



CARACTERIZAÇÕES QUÍMICAS E ESTUDOS DAS PROPRIEDADES FOTOPROTETORAS E ANTIOXIDANTES DE METABOLITOS SECUNDÁRIOS DA EOUISETUM ARVENSE L.

Maria Stela Vilas Boas (PG)1*; Sofia N. Resende (IC)1; Andrea M. do Nascimento (PQ)1; Ângela L. Andrade (PQ)1; Viviane M. R. dos Santos (PQ)1

¹ Universidade Federal de Ouro Preto, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas – ICEB, Departamento de Química maria.boas@aluno.ufop.edu.br

RESUMO

Este trabalho investigou os metabólitos secundários de Equisetum arvense L. (cavalinha), com ênfase em suas propriedades fotoprotetoras e antioxidantes. Foram obtidos extratos utilizando os solventes hexano, diclorometano e soluções hidroalcoólicas a 70% e 95%, por maceração direta. A triagem fitoquímica indicou a presenca de fenóis, flavonoides, saponinas e terpenoides, especialmente nos extratos hidroalcoólicos. O extrato hidroalcoólico a 70% apresentou os melhores resultados de fator de proteção solar (FPS), atingindo valores superiores a 6, de acordo com os critérios da Anvisa. A quantificação revelou teores de 28,88 mg EQ/g de flavonoides e 7,14 mg EAG/g de fenóis. Esses resultados demonstram o potencial da cavalinha como fonte de compostos bioativos com aplicação em fotoproteção.

Palavras-chave: plantas medicinais, fotoproteção, cavalinha, flavonoides.

Introdução

Desde os primórdios da humanidade, a natureza tem sido uma aliada essencial para a sobrevivência humana com o uso de plantas medicinais e a utilização de extratos vegetais de plantas medicinais tem ganhado destaque nas últimas décadas, com aproveitamentos terapêuticos e farmacológicos¹.

Dentre as plantas medicinais, Equisetum arvense L., popularmente conhecida como cavalinha, ganha destaque devido sua composição química complexa com diversos metabolitos de interesse farmacológico. Entre esses metabolitos, os flavonoides são responsáveis por atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e fotoprotetoras².

Apesar da larga utilização da cavalinha, principalmente para fins diuréticos, ainda são limitados estudos que discutam o potencial de fotoproteção dessa planta, por isto, se faz importante a avaliação dos princípios ativos que são extraídos da planta, uma vez que são responsáveis pela proteção da pele, auxiliando na diminuição do risco de queimaduras e no risco carcinoma de células.

A radiação UV é absorvida por uma séria de cromóforos presentes na pele e podem acarretar reações fotoquímicas. Na utilização de filtros solares orgânicos, a ação fotoprotetora está relacionada a estrutura química das moléculas, capazes de absorver a radiação UV.

Experimental

Preparo do extrato

Para o preparo dos extratos, foram pesados 30 gramas do material vegetal e transferidos para um erlenmeyer, em seguida foram adicionados cerca de 700 mL dos solventes extratores, sendo um volume suficiente para estar em contato com todo material vegetal. Os solventes utilizados foram: hexano, diclorometano, etanol 70% e etanol 95%. As extrações foram conduzidas por maceração direta e após 7 dias em repouso, os extratos foram submetidos a filtração

simples e posteriormente, os solventes foram evaporados, com auxílio do rotavapor.

Triagem fitoquímica

Os extratos obtidos foram submetidos a uma triagem qualitativa para observar a presença ou não de determinados grupos de metabolitos secundários. Foram avaliadas as presenças de flavonoides, fenóis, saponinas e terpenoides.

Cerca de 10 mg de extrato foram usados para os testes. Para flavonoides essa massa foi dissolvida em 2 mL de hidróxido de sódio 2%, a coloração amarela indica resultado positivo. Para fenóis, 2 mL de água e 3 gotas de cloreto férrico 2% foram utilizados, a cor verde acastanhada ou preto azulada indica positivo para o teste. Já para saponinas, adicionou-se 3 mL de água e agitou, a espuma persistente indica resultado positivo. E para o teste de terpenoides, 2 mL de clorofórmio e 3 gotas de ácido sulfúrico foram utilizados, uma coloração marrom avermelhada indica a presença deste grupo.

Avaliação do FPS

Baseia-se na análise das absorbâncias das amostras na região do espectro UV-B (290 a 320 nm), conforme método de Mansur⁴. Para isso foram pipetados volumes determinados da solução estoque e o volume foi aferido com o mesmo solvente extrator de cada extrato. Foram testadas diferentes concentrações dos extratos (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/mL). E através da equação 1, o FPS dos extratos foram calculados. FC é o fator de correção (10); ΕΕ(λ) é a eficácia eritematosa da radiação no comprimento de onda λ, I(λ) é a intensidade relativa da radiação solar no comprimento de onda λ e Abs(λ) é a absorbância da amostra no comprimento de onda λ .



$$FPS = FC * \sum_{320}^{290} * EE (\lambda) * I (\lambda) * Abs (\lambda)$$

Equação 1

Determinação de fenóis e flavonoides

A determinação dos fenóis totais foi realizada com o reagente de Folin-Ciocalteu⁵, utilizando ácido gálico como padrão. Foram preparadas soluções padrão (2 a 20 μg/mL) a partir de uma solução mãe de 1 mg/mL. Para cada ponto da curva, adicionaram-se 1,2 mL de água destilada, 0,2 mL de Folin-Ciocalteu e, após agitação, 0,8 mL de solução de carbonato de sódio a 20% (m/v), seguida de nova agitação e adição de 0,2 mL de água destilada. A amostra foi preparada a partir de 10 mg do extrato etanólico diluídos em 50 mL de etanol, e 1,6 mL dessa solução foi submetida ao mesmo tratamento. Após incubação das amostras no escuro por 2 horas, as leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis na faixa de 600 a 850 nm. O teor de fenóis totais foi expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato seco (mg EAG/g).

