

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
CURSO DE FARMÁCIA**

**ANA LURDES PORTELA DE ARAÚJO DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FLORES  
DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L. G. LOHMANN E AVALIAÇÃO DO SEU  
POTENCIAL FOTOPROTETOR EM EXTRATO BRUTO E UMA BASE DE  
EMULSÃO O/A**

**São Luís – MA**

**2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
CURSO DE FARMÁCIA**

**ANA LURDES PORTELA DE ARAÚJO DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FLORES  
DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L. G. LOHMANN E AVALIAÇÃO DO SEU  
POTENCIAL FOTOPROTETOR EM EXTRATO BRUTO E UMA BASE DE  
EMULSÃO O/A**

Monografia apresentada à Coordenação  
do Curso de Farmácia, para obtenção do  
grau de Bacharel em Farmácia  
Generalista.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia  
Quintino da Rocha

**São Luís – MA**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Santos, Ana Lurdes Portela de Araújo dos.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FLORES DE *Fridericia platyphylla* Cham. L. G. LOHMANN E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL FOTOPROTETOR EM EXTRATO BRUTO E UMA BASE DE EMULSÃO O/A / Ana Lurdes Portela de Araújo dos Santos. - 2019.

57 f.

Orientador(a): Cláudia Quintino da Rocha.  
Monografia (Graduação) - Curso de Farmácia,  
Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Antioxidante. 2. Filtro Solares. 3. Radiação UV.  
I. da Rocha, Cláudia Quintino. II. Título.

**ANA LURDES PORTELA DE ARAÚJO DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FLORES  
DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L. G. LOHMANN E AVALIAÇÃO DO SEU  
POTENCIAL FOTOPROTETOR EM EXTRATO BRUTO E UMA BASE DE  
EMULSÃO O/A**

Monografia apresentada à Coordenação  
do Curso de Farmácia, para obtenção do  
grau de Bacharel em Farmácia  
Generalista.

Orientador (a): Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Cláudia  
Quintino da Rocha

Aprovada em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Quintino da Rocha  
Departamento de Química – UFMA

---

Prof.<sup>o</sup> Dr. Odair dos Santos Monteiro  
Departamento de Química – UFMA

---

Prof. Dr.<sup>a</sup> Crisálida Machado Vilanova  
Departamento de Farmácia – UFMA

*Aos que acreditam que a educação e a dedicação são o caminho para o êxito,  
À cada mulher que se faz presente dentro da ciência,  
Aos amantes dos produtos naturais,  
Eu dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus e à Nossa Senhora, pelas bênçãos concedidas e por serem luz em minha vida.

Aos meus pais, Geraldo Carlos e Francisca Portela, à minha irmã, Mariana e minha “baby” Lana; por todo o suporte, incentivo e amor incondicional.

Às minhas tias e “primãs” amadas, pelo carinho e companheirismo de sempre.

Ao Cairo Rafael, meu amor e amigo; por compreender minha ausência, muitas vezes necessária; por ser meu ponto de fuga nas adversidades da vida, por toda paciência e ajuda durante esse trabalho.

Agradeço à professora Cláudia Quintino da Rocha pela dedicação em seus ensinamentos e por ter me dado a oportunidade de trabalhar com ela durante esses anos. Palavras não conseguem expressar o tamanho de minha gratidão à senhora.

Ao Yan Fernandes, mestrando em Química Analítica, por fazer questão em estar ao meu lado em todos os testes, pela imensurável paciência, pelos ensinamentos e por me auxiliar em muitas etapas deste trabalho. Tu és grandioso, meu amigo!

Aos meus amigos do Laboratório de Estudos Avançados em Fitomedicamentos (LEAF) – Carla, Felipe, Luna, Rafinha, Jessyane, José, Lenivaldo, Aglaete, Icaro, Alana, Marcos, Magaly e Aldilene – pela amizade e todo o suporte durante esses anos. Vocês foram fundamentais para minha caminhada acadêmica.

Aos meus amigos da turma 88 de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão, pela companhia maravilhosa, boas risadas e amizade sincera.

À professora Elizabeth Borba, pelas orientações e ajuda neste trabalho.

Ao Laboratório de Automação Analítica do Departamento de Química da UFMA.

À Central Analítica da Universidade Federal do Maranhão, pelas análises realizadas.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida e suporte financeiro.

À Universidade Federal do Maranhão, por ter sido minha casa durante estes anos de luta.

*“A Esperança não murcha, ela não cansa,  
Também como ela não sucumbe a Crença,  
Vão-se sonhos nas da Descrença,  
Voltam sonhos nas asas da Esperança [...].”*

(Augusto dos Anjos)

## RESUMO

O câncer de pele corresponde a um problema de saúde pública, associada a morte de milhares de pessoas todos os anos. Apesar deste contexto, é uma doença que pode ser prevenida de diversas formas; sendo a principal delas, através dos hábitos de vida do indivíduo e uso de filtros solares. Estes possuem em sua composição inúmeras substâncias capazes de impedir ou amenizar a incidência dos raios ultravioletas na pele, uma vez que são danosos aos tecidos humanos. Por se tratar de um produto de uso contínuo, é importante perpetuar os estudos nesta área e buscar novas substâncias que sejam capazes de proteger a pele frente à radiação. Uma fonte de compostos inovadores são os produtos naturais, dentre eles, destaca-se a espécie arbustiva *Fridericia platyphylla*, que corresponde a uma planta característica do cerrado, utilizada na medicina popular para litíase renal e que já possui bioatividades comprovadas, como atividade anti-inflamatória e antiparasitária. Nessa perspectiva o presente estudo teve como objetivo caracterizar o extrato bruto de um órgão vegetal nunca explorado anteriormente, as flores de *F. platyphylla*, bem como seu potencial fotoprotetor. O extrato passou por análises em cromatografia de camada delgada e UPLC-ESI-QqTOF-MS onde foi possível constatar a presença de compostos fenólicos, como chalconas e flavonoides diméricos; para o potencial antioxidante foi encontrado o IC<sub>50</sub> de 0,66957 mg/mL e um fator de proteção solar (FPS) próximo de 15. Quanto à avaliação da estabilidade físico-química, a formulação estudada mostrou-se instável, sendo importante perpetuar os estudos nesta área, uma vez que a amostra estudada se mostrou biologicamente ativa, sendo imprescindível buscar uma base adequado para a mesma.

**Palavras-chave:** Radiação UV; Filtros Solares; Antioxidante.

## ABSTRACT

Skin cancer is a public health problem associated with the deaths of thousands of people every year. Despite this context, it is a disease that can be prevented in several ways; being the main one of them, through the habits of life of the individual and use of solar filters. These have in their composition numerous substances capable of preventing or mitigating the incidence of ultraviolet rays in the skin, since they are harmful to human tissues. Because it is a product of continuous use, it is important to perpetuate the studies in this area and to look for new substances that are able to protect the skin against radiation. A source of innovative compounds are the natural products, among them the shrub *Fridericia platyphylla*, which corresponds to a plant characteristic of the cerrado, used in popular medicine for renal lithiasis and that already has proven bioactivities, such as anti-inflammatory activity and antiparasitic. In this perspective the present study aimed to characterize the crude extract of a previously unexplored plant organ, the flowers of *F. platyphylla*, as well as its photoprotective potential. The extract was analyzed by thin-layer chromatography and UPLC-ESI-QqTOF-MS where it was possible to verify the presence of phenolic compounds, such as chalcones and dimeric flavonoids; for the antioxidant potential, the IC<sub>50</sub> of 0.66957 mg / mL and a sun protection factor (SPF) of around 15 were found. Regarding the evaluation of the physicochemical stability, the formulation studied was unstable and it is important to perpetuate the studies in this area, since the studied sample was biologically active, being essential to seek a suitable base for it.

**Keywords:** UV radiation; Solar Filters; Antioxidant

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Representação da radiação UV .....	18
<b>Figura 2.</b> Exsicata de <i>Fridericia platyphylla</i> L. ....	20
Figura 4. Fotografias de flores (A) e frutos maduros (B) de <i>Fridericia platyphylla</i> L.	21
<b>Figura 5.</b> Flores de <i>Fridericia platyphylla</i> L.....	21
<b>Figura 6.</b> Características da espécie <i>Fridericia platyphylla</i> .....	22
<b>Figura 7.</b> Estruturas de flavonoides encontradas na espécie <i>Fridericia platyphylla</i> L. .....	22
<b>Figura 8.</b> Estrutura básica dos flavonoides.....	23
<b>Figura 9.</b> Principais flavonoides presentes na literatura. ....	24
<b>Figura 10.</b> Estrutura básica das chalconas.....	25
<b>Figura 11.</b> Princípio do ensaio com DPPH .....	27
<b>Figura 12.</b> Redução do MTT por enzimas mitocondriais .....	33
<b>Figura 13.</b> Placa cromatográfica do extrato bruto hidroetanólico de <i>Fridericia platyphylla</i> L. revelada no UV <sub>254</sub> fase móvel diclorometano-metanol (8:2).....	34
<b>Figura 14.</b> Cromatograma de separação dos constituintes químicos presentes no extrato das flores de <i>Fridericia platyphylla</i> , e espectros no UV representativos das classes mais proeminentes presentes no extrato.....	35
<b>Figura 15.</b> Cromatograma do extrato hidroetanólico das flores <i>Fridericia platyphylla</i> por UPLC-ESI- QqTOF .....	36
<b>Figura 16.</b> Espectro de massa de fragmentação da Brachydina 2 (flavonóide dimérico). .....	37
<b>Figura 17.</b> Espectro de massa de fragmentação 2'-hidroxi-3,4-dimetoxichalcona (chalcona).....	37
<b>Figura 18.</b> Substâncias identificadas nas flores de <i>Fridericia platyphylla</i> L. ....	38

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Curva padrão da quantificação de fenólicos totais empregando o Ácido Gálico como substância de referência, a 750nm.....	40
<b>Gráfico 2.</b> Curva de calibração da Quercetina.....	41
<b>Gráfico 3.</b> Curva de calibração de Ácido Gálico .....	41
<b>Gráfico 4.</b> Curva de concentração do extrato bruto das flores de <i>Fridericia platyphylla</i> L. ....	42
<b>Gráfico 5.</b> Os espectros de absorção espectrofotométrica do extrato bruto frente à radiação UVA .....	43
<b>Gráfico 6.</b> Os espectros de absorção espectrofotométrica do extrato bruto frente à radiação UVB. ....	44
<b>Gráfico 7.</b> Determinação espectrofotométrica do Fator de Proteção Solar (FPS). ....	45
<b>Gráfico 8.</b> Os espectros de absorção espectrofotométrica de todas amostras frente à radiação UVA. ....	46
<b>Gráfico 9.</b> Os espectros de absorção espectrofotométrica de todas amostras frente à radiação UVB. ....	46
<b>Gráfico 10.</b> Determinação espectrofotométrica do Fator de Proteção Solar (FPS). ...	47
<b>Gráfico 11.</b> Ensaio de viabilidade celular por MTT. ....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Taxonomia da planta.....	20
---	----

## LISTA DE SIGLAS

ABS – Absorbância

CCD – Cromatografia em camada delgada

Da – Dalton

DPPH – (2,2-difenil-1-picril-hidrazil)

ERO – Espécies Reativas De Oxigênio

ESI – Eletro-Spray

FLAB – Extrato bruto das flores de *Fridericia platyphylla*

FPS – Fator de Proteção Solar

INCA – Instituto Nacional Do Câncer

*m/z* – Relação massa/carga

MEOH – Metanol

MS<sup>2</sup> – Segunda fragmentação

MTT – [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólico]

Nm – Nanômetro

PPM – Parte por milhão

QqTOF – Qq Time of Flight

RPM – Rotações Por Minuto

RPMI – Roswell Park Memorial Institute

SBD – Sociedade Brasileira de Dermatologia

SFB – Soro Fetal Bovino

TOF – Time of Flight

UV – Ultravioleta

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Produtos naturais e fotoproteção.....	17
2.2. Família Bignoniaceae .....	19
2.3. Gênero <i>Fridericia</i> (sin. <i>Arrabidaea</i> ) .....	19
2.4. Espécie <i>Fridericia platyphylla</i> L. (sin. <i>Arrabidaea brachypoda</i> DC.) .....	19
2.5. Flavonoides .....	23
2.6. Chalconas .....	25
2.7. Agentes antioxidante como prevenção de doenças .....	26
3. OBJETIVOS.....	27
3.1. Objetivo geral .....	27
3.2. Objetivos específicos.....	27
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	28
4.1. Coleta do Material .....	28
4.2. Obtenção do extrato vegetal.....	28
4.3. Análise da composição química das flores de <i>F. platyphylla</i> L.....	29
4.3.1. Preparação da formulação com extratos de <i>F. platyphylla</i> L.....	30
4.3.2. Teste de fenóis totais com extrato bruto.....	30
4.3.3. Ensaio para avaliação do potencial antioxidante de extrato bruto e formulações .....	31
4.3.4. Atividade fotoprotetora <i>in vitro</i> do extrato das flores de <i>F. platyphylla</i> L.: determinação do comprimento de onda máximo de absorção e do FPS .....	31
4.3.5. Atividade fotoprotetora <i>in vitro</i> da formulação: determinação do FPS espectrofotométrico .....	32
4.3.6 Análise de estabilidade físico-química .....	32
4.4. Teste de citotoxicidade.....	32

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
5.1. Composição química das flores.....	33
5.2. Teste de fenóis totais com extrato bruto.....	39
5.4. Ensaio para avaliação do potencial antioxidante de extrato bruto.....	40
5.5. Atividade fotoprotetora <i>in vitro</i> do extrato das flores de <i>F. platyphylla</i> L.: determinação do comprimento de onda máximo de absorção e do FPS .....	43
5.6. Atividade fotoprotetora <i>in vitro</i> da formulação: determinação do FPS espectrofotométrico .....	45
5.7. Estabilidade físico-química das formulações.....	48
5.8. Avaliação de citotoxicidade .....	48
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS.....	51

## 1. INTRODUÇÃO

A pele, por ser um órgão externo, sempre sofre exposições aos raios ultravioletas (UV). A longo prazo, esse contato direto pode levar a uma série de consequências nocivas à saúde, como o câncer de pele. O câncer corresponde a uma patologia resultante de fatores ambientais, genéticos e hábitos de vida (POPIM, 2008). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2018), “câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos” e para o Brasil, biênio 2018-2019, a ocorrência de 600 mil casos novos de câncer, para cada ano (INCA, 2017).

