aumento da procura de fitoterápicos e a necessidade da validação das propriedades farmacológicas tem incentivado o surgimento de inúmeros estudos. Dentre esses estudos, o uso de metabólitos secundários com ação fotoprotetora, o que se tornou fundamental para a prevenção de doenças relacionadas à exposição à radiação solar, fruto das consequências dessa exposição e a produção em excesso de radicais livres, que são espécies reativas que estimulam a produção de melanina pela enzima tirosinase, que leva a danos que podem ser irreversíveis à pele.

Neste trabalho, são apresentados dois artigos. O primeiro trata de uma revisão associativa de plantas brasileiras avaliadas o efeito fotoprotetor e inibidor da tirosinase *in vitro*, no período de 2010 a 2020, pela busca nas bases *PubMed*, *Scopus* e Google acadêmico. No levantamento, foram analisados estudos nos cinco biomas brasileiros, onde demonstraram plantas avaliadas a ação inibitória da tirosinase (AIT) e o Fator de proteção solar (FPS). Foi possível observar na revisão que a FPS e (AIT) estavam associados na maioria das vezes a compostos químicos como o ácido kójico, timol, espilantol, quercetina, rutina e compostos fenólicos das mais variadas classes.

O segundo artigo utilizou plantas de ocorrência no bioma da Mata Atlântica do Sul da Bahia, objetivando avaliar o teor de fenólicos totais e a relação entre atividade antioxidante e fotoprotetora pela otimização de misturas de extratores por planejamento simplex. Três plantas foram avaliadas: *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin e *Miconia albicans* (S.W) Triana, onde os resultados encontrados revelaram que a *C. lucens* Dwyer apresentou maior teor de fenólicos e a *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin (caule) apresentou melhor atividade antioxidante. Apesar de apresentarem (FPS), nenhuma espécie apresentou valores significativos exigidos pela legislação para utilização como filtro solar.

Palavras-Chave: Extrato de plantas, Compostos Fenólicos, Radiação UV, Fotoproteção.

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT AND PHOTOPROTECTIVE POTENTIAL OF PLANTS COLLECTED IN THE SOUTHERN BAHIA ATLANTIC FOREST

ABSTRACT

Medicinal plants have been used to treat illnesses for a long time. The great diversity of plant species and the increase in demand for herbal medicines and the need to validate their pharmacological properties led to the emergence of numerous studies. Among these studies, the use of secondary metabolites with photoprotective action, which has become essential for the prevention of diseases related to exposure to solar radiation, because of the consequences of this exposure and the excess production of free radicals, which are reactive species that stimulate production of melanin by the enzyme tyrosinase, which leads to damage that may be irreversible to the skin.

In this work, two articles are presented. The first deals with an associative review of Brazilian plants evaluated for photoprotective and tyrosinase inhibitory effects *in vitro*, in the period from 2010 to 2020, by searching the PubMed, Scopus and Academic Google databases. In the survey, studies in the five Brazilian biomes were analyzed, which demonstrated plants evaluated for the inhibitory action of tyrosinase (AIT) and the sun protection factor (SPF). It was possible to observe in the review that SPF and (AIT) were associated most of the time with chemical compounds such as kojic acid, thymol, epilantol, quercetin, rutin and phenolic compounds from the most varied classes.

The second article used plants occurring in the Atlantic Forest biome of southern Bahia, aiming to evaluate the total phenolic content and the relationship between antioxidant and photoprotective activity by optimizing extractant mixtures by simplex planning. Three plants were evaluated: *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin and *Miconia albicans* (SW) Triana, where the results revealed that *C. lucens* Dwyer had higher phenolic content and *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin (stem) showed better antioxidant activity. Despite presenting (FPS), none of the species presented significant values required by legislation for use as a sunscreen.

Keywords: Plant extract, Phenolic Compounds, UV radiation, Photoprotection.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resumo dos principais dados dos artigos no período de 2010 a 2020.....	20
Tabela 1	Planejamento de misturas de solventes do processo extrativo.....	31
Tabela 2	Teor de Fenólicos Totais (FT) para cada planejamento com amostras secas.....	34
Tabela 3	Atividade antioxidante de maiores FT do planejamento de mistura	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma dos estudos obtidos na pesquisa.....	19
Figura 2	Número de publicações de artigos relacionados à avaliação in vitro da atividade fotoprotetora e/ou inibitória da tirosinase em extratos de plantas brasileiras no período de 2010 a 2020, em periódicos disponíveis nas bases de dados Scopus, Web of Science, Pubmed, Scielo e Google Acadêmico.....	20
Figura 3	Gráfico do número de artigos avaliados por Bioma.....	21
Figura 4	Estrutura química do ácido kójico (1), timol (2), espilantol (3), quercetina (4) e rutina (5).....	24
Figura 1	Superfície de resposta ao delineamento experimental do modelo matemático simplex-centroide linear especial para avaliação do fator resposta em extratos obtidos de <i>Copaifera lucens</i> Duyer, <i>Miconia albicans</i> , <i>Schnella</i>	34
Figura 2	Estrutura química do DPPH (1) Não Reduzida (2) Reduzida.....	36
Figura 3	Gráfico de Fator de proteção solar dos extratos de <i>C. lucens</i> , <i>M. albicans</i> e <i>S. angulosa</i>	38

INTRODUÇÃO GERAL

A radiação Ultravioleta (UV) pode ser subdividida em 3 tipos: UVA, UVB e UVC conforme seu comprimento de onda de 320-400, 280-320 e 190-280 nm, respectivamente. A UVA é aproximadamente 20 vezes mais penetrante na pele humana sendo responsável pelas mudanças observadas na pele e alteração celulares (FRUET, 2015).

A exposição à radiação solar pode ocasionar desequilíbrio entre as substâncias antioxidantes e a quantidade de radicais livres no organismo provocando um estresse oxidativo, que pode desencadear diversas doenças como câncer, doenças cardiovasculares e desordens inflamatórias (GUARATINI et al., 2009; SILVA et al., 2010).

Para diminuir as consequências da radiação solar e da produção excessiva de radicais livres têm-se utilizado frequentemente polifenóis de origem vegetal por sua conhecida ação antioxidante e potencial inibidor da enzima tirosinase. Essa ação se deve pela grande diversidade de grupos químicos, como hidroxila, grupos carboxílicos e doadores de prótons (FRUET, 2015) presentes nas substâncias produzidas pelas plantas.

A Mata Atlântica é um dos grandes ambientes de biodiversidade brasileiro. Apesar de iniciativas de conservação e criação de áreas de proteção em reservas, apenas aproximadamente 7% ainda resta dessa floresta. Atualmente, mais de 530 plantas estão ameaçadas (TABARELLI et al., 2005). Este bioma possui uma flora rica com grande diversidade de espécies vegetais, entretanto, muitos destas plantas não foram investigadas as suas propriedades farmacológicas se encontram desconhecidas (VIOLANTE et al., 2009). Com o aumento do número de doenças associadas à radiação solar, torna-se uma alternativa para a busca de novas substâncias fotoprotetora.

Nesse contexto, e buscando a valorização da Mata Atlântica pela descoberta de compostos bioativos, neste trabalho são apresentados dois artigos. O primeiro artigo mostra uma revisão bibliográfica de plantas avaliadas a atividade fotoprotetora e inibitória da tirosinase nos últimos dez anos publicados nas bases SCOPUS, PUMED e Google Acadêmico. Desta forma, a revisão visa demonstrar as publicações de plantas brasileiras avaliada para a proteção da pele humana quanto a exposição às radiações ultravioletas (UV), que são também responsáveis por alterações cutâneas provocadas geralmente por espécies reativas (DE SOUZA et al., 2013). Portanto, os radicais livres são os principais responsáveis por dano celular e várias doenças, dentre elas o câncer de pele. E as substâncias produzidas pelas plantas podem reduzir ou prevenir pelo sequestrado dos radicais livres ou atuar como inibidores enzimáticos (VIEIRA et al., 2015).

O segundo artigo utilizou plantas de ocorrência no bioma da Mata Atlântica do Sul da Bahia, objetivando avaliar o teor de fenólicos totais e a relação entre atividade antioxidante e fotoprotetora pela otimização de misturas de extratores por planejamento simplex. Três plantas foram avaliadas:

Copaifera lucens Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin e *Miconia albicans* (S.W) Triana, onde os resultados encontrados revelaram que a *C. lucens* Dwyer apresentou maior teor de fenólicos e a *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin (caule) apresentou melhor atividade antioxidante. Apesar de apresentarem (FPS), nenhuma espécie apresentou valores significativos exigidos pela legislação para utilização como filtro solar.

A *Miconia albicans* é uma espécie de ocorrência entre o sul do México até o Paraguai, distribuindo-se por quase todos os estados brasileiros, onde é conhecida como canela de velho. A planta pertence à Família das Melastomataceae e ao gênero *Miconia* (CARREIRA e ZAIDAN, 2003). PIERONI et al., 2011). Inúmeras propriedades terapêuticas como analgésicas, antiparasitárias e antifúngicas são conhecidas.

A *Copaifera lucens* Dwyer pertencem a Família Fabaceae e ocorre exclusivamente na Mata Atlântica da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (VIDAL et al., 2014). Em estudos com óleo e resinas naturais de espécie do gênero foram verificadas atividade antiedematogênica em avaliação *in vivo* e a inibição *in vitro* da 5-lipooxigenase, enzima que participa da cascata inflamatória (LEANDRO et al., 2012). Porém, não foram encontrados dados a respeito da atividade farmacológica de *C. lucens* Dwyer (DAMASCENO et al., 2019).

A *Schnella angulosa* (Vogel) Wundelin (Família Fabaceae) é uma espécie endêmica no Brasil onde é conhecida popularmente como escada de macaco e apresentam alta capacidade de fixação de nitrogênio no solo (TRETOWAN et al., 2015). Dentre os compostos encontrados em espécie do mesmo gênero, os flavonoides, terpenoides, esteroides, ácidos fenólicos destacam-se pelas propriedades terapêuticas antioxidantes e hipoglicemiantes, tendo correlação com a presença de compostos fenólicos, em especial de flavonoides glicosilados (SANTOS et al., 2014).

Desta maneira, a partir desta investigação de plantas é busca também a valorização da flora brasileira e da Mata Atlântica do Sul da Bahia pelo estudo farmacológica de espécimes do bioma. Bem como, buscar dados na literatura pela revisão bibliográfica de trabalhos experimentais de ação já descritas para plantas da biodiversidade brasileira, para subsidiar estudos futuros.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- CARREIRA, R. C.; ZAIDAN, L. B. P. Estabelecimento e crescimento inicial de *Miconia albicans* (Sw.) Triana e *Schizocentron elegans* Meissn, sob fotoperíodos controlados. **Hoehnea**, v. 30, n. 2, p. 155–161, 2003.
- DAMASCENO, J. L. et al. Investigation of Safety Profile of Four *Copaifera* Species and of Kaurenoic Acid by Salmonella / Microsome Test. **hindawi**, v. 2019, 2019.
- DE SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. - Acerola. **Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 69–77, 2013.
- FRUET, A. C. Avaliação do Efeito Fotoprotetor de Compostos Fenólicos sobre culturas de células da pele irradiadas por UVA e UVB. **Universidade de São Paulo**, 2015.
- GUARATINI, T. et al. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 717–721, 2009.
- LEANDRO, L. M. et al. Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera spp.*) Oleoresins. **Molecules**, p. 3866–3889, 2012.
- PIERONI, L. G. et al. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) triana leaves. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9439–9450, 2011.
- SANTOS, P. M. DOS et al. Perfil de flavonoides e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico de *Bauhinia purpurea* (Fabaceae) da região amazônica. **Quim. Nova**, v. 37, n. 1, p. 89–94, 2014.
- SILVA, M. L. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.
- TABARELLI, M. et al. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 132–138, 2005.
- TRETHOWAN, L. A.; CLARK, R. P.; MACKINDER, B. A. A synopsis of the neotropical genus *Schnella* (Cercideae: Caesalpinioideae: Leguminosae) including 12 new combinations. **PHYTOTAXA**, v. 204, n. 4, p. 237–252, 2015.
- VIDAL, D. B. et al. Effects of submergence in water on seed germination and vigor of the *Copaifera lucens* (Fabaceae) seedlings. **Journal of Forestry Research (2014)**, v. 25, 2014.
- VIEIRA, L. M. et al. Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 17, n. 4, p. 521–527, dez. 2015.
- VIOLANTE, I. M. P. et al. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2 A, p. 452–457, 2009.

