

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**DÉBORA MACHADO DE LIMA**

**ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DA ESPÉCIE *Lafoensia replicata* Pohl E  
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA COMO CONSERVANTES EM COSMÉTICOS**

**UBERLÂNDIA**

**2023**

DÉBORA MACHADO DE LIMA

**ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E  
ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DA ESPÉCIE *Lafoensia replicata* Pohl E  
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA COMO CONSERVANTES EM COSMÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica – Produtos Naturais

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Maria Ferreira Sousa

UBERLÂNDIA

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L732 Lima, Débora Machado de, 1992-  
2023 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES  
ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DA ESPÉCIE  
Lafoensia replicata Pohl E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA COMO  
CONSERVANTES EM COSMÉTICOS [recurso eletrônico] / Débora  
Machado de Lima. - 2023.

Orientadora: Raquel Maria Ferreira de Sousa.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.105>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Sousa, Raquel Maria Ferreira de ,1981-,  
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-  
graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**ATA**

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 357, PPGQUI				
Data:	Dois de fevereiro de dois mil e vinte e três	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:00
Matrícula do Discente:	12112QMI005				
Nome do Discente:	Débora Machado de Lima				
Título do Trabalho:	"Avaliação da composição química e atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos da espécie <i>Lafoensia replicata</i> Pohl e seu possível uso como conservantes em cosméticos"				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento de métodos de análises de metabólitos secundários de plantas medicinais				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Google Meet, link <https://meet.google.com/tko-jhrg-vea>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Luís Carlos Scalon Cunha, do Instituto Federal do Triângulo Mineiro; Vanessa Gisele Pasqualotto Severino, da Universidade Federal de Goiás; e Raquel Maria Ferreira de Sousa, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Raquel Maria Ferreira de Sousa, apresentou a Comissão Examinadora a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e de resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Maria Ferreira de Sousa, Professor(a) do Magistério Superior**, em 02/02/2023, às 16:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Gisele Pasqualotto Severino, Usuário Externo**, em 02/02/2023, às 16:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luís Carlos Scalon Cunha, Usuário Externo**, em 02/02/2023, às 16:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4148921** e o código CRC **401FCFE6**.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço...

Aos meus pais, Laurinda e Gerson, e meu irmão, Éderson, pelo apoio incondicional e por nunca medirem esforços para me ver bem, feliz e realizada.

Ao Breno, por sempre apoiar minhas decisões, pelo amor, incentivo e principalmente, paciência.

À minha orientadora, Dra. Raquel M. F. de Sousa, por ter abraçado minha ideia, por ensinar com tanto cuidado, pela dedicação, profissionalismo, paciência e amizade.

Aos colegas do laboratório NuPPeN, por deixarem a rotina mais leve e fácil. Em especial aos amigos, Tiara e Diego, por todos os ensinamentos, trocas e parceria. Sem vocês essa jornada teria sido muito mais difícil.

Aos amigos que a Pós-Graduação da UFU me deu, “Centopeia”, por me mostrarem que ainda existem pessoas boas no mundo. Eu não teria conseguido sem vocês. Que sorte a minha ter encontrado esse grupo para poder dividir muito mais que a vida acadêmica.

Aos amigos de fora da UFU, que são muitos (obrigada Universo) e é melhor eu não citar, por sempre me lembrarem que existe vida fora do mestrado. Sem vocês, com certeza, o surto viria.

Às amigas Jéssica e Mayara, que durante todo período de pandemia, estiveram e se mostraram presentes, diminuindo a carga de tudo que aconteceu nestes últimos dois anos. Ter duas pessoas que me entendem como vocês é um privilégio.

Ao Muller, simplesmente por ser o Muller.

Aos tios, tias, avós, primos e companhia, por sempre perguntarem: “como está o mestrado?”, só para mostrar o apoio e torcida.

Ao professor Dr. Carlos Henrique Gomes Martins e à aluna Anna Livia Oliveira Santos do Laboratório de Ensaio Antimicrobianos, da UFU, pelos testes biológicos.

Ao Instituto de Química da UFU, o Programa de Pós-Graduação em Química e à UFU pelo espaço cedido para a realização deste projeto.