Entre as suas diversas formas de manifestação, existe o câncer de pele não-melanoma que, para cada ano do biênio de 2018-2019, estimou-se cerca de 85.170 casos novos de câncer de pele não melanoma entre homens e 80.410 nas mulheres (INCA, 2017). Apesar de não ser a forma mais agressiva da doença, é a mais frequente no Brasil, principalmente devido ao clima tropical do país e à exposição prolongada ao sol pela população (PIRES, C. 2017).

A prevenção do câncer de pele deve-se à diminuição da exposição prolongada ao sol e mudanças de hábitos de vida, como o uso de filtros solares diariamente, por exemplo (SANTOS; SOBRINHO; DE OLIVEIRA, 2018).

Os filtros solares, também chamados fotoprotetores, têm como objetivo diminuir a incidência de radiação solar na pele, visando prevenir os danos causados pelos raios ultravioletas (UV) (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). Embora os filtros solares possuam compostos químicos que trabalham para bloquear, ou pelo menos, diminuir a incidência dos raios solares sobre a pele, essa proteção não é total, podendo levar à fotocarcinogênese (SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013).

As plantas apresentam em sua composição substâncias que se mostram biologicamente fotoprotetoras; geralmente representadas pelos compostos fenólicos, como os flavonoides. Segundo a literatura (SOUZA, 2005), sabe-se que a concentração de flavonoides presentes em um órgão vegetal é considerada um fator imprescindível para a proteção da planta contra radiação UV. Além disso, estudos a respeito da utilização de plantas atuando junto aos filtros solares, sinergicamente; na intenção de aumentar o fator de proteção solar (FPS) e, por consequência, proteger a pele de sofrer estresse oxidativo, já estão sendo realizados e têm se mostrado

promissores (OLIVEIRA-JÚNIOR, 2017). Assim, têm-se buscado meios de melhorar a performance destes produtos, sendo uma boa alternativa a utilização de princípios ativos de fontes naturais, principalmente os extratos vegetais.

### **1.1. JUSTIFICATIVA**

Considerando que *Fridericia platyphylla* L. (sin. *Arrabidaea brachypoda* DC.) apresenta, comprovadamente, alto teor de compostos fenólicos (DA ROCHA, 2011), buscou-se avaliar a atividade fotoprotetora do extrato das flores incorporado em uma base de emulsão O/A e que apresente fator de proteção minimamente exigido com segurança e eficácia, além de servir como uma fonte estimuladora para transformar a pesquisa científica da química de produtos naturais em resultados inovadores e úteis para a sociedade.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

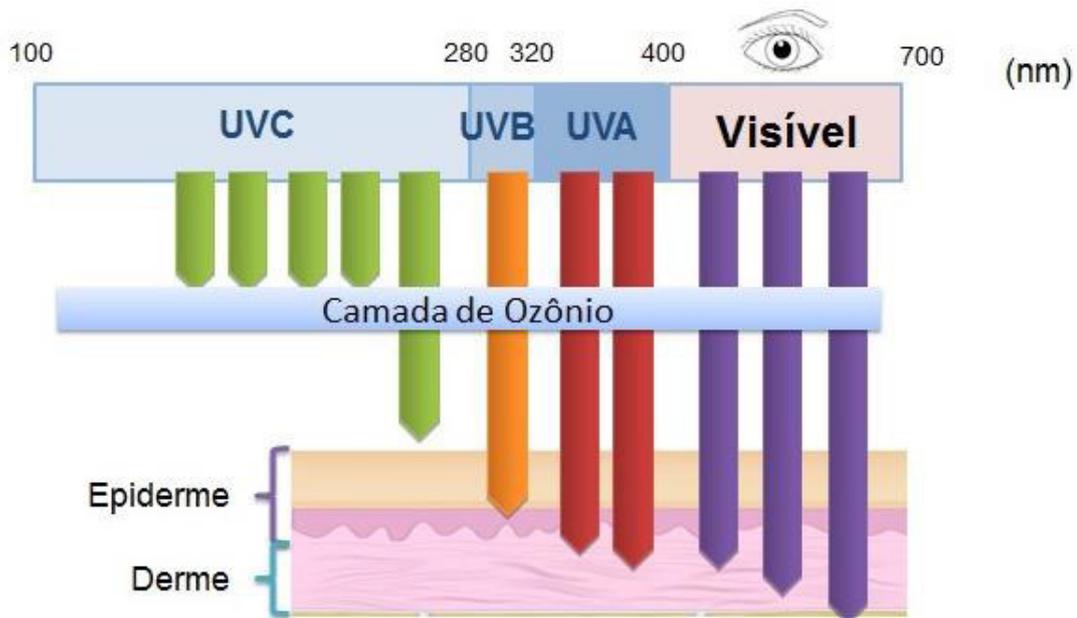
### **2.1. Produtos naturais e fotoproteção**

A radiação UV corresponde a um aspecto importante a ser considerado quando se trata de problemas relacionados à pele. Ela é responsável por causar desde queimaduras leves ao câncer, a radiação UV é um dos poucos fatores possíveis de se controlar (SBD, 2019).

Segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (2019), a principal forma de evitar este tipo de doenças é através da utilização de filtros solares. Os filtros devem conter um amplo espectro de proteção, que inclua também os raios UVA e UVB (Figura 1). Os raios UVA são os principais responsáveis pelo fotoenvelhecimento e pelo câncer da pele, enquanto a radiação UVB é responsável pelas queimaduras solares e pela vermelhidão, principalmente em pessoas de fototipo baixo (SBD, 2019).

Desta forma, é importante contar com a busca incessável por novos compostos que sejam capazes de promover a fotoproteção. E uma das maiores e mais ricas fontes desses compostos são os produtos naturais, especialmente as plantas.

Figura 1. Representação da radiação UV



Fonte: ISIC (2019).

Têm-se descrito que Proserpio, em 1976, foi um dos primeiros a relatarem a utilização de produtos naturais como fonte de compostos fotoprotetores (DA SILVA; LOPES, 2018). Desde então, as buscas nesta área se amplificaram e atualmente têm-se conhecimento de diversas espécies vegetais que apresentam este tipo de propriedade.

No Brasil, há uma variedade de vegetações que abrange milhares de espécies. Dentre estas, Andrade et al (2017) descreveu *Anaxagorea dolichocarpa* (“paixinho”), *Fusaea longifolia* (“envira”) e *Xylopia langsdorffiana* (“pimenteira-da-terra”) que se mostraram como excelentes fontes de compostos fenólicos com potencial FPS. Além destes, há relatos acerca da importante atividade fotoprotetora do extrato vegetal *Punica granatum* L. (“romã”) (DA SILVA; LOPES, 2018); *Aniba canelilla* (HBK) (“pau-precioso”) (DA FONSECA JÚNIOR; ALBUQUERQUE; DA SILVA, 2017) e *Ocimum gratissimum* L. (“alfavaca”) (ORLANDA; BIANCA, 2018).

Desta forma, pode-se comprovar que há relatos que justifiquem a utilização de plantas como importante fonte de substâncias capazes induzir a fotoproteção.

## 2.2. Família Bignoniaceae

A família Bignoniaceae é composta por 120 gêneros e 800 espécies (NOGUEIRA, 2015) de plantas arbustivas, arbóreas e trepadeiras (PAULETTI et al, 2004). Já é descrito que a família Binoniaceae apresenta em sua composição, metabólitos secundários como lignanas, flavonoides, iridóides, triterpenos, xantonas, naftoquinonas, ácidos cinâmicos e benzóicos e seus derivados (NOGUEIRA, 2015) que compõem a base para diversas bioatividades já reconhecidas e estudadas.

Sabe-se que as plantas desta família se situam em diversos habitats do território brasileiro, desde a Mata Atlântica até o Cerrado, sendo, portanto, amplamente encontrada no país. Além de ser utilizada em diversos ramos, sendo o principal deles na construção civil e carpintaria. (PAULETTI, et al, 2004). As plantas mais exploradas no Brasil, são as do gênero *Fridericia* (sin. *Arrabidaea*).

## 2.3. Gênero *Fridericia* (sin. *Arrabidaea*)

O gênero *Fridericia* (sin. *Arrabidaea*) corresponde a um representante expressivo da família Bignoniaceae que apresentam uma série de características químicas e biológicas importantes para a ciência em produtos naturais, sendo “constituída principalmente por lianas de gavinhas simples e em menor número por arbusto. As folhas são bi ou trifolioladas com campos de glândulas, nos nós. Possui cápsula linear, achatada, geralmente lisa, com reple e septo característico” (SINGER, 2007).

Na medicina popular, espécies do gênero *Fridericia* são utilizadas para diversos fins terapêuticos como adstringentes, tratamentos de inflamações, além de possuir propriedades antimicrobianas e antitumorais (DA ROCHA, 2014). Apesar de ser muito utilizada, há poucos estudos que descrevam suas particularidades químicas, sendo isto, fundamental para a caracterização de uma espécie.

## 2.4. Espécie *Fridericia platyphylla* L. (sin. *Arrabidaea brachypoda* DC.)

*Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann (sin. *Arrabidaea brachypoda* DC.) (Figura 2), conhecida popularmente como “cipó-una”, é uma espécie do gênero *Fridericia* (Tabela 1) e corresponde a uma planta arbustiva (Figura 3), característica no cerrado brasileiro, utilizada comumente para o tratamento de artrite e litíase renal (RESENDE, 2017).

**Tabela 1.** Taxonomia da planta

Reino	<i>Plantae</i>
Superdivisão	<i>Spermatophyta</i>
Divisão	<i>Magnoliopsida</i>
Subclasse	<i>Asteridae</i>
Ordem	<i>Scrophulariales</i>
Família	<i>Bignoniaceae</i>
Gênero	<i>Fridericia</i>
Espécie	<i>Fridericia platyphylla</i>

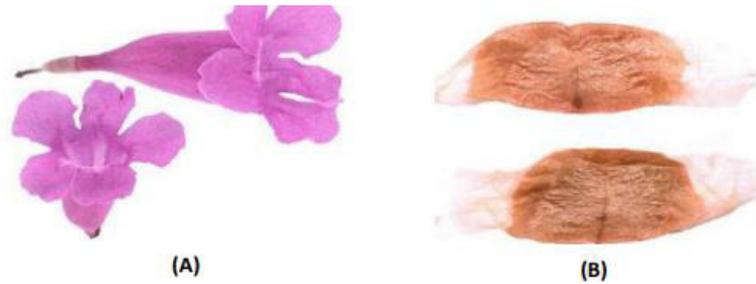
Fonte: Rocha (2013).

De acordo com Rozzato (2012) a “*Fridericia* é caracterizada pela inflorescência em panícula ou tirso multifloro, embora possam ser diagnosticadas espécies com racemos paucifloros. Suas flores têm corola rósea a roxa (Figura 4 e Figura 5), raramente alva”.

**Figura 2.** Exsicata de *Fridericia platyphylla* L.

Fonte: Gentry (1991).

**Figura 3.** Fotografias de flores (A) e frutos maduros (B) de *Fridericia platyphylla* L.



Fonte: Rocha et al (2013)

**Figura 4.** Flores de *Fridericia platyphylla* L.



Fonte: Autor (2019).

Há estudos que relatam informações acerca da estrutura dos órgãos vegetais. Segundo estes dados,

as folhas são unifolioladas, oblongo-elípticas de disposição oposta cruzada (Fig. 6.1). A inflorescência terminal ou lateral é tirsóide com muitas flores dispostas em unidades de floração dicasiais (Fig. 6.1). As flores possuem cálice cupular, truncado, 5-denticulado (Fig. 6.1); a corola é campanulada, de coloração rósea com a face interna do lado posterior do tubo branca (Fig. 6.1); as anteras são ditecas e divaricadas (Fig. 6.3. A); o estaminódio é vestigial (Fig. 6.3. B); o disco nectarífero é anelar; o ovário é cilíndrico e lepidoto (Fig. 6.3. C). A cápsula é linear comprimida paralelamente ao septo, sublenhosa com presença de repleto (Fig. 6.2); as sementes são finas, aladas, membranáceas e hialinas (SINGER, 2007).

**Figura 5.**Características da espécie *Fridericia platyphylla*

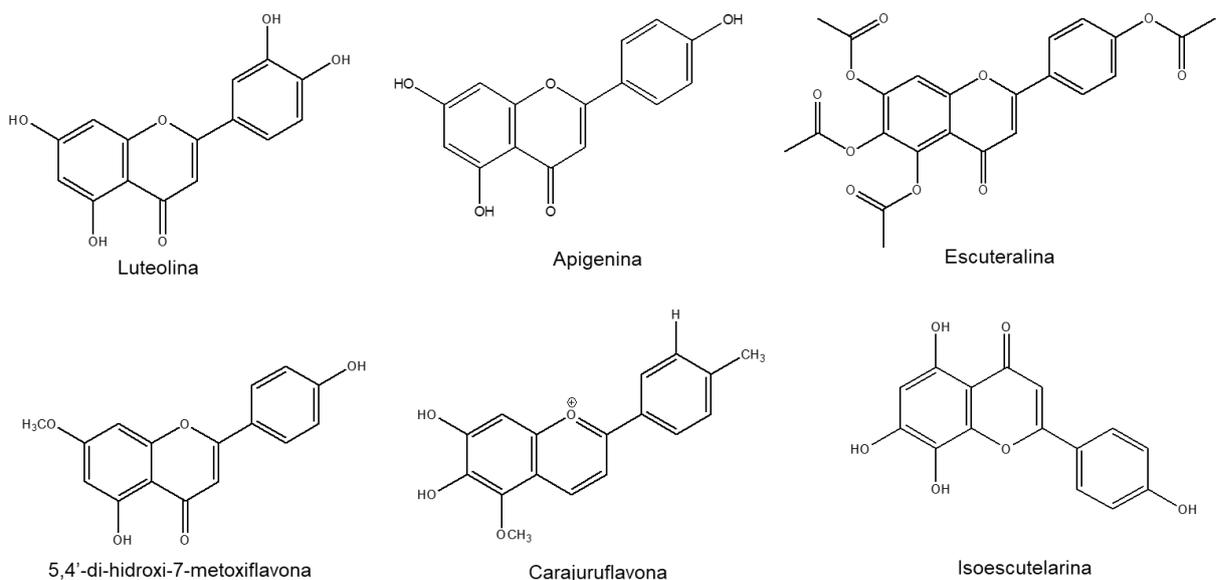


Fonte: Singer (2007).