Este artigo/capítulo está formatado segundo as normas da Revista Scientia Plena
Disponível no site: <https://www.scientiaplena.org.br/sp>

Artigo 1

Atividade fotoprotetora e inibitória da Tirosinase *in vitro* em Plantas Brasileiras: Uma revisão associativa

Photoprotective and inhibitory activity of Tyrosinase *in vitro* in Brazilian Plants: An associative review

N.M.S Junior^{1*}; L.S. Lima²; M. L.S.F. Bandeira³

¹Instituto Federal da Bahia/Universidade Federal do Sul da Bahia, CEP, Porto Seguro-BA, Brasil

²Departamento de Química/Laboratório de Química Orgânica/Instituto Federal da Bahia, CEP, Porto Seguro-BA, Brasil

³Departamento de Química/Laboratório de Química Analítica/Instituto Federal da Bahia, CEP, Porto Seguro-BA, Brasil

[*nilsonmsj@hotmail.com](mailto:nilsonmsj@hotmail.com)

(Recebido em dia de mês de ano; aceito em dia de mês de ano)

Resumo

O uso de plantas medicinais tem sido empregado para diversos fins, principalmente como terapêuticos. Desta forma, a busca por compostos com ações fotoprotetoras em espécies brasileiras vem aumentando gradativamente fruto da necessidade de substâncias mais eficazes e mais baratas para a proteção da pele. Entre esses estudos, a inibição da tirosinase tem demonstrado ser promissora para a utilização os fotoprotetores naturais. Objetivo desta revisão foi analisar a produção científica sobre a atividade fotoprotetora e a inibitória da tirosinase em plantas brasileiras para fins terapêuticos. A revisão foi baseada em busca de artigos científicos nas bases de dados *Scopus*, *PubMed* e *Google Acadêmico*, seguindo os critérios de inclusão: artigos científicos disponíveis na íntegra nas bases de dados, publicados em periódicos nacionais e/ou estrangeiros, para plantas medicinais com avaliação da atividade fotoprotetora e inibitória da tirosinase, publicados entre 2010 a 2020. No total foram incluídos treze artigos, sendo que doze avaliaram a inibição da enzima *in vitro* em diferentes partes das plantas: óleo, folha, caule e fruto.

Palavras-chave: Plantas Mediciniais, Substâncias bioativas, Inibidores enzimáticos

Abstract

The use of medicinal plants has been used for different purposes, mainly as therapeutics. Thus, the search for compounds with photoprotective actions in Brazilian species has been gradually increasing as a result of the need for more effective and cheaper substances to protect the skin. Among these studies, tyrosinase inhibition has shown to be promising for the use of natural photoprotectors. The aim of this review was to analyze the scientific production on photoprotective and tyrosinase inhibitory activity in Brazilian plants for therapeutic purposes. The review was based on a search for scientific articles in the *Scopus*, *PubMed* and *Google Academic* databases, following the inclusion criteria: scientific articles available in full in the databases, published in national and/or foreign journals, for medicinal plants with evaluation of photoprotective and tyrosinase inhibitory activity, published between 2010 and 2020. In total, thirteen articles were included, of which twelve evaluated the inhibition of the enzyme *in vitro* in different parts of the plants: oil, leaf, stem, and fruit

Keyword: Medicinal plants, Bioactive substances, Enzymatic inhibitors

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é opção terapêutica para melhoria da saúde em todo mundo, principalmente nos países onde a população não tem acesso a um sistema de saúde pública de qualidade e necessita de fontes alternativas para cura de enfermidades [1,2].

Nesse contexto, o Brasil ocupa uma posição privilegiada com uma diversidade de espécies vegetais, estimada pelo Ministério Ambiente do Brasil (MMA) em 43.020 espécies conhecidas [3]. Além disso, abriga comunidades com vastos conhecimentos passados de geração a geração sobre o uso de plantas medicinais para

cura de diversos males, dentre as quais, doenças de pele ocasionadas pela exposição excessiva à radiação solar [4,5].

Os inúmeros usos das propriedades atribuídas às plantas no Brasil, o uso de extratos naturais para a proteção da pele frente à exposição dos raios solares [6] tem sido uma estratégia farmacológica eficaz e segura associada a facilidade de uso e custos, principalmente em relação aos filtros solares comerciais. Esses filtros solares orgânicos possuem a capacidade de proteger a pele por reflexão da radiação incidente e absorção da radiação ultravioleta e pela ação dos metabólitos secundários das plantas, diferentemente dos filtros comerciais que agem pela ação de óxido metálico refletindo ou dispersando a radiação incidente [7,8].

Vários mecanismos são utilizados para avaliação de extratos de plantas para a proteção dos danos da radiação solar causados na pele, onde pode-se destacar a capacidade fotoprotetora e inibição da enzima tirosinase. A capacidade fotoprotetora consiste na minimização dos efeitos danosos dos raios UV pela absorção, reflexão ou difusão dos raios incidentes por extratos naturais [9]. A ação é medida por fator de proteção solar (FPS) que estabelece o período de exposição solar com o produto fotoprotetor aplicado sem a ocorrência de eritema. Associado também a proteção da pele humana, a inibição da tirosinase tem sido alvo de estudos visando a inibição da enzima com o objetivo de controlar o excesso da produção de melanina [6,9].

A capacidade dos extratos de plantas em inibir a tirosinase é um mecanismo essencial na redução de desordens na melanogênese ocasionado pela exposição solar, sendo apontado por alguns autores como promissores para o tratamento do distúrbio [5,10,11]. Desta forma, a tirosinase é uma enzima chave para a biossíntese de melanina, porém quando em excesso desencadeia a hiperpigmentação e o uso de inibidores atuam na fase inicial da melanogênese reduzindo os danos celulares [12,13].

Paralelamente ao contexto, a exposição celular à radiação solar também estimula a produção de Espécies Reativas e geração de estresse oxidativo [14], o que pode resultar no crescimento desordenado das células causando fotoenvelhecimento e até mesmo, o surgimento de tumores e neoplasias malignas [15]. Foi constatado que pessoas que residem em países tropicais estão mais expostas à doença, como o Brasil e a Austrália, que apresentam os maiores índices de registros de câncer de pele do mundo [16,17].

Face ao exposto, o objetivo dessa revisão foi reunir informações experimentais de artigos que avaliaram *in vitro* a capacidade fotoprotetora e inibitória da tirosinase em plantas brasileiras, a fim de conhecer alternativas naturais e mais barata para a minimização dos efeitos danosos da exposição à radiação solar na pele humana.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento por artigos científicos publicados no período de 2010 a 2020 foi realizado entre os meses de julho a dezembro de 2020 nas bases PubMed, Scopus e Google acadêmico pelas palavras chaves “Brazil AND Tyrosinase AND Photoprotection” na base PubMed e “Brazil AND Tyrosinase” na base Scopus. Já na base do Google Acadêmico foi utilizado os termos “Brazil AND Tyrosinase AND Photoprotection AND Forest” para obter maior refinamento. Todo procedimento se encontra descrito no fluxograma da Figura 1.

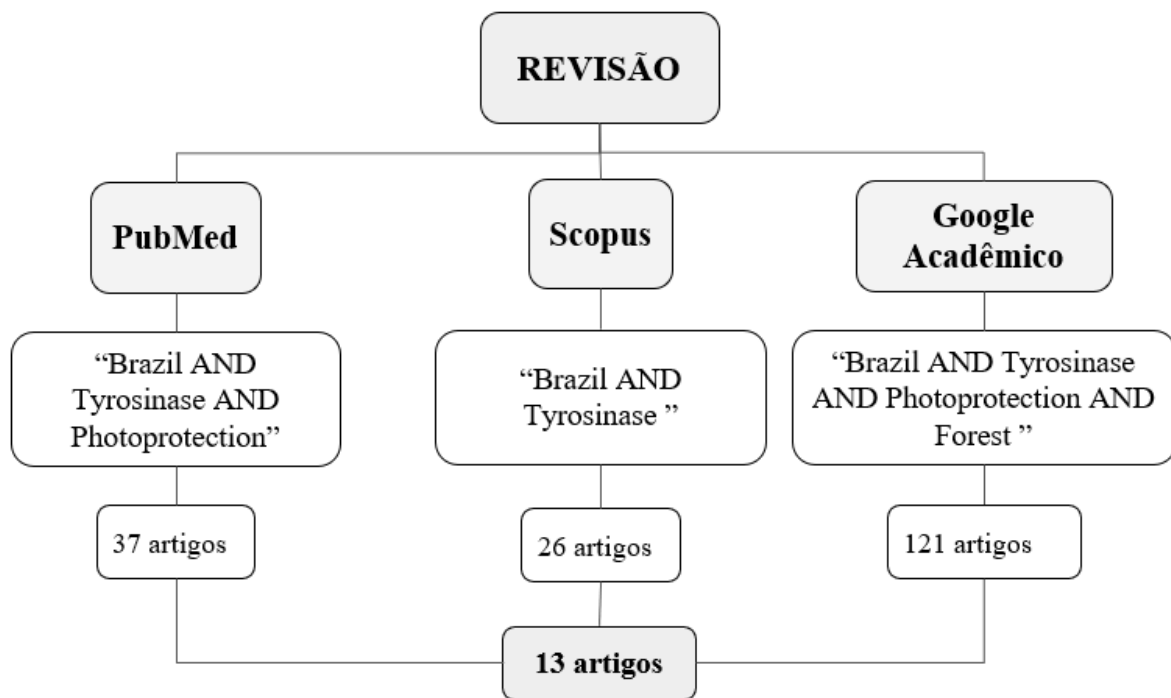


Figura 1: Fluxograma dos estudos obtidos na pesquisa

A busca resultou em um total de 184 produções. Entretanto, após análise na íntegra dos estudos foram excluídos as monografias, dissertações, textos incompletos e os que eram realizados com plantas não coletadas no Brasil. Esta seleção resultou em 13 artigos que descreviam a atividade fotoprotetora e inibitória da tirosinase de espécies vegetais brasileiras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o uso dos critérios de inclusão e exclusão foram obtidos 13 artigos com dados sobre plantas brasileiras com avaliação do potencial de inibição da tirosinase (AIT) e fotoproteção (FPS). Todos os artigos foram lidos na íntegra, totalizando doze estudos experimentais e um de revisão.

A Figura 2 demonstra a discriminação de artigos selecionado por ano no período do levantamento com avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora e inibitória da tirosinase em extratos de plantas brasileiras.



