

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DE *BRYOPHYLLUM LAETIVIRENS* (DESC.) V.V. BYALT¹***IN VITRO EVALUATION OF THE PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY OF
BRYOPHYLLUM LAETIVIRENS (DESC.) V.V. BYALT*****Nádia Aguiar Portela Pinheiro**Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5244-5613>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0630424788165754>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

nadia.portela@aluno.uece.br

Amanda Maria Barros AlvesOrcid: <https://orcid.org/0000-0003-3846-7311>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8256176808089264>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: amanda.barros@aluno.uece.br

Alissa Ellen Queiroz Ribeiro CamposOrcid: <https://orcid.org/0000-0001-9788-2131>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3428515558666040>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: alissa.campos@aluno.uece.br

Milena Lira FurtadoOrcid: <https://orcid.org/0000-0002-1216-6572>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7951314971072480>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: milena.furtado@aluno.uece.br

Alessandro Sousa LimaOrcid: <https://orcid.org/0000-0002-8037-4787>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3856392053113915>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: alessandro.lima@aluno.uece.br

Sônia Maria Costa SiqueiraOrcid: <https://orcid.org/0000-0001-8556-3715>Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3732815540670292>

Universidade Estadual do Ceará, UECE, Brasil

E-mail: sonia.costa@uece.br

¹ Artigo advindo dos Anais do I Simpósio de Meio Ambiente e Energia (I SiMAE) – Fortaleza, CE

RESUMO

Nesta pesquisa buscou-se avaliar o fator de proteção solar *in vitro* (FPS) de *B. laetivirens*, identificar seus metabolitos secundários e quantificar os teores de fenóis totais e flavonóides pelos métodos Folin-Ciocalteu e cloreto de alumínio, respectivamente. O FPS calculado pelo método espectrofotométrico foi 3,42 para a maior concentração testada. Os resultados obtidos no estudo fitoquímico apresentaram os seguintes metabólitos secundários: fenóis, flavonóis, flavonas, flavononóis, flavonononas, xantonas e alcalóides. Os teores de fenóis totais e flavonoides foram de $166,66 \pm 0,8$ mg EqAG/g e $37,50 \pm 0,07$ mg EqC/g, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante. Fator de Proteção Solar. *Bryophyllum laetivirens*.

ABSTRACT:

In this research, we sought to evaluate the in vitro sun protection factor (SPF) of B. laetivirens, identify its secondary metabolites and quantify the levels of total phenols and flavonoids by the Folin-Ciocalteu and aluminum chloride methods, respectively. The SPF calculated by the spectrophotometric method was 3.42 for the highest concentration tested. The results obtained in the phytochemical study showed the following secondary metabolites: phenols, flavonols, flavones, flavonoids, flavonones, xanthonones and alkaloids. The levels of total phenols and flavonoids were 166.66 ± 0.8 mg EqAG / g and 37.50 ± 0.07 mg EqC / g, respectively.

KEYWORDS: Antioxidant. Solar Protection Factor. *Bryophyllum laetivirens*.

1. INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta contribui para o desenvolvimento de ambas as formas de câncer da pele: melanoma e não-melanoma. O câncer não-melanoma está associado à acumulação de energia fornecida pelos raios solares no tecido, e o melanoma, a queimaduras solares causadas por exposição inadequada e momentânea aos raios UV (CUMMINGS *et al.*, 1997). De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (2019) datam-se 180 mil pessoas acometidas pelo câncer de pele entre o biênio de 2018-2019, correspondente a 33% dos diagnósticos estabelecidos no Brasil.

Devido a importância do uso de protetores solares, têm-se realizado vários estudos para investigar a capacidade de fotoproteção de extratos vegetais (SOUZA *et al.*, 2005; GUPTA, 2013). Muitos desses extratos apresentam compostos com atividade fotoprotetora ou sinérgica em associação com filtros solares (SOUZA *et al.*, 2013). Segundo Oliveira e Almeida (2012), o interesse por filtros solares naturais é crescente visto que apresentam menores efeitos colaterais e agressividade ao meio ambiente, além de possuírem substâncias cromóforas e fotoprotetoras.