Sabe-se que a espécie possui bioatividades importantes como anti-inflamatória e antinociceptiva, já cientificamente comprovadas (RESENDE, 2017). Além disso, têm-se descrito relatos acerca de sua atividade antiviral, antifúngica e antiparasitária (NOGUEIRA, 2015).

Segundo Da Rocha (2011), “os estudos fitoquímicos anteriores desta planta mostraram a presença dos flavonoides (Figura 7) (5,4'-di-hidroxi-7-metoxiflavona, luteolina, carajuruflavona, apigenina, escutelarina e isoescutelarina)”.

**Figura 6.** Estruturas de flavonoides encontradas na espécie *Fridericia platyphylla* L.



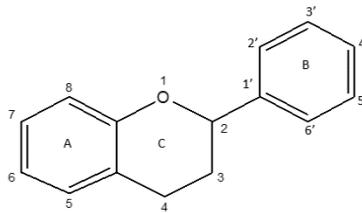
Fonte: Autor (2019).

Por apresentar em sua composição uma concentração e variedade de metabólitos secundários do tipo flavonoides, ela possibilita exibir uma bioatividade direcionada à fotoproteção, uma vez que se têm descrito a relação entre a presença destes compostos e sua capacidade de absorver raios UV (SOUZA et al, 2005).

## 2.5. Flavonoides

Os flavonoides são estruturas formadas a partir de aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina, e malonato, através do metabolismo secundário das plantas. Sua estrutura básica é formada por 15 átomos de carbono (Figura 8), organizadas em três anéis ( $C_6 - C_3 - C_6$ ), chamados A, B e C (PIETTA, 2000).

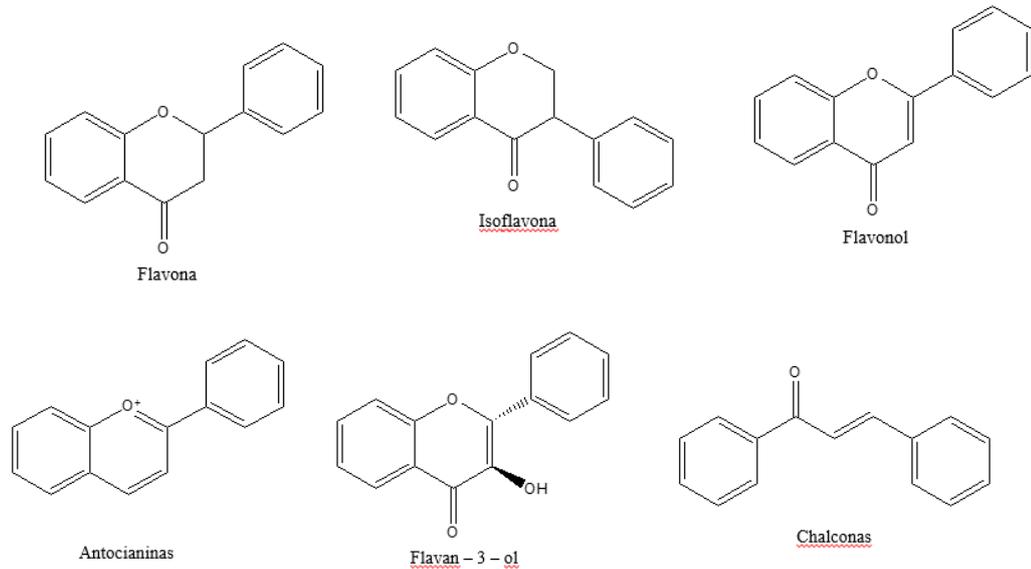
**Figura 7.** Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: Pietta (2000).

A maneira como a ligação entre os anéis B e C é dada é o que determina a classe desses compostos. Dentre estas, as de principal interesse para medicina e nutrição são flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis, flavan-3-óis, chalconas e antocianidinas (Figura 9) (PIETTA, 2000). Entretanto, sabe-se que todos estes grupos geralmente compartilham um precursor chalcona comum e, portanto, são biogeneticamente e estruturalmente relacionados (VERVERIDIS et al, 2007).

**Figura 8.** Principais flavonoides presentes na literatura.



Fonte: Garcia (2008).

Nas plantas, os flavonoides apresentam-se geralmente ligados a uma parte de açúcar, sendo chamados de glicosilados. Sugere-se que essa combinação é feita visando a economia de energia da planta, uma vez que compostos glicosilados apresentam maior solubilidade e maior mobilidade em relação às agliconas. Contudo, também se encontram flavonoides em formas de agliconas disponíveis nas plantas, apesar de não ser tão comum (GARCIA, 2008).

De acordo com Garcia (2008), os flavonoides são responsáveis por compor o sistema de defesa das plantas; funcionam como catalisadores na fase luminosa da fotossíntese; atuam contra o estresse oxidativo; além de protegerem as plantas contra radiação solar e sequestrarem as espécies reativas de oxigênio (EROS) gerados por essa radiação, devido a sua capacidade de absorção na faixa do UV. O mesmo autor também cita que os flavonoides também possuem cores atraentes que podem despertar a atenção dos polinizadores, auxiliando na propagação das espécies.

A possibilidade desses compostos atuarem como agente antioxidantes ainda é amplamente discutida. Já é esclarecido que a capacidade de alguns membros dos flavonoides atuarem na inibição de eventos mediados por radicais livres depende principalmente do arranjo de substituintes em sua estrutura (VERVERIDIS et al, 2007). Uma das formas de explicar isso é que “a presença da porção catecol no anel B em algumas estruturas, hidroxiladas em C-3 e C-4, possuindo assim propriedades de

doador de próton, resulta na estabilização de espécies radicais reativos” (VERVERIDIS et al, 2007). Além disso

a química do anel C, particularmente, a presença do grupo carbonila em C-4 em conjugação com uma insaturação situada ente os carbonos C-2 e C-3 ou a presença de hidroxilas nas posições 3 e 5 ou outro grupo funcional na posição C-3 resultante da esterificação da hidroxila em C-3 com o ácido gálico em conjugação com a insaturação em C-2 e C-3 favorecendo a quelação de metais e impedindo a catalise das reações dos radicais livres (GARCIA, 2008).

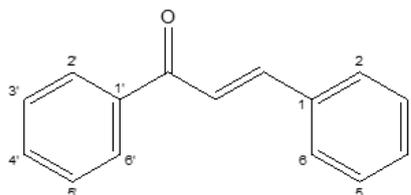
Atualmente, o conhecimento que se tem acerca destas propriedades compôs a base do aumento do consumo de alimentos ricos nestes compostos, como frutas e hortaliças; além do seu uso comercial de substâncias puras. E foi a partir deste conhecimento que se descobriu a propriedade antioxidante que estes compostos possuem.

## 2.6. Chalconas

As chalconas correspondem a intermediários da biossíntese de flavonoides amplamente encontrados na natureza; principalmente em plantas arbustivas e rasteiras (REBELLO et al, 2005).

É uma família de compostos com núcleo de 1,3 – diarilpropano, modificado pela presença da ligação olefínica, de um grupamento cetona e/ou hidroxila (Figura 10). São conhecidas por seu importante papel ecológico, contribuindo para a cor dos vegetais, auxiliando na atração de polinizadores; além de atuarem como protetores contra a luz e calor (SIMÕES; SCHENKEL; GOSMANN et al, 1999).

**Figura 9.** Estrutura básica das chalconas



Fonte: Singh; Anand; Kumar (2014).

As chalconas são conhecidas por suas diversas bioatividades, dentre as quais destacam-se: antihipertensivas, anticâncer, antimicrobiana, antiprotozoária,

antifúngica, anti-inflamatória, antiviral, antioxidante e anticonvulsivante (SINGH; ANAND; KUMAR, 2014).

Sabe-se que os substituintes de uma molécula são imprescindíveis para garantir a existência de suas propriedades. A presença da hidroxila, por exemplo, garante um aumento importante da atividade antioxidante “como resultado da sua conversão para os radicais fenoxi correspondentes através do mecanismo de transferência de átomos de hidrogênio” (LAHSASNI; AL KORBI; ALJABER, 2014.).

Diante deste contexto é possível considerar que a presença de chalconas dentre os diversos metabólitos secundários de uma planta, amplifica a possibilidade da mesma apresentar potencial atividade antioxidante.

## **2.7. Agentes antioxidante como prevenção de doenças**

Os agentes antioxidantes correspondem a compostos capazes de retardar ou, até mesmo, inibir a oxidação de moléculas no organismo humano, por exemplo; evitando a propagação de reações de oxirredução, e assim, diminuindo as concentrações de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou radicais livres (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

O estresse oxidativo nas células e tecidos do organismo é, comprovadamente, associado a diversas doenças crônicas e degenerativas, como aterosclerose, cardiopatias e transtornos pulmonares; além de ser um causador de mutagênese e, possivelmente, da carcinogênese. (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Baseado nisto, têm-se buscado mais fontes de compostos antioxidantes para utilizá-los como forma de prevenção destas doenças.

A principal forma de analisar a atividade antioxidante *in vitro* de um produto é através da captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Este ensaio é fundamentado na transferência de elétrons, analisando a capacidade que o composto tem de eliminar ou neutralizar os radicais livres, monitorado com um espectrofotômetro Uv/visível (OLIVEIRA, 2015).

**Figura 10.**Princípio do ensaio com DPPH



Fonte: (OLIVEIRA, 2015).

Neste caso, já se tem conhecimento de que a substância “antioxidante age como doador de um átomo de hidrogênio quando é adicionada à solução de DPPH, reduzindo o radical DPPH e formando a hidrazina, propiciando assim a mudança de coloração na solução, de violeta para amarelo claro” (PIRES et al, 2017).

Têm-se descrito que há níveis elevados de EROS em doenças como o melanoma, uma das formas de apresentação mais nocivas do câncer de pele; e isto é uma consequência da exposição à radiação UV (SILVA; JASIULIONIS, 2014). Dessa forma, pode-se relacionar o uso de substâncias antioxidantes à prevenção deste tipo patologia.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Este estudo tem como principal objetivo caracterizar a composição química do extrato hidroetanólico das flores de *Fridericia platyphylla* L. bem como a avaliar o seu potencial fotoprotetor e de uma base emulsão O/A utilizadas no estudo.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Incorporar emulsão O/A ao extrato hidroetanólico das flores e verificar se houve supressão da sua bioatividades ao ser unificado a uma base;

- Avaliar a atividade antioxidante, através do ensaio de sequestro de radicais DPPH, presente no extrato bruto das flores e emulsão O/A contendo o mesmo;
- Avaliar potencial fotoprotetor *in vitro* da formulação através do método de espectrofotométrico de varredura (full-scan).
- Caracterizar os metabólitos presentes no extrato das flores de *Fridericia platyphylla* L. por técnicas de cromatografia acopladas à espectrometria de massas.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Coleta do Material**

As flores foram coletadas nas regiões de cerrado do estado do Piauí, na BR 343, próximo à cidade de Teresina (PI) (05° 05' 21" S e 42° 48' 42 " W) nas primeiras horas da manhã durante o mês de maio, período no qual as flores prevalecem. Foram secas a sombra e moídas com auxílio do moedor a faca, obtendo-se o pó vegetal.

A planta foi identificada no Herbário José Badine da Universidade Federal de Ouro Preto pela botânica Dra. Maria Cristina Teixeira Braga Messias. Um voucher (n° 17.935) foi depositado no Herbário da Universidade Federal de Ouro Preto em Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. A autorização para coleta e estudos científicos foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A451DE4.

### **4.2. Obtenção do extrato vegetal**

Foram obtidos 100 g de pó vegetal que foram submetidos a um processo de extração exaustiva por percolação com álcool etílico 70%. Para isto, foram utilizados 200 mL de etanol 70% para intumescimento e 500 mL para a extração em si. O solvente utilizado era trocado a cada 24 horas, acrescentando 200 mL de etanol 70% a cada retirada do extrato, durante 15 dias. Todo extrato obtido foi concentrado utilizando evaporador rotativo, resultando no extrato bruto das flores de *F. platyphylla*. Este, por sua vez, passou pelo processo de liofilização e permaneceu em pó para melhor conservação e manutenção da integridade do material.

### 4.3. Análise da composição química das flores de *F. platyphylla* L.

Para análise química inicial do extrato foram utilizadas placas cromatográficas de alumínio (Macherey-Nagel) contendo sílica gel 60 20 x 20 cm, espessura de 0,20 mm com indicador de fluorescência UV<sub>254</sub>. Para fase móvel solventes orgânicos como diclorometano PA e metanol PA.

Realizou-se análise em HPLC-PDA (SHIMADZU) em coluna C18 PHENOMENEX 250 x 4.6 mm, 5 µm, 100<sup>Å</sup>; nas fases móveis água (eluente A) e metanol (eluente B) grau HPLC acidificados em ácido fórmico 0,01%, a uma taxa de 1mL/min, empregando um gradiente de 10% a 100% de B em 70 min. A coluna foi mantida a temperatura ambiente e o volume de injeção da amostra foi de 10 µL. Os dados foram coletados e processados utilizando o software Shimadzu LC Solution 1.25.

Além disto, utilizou-se a análise por Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada ao Espectrômetro de Massas com alta resolução com ionização por eletrospray e analisador de tempo de voo (UPLC-ESI-QqTOF) do extrato hidroetanólico das flores de *F. platyphylla* L. foi realizada com o intuito de utilizar uma técnica moderna e eficiente para a identificação de substâncias.