Figura 2: Número de publicações de artigos relacionados à avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora e/ou inibitória da tirosinase em extratos de plantas brasileiras no período de 2010 a 2020, em periódicos disponíveis nas bases de dados Scopus, Web of Science, PubMed, Scielo e Google Acadêmico

No período é verificado o maior número de publicações no período de 2012 à 2014 e 2016 a 2018, com oito artigos e cinco artigos publicados, respectivamente. A partir de 2014 houve uma diminuição no número de publicações, o que se sugere a necessidade de mais investigações com as plantas brasileiras, dada o quantitativo de espécies já identificadas nos biomas do Brasil.

As principais informações dos artigos selecionados foram descritas na Tabela 1 de maneira resumida informações como: Espécie e Família, Parte Utilizada do Vegetal e Resultados da atividade fotoprotetora e inibição da tirosinase das plantas brasileiras avaliadas nos estudos.

Tabela 1: Resumo dos principais dados dos artigos no período de 2010 a 2020

REFERÊNCIAS	ESPÉCIE	FAMÍLIA	PARTE	RESULTADO		
				FPS	AIT (IC50)	EFICÁCIA AIT
TEIXEIRA et al, 2012	<i>Euterpe oleracea</i>	Areaceae	Óleo Vegetal	Não foi avaliada	66,08 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Forte Atividade
	<i>Oenocarpus bataua</i> Mart	Arecaceae	Óleo Vegetal	Não foi avaliada	668,03 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Forte Atividade
SOUZA et al, 2012	<i>Eugenia dysenterica</i> DC	Myrtaceae	Folha, Caule e Fruto	Não foi avaliada	11,88 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Moderada Atividade
	<i>Pouteria torta</i> Radlk	Sapotaceae	Folha, Caule e Fruto	Não foi avaliada	30,01 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Forte Atividade
JORGE et al, 2012	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Anacardiaceae	Folha	Não foi avaliada	0,44 mg.mL^{-1}	Forte Atividade
SILVERIO, 2013	<i>Dipteryx alata</i> Vogel	Fabaceae	Folha	Não foi avaliada	42% após 1h	Moderada Atividade
OLIVEIRA et al, 2013	<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	Folha	Não foi avaliada	20% após 1h	Baixa Atividade
SILVEIRA et al, 2013	<i>Rheum rhaponticum</i> L	Polygonaceae	Rizoma	Não foi avaliada	0,06 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Moderada Atividade
VIEIRA et al, 2015	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Anacardiaceae	Folhas e Caules	Não foi avaliada	42% após 1h	Moderada Atividade

PANONTIN et al, 2014	<i>Hymenaea stigonocarpa</i>	Fabaceae	Frutos	Não foi avaliada	76,30% após 1h	Moderada Atividade
BARBOSA et al, 2015	<i>Acmella oleracea</i>	Asteraceae	Folhas e Caule	12	206,8 mg.mL ⁻¹	Forte Atividade
DA SILVA et al, 2017	<i>Lippia origanoides</i>	Verbenaceae	Folhas e Galhos	Não foi avaliada	84,7% após 1h	Forte Atividade
MOREIRA et al, 2017	<i>Eugenia dysenterica</i>	Myrtaceae	Folhas	< 6,0	16,74% após 1h	Baixa Atividade
DE MORAIS et al, 2018	<i>Dalbergia ecastaphyllum</i>	Fabaceae	Folha	13,08	124,5µg.mL ⁻¹	Moderada Atividade
DOS SANTOS et al, 2018	<i>Hancornia speciosa</i>	Apocynaceae	Folha	Não foi avaliada	159,4 µg.mL ⁻¹	Forte Atividade

* É aceito pela legislação brasileira FPS maior que 6,0.

Os dados reportaram a avaliação das atividades fotoprotetoras e/ou inibitória da tirosinase em 14 espécies distribuídas nos diferentes biomas brasileiros (Figura 3). Nestes dados, é possível observar que a maioria das espécies foram coletadas no cerrado, seguido pela Amazônia, com 38,5 e 30,8%, respectivamente, dos artigos selecionados.

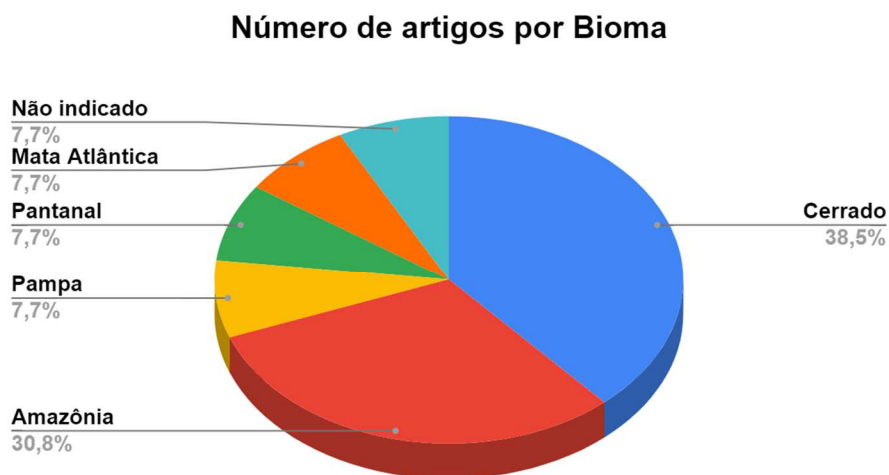


Figura 3: Gráfico do número de artigos avaliados por Bioma

Embora esses biomas apresentem características particulares como diversidades climáticas, solo, hidrografia, entre outros [18] foi possível observar a predominância do estudo de espécies da Família Fabaceae, com três estudos. As espécies estudadas da Família investigada foram a *Dipteryx alata* (baru), *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá) e *Dalbergia ecastaphyllum* (marmelo do mangue).

Nestes estudos, os extratos etanólicos das folhas e frutos exibiram a atividade antioxidante e inibitória da tirosinase e a ação foi atribuída principalmente a presença de compostos fenólicos polares [19]. Com a *H. stigonocarpa*, não foi realizado estudo sobre o fator de proteção solar (FPS) e a atividade inibitória da tirosinase de 76,3% por hora foi considerada como forte atividade [13]. Enquanto a *D. ecastaphyllum* exibiu a ação fotoprotetora com fator de proteção solar (FPS) de 13,08, considerado um valor de proteção acima dos valores estabelecidos pela legislação brasileira (FPS >3) e forte atividade inibitória da tirosinase (AIT) [12,20].

Já a Família Verbenaceae que possui 35 gêneros e cerca de 800 espécies nas regiões subtropicais e subáridas da América do Sul [21], a *Lippia origanoides* (Alecrim pimenta) foi investigada as folhas e galhos coletadas na Amazônia. A planta é bastante utilizada na medicina tradicional para diversos fins terapêuticos como antimicrobiano, anti-hipertensivo, anti-inflamatório, analgésico e no combate aos radicais livres [19,22]. No estudo, foi verificado a presença de atividade antioxidante e intensa atividade inibitória da tirosinase, cerca de 84,7% que foi atribuída ao composto timol que apresenta intensa proteção contra danos induzidos por estresse oxidativo [22].

Os óleos das espécies *Euterpe oleracea* (açai) e *Oenocarpus bataua* (pataua) pertencentes as Família Areaceae e Arecaceae, respectivamente, apresentaram forte atividade inibitória da tirosinase. Entretanto, a *Euterpe oleracea* apresentou elevada ação inibitória da tirosinase com valores próximos a substância referência, o ácido kójico [23]. De acordo com o estudo de Hidalgo et al., (2016) [24], a espécie *O. bataua* apresentou atividade antioxidante atribuída a diversas substâncias fenólicas.

As folhas e caules de *Acmella oleracea* (jambu) da Família Asteraceae [25] que já foram descritas as atividades anti-inflamatórias e analgésicas e se tornou promissora na inibição da Tirosinase, atribuída principalmente pela presença do espilantol nos extratos metanolicos. Nos extratos da planta, a inibição enzimática AIT exibiu o percentual de 40% de inibição após 1h, considerada moderada e FPS = 12 acima do valor recomendado pela legislação brasileira.

Duas espécies da família da Anacardiaceae apresentaram efetividade na inibição da enzima. O extrato de folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira vermelha) exibiu forte atividade AIT (*in vitro*) [26]. Já as folhas e cascas de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira preta) exibiram percentuais significativos para a mesma atividade no extrato metanólico, porém o extrato obtido da casca do caule demonstrou AIT superior com 42%, concluindo a maior eficácia na inibição enzimática [9].

A *Pouteira torta* (abiu piloso) e *Eugenia dysenterica* (cagaita) das Famílias Sapotaceae e Myrtaceae, respectivamente, apresentaram desempenho satisfatório para inibição da tirosinase e potencial para serem usadas em formulações tópicas na pele sem causar efeito citotóxico em concentrações adequadas [27], entretanto Moreira et al., (2017) [28] verificou uma baixa atividade inibitória da tirosinase ao utilizar extratos de folhas de *E. dysenterica* e ao aumentar a concentração do extrato foi possível verificar o aumento da AIT, demonstrando a correlação da concentração e atividade enzimática.

Em estudos com espécies da Família das Lamiaceae foi verificado grande concentração de fenólicos totais nas folhas da *Salvia officinalis* (sálvia) sendo que a atividade tirosinase está relacionada diretamente a presença de flavonóides, subgrupo dos compostos fenólicos [29,30]. Ainda Silveira e colaboradores (2013) [19] reportaram que o extrato de rizoma de *Rheum rhaponticum* (ruibarbo) (Família Polygonaceae) apresentou propriedades antioxidantes e moderada atividade AIT.

Em geral, a atividade antioxidante está muito relacionada em fontes naturais a diversos usos farmacológicos, dentre eles a proteção da pele. Uma vez que muito dessas doenças são provocadas pelo excesso de radicais livres nos organismos. A presença de compostos fenólicos que atuam inibindo a ação de radicais livres e de inibição da enzima tirosinas, diminuem os danos celulares [31,32] provocados pelos radicais livres e doenças na pele, consequência excesso da espécie química. Entretanto, compostos naturais podem

diminuir ou perder sua ação antioxidante devido a interferências químicas e físicas, como fermentação e tempo para extração influenciando na atividade farmacológica desejada [33]. Essa diminuição da atividade pode interferir no potencial fotoprotetor e AIT [34].

Do quantitativo de artigos selecionados, apenas três publicações descrevem as atividades fotoprotetoras e inibitórias da tirosinase no extrato da mesma planta, sugerindo que quando associadas e ambas atividade apresentam maior benefício na proteção da pele, pois além de inibir a absorção da radiação solar, controlam a síntese de melanina ao inibir a tirosinase [35].

Contudo, para avaliação do potencial de extratos para proteção da pele frente a exposição solar mais criteriosa, sugere-se que os estudos ocorram em conjunto, ou seja, avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e inibição da tirosinase. Considerando que os artigos analisaram a atividade antioxidante, demonstraram correlação positiva com a atividade fotoprotetora, a ação desses antioxidantes dos metabólitos secundários das plantas e sua atuação como redutores, sequestradores de radicais livres podem ser candidatos fortes para inibidores da enzima. Em outro estudo, foi verificado que a concentração de fenóis totais influencia a atividade antioxidante e conseqüentemente a fotoproteção [9].

Na verificação da atividade fotoprotetora o método mais empregado foi o descrito por Mansur, que é comumente utilizado na avaliação de extratos de plantas. No procedimento é realizado uma varredura espectrofotométrica de 290 a 320 nm, em intervalo de 5 nm e multiplicado por valores normatizados em decorrência da absorção de UVB [36]. Já na avaliação da tirosinase, aborda a quimioproteção da pele pela inibição do processo de síntese de melanina pela inibição da tirosinase. O processo *in vitro* ocorre pela adição de tirosinase de cogumelo em concentração do substrato e realizado leitura em 475 nm em dois momentos, com intervalos de tempo para avaliar a variação na densidade ótica [19].