A quantificação dos flavonoides totais foi realizada por meio do método colorimétrico com cloreto de alumínio, utilizando quercetina como padrão. Foram preparadas soluções padrão em diferentes concentrações para construção da curva de calibração, e o extrato etanólico da planta foi diluído em etanol para análise. Após adição de 1,5 mL do extrato e 1,5 mL de cloreto de alumínio, as amostras foram incubadas no escuro por 10 minutos e a absorbância foi medida na faixa de 300 a 500 nm em espectrofotômetro UV-Vis. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de quercetina por grama de extrato seco (mg EQE/g).

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do extrato etanólico de *Equisetum arvense* foi avaliada pelo método de sequestro de radicais DPPH.

No ensaio com DPPH, o extrato foi diluído em etanol para preparar uma solução estoque, da qual foram obtidas concentrações variadas. A cada alíquota da amostra, adicionou-se 1,25 mL de solução de DPPH a 0,008% (p/v) em etanol, completando-se o volume para 3 mL com etanol. As misturas foram agitadas e mantidas em repouso no escuro por 30 minutos. O controle negativo continha apenas a solução de DPPH e etanol. A absorbância foi medida a 517 nm, sendo a porcentagem de inibição calculada conforme a equação 2.

inibição =
$$\frac{Abs_{controle} - Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \times 100 \%$$
 Equação 2

O valor de CE₅₀ foi determinado a partir da curva de inibição, e o índice de atividade antioxidante (IAA) foi calculado dividindo-se a concentração de DPPH pelo valor de CE₅₀.

$$IAA = \frac{concentração\ final\ DPPH\ (\frac{\mu g}{mL})}{IC_{50}(\frac{\mu g}{mL})}$$
 Equação 3

Resultados e Discussão

De acordo com a Tabela 1, os extratos etanólicos evidenciaram maior presença de compostos fenólicos e flavonoides/taninos, que, provavelmente, são os responsáveis pela absorção na radiação UV.

Tabela 1 - Triagem fitoquímica dos extratos em diferentes solventes.

	Hexano	Diclorometano	Etanol 70%	Etanol 95%
Flavonoides	-	-	+	+
Fenois	-	-	+	+
Saponinas	+	+	+	+
Terpenoides	+	+	+	+

Com o aumento das concentrações dos extratos, observou-se que os valores de FPS aumentaram para estudo de fotoproteção, de acordo com a Tabela 2. Segundo a Anvisa, uma formulação cosmética é considerada fotoprotetora quando possui um Fator de Proteção Solar (FPS) igual ou superior a 6.

Tabela 2 - FPS dos extratos em diferentes concentrações.

Conc.	Hexano	Diclorometano	Etanol 70%	Etanol 95%
100	$0,57 \pm 0,01$	$2,68 \pm 0,01$	$3,585 \pm 0,007$	$4,59 \pm 0,01$
200	$1,23 \pm 0,00$	$3,57 \pm 0,01$	$7,162 \pm 0,005$	$5,75 \pm 0,00$
300	$2,22 \pm 0,00$	$4,27 \pm 0,01$	$10,94 \pm 0,03$	$8,06 \pm 0,03$
400	$2,92 \pm 0,00$	$7,07 \pm 0,02$	$14,18 \pm 0,03$	$11,62 \pm 0,07$
500	$3,91 \pm 0,00$	$9,46 \pm 0,01$	$18,39 \pm 0,09$	$14,26 \pm 0,08$

Na quantificação de fenóis e flavonoides, o extrato com maior atividade fotoprotetora, foi o extrato etanólico 70% que apresentou concentrações de 28,88 mg EQ/g da planta para flavonoides e 7,14 mg EAG/g da planta para fenóis.

O resultado da atividade antioxidante, mostrara-se promissor em relação à quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial. Quanto mais DPPH uma amostra consumir, menor será o valor da IC50 e maior será a sua atividade antioxidante.

Tabela 3 - Atividade antioxidante do extrato etanólico 70% pelo método DPPH•.

Extrato	IC ₅₀ (μg/mL)	
Etanol 70 %	7,889433	

Conclusões

Foi possível avaliar e determinar a atividade fotoprotetora dos extratos, que apresentou melhores resultados no extrato etanólico 70%. A presença de compostos fenólicos foi confirmada pela triagem fitoquímica e pela quantificação de flavonoides e fenóis totais, em maiores quantidades nos extratos etanólico.

Agradecimentos

As autoras agradecem o apoio da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Referências

- 1. BRASIL. Ministério da Saúde. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- 2. CARNEIRO, D. M. et al. Antihypertensive effect of *Equisetum arvense* L.: a double-blind, randomized efficacy and safety clinical trial. *Phytomedicine*, v. 2022.
- 3. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta Pública nº 159, de 08 de abril de 2016.
- 4. MANSUR, J. S.; BREDER, M. V. 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.
- 5. BONOLI, M. et al. Antioxidant phenols in barley (Hordeum vulgare L.) flour. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 52, n. 16, p. 5195-5200, 2004.