Os solventes de eluição foram 0,01% de ácido fórmico em água (eluente A) e 0,01% de ácido fórmico em metanol (eluente B), a uma taxa de 1 mL/min, empregando um gradiente de 10% a 100% em 70 minutos.

A técnica está baseada no uso de colunas cromatográficas curtas – o que diminui o tempo de análise – e na separação dos constituintes químicos, através de fase estacionária com partículas menores que 2 µm e vazão máxima de fase móvel, aumentando a resolução cromatográfica da análise. O analisador empregado, Time of Flight (TOF), permite a aquisição de dados em uma ampla faixa de massas, sem comprometer a sensibilidade. Além disso, o espectrômetro de massas de alta resolução permite obter a massa da substância analisada pela massa isotópica dos elementos químicos da molécula, possibilitando estabelecer a fórmula molecular da substância, considerando a diferença entre a massa calculada (massa elementar). O cálculo é feito considerando-se a diferença entre a (massa encontrada no cromatograma - a massa calculada pela biblioteca do equipamento dividido pelo valor da massa calculada no equipamento multiplicada pelo fator 106). Este cálculo é considerado correto quando o valor encontrado for menor que 5 ppm.

A análise foi realizada em sistema de UPLC (Shimadzu Nexera ®) consistindo de bomba quaternária, amostrador automático e acoplado ao Espectrômetro de Massas de alta resolução modelo Impact II (Bruker Daltonics ®, Billerica, MA, EUA) equipado com fonte de ionização por eletro-spray (ESI), bomba de infusão e analisador tipo Qq Time of Flight (QqTOF).

Utilizou-se uma coluna Kinetex ® RP-18 (1.7µm, 100 x 2.1mm, 300 Å) com fase móvel constituindo de A (Água + 0,01% de Formiato de Amônio) e B (Acetonitrila); em gradiente exploratório: 5-95% de B em 12.7 min, fluxo de 400 µL/min e volume de injeção 10 µL. A amostra foi solubilizada em MeOH:H<sub>2</sub>O (8:2). Os parâmetros da fonte foram ajustados como segue: fluxo do gás de secagem a 9.0 L/h, temperatura de secagem a 150°C, voltagem do capilar a 3500 V e energia de colisão foi ajustada em 5.0 eV. Foi realizada uma varredura completa (full-scan) em modo negativo para aquisição dos íons na faixa de 100 a 300 M/Z, com fragmentação (MS<sup>2</sup>) dos íons precursores detectados. O software TOF Control e o Data Analyzes (Bruker ®) foram utilizados durante a aquisição e processamento dos dados espectrométricos, respectivamente.

#### **4.3.1. Preparação da formulação com extratos de *F. platyphylla* L.**

Para a preparação da formulação utilizou-se uma base apropriada de emulsão O/A adquirida comercialmente em farmácia magistral e incorporou-se o extrato nas concentrações de 5% e 10%, respectivamente.

#### **4.3.2. Teste de fenóis totais com extrato bruto**

O teste foi realizado segundo Kahkonen et al (1999) preparou-se uma solução metanólica da amostra a 100 µg/mL. Foram preparadas também uma solução metanólica de ácido gálico a 250 µg/mL e uma solução em água deionizada ultra-pura Folin-Ciocalteu em concentração 0,04%. O Folin-Ciocalteu corresponde a um reagente amplamente utilizado nestes testes, pois é simples de ser manuseado e baseia-se na interação das substâncias redutoras com o mesmo (PIRES et al, 2017).

Posteriormente, fez-se as diluições para curva de calibração de Ácido Gálico nas concentrações de 3,625; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0; 100,0 e 200,0 µg/mL que foram armazenadas em microtubos. Adicionou-se em microplaca de 96 poços 50µL da amostra, seguido de 150 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e, por fim, após 3 minutos, a solução saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. A reação ocorreu durante 2 horas e, por fim, fez-se a leitura em leitor de microplaca (SYNERGY H<sup>1</sup> – Microplate reader - Biotek) em

comprimento de onda de 750nm. Toda análise foi realizada em triplicata (KAHKONEN et al, 1999).

#### **4.3.3. Ensaio para avaliação do potencial antioxidante de extrato bruto e formulações**

O potencial antioxidante foi feito através da quantificação da ação de sequestro de radicais da amostra, segundo Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). Para obter este dado, preparou-se uma amostra do radical livre DPPH a uma concentração 0,04%, e das amostras a 100 µg/mL. As amostras avaliadas foram o extrato bruto e as formulações a 5 e 10%.

Em seguida foram realizadas diluições até as concentrações 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL para extratos e formulações a 5% e 10%. Para os padrões – ácido gálico e quercetina – foram utilizadas diluições nas concentrações de 2,5; 5, 10, 15, 20, 25, 30 µg/mL. Foi acrescentado 50µL da amostra e 150 µL da solução de DPPH 0,04% em placas de 96 poços. Após 30 minutos de reação, as absorbâncias das soluções foram medidas a 517 nm em Microplate reader SINERGY H1. Toda análise foi feita em triplicata (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

#### **4.3.4. Atividade fotoprotetora *in vitro* do extrato das flores de *F. platyphylla* L.: determinação do comprimento de onda máximo de absorção e do FPS**

Foi preparada uma solução do extrato bruto a 100 µg/mL, utilizando como diluente metanol grau HPLC. Para a determinação dos comprimentos de onda de absorção máxima, realizou-se uma análise em varredura espectrofotométrica entre os comprimentos de onda de 200 a 450 nm, com intervalos de 60 nm entre cada, utilizando uma célula acrílico CUVETTES 10X10X45mm TWO OPTICAL WINDOWS (JET BIOFIL®) e metanol como branco. Para esta análise, utilizou-se filtro solar comercial FPS 30 como controle positivo. Toda a leitura foi feita em triplicata.

O cálculo foi realizado seguindo o critério de Mansur (1986), sendo da seguinte equação:

$$\text{FPS}_{\text{espectrofotométrico}} = \text{CF} \times \int_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Onde,  $EE(\lambda)$  espectro de efeito eritematoso;  $I(\lambda)$  é o espectro de intensidade solar;  $\text{Abs}(\lambda)$  é a absorbância do produto de proteção solar e CF é fator de correção

(= 10). E os valores de  $EE \times I$  são constantes previamente determinadas (SAYRE et al, 1979).

#### **4.3.5. Atividade fotoprotetora *in vitro* da formulação: determinação do FPS espectrofotométrico**

Para a determinação do FPS das formulações, as mesmas serão preparadas em suas concentrações previamente determinadas e citadas anteriormente. A partir desta emulsão será retirada uma alíquota que será diluída em metanol grau HPLC em uma concentração de 100 µg/mL. Nesta análise utilizou-se como branco o metanol e como, controle positivo, um filtro colar comercial preparado nas mesmas concentrações. Além disto, realizou-se o mesmo procedimento com a base da emulsão O/A sem a presença do extrato, para servir como controle negativo.

Para o cálculo de  $FPS_{\text{espectrofotométrico}}$  foram determinados os valores de absorvância da solução final em espectrofotômetro entre comprimentos de onda de 200 a 450 nm, com um intervalo de 60 nm entre cada um. A leitura foi feita em triplicata. O FPS foi calculado utilizando como base três amostras independentes da análise com a mesma composição, utilizando a fórmula anteriormente descrita.

#### **4.3.6 Análise de estabilidade físico-química**

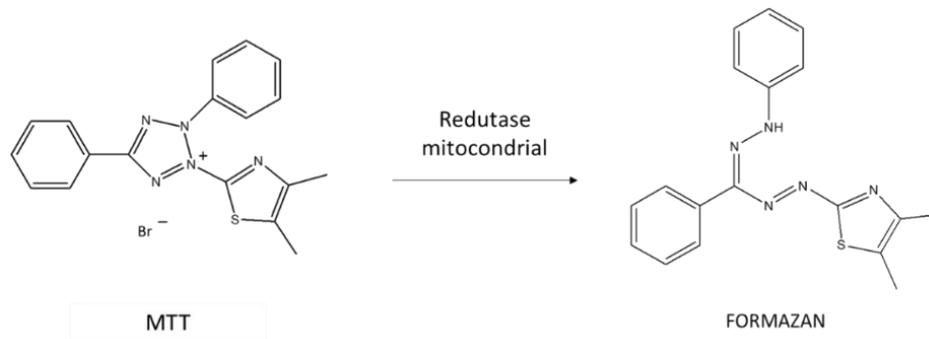
Para o estudo da estabilidade, as amostras passaram por testes utilizando método de congelação/descongelação, segundo Oliveira-Júnior et al (2017); onde foram analisados macroscopicamente os parâmetros organolépticos da formulação, incluindo: odor, cor e aparência; e parâmetro físicos, como sedimentação e separação de fase.

Além disso, determinou-se valores de pH e foi realizado teste de centrifugação após a preparação das formulações a 3000 rotações por minuto (RPM) durante 30 minutos à temperatura ambiente (OLIVEIRA-JÚNIOR et al, 2017).

#### **4.4. Teste de citotoxicidade**

O método escolhido foi o ensaio com MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólico], que avalia a atividade das desidrogenases mitocondriais, capazes de reduzir o MTT a sais de formazan, um composto de coloração azul escuro (MOSMANN, 1983).

**Figura 11.** Redução do MTT por enzimas mitocondriais



Fonte: Cruz (2017).

Foram utilizados macrófagos RAW 264.7, em placas de microdiluição de 96 poços a uma concentração  $2 \times 10^5$  de células em 200  $\mu\text{L}$  de meio de cultura RPMI (Roswell Park Memorial Institute) + SFB (Soro Fetal Bovino) 2% por poço e incubadas por 24h para aderência. As células foram cultivadas a  $37^\circ\text{C}$ . Depois da incubação, o sobrenadante foi pipetado e descartado e acrescido 200 $\mu\text{L}$  das concentrações a 12,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  do extrato bruto (FLAB) em triplicata, diluídas no mesmo meio de cultura e incubadas por 48h.

O próximo passo foi descartar o sobrenadante e colocar 100  $\mu\text{L}$  do mesmo meio com MTT (0,5%) (Sigma-Aldrich, EUA), para melhor visualização dos cristais de formazan nas células viáveis. As placas foram incubadas por mais de 24h e após esse período faz-se leitura no leitor ELISA com absorvância a 570nm. Os cálculos das porcentagens de crescimento e viabilidade celular, foram obtidos a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ Viabilidade} = \text{TA} / \text{T1} \times 100$$

tendo: TA = média da absorvância da célula tratada – absorvância do branco da amostra; e T1 = absorvância da suspensão celular de controle (sem tratamento).

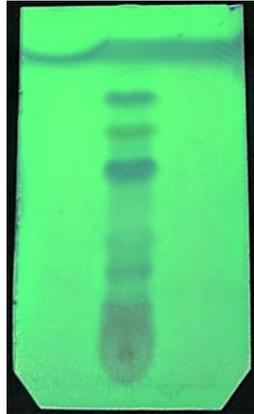
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Composição química das flores

A cromatografia em camada delgada (CCD) corresponde a um importante teste de triagem para avaliação da composição de um extrato. Em relação à amostra,

observou-se a presença de uma variedade de compostos (Figura 13), dentre os quais incluem-se os compostos fenólicos que, por serem aromáticos, apresentam intensa absorção da região do UV (SIMÕES; SCHENKEL; GOSMANN et al, 1999).

**Figura 12.** Placa cromatográfica do extrato bruto hidroetanólico de *Fridericia platyphylla* L. revelada no UV<sub>254</sub> fase móvel diclorometano-metanol (8:2).

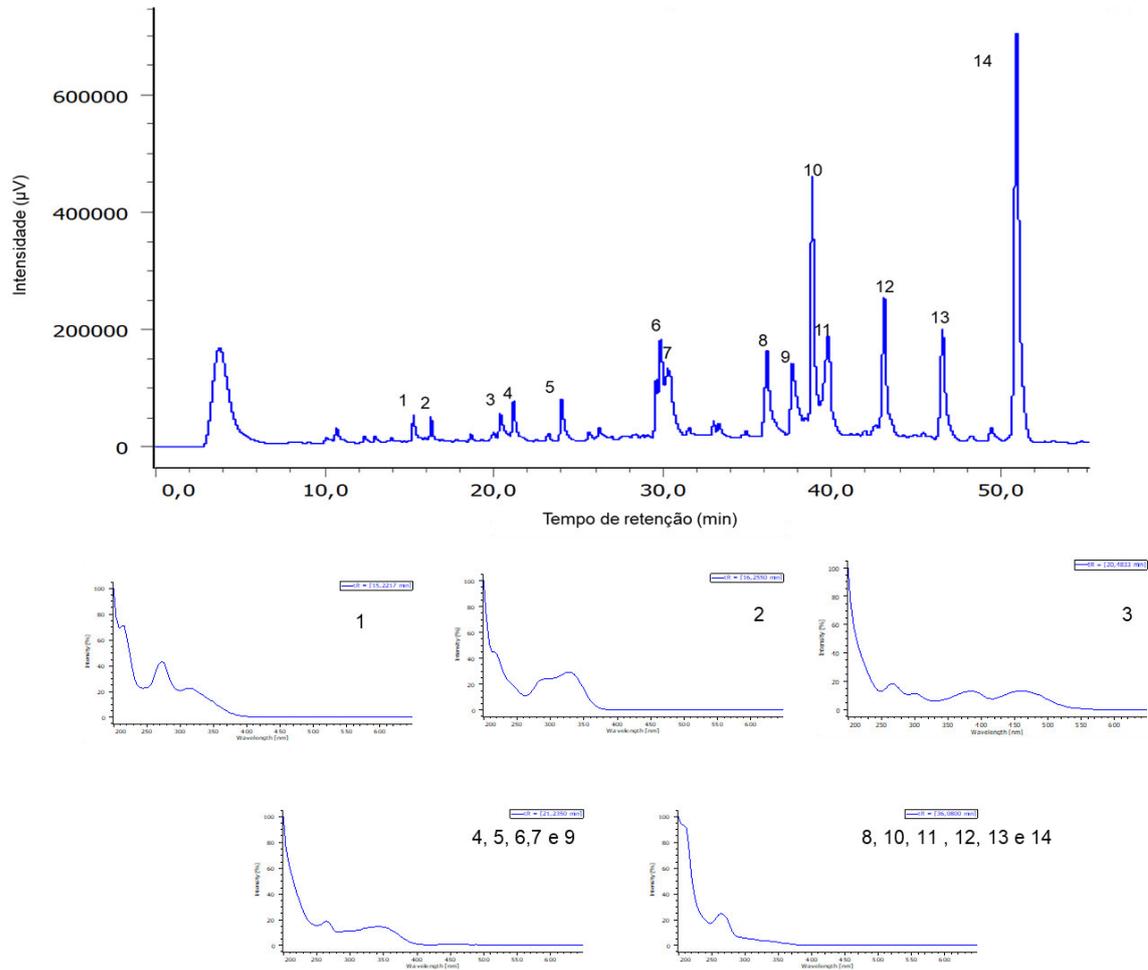


Fonte: Autor (2019).