Desde a última década, substâncias inibidoras da tirosinase em substratos de plantas vêm sendo testados em produtos farmacêuticos objetivando prevenção da superprodução de melanina. Entre os compostos bioativos mais comum pode destacar o ácido kójico (1), timol (2), espilantol (3), quercetina (4), rutina (5) dentre outros, pertencentes às mais variadas classes de metabólitos secundários como compostos fenólicos (Figura 4) [23]. Esses metabólicos apesar de possuírem estruturas mais complexas, baixo peso molecular, apresentam em baixas concentrações nas plantas, diferente de metabólitos primários, porém com atividades biológicas expressivas que despertam interesse para pesquisa [34].

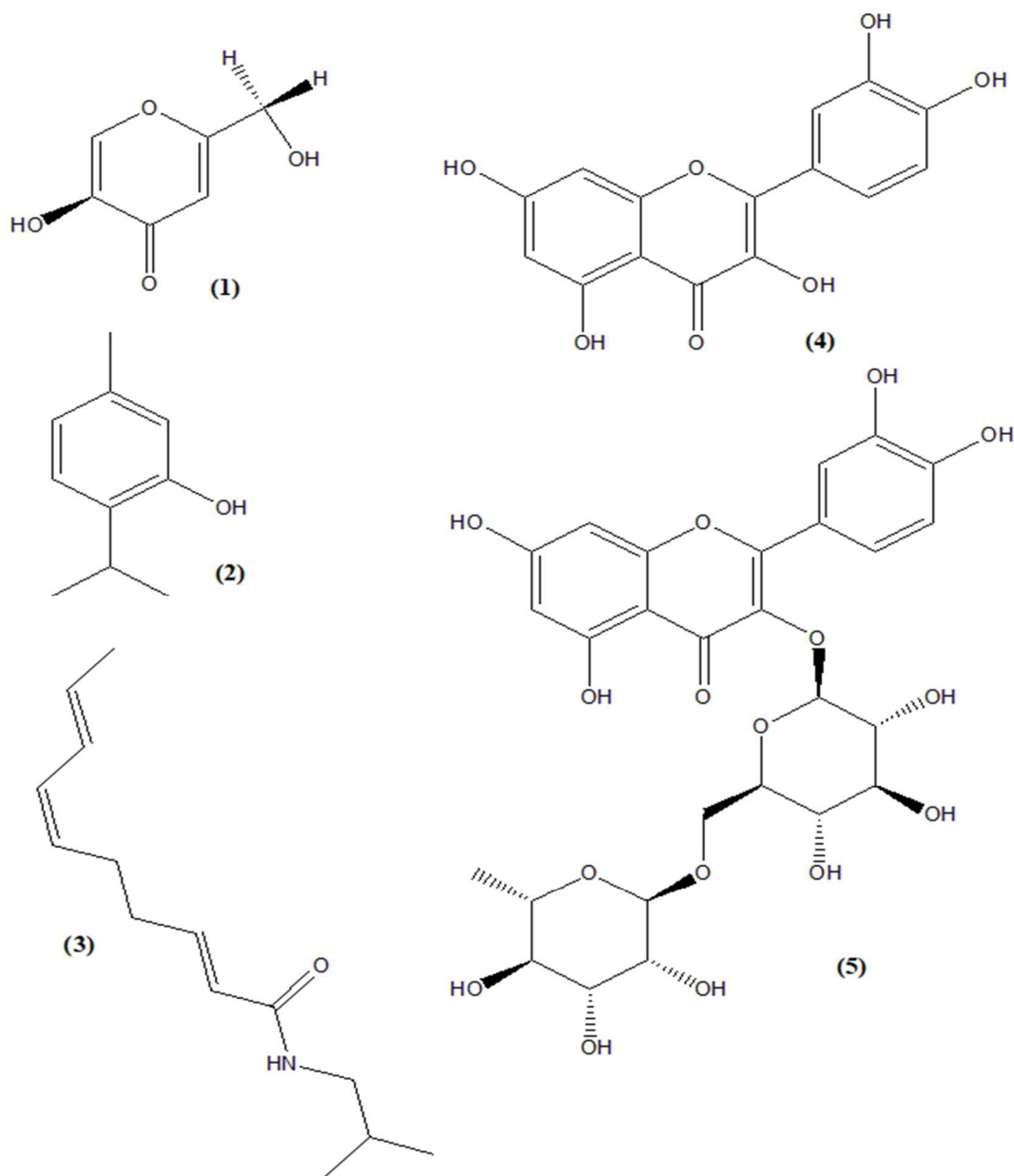


Figura 4: Estrutura química do ácido kójico (1), timol (2), epilantol (3), quercetina (4) e rutina (5)

Desta maneira, aqui são reunidas informações apresentando a importância dos estudos que visam elucidar o papel da inibição da enzima tirosinase e o seu papel na proteção da pele e no controle da produção de melanina que poderão subsidiar novos estudos com plantas brasileiras. Essa ação associada a um fator de proteção solar eficaz pode controlar e diminuir o grande número de doenças que surgem pela ação de radicais livres produzidos pela exposição à radiação solar [37].

4 CONCLUSÃO

O Brasil tem tradição na área de pesquisas com produtos naturais, inclusive na busca de substâncias inovadoras na proteção da pele baseados em princípios ativos orgânicos. Esses estudos que utilizam plantas brasileiras contribuem de maneira significativa para a valorização das espécies e de toda biodiversidade brasileiras pela utilização das espécies da flora brasileira para avaliar atividade fotoprotetora e a capacidade

de inibição da enzima tirosinase que poderão ser candidatos futuros a fármacos e protetores solares da pele mais eficazes e mais baratos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Messias MCTB, Menegatto MF, Prado ACC, Santos BR, Guimarães MFM. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: Um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. *Rev Bras Plantas Med.* 2015;17(1):76–104.
2. Ribeiro MM. *A Ciência dos Trópicos. A Arte Médica no Brasil do Século XVIII*. 1ª. Hucitec; 1997. 150 p.
3. Brasil M do MA. Hoje é dia internacional da biodiversidade [Internet]. 2017 [cited 2021 May 17]. Available from: <https://www.icmbio.gov.br/portal/ultimas-noticias/20-geral/8934-hoje-e-o-dia-mundial-da-biodiversidade>
4. Calixto JB. Biodiversidade como fonte de medicamentos. *Lect Notes Comput Sci (including Subser Lect Notes Artif Intell Lect Notes Bioinformatics)*. 2013;8165 LNCS:177–88.
5. Okombi S, Rival D, Bonnet S, Mariotte AM, Perrier E, Boumendjel A. Analogues of N-hydroxycinnamoylphenalkylamides as inhibitors of human melanocyte-tyrosinase. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2006;16(8):2252–5.
6. Nascimento LF, Santos EP, Aguiar AP. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. *Rev Virtual Quim.* 2014;6(2):190–223.
7. Schalka S, dos Reis VMS. Fator de proteção solar: Significado e controvérsia. *An Bras Dermatol.* 2011;86(3):507–15.
8. Polonini H, Araújo L, Curty S, Moreira A, Rossi A, Raposo N, et al. Development of broad-spectrum natural sunscreens using combinations of five plant species. *J Young Pharm.* 2016;8(2):144–8.
9. Vieira LM, Castro CFS, Dias ALB, Silva AR. Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). *Rev Bras Plantas Med [Internet]*. 2015 Dec;17(4):521–7.
10. Afaq F, K. Katiyar S. Polyphenols: Skin Photoprotection and Inhibition of Photocarcinogenesis. *Mini-Reviews Med Chem.* 2012;11(14):1200–15.
11. Bulla MK, Hernandez L, Baesso ML, Nogueira AC, Bento AC, Bortoluzzi BB, et al. Evaluation of photoprotective potential and percutaneous penetration by photoacoustic spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius* Raddi extract. *Photochem Photobiol.* 2015;91(3):558–66.
12. De Moraes DV, De Carvalho Costa MAP, Bárbara MFS, De Lima Silva F, Moreira MM, Delerue-Mato C, et al. Antioxidant, photoprotective and inhibitory activity of tyrosinase in extracts of *Dalbergia ecastaphyllum*. *PLoS One.* 2018;13(11):1–16.
13. Panontin JF, Cantuário PLB, Castro IPM de, Junior RAC de O, Silva PF da, Santos WCC, et al. Evaluation of the Depigmenting Activity of the Hydroethanolic Extract of Jatobá Fruit (*Hymenaea Stigonocarpa*). *Brazilian J Dev.* 2020;6(12):98742–8.
14. de Souza FP, Campos GR, Packer JF. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. - Acerola. *Rev Ciencias Farm Basica e Apl.* 2013;34(1):69–77.
15. Popim RC, Corrente JE, Marino JAG, De Souza CA. Câncer de pele: Uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Botucatu. *Cienc e Saude Coletiva.* 2008;13(4):1331–6.

16. Gruber F, Peharda V, Kaštelan M, Brajac I. Occupational skin diseases caused by UV radiation. *Acta Dermatovenerologica Croat.* 2007;15(3):191–8.
17. Panich U, Sittithumcharee G, Rathviboon N, Jirawatnotai S. Ultraviolet Radiation Induced Cancer. *Encyclopedia of Cancer.* 2011. p. 3841–3841.
18. IBGE. Biomas e sistema costeiro-carinho do Brasil: compatível com a escala 1:250. 000 [Internet]. Vol. 45, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. 161 p. Available from:
19. Silvério MDO, Castro CFS, Miranda AR. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). *Rev Bras Plantas Med.* 2013;15(1):59–65.
20. Brasil. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA- RDC N° 30. Ministério da Saúde 2012 p. 1–4.
21. Cardoso PH, Santos-Silva F, Menini Neto L, Salimena FRG. Verbenaceae no Parque Nacional do Caparaó, Serra da Mantiqueira, Brasil. *Hoehnea.* 2019;46(3):1–12.
22. Da Silva AP, De Silva NF, Andrade EHA, Gratieri T, Setzer WN, Maia JGS, et al. Tyrosinase inhibitory activity, molecular docking studies and antioxidant potential of chemotypes of *Lippia organoides* (Verbenaceae) essential oils. *PLoS One.* 2017;12(5):1–17.
23. Teixeira R da S, Rocha PR, Polonini HC, Brandão MAF, Chaves M das GAM, Raposo NRB. Mushroom tyrosinase inhibitory activity and major fatty acid constituents of Amazonian native flora oils. *Brazilian J Pharm Sci [Internet].* 2012 Sep;48(3):399–404.
24. Hidalgo PSP, Nunomura RDCS, Nunomura SM. Plantas Oleaginosas Amazônicas: Química e Atividade Antioxidante de Patauí (*Oenocarpus bataua* Mart.). *Rev Virtual Quim.* 2016;8(1):130–40.
25. Barbosa AF, Silva KCB, de Oliveira MCC, de Carvalho MG, Sabaa Srur AUO. Effects of *Acmella oleracea* methanolic extract and fractions on the tyrosinase enzyme. *Rev Bras Farmacogn* 2016;26(3):321–5.
26. Jorge ATS, Arroteia KF, Santos IA, Andres E, Medina SPH, Ferrari CR, et al. Schinus terebinthifolius Raddi extract and linoleic acid from *Passiflora edulis* synergistically decrease melanin synthesis in B16 cells and reconstituted epidermis. *Int J Cosmet Sci.* 2012;34(5):435–40.
27. Souza PM, Elias ST, Simeoni LA, de Paula JE, Gomes SM, Guerra ENS, et al. Plants from Brazilian Cerrado with Potent Tyrosinase Inhibitory Activity. Szecsi PB, editor. *PLoS One [Internet].* 2012 Nov 16;7(11):e48589.
28. Moreira LC, de Ávila RI, Veloso DFMC, Pedrosa TN, Lima ES, do Couto RO, et al. In vitro safety and efficacy evaluations of a complex botanical mixture of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae): Prospects for developing a new dermocosmetic product. *Toxicol Vitr [Internet].* 2017;45(December 2016):397–408.
29. Fatiha B, Didier H, Naima G, Khodir M, Martin K, Léocadie K, et al. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Ind Crops Prod [Internet].* 2015;74:722–30.
30. Oliveira KB, Palú É, Weffort-Santos AM, Oliveira BH. Influence of rosmarinic acid and *Salvia officinalis* extracts on melanogenesis of B16f10 cells. *Brazilian J Pharmacogn.* 2013;23(2):249–58.
31. Silva ML, Cardoso, Costa RS, Santana S, Gabriela M, Koblitz B. Compostos fenólicos , carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds , carotenoids and antioxidant activity in plant products. *Semin Ciências Agrárias.* 2010;31(3):669–82.
32. Sousa CMDM, Silva HRE, Vieira GM, Ayres MCC, Da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova.* 2007;30(2):351–5.
33. Pereira RJ, Cardoso M das, Graças. Metabólitos secundários vegetais e benefícios

antioxidantes. *J Biotechnol Biodivers*. 2012;3(November):146–52.