A diversidade de plantas cultivadas no Brasil permite encontrar novos compostos fotoprotetores de origem natural. A *Bryophyllum laetivirens* (Desc.)V.V.Byalt, também conhecida como *Kalanchoe laetivirens* Descoings, faz parte do gênero de plantas suculentas *Kalanchoe* (sinônimo *Bryophyllum*) e é utilizada na medicina tradicional para a diminuição da febre, cura do

câncer, anti-inflamatório e cicatrizante (COSTA *et al.*, 2008; ALVES; POVH; PORTUGUEZ, 2019).

Considerando que a *B. laetivirens* não apresenta relatos na literatura que comprovem cientificamente seu uso popular em diversas patologias, justifica-se um maior interesse em estudar essa espécie no que diz respeito a sua constituição química e atividades biológicas, visando a descoberta de novos fármacos ou bioprodutos. Dessa forma, este trabalho teve como objetivos realizar uma triagem fitoquímica e avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro* do extrato etanólico das folhas de *B. laetivirens*.

2. Materiais e Métodos

2.1 Preparação dos extratos etanólicos

As folhas da *B. laetivirens* depois de secas foram pesadas, trituradas e embebidas em etanol 96% (v/v) durante quinze dias. Logo após os dias corridos, foram filtradas e colocadas em um evaporador a vácuo rotativo e submetidas a banho-maria para retirada completa do solvente.

2.2 Prospecção fitoquímica

A identificação de classes de metabólitos secundários foi realizada seguindo a metodologia descrita por Matos (2009). Pequenas porções do extrato foram dissolvidas com 5 a 10 mL de etanol 70% em tubos de ensaio para realização das análises colorimétricas com formação de precipitados.

2.3 Quantificação de fenóis totais

Foi feito pelo método de Folin-Ciocalteu (SOUSA *et al.*, 2007). Dissolveu-se 7,5 mg do extrato em MeOH, completado para 25mL. Agitou-se uma alíquota de 100µL com 500µL de Folin-Ciocalteu por 30 segundos, acrescentando 6 mL de água destilada e 2mL de Na₂CO₃ a 15%. Agitou-se por 1min e depois completado para 10mL com água destilada. A absorbância das amostras em 750nm foi determinada após 2h. Como padrão utilizou-se o ácido gálico. O teste foi feito em triplicata. A curva de calibração utilizada foi $y = 0,0013x - 0,018$.

2.4 Quantificação de flavonoides totais

Foi feito pelo método de Funari e Ferro (2006). Foi preparado uma solução com 20 mg da amostra em 10 mL de etanol. Misturou-se uma alíquota de 2 mL com 1 mL de AlCl₃ a 2,5% e foi completado para 25 mL com etanol. Após 30 min determinou-se a absorbância da amostra a 425 nm. Como padrão utilizou-se a quercetina. O teste foi feito em triplicata. A curva de calibração utilizada foi $y = 0,04215x - 0,0118$.

2.5 Determinação do fator de proteção solar

Para esse teste, após a pesagem de 0,125 g foram preparadas soluções de extrato etanólico nas concentrações de 5, 25, 50, 100 e 250 ppm. As absorbâncias das amostras foram determinadas em diferentes comprimentos de onda (290 a 320 nm), com intervalos de 5 em 5 nm. Foram usadas cubetas de quartzo e o etanol foi usado como branco. O teste foi realizado em triplicata. O fator de proteção solar foi calculado seguindo a Eq. 1 de Mansur e colaboradores (1986):

$$FPS = CF \times 290 \sum_{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \quad (1)$$

onde: EE – Espectro de efeito eritemogênico; I – espectro de intensidade solar; Abs – absorvância da amostra; CF – fator de correção (=10).