Os resultados foram comparados com aqueles obtidos por HPLC usando o sistema Shimadzu consistindo de um módulo de distribuição de solvente com êmbolo duplo bomba de vaivém, um detector de arranjo de fotodiodos (PDA), e uma coluna PHENOMENEX (250 x 4.6 mm, 5  $\mu$ m, 100<sup>a</sup>).

A cromatoplaça apresentou característica de compostos fenólicos corroborando com dados anteriormente publicados para outros órgãos da espécie (DA ROCHA et al, 2014). Após essa análise o extrato foi analisado por HPLC-PDA e foi obtido o cromatograma a seguir (Figura 14):

**Figura 13.** Cromatograma de separação dos constituintes químicos presentes no extrato das flores de *Fridericia platyphylla*, e espectros no UV representativos das classes mais proeminentes presentes no extrato.



Fonte: Autor (2019).

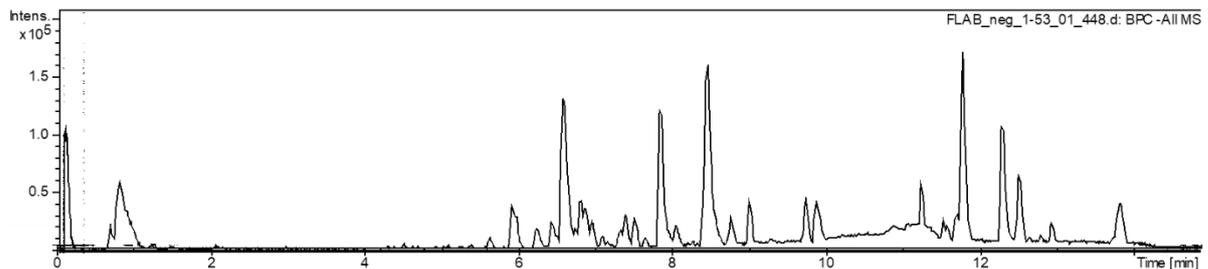
Após avaliação por HPLC-PDA do extrato das flores, observa-se grande complexidade e diversidade na composição química da matriz, avaliada pelo grande número de picos eluídos ao longo da corrida cromatográfica. Com o auxílio do detector de arranjo de fotodiodos (PAD) acoplado ao sistema HPLC, pôde-se processar os dados cromatográficos e obter os cromatogramas em comprimentos de onda seletivos para uma determinada classe de metabólito secundário. O cromatograma obtido por HPLC-PDA mostra compostos com características relacionadas à presença de fenólicos, sendo a principal delas, as chalconas e flavonoides diméricos. Por isto, buscou-se analisar estas substâncias de maneira mais aprofundada.

Para isto, utilizou-se a análise por Cromatografia Líquida de Ultra Alta Performance acoplada ao Espectrômetro de Massas com Alta Resolução com ionização por eletrospray e analisador de tempo de vôle (UPLC-ESI-QqTOF) do

extrato hidroetanólico das flores de *F. platyphylla*, que foi realizada com o intuito de utilizar uma técnica moderna e eficiente para a identificação de substâncias.

A seguir serão apresentados o cromatograma obtido por UPLC-EI-QqTOF (Figura 15). Ressalta-se que foi usado dados de MS<sup>n</sup> obtidos por LC-ESI-IT-MS para dar suporte aos dados de alta resolução de cada molécula e obter resultados conclusivos quanto à estrutura.

**Figura 14.** Cromatograma do extrato hidroetanólico das flores *Fridericia platyphylla* por UPLC-ESI- QqTOF



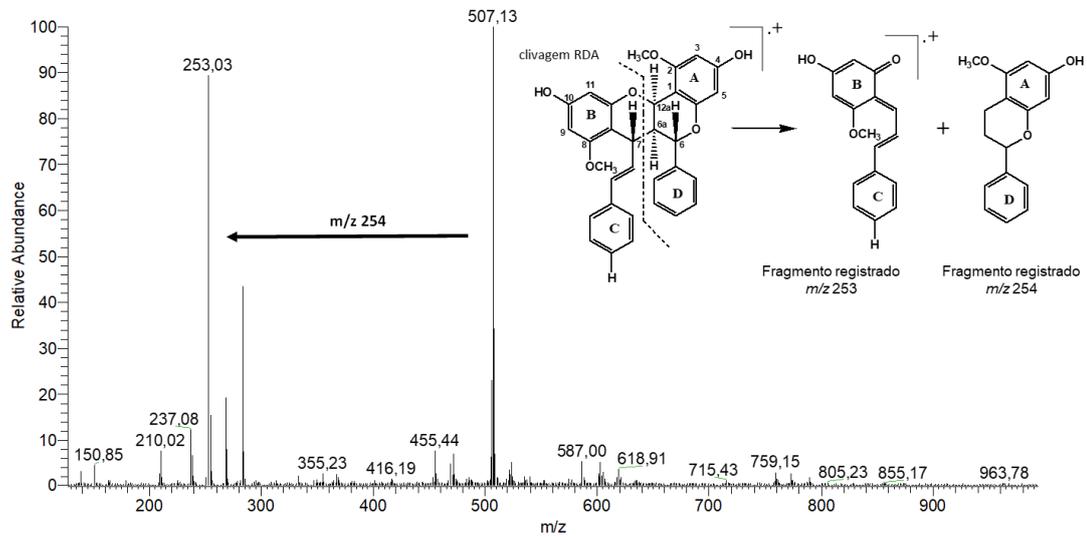
Fonte: Autor (2019).

O cromatograma obtido pelo método descrito apresentou boa resolução cromatográfica, visto que se trata de uma matriz altamente complexa. Os dados obtidos anteriormente foram processados obedecendo uma tolerância de massa de  $\pm 0,05$  Da, e pela ferramenta elemental composition do software MaxLynks, com vistas à obtenção da fórmula molecular do íon precursor (elementos utilizados: C, H, O e N com tolerância menor que 5 ppm). Uma vez identificada(s) a(s) fórmula(s) molecular(es), adicionada(s) a ela(s), fez-se necessário o uso de bibliotecas e base de dados, como por exemplo, Scifinder®, Sciencedirect®, Web of science®, Pubmed®, Chempider®, PubChem® e Dictionary of Natural Products®.

A variedade de classes de substâncias identificadas (Figura 16) pela técnica de UPLC-MS mostra que o extrato das flores de *F. platyphylla* poderá apresentar importante atividade biofarmacológica.

Considerando o grande volume de dados espectrais a seguir será apresentado os dados de massas apenas de alguns compostos representativos:

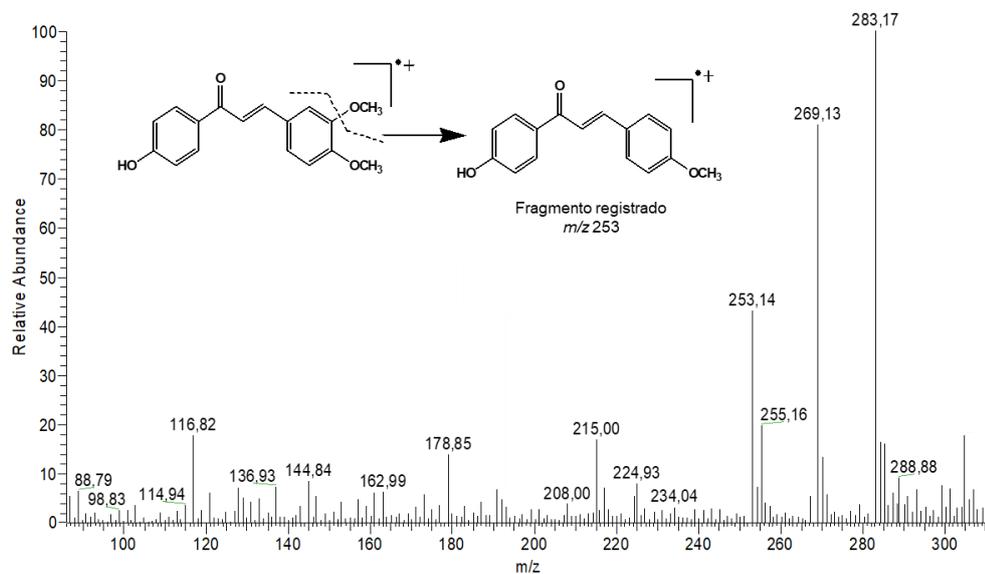
**Figura 15.**Espectro de massa de fragmentação da Brachydina 2 (flavonóide dimérico).



Fonte: Autor (2019).

A análise foi realizada em ionização por eletrospray (ESI-MS), em modo negativo, na qual “O pico com  $m/z$  253, correspondente a um fragmento resultante do mecanismo de fragmentação que envolve a clivagem RDA das ligações C12a e C6a do pirano acoplado ao anel B” (NASCIMENTO et al, 2019), evidenciando a presença de brachydinas nas flores da planta.

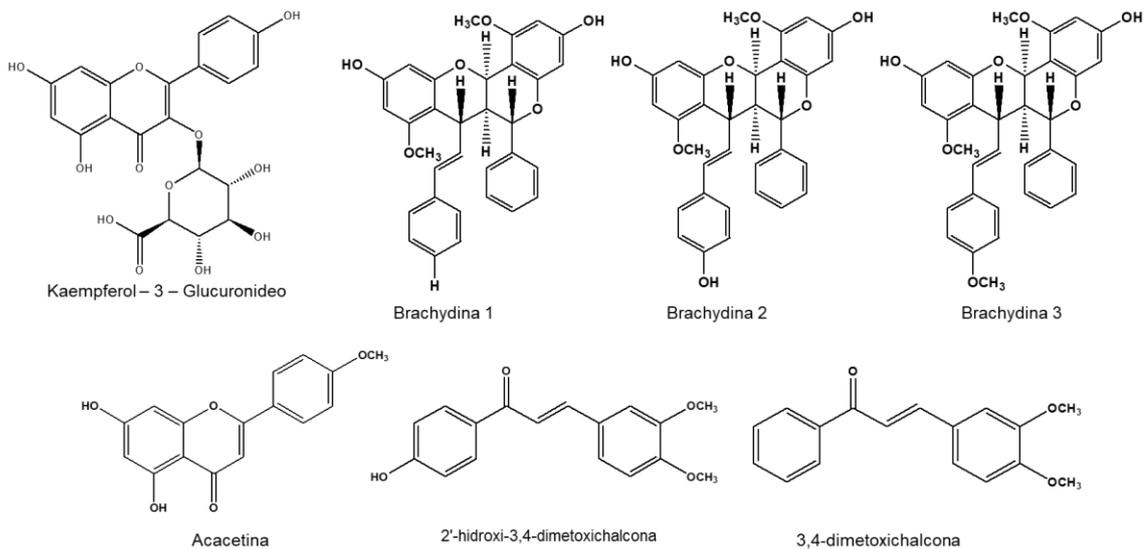
**Figura 16.**Espectro de massa de fragmentação 2'-hidroxi-3,4-dimetoxichalcona (chalcona).



Fonte: Autor (2019).

Da Rocha e colaboradores (2014), relatam que a biogênese das brachydinas pode ser oriunda da dimerização de chalconas por epoxidação. A fragmentação que ocorre a partir da clivagem no anel C pela retro Diels-Alder nesses compostos geram produtos de ionização característicos de chalconas. Os exemplos de espectros anteriormente citados mostram o mesmo íon fragmento para a brachydina 1 e para a chalcona, reafirmando essa hipótese. A figura a seguir (Figura 18) estão representadas as estruturas das substâncias majoritárias identificadas nesse trabalho para o extrato das flores de *Fridericia platyphylla*.

**Figura 17.** Substâncias identificadas nas flores de *Fridericia platyphylla* L.



Fonte: Autor (2019).

Nota-se que houve uma prevalência de compostos fenólicos, reafirmando os dados publicados por Da Rocha (2011) e confirmando os picos evidenciados no cromatograma da análise em HPLC-PDA.

Têm-se descrito que os compostos denominados brachydinas 1, 2 e 3 foram encontrados nas raízes de *Fridericia platyphylla* L. (DA ROCHA, 2014); contudo, esta foi a primeira vez em que os mesmos foram identificados em um órgão vegetal diferente.

Segundo Nascimento et al (2019)

as brachydinas podem ser formadas através de duas rotas: a partir da chalcona (2',4'-dihidroxi-6'-metoxichalcona) que geraria a metil quinona por meio da redução e consequente perda de água, a cicloadição entre a

quinona e a chalcona produziria um derivado de uvarina que seria transformada em braquidina via formação hemiacetal seguida de redução. Outra via seria a cicloadição intramolecular da metil quinona para gerar o intermediário flaveno, após uma segunda cicloadição com outra molécula de quinona daria origem as braquidinas.