34. De Oliveira AC, Valentim IB, Goulart MOF, Silva CA, Bechara EJH, Trevisan MTS. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Quim Nova*. 2009;32(3):689–702.

35. Silveira JP, Seito LN, Eberlin S, Dieamant GC, Nogueira C, Pereda MC, et al. Photoprotective and antioxidant effects of Rhubarb: inhibitory action on tyrosinase and tyrosine kinase activities and TNF- α , IL-1 α and α -MSH production in human melanocytes. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2013 Dec 27;13(1):49.

36. Mansur J de S, Breder MNR, Mansur MC d'Ascensão, Azulay RD. Determinação do Fator de Proteção Solar por Espectrofotometria. *An Bras Dermatol*. 1986;61(3):121–4.

37. Ferreira ALS, Matsubara LS. Radicais livres : conceito , doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Médica do Bras*. 1997;61–8.

Este artigo/capítulo está formatado segundo as normas da Revista Ciência e Natura
Disponível no site: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura>

ARTIGO 2

Avaliação do potencial antioxidante e fotoprotetor de plantas da Mata Atlântica do Sul da Bahia

Resumo

As ações terapêuticas e farmacológicas de plantas decorrente da ação de metabolitos secundários é uma estratégia importante para a valorização e conhecimento da rica biodiversidade do Brasil. Neste contexto, este estudo objetivou a investigação por métodos *in vitro* da ação antioxidante e fotoprotetora de extratos otimizados por planejamentos de mistura de solventes de *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin e *Miconia albicans* (SW) Triana coletadas na Mata Atlântica o Sul da Bahia, Brasil. Os resultados indicaram a dependência da concentração de DPPH na atividade antioxidante e o da *S. angulosa* (CE₅₀ 21,37 e IAA 1,40) e (CE₅₀ 37,21 e IAA 0,80) foram considerados ativos. Entretanto, a atividade fotoprotetora não foram significativas (FPS < 6).

Palavras-chave: Extrato vegetal; Fotoproteção; Antioxidante, Extração otimizada; Fenólicos.

Abstract

The study of the countless therapeutic and pharmacological actions of plants, resulting from the benefits of secondary metabolites in the composition, characterizes as an important strategy for the appreciation and knowledge of the rich biodiversity of Brazilian biomes. In this context, this work aimed to investigate the antioxidant and photoprotective properties of extracts optimized by simple centroid planning of a solvent mixture of *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin and *Miconia albicans* (SW) Triana collected in the Atlantic Forest of Southern Bahia, Brazil. The results showed all extracts showed dependence on DPPH concentration on antioxidant activity, *S. angulosa* (EC₅₀ 21.37 and IAA 1.40) and (EC₅₀ 37.21 and IAA 0.80) were considered active. However, the photoprotective activity was not significant (FPS < 6).

Keywords: Plant extract; Photoprotection; Optimized extraction; Phenolic Compounds.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios as plantas são utilizadas pelo homem na alimentação e no tratamento medicinal. Na maioria das vezes a ação é decorrente da presença de metabolitos secundários que agem benéficamente na prevenção ou tratamento de patologias, tais como as doenças crônicas, doenças cardiovasculares, inflamatórias, entre outras (PEREIRA; CARDOSO; GRAÇAS, 2012).

Os fenólicos são compostos bioativos que atuam como agentes antioxidantes sequestrando os radicais livres (RL) e são associados a inúmeras propriedades, como a fotoproteção da pele (KUMAR *et al.*, 2019). Os fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignanas e ligninas constituem a maioria dos constituintes bioativos presentes nas diferentes partes das plantas e proporcionam vários benefícios a saúde (KUMAR; GOEL, 2019; MARKHAM *et al.*, 1998).

O excesso de RL no organismo humano tem sido associado a diversos efeitos deletérios, incluindo danos ao DNA e patologias como o câncer de pele melanoma e não

melanoma (CÓRDOVA; NAVAS, 2000; D'ORAZIO *et al.*, 2013; NAUSER; GEBICKI, 2019). O uso de antioxidantes extraídos de plantas vem ganhando destaque devido aos benefícios à saúde e pela capacidade em regenerar ou prevenir esses danos oxidativos (ALVES *et al.*, 2010; FLORES *et al.*, 2021). Além disso, os extratos vegetais rico em antioxidantes tem se tornado uma alternativa para atuar na fotoproteção e prevenção de doenças associadas à exposição da radiação solar (DE SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013).

Nesse cenário, compreende-se que a diversidade de plantas presentes na Mata Atlântica do Sul Bahia como uma fonte a ser explorada na descoberta de moléculas bioativas. A região ainda apresenta além da rica biodiversidade, comunidades detentoras de imensuráveis sabedorias sobre plantas passadas de geração a geração (MMA, 2020). Nesse contexto, visando contribuir para o conhecimento de espécies do ecossistema, este estudo propõem a investigação da ação fotoprotetora e antioxidante de *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin e *Miconia albicans* (SW.) Triana.

A *C. lucens* e *S. angulosa* são espécies endêmicas da Mata Atlântica pertencentes a Família Fabaceae. A *C. lucens* é uma árvore de 15 a 25 metros de altura de ocorrência no Brasil nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo onde popularmente é conhecida de copaífera vermelha, pau-óleo, pau-óleo-copaíba e copaíba Flora do Brasil (Flora do Brasil, 2021). Jardim Botânico do Rio de Janeiro.”, 2020). O óleo extraído do tronco é usado em cosméticos, fitoterápicos e na cicatrização de feridas, moléstias da pele e em infecções de garganta e pulmão por populares (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009). Além disso, trabalhos descrevem a atividade contra formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* (SANTOS *et al.*, 2008). Todavia, apesar do uso popular e presença de compostos químicos bioativos na constituição dos óleos, investigação das folhas não foram encontrados e devido a isso, foi o objeto deste estudo.

Já *S. angulosa*, anteriormente conhecida por *Bauhinia angulosa* Vogel é um arbusto nativo de ocorrência na Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina onde é conhecido de escada de macaco (SOUZA, 2020). Embora na espécie não se tenha registro de investigação farmacológica e da composição química, no gênero são descritos a presença de flavonoides, lactonas, terpenoides, esteroides, triterpenos, taninos e quinonas (SILVA; FILHO, 2002).

Outra planta investigada, a *M. albicans* é uma arbórea da Família Melastomaceae de regiões tropicais. No Brasil é conhecida como canela de velho e as folhas e partes aéreas são muito consumidas em chás preparados por infusões e em pomadas para o tratamento de reumatismo, artrose e artrite (CORRÊA *et al.*, 2021; QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2020). Alguns autores atribuem as propriedades antioxidante, anti-inflamatória e analgésica a presença de triterpenos penta cíclicos, ácidos fenólicos e flavonoides (CORRÊA *et al.*, 2021; CUNHA *et al.*, 2017; DE CÁSSIA LEMOS LIMA *et al.*, 2018).

Desta maneira, a busca de ação farmacológica de espécies que medram a Mata Atlântica é uma estratégia importante para a valorização e conhecimento da biodiversidade do local que vem sendo perdida ao longo dos anos, consequência dos avanços da destruição da vegetação nativa. Neste contexto, este estudo objetivou a investigação por métodos *in vitro* da ação antioxidante e fotoprotetora de extratos otimizados por planejamentos de mistura de solventes de *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin e *Miconia albicans* (SW) Triana coletadas na Mata Atlântica o Sul da Bahia, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *Copaifera lucens* Dwyer, *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin, *Miconia albicans* (S.W) Triana foram coletadas randomicamente em fragmento de Mata Atlântica no Sul da Bahia, Brasil, localizado na Estação Ecológica do Pau Brasil, localizado próximo a BR 367, Porto Seguro - Ba (16°23'2.5"S e 39°10'57.7"O) em novembro de 2018

e fevereiro de 2019. Posterior a identificação botânica, exsicatas de cada espécie foram documentadas no Herbário Professor Geraldo C.P. Pinto (GCPP) da Universidade Federal do Sul da Bahia, no Campus Sosígenes Costa (Porto Seguro) seguindo a numeração GCPP 01055, GCPP 0919 e GCPP 1110, respectivamente.

O material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar forçado, por 72 horas a 30 °C e posteriormente, triturados em moinho de facas e armazenados em sacos plásticos escuros para o início dos processos extrativos.

2.1 Preparo dos Extratos por Planejamento das misturas

O processo extrativo das plantas foi feito por misturas de solventes por planejamento experimental de misturas *Simplex* SCD descrita por Scheffe (1963), sendo o fator resposta associado as variáveis dependentes e independentes pelo auxílio do *software* Statistica® 6.0 (*StatSoft*). A partir da mistura de 60 mL de solventes metanol (M), acetato de etila (A) e triclorometano (T) e 5 g do caule, folha e raiz de *C. lucens*, *S. angulosa* e *M. albicans* (Tabela 1) macerados em sistema fechado por 48 horas por 2 vezes consecutivas. Posteriormente foram evaporados sob pressão reduzida, seguindo as especificações dos solventes a temperatura de 50 °C e os teores de fenólicos utilizados como fator de resposta.

Tabela 1. Planejamento de misturas de solventes do processo extrativo

Tratamento	M	A	T
	mL		
3	0	0	60
5	30	0	30
4	30	30	0
6	0	30	30
2	0	60	0
7	20	20	20
7	20	20	20
7	20	20	20
1	60	0	0

Metanol (M), Acetato de etila (A) e Triclorometano (T)

O rendimento percentual de massa de amostra seca (R%) foi calculado pela equação 1:

$$\text{(Equação 1) } R\% = (me/mv) \times 100$$

Onde, me = massa do extrato e mv = massa do vegetal

2.2 Fenólicos Totais (FT)

Os valores dos fenólicos totais (FT) foram obtidos pelo método de *Folin Ciocalteu* adaptado (Neves *et al.*, (2009) (MATHEW; SUBRAMANIAN, 2014). Em uma microplaca de 96 poços foram adicionados 20 µL da amostra, 200 µL de água destilada, 20 µL do reagente de *Folin-Ciocalteu* e 60 µL carbonato de sódio. Posteriormente, a microplaca foi incubada durante 1 hora à 45°C, procedida de leitura em espectrofotômetro UV-VIS (*Thermo Scientific Multiskan Go*) em 760 nm. O branco consistiu em 200 µL de água, 20 µL do *Folin-Ciocalteu*, 20 µL de etanol e 60 µL da solução de carbonato de sódio e o branco das amostras e padrões, em 280 µL de água destilada e 20 µL da amostra ou padrão. Concentrações entre 5,46 a 350 µg mL⁻¹ do ácido gálico foi utilizado como padrão de fenólicos.