3. Resultados e Discussão

3.1 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *B. laetivirens* indicou a presença de fenóis, flavonóis, flavonas, flavononóis, flavonononas, xantonas e alcaloides. De acordo com França (2017), a caracterização fitoquímica de diversos extratos vegetais é dependente de diversos fatores, como as características do solo, método de obtenção do extrato, fatores fenológicos, variações fisiológicas sazonais e ainda variações climáticas

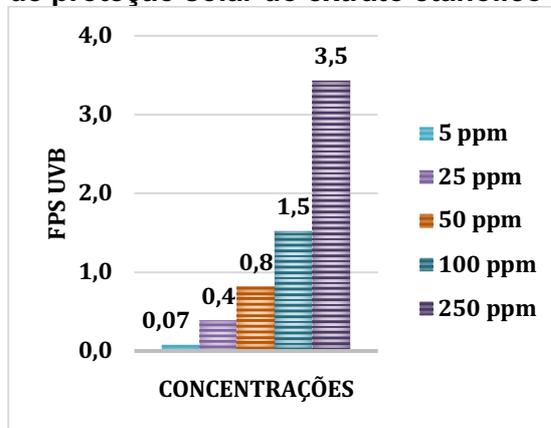
3.2 Quantificação de fenóis totais e flavonóides

B. laetivirens apresentou elevado teor de fenóis totais ($166,66 \pm 0,8$ mg EqAG/g) e o teor de flavonoides foi equivalente a $37,5 \pm 0,07$ mg EqC/g. Resultados ainda maiores foram encontrados por Asiedu-Gyekye *et al.* (2012) ao determinarem os fenóis totais de espécies do mesmo gênero (*K. pinnata* e *K. integra*, 242 mg/g e 340 mg/g, respectivamente). Os mesmos autores encontraram resultados de flavonoides semelhantes ao estudarem *K. pinnata* (32,0 mg/g) e *K. integra* (42,0 mg/g, $p > 0,05$). Devido às condições de solo e desenvolvimento, o grupo de gênero *Kalanchoe* se classifica por ser uma espécie rica em teor de flavonoides (PINHEIRO, 2017), que são considerados marcadores biológicos do gênero (CRUZ *et al.*, 2012).

3.3 Determinação do fator de proteção solar do extrato etanólico de *B. laetivirens*

O espectro de absorção do extrato de *B. laetivirens* apresentou pico máximo de absorção em 265 nm, que apesar de estar na faixa de UVC, há possibilidade de seu uso como filtro solar em formulações fotoprotetoras nas regiões de UVA e UVB. Inúmeras pesquisas elucidaram que as plantas que absorvem na região ultravioleta apresentam em sua composição complexa, diferentes moléculas, destacando-se metabólitos secundários como flavonoides, taninos, antraquinonas, alcalóides e os polifenóis (SOUZA *et al.*, 2005; ZUANAZI, 2000).

Nas concentrações utilizadas para teste, *B. laetivirens* apresentou um valor de FPS próximo a 3,5 para maior concentração testada (Fig. 1). Logo, não poderá ser utilizado como protetor solar, pois o fator mínimo de proteção é de $FPS \geq 6$ (ANVISA, 2012). Entretanto, pode ser usado nas formulações como adjuvante aos filtros sintéticos, atuando sinergicamente na ação fotoprotetora, o que traria múltiplos benefícios, uma vez que a junção desse extrato com outro protetor solar protegeria a pele da ação dos radicais livres que eventualmente poderiam ser gerados devido a radiação solar e também acrescentaria FPS a formulação.