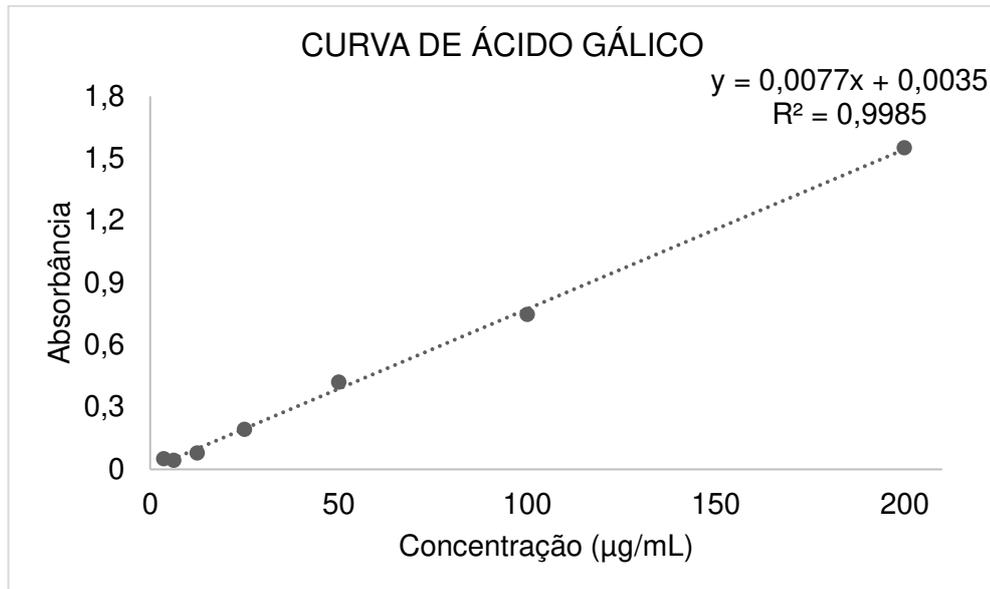
Estes compostos já apresentam algumas importantes bioatividades comprovadas, como sua atividade contra o *Trypanossoma cruzi* (DA ROCHA, 2014), sua capacidade antinociceptiva (RODRIGUES et al, 2017) e leishmanicida (ROCHA et al, 2019). A detecção da presença destes compostos em outro órgão vegetal, intensifica o panorama de prosseguimento das pesquisas com os mesmos, uma vez que se têm conhecimento da sua maior disponibilidade na natureza.

## **5.2. Teste de fenóis totais com extrato bruto**

A existência de substâncias fenólicas em partes aéreas das plantas é bastante comum. Elas são responsáveis pela proteção e características sensoriais (odor, cor, adstringência) que a planta possui (SILVA et al. 2017).

Assim, buscou-se avaliar a concentração de polifenóis no extrato bruto das flores de *Fridericia platyphylla* L utilizando o método com Folin-Ciocateau, onde foi utilizada uma curva padrão de Ácido Gálico (Gráfico 1), servindo como parâmetro de comparação com a amostra.

**Gráfico 1.** Curva padrão da quantificação de fenólicos totais empregando o Ácido Gálico como substância de referência, a 750nm.



Fonte: Autor (2019).

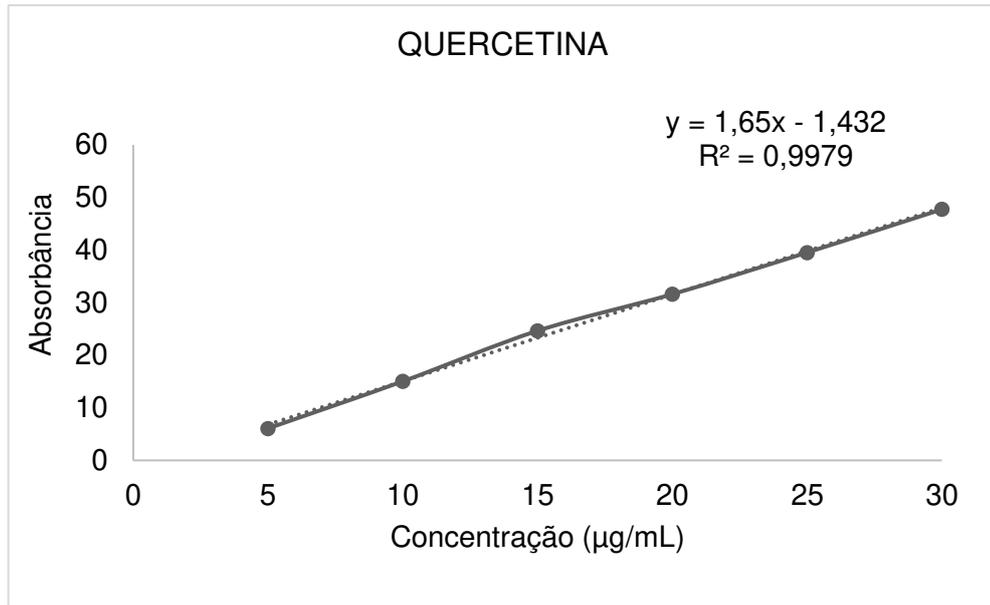
Em seguida, utilizou-se o  $r^2$  da curva do padrão para garantir a validade do método e fez-se uma regressão linear utilizando a equação da reta para encontrar a concentração de fenóis presente na amostra segundo a concentração equivalente de ácido gálico.

Diante disto, foi possível detectar cerca de 9,718% de fenóis presentes na amostra analisada em solução 100 µg/mL. É importante destacar que este valor é variável e depende, principalmente, das condições ambientais onde a planta se insere.

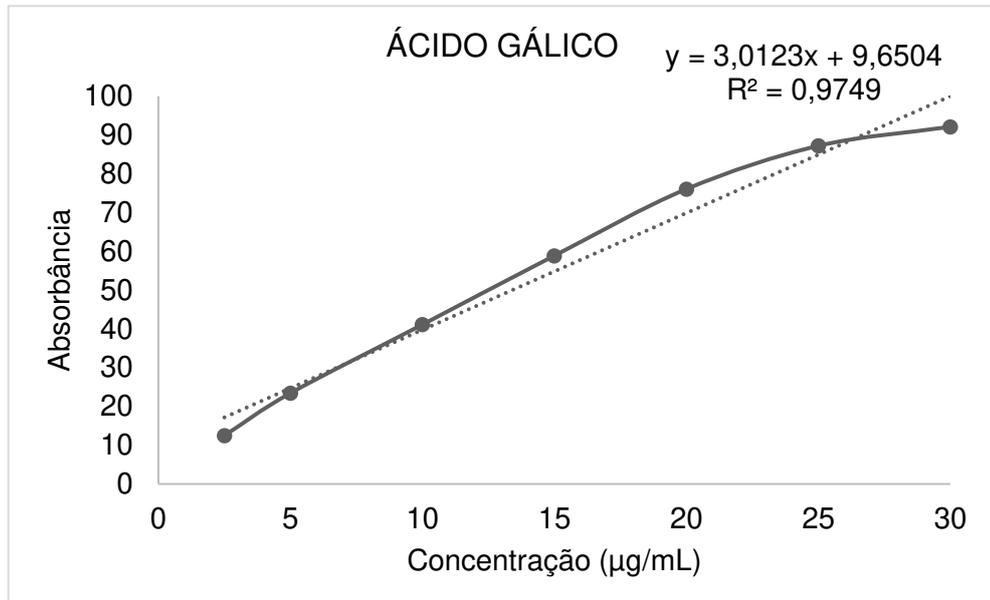
#### 5.4. Ensaio para avaliação do potencial antioxidante de extrato bruto

Considerando que o extrato bruto das flores apresentou uma concentração relativamente elevada de compostos fenólicos; e sabendo que os polifenóis são conhecidos pela sua importante atividade antioxidante, deu-se prosseguimento através da análise antioxidante.

Para isto, foi realizado o teste baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), utilizando como parâmetros de comparação o ácido gálico e a quercetina (Gráfico 2 e 3).

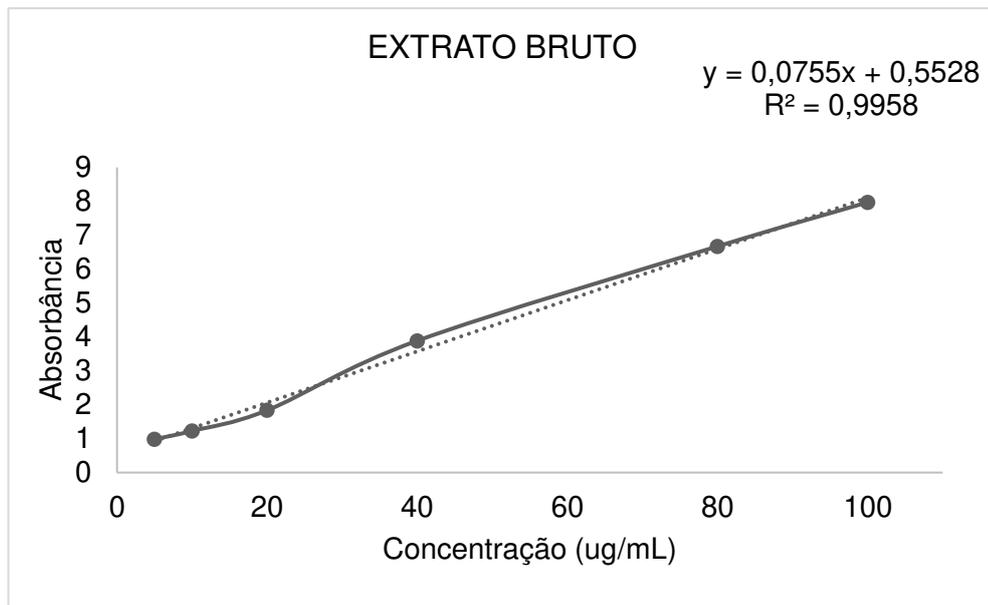
**Gráfico 2.** Curva de calibração da Quercetina.

Fonte: Autor (2019).

**Gráfico 3.** Curva de calibração de Ácido Gálico

Fonte: Autor (2019).

**Gráfico 4.** Curva de concentração do extrato bruto das flores de *Fridericia platyphylla* L.



Fonte: Autor (2019).

A partir destes dados buscou-se determinar a concentração da amostra necessária para que 50% dos radicais livres fossem sequestrados, ou seja, recebessem o átomo de hidrogênio e que, por consequência, iriam se reduzir a hidrazina (SILVA et al, 2017). O cálculo demonstrou que a concentração do extrato bruto das flores necessária para induzir esta reação é cerca de 669,57 µg/mL.

A importância de verificar a propriedade antioxidante da amostra é imensurável. Sabe-se que um dos fatores que influenciam diretamente no fotoenvelhecimento é o efeito das radiações UV na pele. Estes provocam alterações visíveis a longo prazo, principalmente, mudança de cor e formação de rugas; e isto ocorre por danos gerados nas fibras de colágeno e elastina e à estimulação da formação de radicais livres que prejudicam a morfologia celular (TESTON; NARDINO; PIVATO, 2017).

Diante disto, os produtos cosméticos comercializados atualmente, inclusive os filtros solares, possuem o objetivo de proteger a pele frente à radiação e, também, tratá-la; introduzindo neste meio as formulações anti-idade. Estas formulações apresentam diversos mecanismos de ação, sendo o principal deles, a promoção do sequestro de radicais livres da pele.

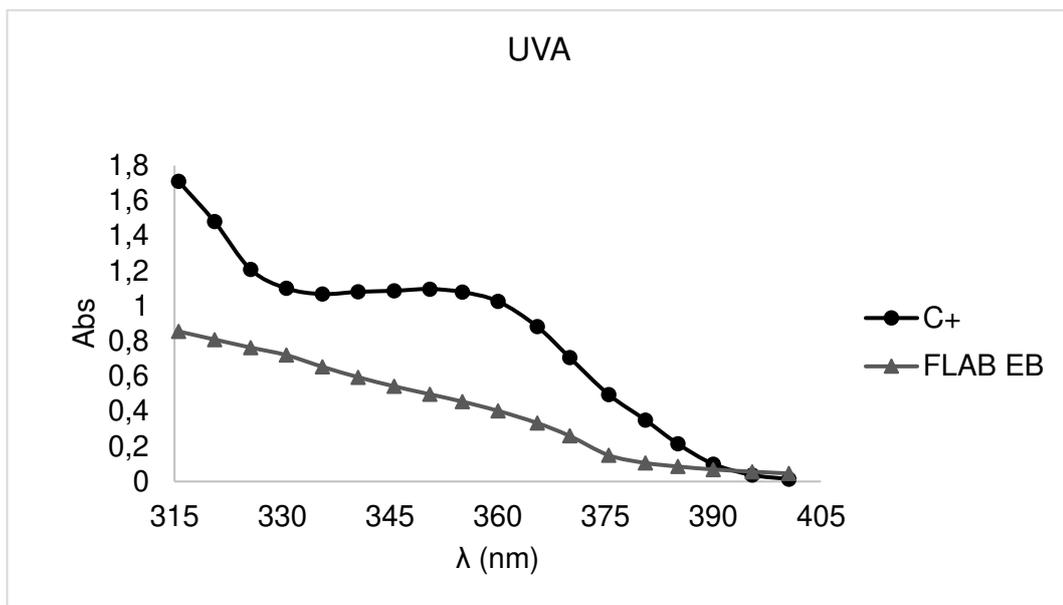
O fato de a amostra analisada apresentar um potencial antioxidante abre espaço para explorar este recurso, buscando, a longo prazo, um produto que atue como filtro solar anti-idade.

### 5.5. Atividade fotoprotetora *in vitro* do extrato das flores de *F. platyphylla* L.: determinação do comprimento de onda máximo de absorção e do FPS

A avaliação do comportamento do extrato bruto das flores frente à radiação UVA e UVB é fundamental para verificar seu potencial fotoprotetor. Os raios UVA, de comprimento de onda mais altos, são conhecidos por sua capacidade de provocar reações oxidativas; enquanto os raios UVB, de menos comprimento de onda, induzem danos diretamente ao DNA das células da pele, podendo levar ao câncer (POPIM, 2008).

Em relação à radiação UVA (Gráfico 5), houve uma absorção satisfatória. Contudo, o extrato bruto – representado por FLAB EB – mostrou-se abaixo do controle positivo, isto é, nesta faixa de radiação o extrato não foi tão efetivo em sua absorção.