O teor de fenólicos foi adquirido pela interpolação da absorbância das amostras em curva de calibração construída com os dados do padrão e expressos por miligrama de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg g^{-1}). A validação do método foi realizada pelos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ). O LD representa a menor concentração da substância que pode ser detectada, foi obtido por $\text{LD} = 3,3 \times \text{s/S}$, onde “s” é a média desvio padrão do branco, “S” é o coeficiente angular da reta. Já o LQ, que representa a menor concentração da substância a ser medida, foi calculado por $\text{LQ} = 10 \times \text{s/S}$ (RIBANI *et al.*, 2004).

2.3 Atividade Antioxidante (AA)

A capacidade antioxidante foi feita pelo método do sequestro de radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Nesta avaliação é verificada a mudança da cor violeta para o amarelo, em consequência da redução do radical DPPH, monitorada a 517 nm em espectrofotômetro UV/visível após a incubação em local escuro (FURLAN *et al.*, 2015).

Para a avaliação, nas cavidades de microplaca de 96 poços foram adicionados 50 μL de metanol e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dos extratos para concentração inicial e realizado uma diluição em série. Em seguida foram adicionadas 250 μL da solução metanólica de DPPH (40 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Após a incubação de 20 min, foi feita leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Thermo Scientific Multiskan Go) em 517 nm. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas e o ácido gálico foi considerando como substância de referência.

O branco da amostra foi preparado por 50 μL da solução do extrato e 250 μL de metanol e para a verificação de 100% da atividade 250 μL de solução de DPPH e 50 μL de metanol foram utilizados. A partir das absorbâncias o percentual da atividade antioxidante foi calculada pela equação 2:

$$\text{(Equação 2) AA\%} = (\text{Abs2} - \text{Abs1}) / \text{Abs2} \times 100$$

Onde AA% é o percentual de atividade antioxidante, Abs 1 a absorbância da amostra com abatimento do respectivo branco e a Abs2 é a absorbância do controle negativo (metanol e DPPH).

A concentração efetiva média (CE_{50}) necessária para inibir 50% de DPPH e o Índice de Atividade Antioxidante (IAA) foram obtidos pela equação da reta do gráfico de porcentagem de sequestro *versus* concentração pela equação 3, respectivamente (SCHERER; GODOY, 2009):

$$\text{(Equação 3): IAA} = \frac{[\text{DPPH}]}{\text{CE}_{50}}$$

Onde IAA = Índice de Atividade Antioxidante, [DPPH] = Concentração de DPPH e CE_{50} = Concentração efetiva.

2.4 Atividade Fotoprotetora

A atividade fotoprotetora *in vitro* foi realizada com os extratos de maiores valores teores de fenólicos do planejamento de mistura. As concentrações de 1000, 500; 250; 125; 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol dos extratos de cada planta, metodologia adaptada de Mansur *et al.*, (1986) foram mensuradas em espectrofotômetro Thermo Science®, modelo Multiskan Go, com cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico em 290 a 320 nm (UVB) (FRUET, 2015; PEREIRA *et al.*, 2020; RIBEIRO, 2004).

O metanol foi utilizado como branco e os valores das absorvâncias utilizados na equação 4 para a obtenção dos valores de Fator de Proteção Solar (FPS). Todo o experimento foi realizado em triplicatas e a eficácia foi considerada por $FPS \geq 6$ (DAL PRÁ *et al.*, 2017; ORLANDA; VALE, 2015; ROSA *et al.*, 2008).

$$\text{(Equação 4) FPS} = FC \cdot 290 \sum_{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot \text{Abs}(\lambda)$$

Onde FC = fator de correção (igual a 10); \sum = intervalo do comprimento de onda de 290 a 320 nm, $EE(\lambda)$ = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ ; $I(\lambda)$ = intensidade da luz solar no comprimento de onda λ ; $\text{Abs}(\lambda)$ = leitura da absorvância no comprimento de onda λ . Os valores $EE \times 1$ foram usados: 0,0150 (290nm), 0,0817 (295nm), 0,2874 (300nm), 0,3278 (305nm), 0,1864 (310 nm), 0,0839 (315nm) e 0,0180 (320nm) (MANSUR *et al.*, 1986).

2.5 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas por análise de variância (ANOVA) com número amostral igual a 3 e índice de confiança comparado ao valor tabelado do *t-students* 2,92 ao nível de confiança à 95%. Todos resultados foram representados como média \pm desvio-padrão (DP) e os *softwares* Excel e *Statistic* 6.0 usados para tratamento dos dados e confecção dos gráficos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Planejamento de mistura e Fenólicos Totais

A extração é primeira etapa na investigação de constituintes químicos de plantas e a escolha do solvente extrator desempenha papel crucial no procedimento (AZMIR *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2020). O planejamento estatístico de misturas permite a seleção mais eficiente para aquisição da fração enriquecida dos metabolitos de interesse pela diminuição do número de experimentos e identificação dos efeitos sinérgicos e antagônicos dos solventes usados. Além da diminuição da quantidade de solventes voláteis e resíduos que normalmente são observados em processos sólido-líquido ou líquido-líquido (NOVAES *et al.*, 2018).

A eficiência do Planejamento Simplex Centróide por meio de respostas quantitativas foi descrita na Tabela 2. Os rendimentos das extrações variaram de 0,02 a 35,5% (*m/m*) de massa seca. Contudo, a resposta é considerada imprecisa e de baixa qualidade, dado que o alto rendimento não garante se os constituintes extraídos são responsáveis pela atividade atribuída à planta (OLIVEIRA, 2014) e podem ocorrer também perdas pela manipulação incorreta dos procedimentos físicos adotados.

Neste planejamento, os fenólicos totais (FT) usado como parâmetro da resposta otimizada exibiram variação de 7,97 a 120,96 mg g^{-1} , 145,30 a 23,30 mg g^{-1} , 260,90 a 11,20 mg g^{-1} e 100,20 a 11,89 mg g^{-1} nos tratamentos das folhas de *C. lucens* (CLF), raiz *S. angulosa* (SAR), caule de *S. angulosa* (SAC) e caule de *M. albicans* (MAC), respectivamente. Os experimentos 7 (CLF), 1 (SAR), 5 (SAC) e 4 (MAC) apresentaram os maiores teores de fenólicos.

Tabela 2. Teor de Fenólicos Totais (FT) para cada planejamento com amostras secas

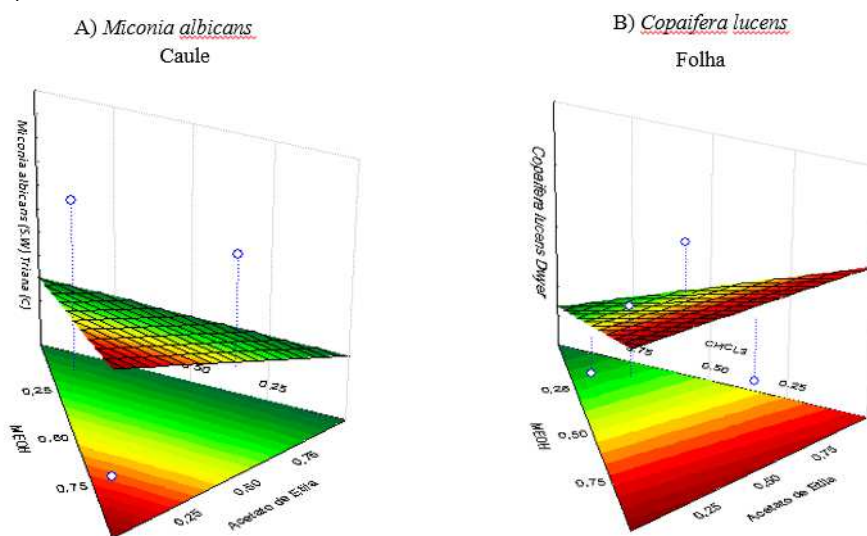
Planejamento	Planta							
	CLF		SAR		SAC		MAC	
	RE (%)	FT \pm DP (mg g ⁻¹)	RE (%)	FT \pm DP (mg g ⁻¹)	RE (%)	FT \pm DP (mg g ⁻¹)	RE (%)	FT \pm DP (mg g ⁻¹)
3	5,00	20,87 \pm 2,99	2,68	23,30 \pm 1,06	0,02	11,20 \pm 1,5	0,14	16,52 \pm 0,80
5	4,87	58,43 \pm 3,82	19,32	25,61 \pm 0,14	2,38	260,90 \pm 5,51	9,17	93,08 \pm 0,68
4	35,56	82,42 \pm 6,13	4,63	56,54 \pm 1,46	7,49	106,64 \pm 3,11	1,06	100,20 \pm 1,49
6	5,10	7,97 \pm 0,59	1,85	24,93 \pm 0,83	0,43	45,87 \pm 1,85	4,82	11,89 \pm 0,53
2	3,19	23,57 \pm 0,53	1,00	26,63 \pm 0,43	0,44	104,72 \pm 1,08	0,14	17,45 \pm 0,59
7	20,02	120,96 \pm 1,37	6,25	57,45 \pm 1,30	6,41	231,17 \pm 1,95	5,53	35,95 \pm 0,85
1	7,99	118,25 \pm 1,53	8,43	145,30 \pm 1,27	6,74	91,62 \pm 1,88	9,53	26,34 \pm 2,86

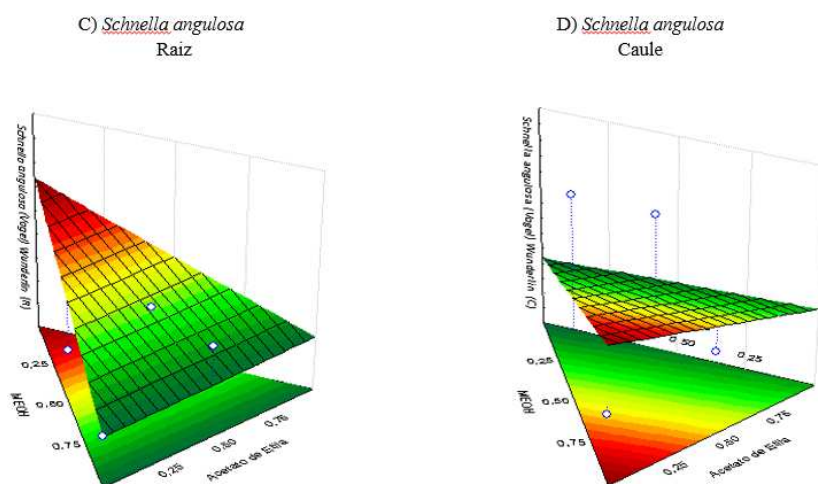
RE= Rendimento; FT = Fenólicos Totais; DP = Desvio Padrão; CLF= *Copaifera lucens* Folhas; SAR = *Schnella angulosa* Raiz; SAC = *Schnella angulosa* Caule; MAC = *Miconia albicans* Caule

O delineamento experimental do fator de resposta em Superfície de contorno de triângulo equilátero em função da composição do solvente é demonstrado na Figura 1. E todos os valores de fenólicos tiveram variações nas plantas e nos solventes.

