

# **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PROTEÇÃO SOLAR E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE *Ocimum campechianum* E O SEU FRACIONAMENTO QUÍMICO**

Gabriela Amanne Medeiros RIBEIRO<sup>1</sup>; Cecilia Veronica NUNEZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPq;; <sup>2</sup>Orientadora CPPN/INPA

## **1. Introdução**

O sol é um grande aliado à saúde humana e é também extremamente necessário à vida, pois participa de diversos processos biológicos como, por exemplo, a estimulação da conversão e síntese da vitamina D. Porém, dependendo do tempo e das circunstâncias de exposição a ele, pode vir a tornar-se prejudicial. Com a destruição significativa da camada estratosférica de ozônio nos últimos anos, os níveis de radiação ultravioleta (UV) que chegam a Terra sofreram um aumento significativo (Gruijil, 1999; Popim, et al, 2008), aumentando também a preocupação com a saúde da pele e a prevenção do seu envelhecimento precoce, visto que as complicações causadas pelo excesso de exposição solar são muitas e potencialmente carcinogênicas (Ferrari, 2002). A partir da necessidade de promover fotoproteção, surgiram os protetores solares, que protegem a pele da radiação emitida pelo sol, particularmente nos comprimentos de onda na faixa ultravioleta, compreendendo UVA, UVB e UVC, que causam maiores danos à pele. Desde a criação dos filtros solares, a indústria cosmética investe no seu aprimoramento, buscando substâncias mais potentes e dando preferência, sempre que possível, aos derivados vegetais (Rodrigues, 2001; Pietro, et al, 2006). A atividade dos anti-radicais livres em inibir as espécies radicalares de oxigênio e a proteção solar são sinérgicos, potencializando seus efeitos, promovendo eficaz proteção da pele e prevenindo alterações malignas à pele e doenças cutâneas. Na busca por novas substâncias bioativas com atividade antioxidante e de proteção solar, desenvolveu-se o presente estudo da capacidade antioxidante e de proteção solar utilizando a espécie *Ocimum campechianum* Mill, tem como nome popular “alfavaca”, pertencente à família Lamiaceae, a qual consiste em aproximadamente 3500 espécies e 220 gêneros, de distribuição cosmopolita (Lorenzi e Matos, 2002; Harley, 2006). Visou-se o desenvolvimento do fracionamento químico, utilizando o extrato metanólico das partes aéreas da planta objetivando encontrar substâncias bioativas quanto às atividades almeçadas no trabalho e contribuir para a sua caracterização fitoquímica.

## **2. Materiais e Métodos**

### **Material vegetal**

A espécie *O. campechianum* foi coletada em 2007 na Volta Grande do Xingu, próximo a Altamira (PA). A espécie foi identificada pela MSc. e doutoranda Daiane Martins e sua exsicata foi depositada no Herbário da Coordenação de Pesquisas em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, sendo seu número 238217.

### **Preparo dos extratos**

O material vegetal (partes aéreas) da *O. campechianum* foi seco à temperatura ambiente, moído e extraído com diclorometano (DCM), metanol (MeOH) e água (H<sub>2</sub>O), em banho de ultrassom por 20 minutos, para cada extração, realizada em triplicata. Após filtração, os extratos foram concentrados utilizando-se evaporador rotatório sob pressão reduzida.

### **Análise da atividade antioxidante utilizando DPPH**

Os extratos diclorometânico, metanólico e aquoso obtidos foram testados quanto à capacidade de descolorir o DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila), visto que o mesmo apresenta coloração violeta, e os resultados obtidos foram comparados em termos de equivalência com ácido ascórbico, utilizado como antioxidante padrão. O DPPH é um radical livre com