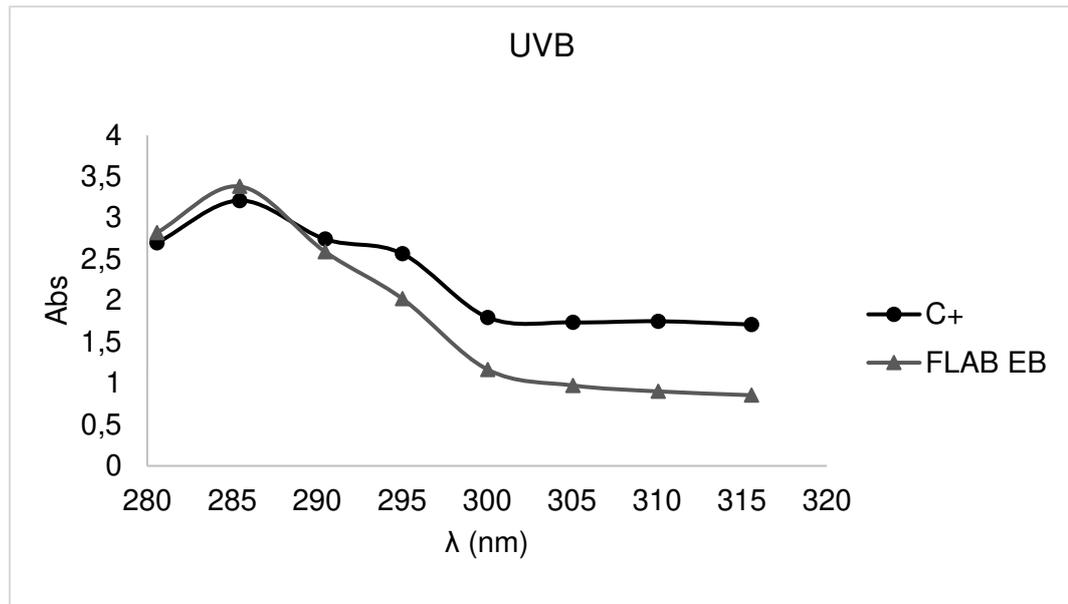
**Gráfico 5.** Os espectros de absorção espectrofotométrica do extrato bruto frente à radiação UVA



Fonte: Autor (2019).

Quanto aos raios UVB (Gráfico 6), que correspondem aos agudamente nocivos à saúde da pele, o extrato bruto mostrou-se satisfatoriamente comparável ao controle positivo utilizado, ou seja, apresentou uma absorção próxima ao filtro solar comercial.

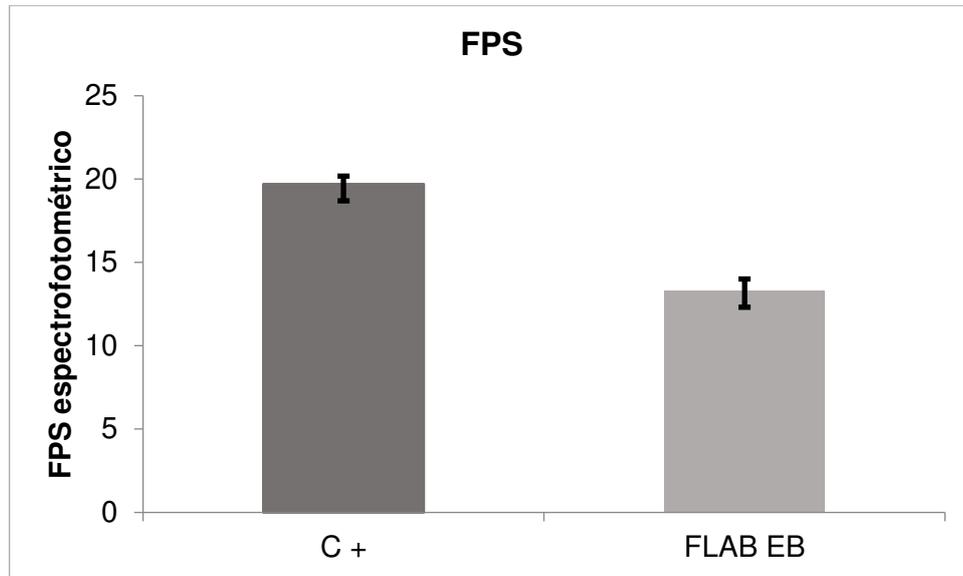
**Gráfico 6.** Os espectros de absorção espectrofotométrica do extrato bruto frente à radiação UVB.



Fonte: Autor (2019).

Tanto estes dados quanto os descritos anteriormente (Gráfico 4) podem estar relacionados com a predominância de compostos fenólicos na composição química da planta. A presença destas substâncias era prevista, uma vez que se têm descrito em outras plantas pertencentes ao mesmo gênero, como a *Fridericia chica*, que se mostrou com uma importante atividade antioxidante e fotoprotetora (MARTINS et al, 2016) dentro deste contexto.

Seguindo estes parâmetros, realizou-se o cálculo desenvolvido por Mansur (1996) para a determinação do FPS das duas amostras analisadas, representada a pelo Gráfico 7. É possível perceber a aproximação de valores entre o extrato bruto e o controle positivo, reafirmando a potencialidade que a amostra apresenta em relação à fotoproteção, sendo isto, possivelmente relacionado a alta concentração de fenóis presentes no extrato.

**Gráfico 7.** Determinação espectrofotométrica do Fator de Proteção Solar (FPS).

Fonte: Autor (2019).

Nota-se que o extrato bruto apresentou absorvância equiparada ao controle positivo, principalmente nos menores comprimentos de onda, representados pelos raios UVB. Os raios UVB são maléficos à pele por serem eritematógenos, isto é, são responsáveis por causar queimaduras (TOFETTI; DE OLIVEIRA, 2010).

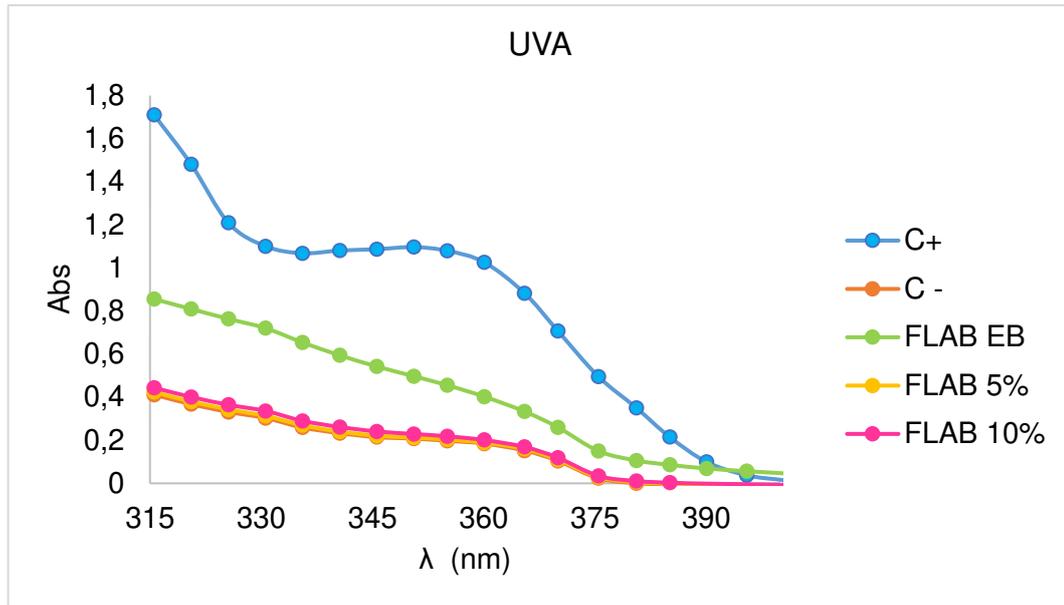
A radiação ultravioleta é, de maneira geral, nociva à saúde da pele, pois é capaz de ultrapassar a derme e epiderme, levando a alterações nas bases das moléculas de DNA e RNA celular, alterando sua morfologia e função (LOPES; DE SOUSA; DALLA LIBERA, 2018). Isto, a longo prazo, gera uma série de danos teciduais que podem levar este processo a um agravo crítico, gerando doenças mais graves como o câncer de pele.

### **5.6. Atividade fotoprotetora *in vitro* da formulação: determinação do FPS espectrofotométrico**

A avaliação da fotoproteção das formulações contendo o extrato bruto das flores foi uma importante forma de verificar se a emulsão O/A, utilizada como base do produto, iria interferir em sua capacidade de absorção.

Com os resultados, observou-se que o extrato bruto (FLAB EB) possui um potencial de absorção superior aos da base O/A e das formulações testadas, evidenciando seu potencial como fotoprotetor na faixa da radiação UVA (Gráfico 9).

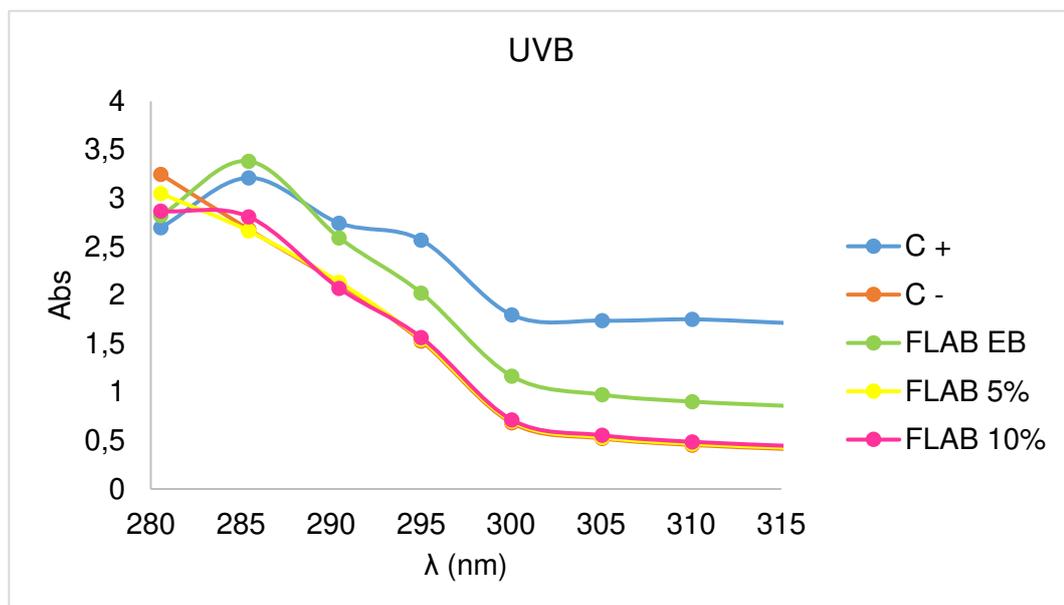
**Gráfico 8.** Os espectros de absorção espectrofotométrica de todas amostras frente à radiação UVA.



Fonte: Autor (2019).

No gráfico referente ao espectro de luz UVB (Gráfico 9) é possível perceber que houve o maior pico de absorção entre os menores comprimentos de onda do extrato bruto (FLAB-EB), representando um bom resultado para amostra, uma vez que o principal objetivo do uso de filtros químicos é a diminuição da incidência dos raios UVB na pele. Contudo, as formulações demonstraram um grau de absorção comparável à base utilizada e inferior ao extrato bruto.

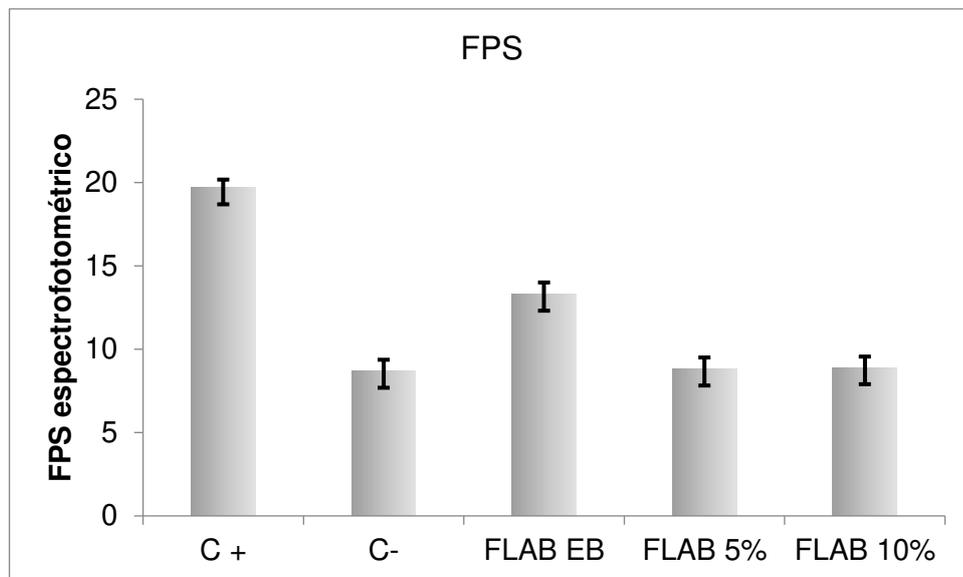
**Gráfico 9.** Os espectros de absorção espectrofotométrica de todas amostras frente à radiação UVB.



Fonte: Autor (2019).

O FPS de todas as amostras analisadas é descrito no gráfico 10. Os dados reafirmam a ideia dos gráficos anteriores, no qual as formulações possuem um potencial fotoprotetor semelhante ao controle negativo; enquanto o extrato bruto (FLAB EB) mostra-se a níveis comparáveis ao controle positivo analisado.

**Gráfico 10.** Determinação espectrofotométrica do Fator de Proteção Solar (FPS).



Fonte: Autor (2019).

A concentração de extrato bruto utilizada para elaborar a formulação foi um fator determinante no decréscimo do grau de absorção. Mas o fato de haver níveis equiparados de absorção entre as formulação e a base sem acréscimo do extrato, promove a conclusão de que houve interferência da base na melhor absorção da formulação, isto é, a absorção das formulação detectadas pelo equipamento, foram, na verdade, provenientes da emulsão O/A utilizada e não do extrato bruto das flores.