Isto posto, a mistura binária de metanol e acetato de etila para a *M. albicans* foi mais eficiente na extração de FT. A Figura 1A representa a maximização dos constituintes pela superfície e coloração avermelhada, de teores máximos de 100,20 \pm 1,49 mg g⁻¹, apontando a contribuição do efeito de sinergismo entre os solventes.

Figura 1. Superfície de contorno do delineamento experimental do modelo matemático simplex-centroide linear em função da composição do solvente para a *M. albicans* (A), *C. lucens* (B) e *S. angulosa* (C e D)





Na extração de *C. lucens* (Figura 1B) o metanol e a mistura ternária de metanol, triclorometano e acetato de etila variaram em $FT = 118$ a 120 mg g^{-1} . O metanol é mais vantajoso por eliminar a utilização de organoclorados e reduzir a possibilidade de contaminação pelo uso de três solventes. Para a raiz da *S. angulosa* (Figura 1C), o metanol foi mais eficiente ($FT = 145,30 \pm 1,27 \text{ mg g}^{-1}$). Em contraste, as misturas binária e ternária são mais eficazes no caule da espécie (Figura 1D), com as respostas otimizadas de $FT = 260,90 \pm 5,51 \text{ mg g}^{-1}$ (ac. de etila/triclorometano) e $FT = 231,17 \pm 1,95 \text{ mg g}^{-1}$ (metanol/ac. de etila/ triclorometano), respectivamente, evidenciando a diferença de composição química da planta. Em todos os experimentos os valores de LD e LQ do teor de FT de 0,11 e $0,36 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente, ratificam o método analítico como resposta quantitativa adequada para as análises das plantas e estatisticamente os resultados demonstraram em nível de confiança à (95%), $n = 3$, CV (coeficiente de variação) $\leq 0,1\%$ e valores $\geq 2,92$ (valor de *t-student*).

Apesar da escassez de informações precedente na literatura de abordagens química e farmacológico para a *S. angulosa* e *C. Lucens*. Comparação de estudos anteriores de *M. albicans* demonstram que a extração de fenólicos pelo uso da mistura binaria de acetato de etila e metanol foi superior aos dados publicados por Pieroni *et al.*, (2011) e Corrêa *et al.*, (2021) para o extrato metanólico das folhas ($70,04 \text{ mg g}^{-1}$) e frutas de *M. Albicans* ($43,68 \pm 0,50 \text{ mg g}^{-1}$). Obviamente, desconsiderada as diferenças experimentais a mistura do planejamento demonstra ser mais eficiente.

A misturas binárias de solventes são sempre recomendadas em extrações de compostos de diferentes solubilidades e hidrofobicidades, onde praticamente se torna inviável a utilização de um único solvente universal para a extração de plantas (ALMEIDA *et al.*, 2018; BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009; ZORN *et al.*, 2017).

Portanto, o planejamento experimental possibilita a exploração das melhores condições na extração de constituintes bioativos e minimizam o uso de solventes desnecessários, muitas das vezes tóxicos (HANDA *et al.*, 2016; SCHEFFE, 1963). E muitos autores têm utilizado o procedimento para extrações mais eficientes em matrizes naturais. Por exemplo, Dal Prá (2017) otimizaram as condições de extração de palma por metodologia assistida por ultrassom e os resultados demonstram compostos bioativos com potencial antioxidante e os extratos com elevado fator de proteção solar.

3.2 Avaliação Antioxidante

O uso de agentes antioxidantes é uma abordagem eficiente na redução de danos provocadas pelo excesso de RL que frequentemente são associados a patologias. Em uma definição mais ampla, antioxidantes seria qualquer substância que independente da

concentração inibem ou sequestram de maneira eficaz os RL tanto na etapa de iniciação ou propagação no processo oxidativo (PIRES *et al.*, 2017). Neste sentido, as substâncias antioxidantes como por exemplo os compostos fenólicos, auxiliam ou retardam a velocidade da oxidação pela inibição da espécie química ou pela complexação de metais (PEREIRA; CARDOSO; GRAÇAS, 2012; VIEIRA *et al.*, 2015). Diversos métodos são descritos na literatura para avaliar a capacidade antioxidante dos vários tipos de substratos orgânicos (ALVES *et al.*, 2010). Todavia, o método do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) é comumente aplicado na avaliação. O ensaio se baseia na medida da capacidade do radical DPPH (púrpura) ser reduzido por substâncias antioxidantes a hidrazina (amarela pálida) (ALVES *et al.*, 2007) (Figura 2).

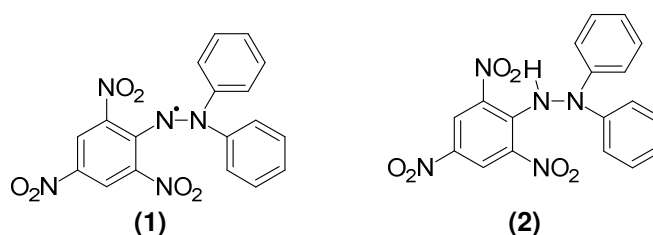


Figura 2: Estrutura química do DPPH (1) Não Reduzida (2) Reduzida

A atividade antioxidante pelo método DPPH dos experimentos de maiores FT são descritas na Tabela 3. A eficiência foi mensurada pela concentração efetiva (CE_{50}) e o índice de atividade antioxidante (IAA) (SCHERER; GODOY, 2009).

Tabela 3. Atividade antioxidante de maiores FT do planejamento de mistura

Plantas	Parte	Planejamento	CE_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	IAA	FT* (mg g^{-1})
<i>C. lucens</i>	Folha	7	37,21	0,80	121,0
	Raiz	1	164,0	0,18	145,3
<i>S. angulosa</i>	Caule	5	21,37	1,40	260,9
	Caule	4	159,8	0,25	100,2

CE_{50} = Concentração efetiva média; IAA = Índice de Atividade Antioxidante; FT = Fenólicos Totais

A eficiência do poder antioxidante é associada a relação direta do CE_{50} e IAA, onde quanto o menor valor de CE_{50} e maior de IAA indicam a efetiva atividade no sequestrado de radicais (EVERTON *et al.*, 2021).

Desta maneira, embora todos os extratos apresentam a capacidade de sequestro dependente da concentração, apenas o planejamento 5 do caule da *S. angulosa* (CE_{50} 21,37 e IAA 1,40) e 7 das folhas de *C. lucens* (CE_{50} 37,21 e IAA 0,80) conforme a classificação descrita por Reynertson *et al.*, (2008) são intensamente ativos com $CE_{50} < 50$ $\mu\text{g mL}$. Entretanto, em concordância ao índice proposto por Scherer e Godoy (2009) são classificados como forte ($1,0 < \text{IAA} < 2,0$) e moderados ($0,5 < \text{IAA} < 1,0$), respectivamente. Os demais experimentos são considerados de baixa atividade pelos índices.

Os elevados potenciais antioxidantes podem estar associados ao FT. Exceto para a raiz da *S. angulosa* (Planejamento 1) que curiosamente apesar dos valores altos de fenólicos apresentou baixa atividade. O que de acordo a Rockenbach (2008), fatores como

polaridade do solvente e pH podem influenciar, bem como características estruturais dos fenólicos.

De fato, as substâncias fenólicas são pronunciadas como agentes antioxidantes (LACHMAN *et al.*, 2010) (ANUNCIACÃO *et al.*, 2020; GUEDES *et al.*, 2017 (SILVA *et al.*, 2010) e muitas das vezes reportadas como promotores importantes na manutenção da saúde por estarem associados a inúmeras benefícios funcionais na saúde humana como, por exemplo, o consumo na dieta para a redução do risco de doenças cardíacas, diabetes e câncer (KUMAR; GOEL, 2019; PALMA-DURAN *et al.*, 2017; SOLEAS *et al.*, 2002). Da mesma forma, existem evidências experimentais que descrevem o papel importante na redução do aparecimento de doenças degenerativas como Mal de Alzheimer (MORAIS *et al.*, 2013) e na fotoproteção da pele (VIEIRA *et al.*, 2015).

3.3 Avaliação da Atividade Fotoprotetora

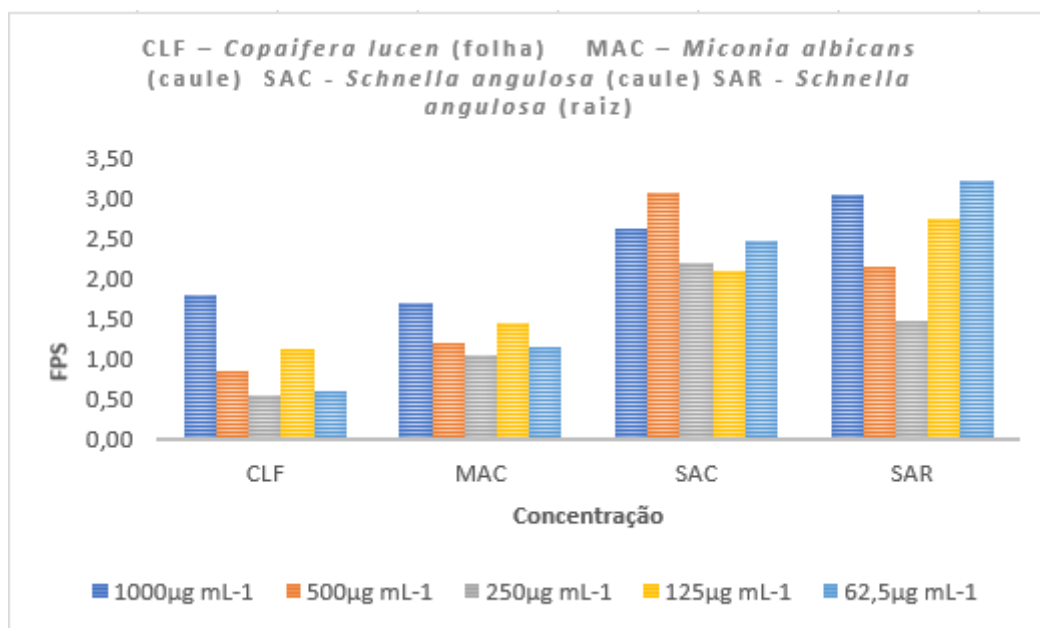
O interesse do uso de produtos naturais na proteção dos efeitos deletérios da exposição solar na pele tem sido crescente (CARVALHO *et al.*, 2020). E os antioxidantes presentes nas plantas que são capazes de absorver a radiação solar, tem se tornado alvo de investigação para atuar no antienvhecimento e fotoproteção do órgão (ORLANDA; VALE, 2015).

Os extratos de maior concentração de fenólicos foram avaliados pelo ensaio *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS). Este método relaciona a absorvância da substância analisada com os efeitos eritematogênicos e intensidade da luz em comprimentos de onda na região UVB entre 290 e 320 nm (DAL PRÁ *et al.*, 2017; ORLANDA; VALE, 2015; ROSA *et al.*, 2008).

O FPS calculados são representados na Figura 3. O SAC (Planejamento 5) e SAR (Planejamento 1) exibiram os maiores valores de FPS, que pode ser resultado da concentração de fenólicos e antioxidantes nos extratos (BARNI; CECHINEL FILHO; COUTO, 2009). Entretanto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) (RDC nº 30 de 1 de julho de 2012) regulamenta que produtos ou formulações cosméticas para empregados como filtros solares devem apresentar um FPS ≥ 6 (seis) (BRASIL., 2012) e todos os extratos, demonstraram fraca atividade não sendo uma boa opção para uso como protetor solar. No entanto, podem ser investigados para uso em formulações para atuar sinergicamente com fotoprotetores sintéticos.