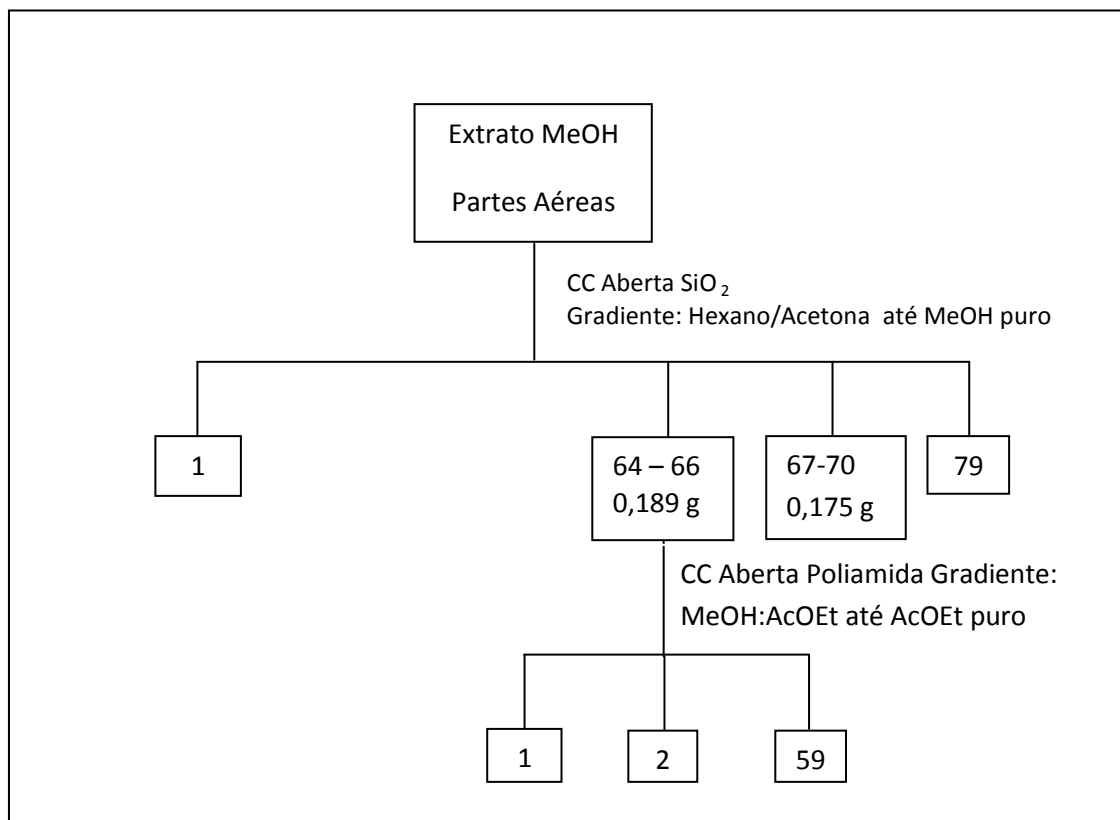
considerável estabilidade usado na quantificação da capacidade antioxidante em plasma sanguíneo e em extratos vegetais (Molyneux, 2004). Na presença de um redutor, o DPPH de coloração violeta ( $\Delta_{\text{max}} = 517 \text{ nm}$ ) é convertido a DPPH de coloração amarelo pálido. Para o teste quantitativo, aproximadamente 5,0 mg de cada extrato foi solubilizado em 10 mL de metanol ou do solvente em que foi extraído, grau P.A, obtendo a concentração de 0,5 mg/mL. A quantificação foi realizada através da leitura da absorbância em espectrofotômetro (FEMTO). A solução de DPPH foi preparada dissolvendo 3,0 mg do reagente em 100 mL de MeOH grau P.A., resultando numa concentração de 30  $\mu\text{g/mL}$ . A reação foi iniciada pela adição de 990  $\mu\text{L}$  desta solução e 10  $\mu\text{L}$  de amostra (0,5 mg/mL), realizado em triplicata com leituras após 30 minutos. O preparo do branco consiste em adicionar 10  $\mu\text{L}$  de MeOH com 990  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH ( $\Delta_{\text{ABS}}$  branco).

#### **Análise da atividade de proteção solar**

Após a análise antioxidante dos extratos de *O. campechianum*, observou-se que o metanólico apresentou melhor atividade, sendo este submetido a uma varredura qualitativa em espectrofotômetro a fim de avaliar o potencial de bloqueio da radiação UVA, UVB e UVC, cujos comprimentos de onda compreendem a faixa de 200 a 400 nm, com intervalo de 5 nm (Lonni, 2008). Após o fracionamento do extrato metanólico (descrito abaixo), observou-se que a fração 2.2 apresentava atividade antioxidante analisada qualitativamente quando borrifado DPPH sobre a cromatofolha. Desta forma, submeteu-se também à varredura em espectrofotômetro, a fim de avaliar o seu potencial de bloqueio da faixa de radiação UV.