Este dado abre perspectivas futuras para busca de uma base mais específica, direcionado à amostra ou de um estudo mais aprofundado em encontrar uma concentração ideal do extrato bruto a se adicionar à emulsão.

### **5.7. Estabilidade físico-química das formulações**

A amostra recém preparada apresentou coloração avermelhada, odor característico de produto cosmético e aparência opaca/turva. Não houve alterações destes aspectos após o processo de congelação/descongelação.

As análises para verificação de pH resultaram em valores de 4,66 e 4,68 nas formulações a 5% e 10%, respectivamente. Não foi realizada correção do pH do produto.

As amostras não apresentaram alterações de suas características após o teste de congelação/descongelação.

Quanto ao teste de centrifugação, utilizou-se as formulações contendo 5% e 10% de extrato e a base isolada. Houve a manutenção da integridade e características físicas da base isolada, sem acréscimo do extrato; e nos produtos, no entanto, houve “quebra” de formulação, representada pela formação de três fases, ratificando a necessidade de se buscar, posteriormente, uma base mais compatível ao material trabalhado.

Em todos os testes, os produtos foram armazenados em recipientes plásticos; visando avaliação do material em local semelhante a uma futura embalagem.

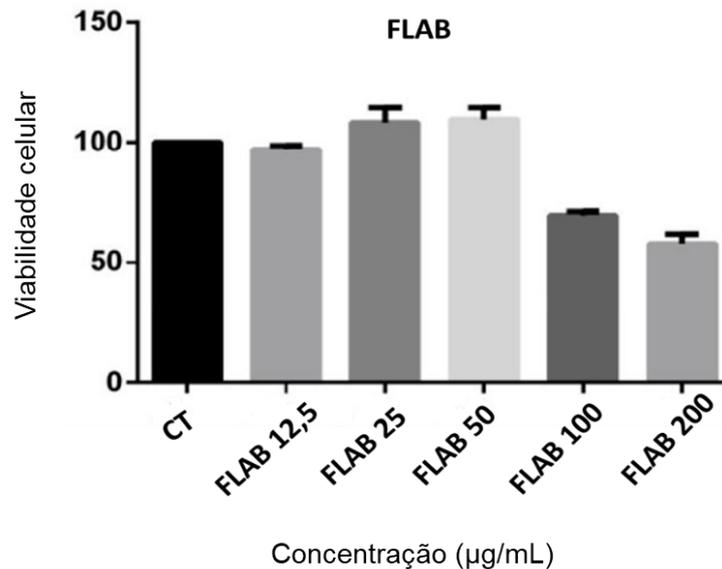
### **5.8. Avaliação de citotoxicidade**

Considerando que futuramente objetiva-se produzir e utilizar de um produto contendo o extrato bruto das flores e que este ainda é um protótipo, de certa forma, pouco explorado; buscou-se avaliar suas características citotóxicas.

A avaliação da citotoxicidade é imprescindível para verificar se o fitocomplexo utilizado é capaz de causar algum dano celular. Um dos fatores que podem levar à danos celulares, é justamente o estresse oxidativo, gerado pelo excesso de radicais livres no tecido (BERNARDES, 2016). As alterações celulares, a longo prazo, podem provocar uma série de reações inflamatórias capazes de levar a doenças mais graves, como o carcinoma.

Desta forma, foi realizado o teste de citotoxicidade da amostra baseado no teste de viabilidade celular por MTT. O resultado obtido está apresentado no gráfico 11:

**Gráfico 11.** Ensaio de viabilidade celular por MTT.



Fonte: Autor (2019).

O gráfico evidencia que o extrato bruto das flores de *Fridericia platyphylla* L. suprimiu a viabilidade celular apenas nas maiores concentrações utilizadas e, ainda assim, não foi uma diminuição tão expressiva, uma vez que houve viabilidade em mais de 50% das células da análise.

Dessa forma, é possível observar que o extrato não apresenta toxicidade frente a este tipo celular. Isto reflete na segurança em sua utilização, sendo isto fundamental para sua inserção no mercado e aprovação para uso em seres humanos. Contudo, são necessários outros testes, mais específicos para confirmar este dado.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do extrato bruto das flores de *Fridericia platyphylla* foi possível analisar e identificar uma variedade de substâncias, principalmente de característica fenólicas, que estão diretamente relacionados ao potencial antioxidante e fotoprotetor que a planta evidenciou neste estudo. Além de evidenciar a seguridade em utilizar o extrato, uma vez que não foi demonstrado citotoxicidade nos testes *in vitro* realizados; sem desconsiderar a importância de realizar outros testes, mais específicos e direcionados, para a confirmação deste dado.

Considerando isto, em relação à análise do comportamento do extrato frente a incorporação em emulsão O/A, têm-se a perspectiva de buscar uma base que seja mais direcionada ao extrato que foi trabalhado, além de buscar uma concentração que permita que suas propriedades sejam valorizadas, sem prejudicar a integridade do produto final ou do futuro consumidor.

Desta forma, é pertinente dar continuidade aos estudos da planta nesta área, uma vez que os resultados mostram bioatividades marcantes que podem ser exploradas de maneira mais aprofundada.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. S. de et al. **Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora de espécies da família annonaceae.** 2017.

BERNARDES, M. F. F. **Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade dos herbicidas tebutiuram e trifluralina e de seus efeitos na expressão de genes de resposta ao estresse celular.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2016.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta.** Rev Nutr, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** LWT-Food science and Technology, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. **Pele melanoma.** Instituto Nacional do Câncer (INCA). Disponível em: [http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele\\_melanoma](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma). Acesso em: 29 de setembro de 2018.

CRUZ, D. B. **Atividade antioxidante e citotoxicidade de plantas do Campo Rupestre brasileiro: Gomphrena arborescens Lf, Gomphrena virgata Mart., Miconia ferruginata DC. e Vochysia elliptica Mart.** 2017.

DA FONSECA JÚNIOR, E. Q.; ALBUQUERQUE, P. M.; DA SILVA, G. F. **ESTUDO FITOQUÍMICO E ANÁLISE DE FOTOPROTEÇÃO DOS EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE Aniba canelilla (HBK) MEZ.** The Journal of Engineering and Exact Sciences, v. 3, n. 4, p. 0614-0620, 2017.

DA ROCHA, C. Q. et al. **Anti-inflammatory and antinociceptive effects of Arrabidaea brachypoda (DC.) Bureau roots.** Journal of ethnopharmacology, v. 133, n. 2, p. 396-401, 2011.

DA ROCHA, C. Q. et al. **Dimeric flavonoids from *Arrabidaea brachypoda* and assessment of their anti-*Trypanosoma cruzi* activity**. Journal of natural products, v. 77, n. 6, p. 1345-1350, 2014.

DA ROCHA, C. Q. **Extratos padronizados para o tratamento de doenças crônicas: *Arrabidaea spp.*** 2013. 102 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/108492>>.

DA SILVA, B. P.; LOPES, L. L. B. T. **Avaliação do potencial fotoprotetor do extrato vegetal de romã (*punica granatum L.*) em uma formulação cosmética**. Revista Brasileira de Ciências da Vida, v. 6, n. 3, 2018.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos**. Visão acadêmica, v. 5, n. 1, 2004.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A.; **Protetores solares**. Química Nova, p. 153-158, 2007.

GARCIA, F.; **Estudo fitoquímico da fração AcOEt do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau - Bignoniaceae e atividades antioxidante e inibitória da enzima mieloperoxidase das substâncias isoladas**, 100 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/97989>>. 2008.

GENTRY, A.H. **The distribution and Evolution of climbing plants**. In: Putz, F.E. & Mooney, H. A. (eds.). The biology of vines. Combrigde University Press.Cambrigde, p. 3-49, 1991.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro: INCA, 2017. Disponível em:

<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 12 jun. 2019.

ISIC, Instituto Schulman de Investigação Científica. **Proteção Solar**. Disponível em: <http://isic.net.br/artigo-32>. Acesso em: 05/05/2019.

KAHKONEN, M. P. et al. **Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds**. Journal Agricultural Food Chemistry, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.

LAHSASNI, S. A.; AL KORBI, F. H.; ALJABER, N. A. A. **Synthesis, characterization and evaluation of antioxidant activities of some novel chalcones analogues**. Chemistry Central Journal, v. 8, n. 1, p. 32, 2014.

LOPES, L. G.; DE SOUSA, C. F.; DALLA LIBERA, L. S. **EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E SEU PAPEL NA CARCINOGENESE DE PELE: UMA REVISÃO**. Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres, v. 7, n. 1, p. 117-146, 2018.

MANSUR, J.S.; BRENDER, M.N.R.; MANSUR, M.C.A.; AZULAY, R.D. **Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos por espectrofotometria**. Anais Brasileiros de Dermatologia, v.61, p.167-172, 1986

MARTINS, F. J. et al. **Antioxidant activity and potential photoprotective from amazon native flora extracts**. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 161, p. 34-39, 2016.

MOSMANN, T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays**. J. Immunol. Methods 65, 55. 1983.

NASCIMENTO, J. R. et al. **Correlação entre potencial eletroquímico e atividade leishmanicida de compostos raros isolados de Fridericia platyphylla (Cham.) LG Lohmann**. 2019.

NOGUEIRA, C. H. **Avaliação da mutagenicidade e da estrogenicidade dos extratos etanólicos padronizados, frações e substâncias isoladas de *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau.** 73 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/124129>>. 2015.

OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G. de et al. **Development and Evaluation of Photoprotective O/W Emulsions Containing Hydroalcoholic Extract of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae).** The Scientific World Journal, v. 2017, 2017.

ORLANDA, J. F. F.; BIANCA, C. B. S. C. **Atividade antioxidante e fotoprotetora do extrato etanólico de *Ocimum gratissimum* L.(alfavaca, Lamiaceae).** Revista Cubana de Plantas Medicinales, v. 23, n. 3, 2018.

PAULETTI, P. M. et al. **Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae): uma contribuição para a pesquisa de bioprospecção da flora paulista.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista (UNESP). Campus de Araraquara. Instituto de Química. 2004

PIETTA, P. G. **Flavonoids as antioxidants.** Journal of natural products, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

PIRES, C. A. A. et al. **Câncer de pele: caracterização do perfil e avaliação da proteção solar dos pacientes atendidos em serviço universitário.** Journal of Health & Biological Sciences, v. 6, n. 1, p. 54-59, 2017.

PIRES, J. et al. **Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas.** Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017.

PIRES, J. et al. **Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas.** Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017.

POPIM, R. C. et al. **Câncer de pele: uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Botucatu.** Ciência & Saúde Coletiva, v. 13, p. 1331-1336, 2008.

POPIM, Regina Célia et al. **Câncer de pele: uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Botucatu.** Ciência & Saúde Coletiva, v. 13, p. 1331-1336, 2008.

REBELLO, J. M. et al. **Avaliação da atividade antioxidante e antifúngica de análogos sintéticos da acetofenona e pró-oxidante e antitumoral de chalconas sintéticas.** 2005.

RESENDE, F. A. et al. **In vitro toxicological assessment of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau: Mutagenicity and estrogenicity studies.** Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 90, p. 29-35, 2017.

ROCHA, V. et al. **Antileishmanial Activity of Dimeric Flavonoids Isolated from *Arrabidaea brachypoda*.** Molecules, v. 24, n. 1, p. 1, 2019.

RODRIGUES, V. et al. **Involvement of Opioid System, TRPM8, and ASIC Receptors in Antinociceptive Effect of *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau.** International journal of molecular sciences, v. 18, n. 11, p. 2304, 2017.

ROZATTO, M. R. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de *Arrabidaea brachypoda*.** 100 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/94817>>. 2012.

SANTOS, S. O.; SOBRINHO, R. R.; DE OLIVEIRA, T. A. **Importância do uso de protetor solar na prevenção do câncer de pele e análise das informações desses**

**produtos destinados a seus usuários.** Journal of Health & Biological Sciences, v. 6, n. 3, p. 279-285, 2018.

SANTOS, S. O.; SOBRINHO, R. R.; DE OLIVEIRA, T. A. **Importância do uso de protetor solar na prevenção do câncer de pele e análise das informações desses produtos destinados a seus usuários.** Journal of Health & Biological Sciences, v. 6, n. 3, p. 279-285, 2018.

SAYRE, R. M. et al. **A comparison of in vivo and in vitro testing of suncreening formulas.** Photochemistry and Photobiology, v. 29, n. 3, p. 559-566, 1979.

SBD, Sociedade Brasileira de Dermatologia. **Câncer de Pele.** Disponível em: <http://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/doencas-e-problemas/cancer-da-pele/64/>. Acesso em: 05/05/2019

SILVA, C. T.; JASIULIONIS, M. G. **Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer.** Ciência e Cultura, v. 66, n. 1, p. 38-42, 2014.

SILVA, T. S. et al. **Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de Chamaecrista sp. e Senna splendida.** 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al, **Farmacognosia: da Planta ao medicamento,** Porto Alegre/Florianópolis Ed.Universiadde/UFRGS/Ed. Da UFSC, 1999.

SINGER, R. F. et al. **Estudos ontogenéticos de flor e fruto em espécies de Bignoniaceae com ênfase na taxonomia.** 2007.

SINGH, P.; ANAND, A.; KUMAR, V. **Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review.** European journal of medicinal chemistry, v. 85, p. 758-777, 2014.

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.

SOUZA, T. M. et al. **Avaliação da atividade fotoprotetora de Achillea millefolium L. (Asteraceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia, p. 36-38, 2005.

TESTON, A. P.; NARDINO, D.; PIVATO, L. **Envelhecimento cutâneo: teoria dos radicais livres e tratamentos visando a prevenção e o rejuvenescimento.** Revista Uningá Review, v. 1, n. 1, 2017.

TOFETTI, M. H. F. C.; DE OLIVEIRA, V. R. **A importância do uso do filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele.** INVESTIGAÇÃO, v. 6, n. 1, 2010.

VERVERIDIS, F. et al. **Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health.** Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology, v. 2, n. 10, p. 1214-1234, 2007.