Figura 1: Fator de proteção solar do extrato etanólico de *B. laetivirens*

Fonte: Próprio autor

4. CONCLUSÕES

B. laetivirens apresentou importantes classes fitoquímicas como fenóis e flavanóides que são associados ao combate de diversas doenças causadas pelo estresse oxidativo, motivando assim a realizações de estudos mais aprofundados e isolamentos destes constituintes na colaboração de formulação de fitofármacos. Apesar da espécie não ter apresentado FPS ≥ 6 , mínimo permitido pelo Ministério da Saúde, esse material apresentou potencial na proteção contra os raios UV, podendo ser utilizado como adjuvante dos sistemas de bloqueadores que auxiliam a proteção aos raios UV, protegendo a pele de danos oxidativos ocasionados pela exposição a essa radiação. Entretanto, vale ressaltar que estudos mais avançados precisam ser realizados.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, K. C. H.; POVH, J. A.; PORTUGUEZ, A. P. Etnobotânica de plantas ritualísticas na prática religiosa de matriz africana no município de Ituiutaba, Minas Gerais.

Ethnoscience, v. 4, n. 1, 2019.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos – RDC 30 de 1º de junho de 2012.

Asiedu-Gyekye¹, I.J.; Antwi, D. A.; Bugyei, K. A. Awortwe, C. Comparative study of two kalanchoe species: total flavonoid, phenolic contents and antioxidante properties.

African Journal of Pure and Applied Chemistry, v.6, n.5, p. 65-73, 2012.

COSTA, S. S.; MUZITANO, M. F.; CAMARGO, L. M. M.; COUTINHO, M. A. S.

Therapeutic Potential of Kalanchoe Species: Flavonoids and other Secondary Metabolites. **Natural Product Communications**, v. 3, n.12, 2008.

CRUZ, B. P.; CHEDIER, L. M.; PEIXOTO, P. H. P.; FABRI, R. L.; PIMENTA, D. S. Effects of light intensity on the distribution of anthocyanins in *Kalanchoe brasiliensis* Camb. and *Kalanchoe pinnata* (Lamk.) Pers. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 1, p. 211-218, 2012.

CUMMINGS, S. R.; TRIPP, M. K.; HERRMANN, N. B. Approaches to the prevention and control of skin cancer. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 16, n. 3-4, p. 309- 327, 1997.

DUTRA, E. A.; OLIVEIRA, D. A. G. D. C.; KEDOR-HACKMANN, E. R.; SANTORO, M. I. R. M. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 381-385, 2004.

FRANÇA, F. V. Estudo fitoquímico e atividade antioxidante de extrato etanólico de *Genipa americana*. **Revista Mundi Saúde e Biológicas**, v. 2, n. 2, p. 1-12 2017.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de propolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n.1, p.171-178, 2006.

GUPTA, D. UV absorbing properties of some plant derived extracts. **Journal of Chemical and Environmental Sciences**, v. 1, p. 34-36, 2013.

INCA. Câncer de pele representa cerca de 30% dos tumores malignos do País. 2019. Disponível em: <https://www.sbmt.org.br/portal/skin-cancer-responds-to-around-30-of-all-malignant-tumors-in-the-country/>>. Acesso em: 01 mar. 2020.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.61, p.121-124, 1986.

MATOS F. J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3.ed. Fortaleza: Edições UFC; 141p., 2009.

OLIVEIRA, R. G. J; ALMEIDA, J. R. G. S. Prospecção tecnológica de fotoprotetores derivados de produtos naturais. **Revista GEINTEC**, v. 3, n.1, p.32-40, 2012.

PINHEIRO, H.S.; GIACOMIN, L.L.; REIS, I.M.S.; BARATTO, L.C. Avaliação do desenvolvimento e da produção de flavonoides de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. (Crassulaceae) em diferentes condições de luz e nutrição. **Filos**, v. 10, n. 4, p. 404-416, 2017.

SOUSA, C. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C., COSTA, C. D.; ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

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 Ciências Farmacêutica Básica Aplicada**, v. 34, p. 69-77, 2013

SOUZA, T.M.; SANTOS, L.E.; MOREIRA, R.R.D.; RANGEL, V.L.B.I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 36-38, 2005.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. SIMOES, C.M.O, GUERRA, M.P. *et al.* (Orgs.). 5. Ed. Florianópolis: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 1096 p., 2004.