#### **Fracionamento cromatográfico**

O extrato metanólico das partes aéreas de *O. campechianum* foi submetido à análise cromatográfica em Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC), sendo efetuadas em cromatofolhas de sílica (Merck) utilizando métodos químicos revelada com  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ , DPPH•,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$  e anisaldeído e método físico: UV 254 nm e 365 nm para observar o perfil fitoquímico do extrato em diversos sistemas de eluição para simular o seu comportamento em uma coluna. Foi realizada uma coluna cromatográfica do extrato metanólico das partes aéreas (1 g), utilizando como fase estacionária, sílica gel (230-400 Mesh, Merck) e como fase móvel, mistura de eluentes de polaridade crescente sendo Hex:Acetona 9:1 até Acetona 100% e posteriormente Acetona/MeOH 1:1 e MeOH 100% resultando em 79 frações de 30 mL. Realizou-se análise cromatográfica em CCDC das frações obtidas, visando principalmente a busca por substâncias com atividade antioxidante, reuniram-se as frações semelhantes 64-66 e 67-70, ambas apresentaram atividade antioxidante positiva. Realizou-se uma segunda coluna, desta vez em fase reversa devido a alta polaridade observada na fração, utilizando a fração 64-66 (0,175 g), em fase estacionária de poliamida, utilizando mistura de eluentes de polaridade decrescente, MeOH:AcOEt 9:1 até AcOEt 100%, obteve-se 51 frações de 30 mL cada. As frações foram analisadas em CCDC e observou-se atividade antioxidante da fração número 2.2 quando revelada com DPPH, a qual apresentava alta polaridade e maior massa (156 mg), sendo esta analisada quanto a sua capacidade de bloqueio da radiação UV.



**Fluxograma** - fracionamento do extrato das partes aéreas de *O. campechianum*

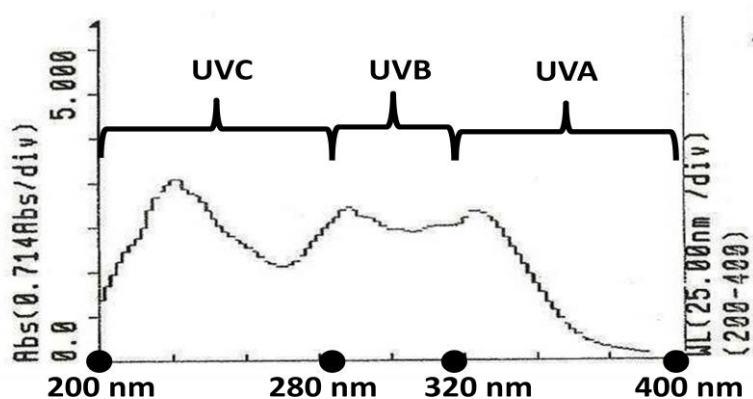
### 3. Resultados e discussão

Quanto à atividade antioxidante, os extratos metanólico e aquoso das partes aéreas de *O. campechianum* mostraram-se mais ativos, pois as suas equivalências com ácido ascórbico são próximas a 1. O extrato diclorometânico apresentou baixa atividade antioxidante, como mostrado na tabela 1.

**Tabela 1** - Valores de equivalência com ácido ascórbico para os extratos obtidos das partes aéreas de *O. campechianum*.

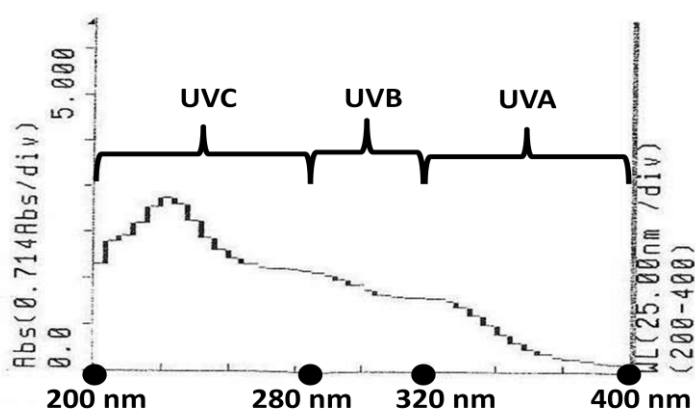
Extrato	Equivalência com ácido ascórbico
Diclorometânico	7,845
Metanólico	1,138
Aquoso	2,272