Inúmeros estudos reportam ação fotoprotetora e contribuição química de plantas do Brasil em ação isolada ou em suplementação a protetores solares. Por exemplo, a triagem fitoquímica de *Pisidium guajava* L. (goiaba) mostraram que apesar do baixo FPS, a associação do extrato com filtro a base de 2-etil-hexil- metoxicinamato (EHMC), resultou em acréscimo significativo nos valores de FPS (MOTA *et al.*, 2019). Em outro trabalho realizado por (MOTA *et al.*, 2020), a formulação contendo extrato de *Nephelium lappaceum* L e 7,5% de EHMC melhorou em aproximadamente em 134% a capacidade de fotoproteção da formulação do filtro solar. Vale ainda destacar que as formulações reduziram também o risco da toxicidade do agente sintético e do custo de produção dos protetores solares (MOTA *et al.*, 2019).

Figura 3. Gráfico de Fator de proteção solar dos extratos de *C. lucens*, *M. albicans* e *S. angulosa*.



A composição e a concentração de fitoquímicos são fatores que influenciam a absorção da radiação do ultravioleta e a ação fotoprotetora de produtos naturais. Desta forma mesmo em baixa concentração, constituintes de baixa atividade podem contribuir para nos valores de FPS, sendo necessário a avaliação dos componentes ativos purificados (PEREIRA *et al.*, 2020). Em geral, compostos como flavonoides, benzofenonas e ácido fenólicos apresentam grupos cromóforos que absorvem a radiação UV em diferentes comprimentos de onda e estão associados a elevados valores de FPS (RODRIGUES *et al.*, 2021).

4 CONCLUSÃO

Os resultados contribuí para o conhecimento do potencial farmacológico de plantas de uma região de enorme biodiversidade, cercada por comunidades que as utilizam tradicionalmente em rituais e na medicina na cura e prevenção doenças. No entanto, apesar de todos os extratos demonstrarem dependência da concentração do radical DPPH, sendo a *S. angulosa* (CE₅₀ 21,37 e IAA 1,40) e (CE₅₀ 37,21 e IAA 0,80) considerados antioxidantes ativos, a atividade fotoprotetora foram insignificativas (FPS < 6).

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia da Bahia (Edital nº 22/2019/PRPGI/IFBA), FAPESB e CNPq pelo apoio financeiro.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. S. DE et al. Óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) métodos de extração, constituição química e propriedades medicinais. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 3, p. 557–563, 2018.
- ALVES, C. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.
- ALVES, C. Q. et al. Avaliação da atividade antioxidante de Flavonoides. **Diálogos & Ciência**, v. 12, p. 1–8, 2007..
- ANUNCIACÃO, K. D. F. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante e Fenóis Totais dos Óleos Extraídos das Sementes de Moringa oleífera Lam. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, p. 148–154, 2020
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.
- BARNI, S. T.; CECHINEL FILHO, V.; COUTO, A. G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 865–870, 2009.
- BRASIL. RDC Nº 30. **Ministério da Saúde**, p. 1–5, 2012.
- BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F. DE; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Quim. Nova**, v. 32, n. 4, p. 849–854, 2009.
- CARVALHO, C. S. DE; MORIM, M. P.; SANTOS, J. U. M. DOS. Sinopse taxonômica de Caesalpinioideae (Leguminosae) na Floresta Nacional de Caxiuanã, Pará, Brasil. **Rodriguésia**, p. 1–23, 2020.
- Copaifera in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB78656>>. Acesso em: 27 set. 2021.
- CÓRDOVA, A.; NAVAS, F. J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício : papel dos antioxidantes. **Rev Bras Med Esporte**, v. 6, p. 204–208, 2000.
- CORRÊA, J. G. DE S. et al. Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 273, p. 1–14, 2021.
- CUNHA, G. O. S. et al. Constituintes químicos e atividade inseticida de *Miconia ferruginata*. **Química Nova**, v. 40, n. 10, p. 1158–1163, 2017.
- D'ORAZIO, J. et al. UV radiation and the skin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 6, p. 12222–12248, 2013.
- DAL PRÁ, V. et al. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from palm pressed fiber with high antioxidant and photoprotective activities. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 36, p. 362–366, 2017.
- DE CÁSSIA LEMOS LIMA, R. et al. High-resolution PTP1B inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of PTP1B inhibitors from *Miconia albicans*. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1–13, 2018.
- DE SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. - Acerola. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 69–77, 2013.
- EVERTON, G. O. et al. Chemical characterization, toxicity, antioxidant and antimicrobial activity of the essential oils of *Hymenaea courbaril* L. and *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Ciência e Natura**, v. 43, p. 1–33, 2021.
- FLORES, D. C. B. et al. Phenolic compounds , antimicrobial activity , cytotoxicity and identification of phytochemicals present in *Inga marginata* Willd seeds Compostos fenólicos , atividade antimicrobiana , citotoxicidade e identificação de fitoquímicos presentes em sementes de. **Ciencia e Natura**, v. 50, p. 1–25, 2021.

- FURLAN, C. M. et al. Flavonoids and antioxidant potential of nine Argentinian species of *Croton* (Euphorbiaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 693–702, 2015.
- GUEDES, M. N. S. et al. Atividade antioxidante e fenóis totais de amoras-pretas cultivadas em clima tropical de altitude. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 39, n. 1, p. 43–48, 2017.
- HANDA, C. L. et al. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175–184, 2016.
- KUMAR, N. et al. Extrapolation of phenolic compounds as multi-target agents against cancer and inflammation. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 37, n. 9, p. 2355–2369, 2019.
- KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 370, p. 1–24, 2019.
- LACHMAN, J. et al. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 52–58, 2010.
- LIMA, L. D. S. et al. Ensaio miniaturizado para a quantificação simultânea de antocianinas em flores de *Hibiscus*. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 16, n. 2, p. 102–106, 2020.
- MARKHAM, K. R. et al. An Increase in the Luteolin: Apigenina ratio in *Marchantia polymorpha* on UV-B enhancement. **Phytochemistry**, v. 48, p. 791–794, 1998.
- MATHEW, M.; SUBRAMANIAN, S. In vitro screening for anti-cholinesterase and antioxidant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. 1–7, 2014.
- MORAIS, S. M. et al. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 575–582, 2013.
- MOTA, M. D. et al. Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 201, p. 111639, 2019.
- MOTA, M. D. et al. Sunscreen protection factor enhancement through supplementation with Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) ethanolic extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 205, p. 111837, 2020.
- NAUSER, T.; GEBICKI, J. M. Antioxidants and radical damage in a hydrophilic environment: chemical reactions and concepts. **Essays in Biochemistry**, v. 64, n. 1, p. 67–74, 2019.
- NEVES, L. C.; ALENCAR, S. M. DE; CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. VII BMCFB, p. 107–110, 2009.
- NOVAES, C. G. et al. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies de Respostas - Parte II : Variáveis de Mistura. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 2, p. 393–420, 2018.
- OLIVEIRA, G. A. R. Otimização de Processos de Extração de Princípios Ativos de Plantas. **Revista Processos Químicos**, v. 8, n. 16, p. 33–41, 2014.
- ORLANDA, J. F. F.; VALE, V. V. Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 730–736, 2015.
- PALMA-DURAN, S. A. et al. Nutritional intervention and impact of polyphenol on glycohemoglobin (HbA1c) in non-diabetic and type 2 diabetic subjects: Systematic review and meta-analysis. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 5, p. 975–986, 2017.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS; GRAÇAS. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 146–152, 2012.

- PEREIRA, R. S. et al. Photoprotective property and cytotoxicity of polar extracts of three species of *Maytenus* native to the Southwest of Bahia. **Scientia Plena**, v. 16, n. 2, p. 1–11, 2020.
- PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 465–472, 2009.
- PIERONI, L. G. et al. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) triana leaves. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9439–9450, 2011.
- QUINTANS-JÚNIOR, L. J. et al. Dereplication and quantification of the ethanol extract of *Miconia albicans* (Melastomaceae) by HPLC-DAD-ESI-/MS/MS, and assessment of its anti-hyperalgesic and anti-inflammatory profiles in a mice arthritis-like model: Evidence for involvement of TNF- α , I. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 258, p. 1–10, 2020.
- RIBANI, M. et al. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.
- REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, 2008.
- ROCKENBACH, I. I. et al. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 002600, p. 238–244, 2008.
- RODRIGUES, F. A. M. et al. *Spondias purpurea* L. Stem Bark Extract: Antioxidant and in vitro Photoprotective Activities. v. 00, n. 00, p. 1–13, 2021.
- ROSA, M. B. et al. Estudo Espectrofotométrico da Atividade Foto-Protetora de Extratos Aquosos de *Achillea Millefolium*, *Brassica Oleracea* Var. Capitata, *Cyperus Rotundus*, *Plectranthus Barbatulus*, *Porophyllum Ruderale* (Jacq.). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 1, p. 101–110, 2008.
- SANTOS, A. O. et al. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 204–208, 2008.
- SCHEFFE, H. The Simplex-Centroid Design for Experiments with Mixtures. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 25, n. 2, p. 235–263, 1963.
- SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654–658, 2009.
- SILVA, K. L. DA; FILHO, V. C. Plantas do Gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 449–454, 2002.
- SOLEAS, G. J. et al. A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. **Clinical Biochemistry**, v. 35, n. 2, p. 119–124, 2002.
- SOUZA, L. S. **Estudo de espécies bioativas da Mata Atlântica do Sul da Bahia**. Tese (Mestrado – Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal do Sul da Bahia. Porto Seguro, BA p. 68. 2020
- TABARELLI, M. et al. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 132–138, 2005
- VIEIRA, L. M. et al. Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 521–527, 2015.
- ZORN, S. M. F. E. et al. Avaliação dos fatores envolvidos na extração de lipídios da biomassa da microalga *Chlorella minutissima* via solventes. **HOLOS**, v. 2, p. 66–79, 29 ago. 2017.

CONCLUSÃO GERAL

Sabe-se que a pesquisa por substâncias fotoprotetoras tornou-se fundamental para prevenção de doenças relacionadas à exposição à radiação solar. Assim, a partir do artigo de revisão “Atividade fotoprotetora e inibitória da Tirosinase *in vitro* em plantas brasileiras: Uma revisão associativa” foi possível verificar que os extratos de plantas que apresentam atividade antioxidante, são promissores na prevenção e controle de doenças de pele, principalmente quando essas substâncias apresentam Fotoproteção e capacidade de inibição da enzima tirosinase, devido ao combate aos radicais livres que favorecem os danos celulares.

Esses resultados corroboram com os encontrados no estudo desenvolvido no segundo artigo “Avaliação do potencial antioxidante e fotoprotetor de espécies vegetais coletadas na Mata Atlântica do Sul da Bahia”. Pois em relação à atividade antioxidante, a espécie que apresentou melhor capacidade de estabilizar o radical DPPH foi a *S. angulosa* (caule), que exibiu forte atividade antioxidante, seguida da *C. lucens* com moderada atividade antioxidante.

Com base no teor de fenólicos, atividade antioxidante e atividade fotoprotetora *in vitro* e sabendo dos efeitos de proteção contra problemas de pele relacionados à exposição à radiação solar, os resultados descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos para avaliar a ação fotoprotetora de espécies vegetais e estudar sua correlação com atividade antioxidante.