Tendo em vista o melhor resultado do extrato metanólico quanto ao seu poder antioxidante, submeteu-se à varredura em espectrofotômetro na faixa de comprimento de onda UV, para observar o bloqueio da radiação nesta faixa; desta forma, considerou-se positivo para atividade de proteção solar, pois de acordo com o espectro obtido (figura 1) podem-se observar bandas de absorção na região do UV, a qual compreende a faixa de 200 a 400 nm.



**Figura 1** - Espectro de UV do extrato metanólico das partes aéreas de *Ocimum campechianum*.

Após o fracionamento do extrato metanólico de *O. campechianum*, observou-se que a fração 2.2 apresentava atividade antioxidante, sendo também avaliada quanto o seu poder de bloquear a radiação da faixa de comprimento de onda UV, apresentando-se positiva, pois também pode-se observar picos de absorção nesta faixa de comprimento de onda (200-400 nm) como pode-se observar na figura 2.



**Figura 2** - Espectro de UV da fração 2.2 obtida da segunda coluna do extrato metanólico das partes aéreas de *Ocimum campechianum*.

A análise das frações em CCDC revelando com diversos reveladores químicos e físicos possibilitou detectar a possível presença de flavonóides, ao revelar cor amarela quando borrifada com anisaldeído e quando borrifada com  $\text{AlCl}_3$ , submetendo ao comprimento de onda 365 nm, observando a intensificação da cor amarela; também observaram-se indicativos de compostos aromáticos quando reveladas com  $\text{FeCl}_3$  e duplas ligações quando reveladas com iodo ressublimado; observaram-se também indicativos de possíveis terpenos quando reveladas com anisaldeído, apresentando manchas de cor violácea ou lilás e cor roxa quando reveladas com  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ .

#### 4. Conclusão

A realização do estudo permitiu caracterizar fitoquimicamente o extrato metanólico de *O. campechianum*, assim como a sua avaliação positiva quanto à atividade antioxidante e de proteção solar e o fracionamento químico objetivados para a execução do trabalho. O fracionamento cromatográfico escolhido foi satisfatório, pois foi obtida uma fração apresentando comportamento semelhante ao extrato, indicando que a atividade não foi perdida. Porém ainda não foi possível isolar a(s) substância(s) responsável(is) pela proteção solar e/ou atividade antioxidante. Os resultados obtidos indicam que o fracionamento deve ser continuado, visando a contribuição científica quanto às atividades realizadas e o potencial cosmético.

## 5. Referências

- Ferrari, M. 2002. Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etila e óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). Tese (doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. 118 p.
- Gruijil, F.R. 1999. Skin cancer and solar UV radiation. *European Journal of Cancer*, 35(14): 2003-2009.
- Harley, R. M. 2006. The Labiatae of Bahia: a preliminary check-list. *Sitientibus*, 15:11-21.
- Lonni, A. A. S. G.; Duarte, J. C.; Oliveira, F. O.; Melquiades, F. L.; Ferreira, D. D. D.; Appoloni, C.R. 2008. Fluorescência de raios X por dispersão de energia aplicada no controle de qualidade de protetor solar. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27 (5): 661-667.
- Lorenzi, H., Matos, F. J. A. 2002. Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 512 p.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.
- Pietro, R. C. L. R.; Salvagnini, L. E.; Migliato, K. F.; Rangel, V. L. B. I.; Correa, M. A.; Marona, H. R. N. 2006. Efficacy evaluation of preservatives associated to *Achillea millefolium* extract against *B. subtilis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(1).
- Popim, R. C.; Corrente, J.E.; Marino, J. A. G.; Souza, C. A. 2008. Câncer de pele: uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Botucatu. *Revista Ciência & Saúde Coletiva*, 13(4).
- Rodrigues, R. M. 2001. Cosméticos verdes: uma tendência mundial. *Revista Racine*, 65: 28-30.