À CAPES pela bolsa concedida ao longo do mestrado.

À FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro concedido.

*“Eu posso não ter ido para onde eu pretendia ir, mas eu acho que acabei terminando onde eu deveria estar.”*

*(Douglas Adams)*

## RESUMO

O mercado dos cosméticos está em constante crescimento e uma das grandes preocupações das indústrias é prolongar a vida útil dos produtos. Para isso, os conservantes são importantes nas formulações, uma vez que evitam a oxidação e inibem o crescimento de microrganismos. Uma classe de conservantes utilizada é a dos parabenos, porém, pelo fato das tendências pró-ecológicas e a busca por um estilo de vida saudável, vem crescendo a busca por produtos que não possuam este tipo de conservante sintético. Neste sentido, os produtos naturais (PN) se tornam uma alternativa. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos das folhas, cascas e galhos de *Lafoensia replicata* Pohl, preparados por maceração, bem como identificar seus constituintes químicos. Para além, foram avaliados os mesmos parâmetros de um extrato preparado de acordo com metodologias propostas através do conhecimento popular, comercializado como tintura. Os extratos etanólicos e tintura apresentaram elevada atividade antimicrobiana para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas* e para o fungo *Candida albicans* (concentração inibitória mínima – CIM < 100 µg mL<sup>-1</sup>). Esses mesmos extratos apresentaram teores de fenóis elevados, fato que justifica a elevada atividade antioxidante (CE<sub>50</sub> < 50 µg mL<sup>-1</sup> pelo método do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila – DPPH; e valores acima de 380 equivalente de Trolox em µmol g<sup>-1</sup> de amostra pelo método da capacidade de redução do ferro – FRAP). A partir dos resultados obtidos, foram formulados cremes corporais utilizando-se estes extratos, a fim de comparar sua eficácia como conservante em relação ao metilparabeno, um dos conservantes mais utilizados nas indústrias de cosméticos. Como resultado, verificou-se que a inibição do crescimento microbiano pelos extratos foi comparável à inibição promovida pelo conservante sintético. Por meio da espectrometria de massas (EM) foi possível identificar os compostos presentes nos extratos etanólicos, sendo as principais classes de metabólitos as dos flavonoides, taninos e ácidos fenólicos, como ácido elágico, ácido gálico, punicalagina, pedunculagina, punicalina e HHDP (hexaidroxidifenol) glicose, os quais podem ser responsáveis pelas atividades apresentadas. Estes resultados demonstram que os extratos de *L. replicata* são promissores como fontes de compostos bioativos e que estudos relacionados à sua utilização como conservantes na produção de cosméticos são promissores, além da contribuição para a quimiosistemática do gênero.

**PALAVRAS-CHAVE:** espectrometria de massas, tintura, atividades biológicas, teste de desafio, DPPH, FRAP.

## ABSTRACT

The cosmetics market is constantly rising and one of its biggest objectives is to improve the lifespan of its products. To achieve this, chemical preservatives are used to avoid oxidation and inhibit the growth of microorganisms. Due to a tendency of a pro-ecological and healthy lifestyle, there is a growing search for a chemical preservative that serves as an alternative for the class of synthetic ones that is widely used in the industry (called parabens). In this way, natural products (NP), can serve as such an alternative. Given this context, this article's objective was to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities for the extracts of the leaves, barks and branches of *Lafoensia replicata* Pohl, produced by maceration, as well as identify its components. In addition, the same parameters were evaluated in contrast with an extract prepared following methodologies defined by popular knowledge, commonly sold as dye. The ethanolic extracts and dyes showed high antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*s and against the fungus *Candida albicans* (minimum inhibitory concentration – MIC < 100 µg mL<sup>-1</sup>). Such extracts showed high content of phenols, which explains the high antioxidant activity (EC<sub>50</sub> < 50 µg mL<sup>-1</sup> by the method of the sequestration of the radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl – DPPH – and values over 380 equivalents of Trolox in µmol g<sup>-1</sup> of sample by the method of iron reduction capacity – FRAP). Given the results, body creams were produced using the plant extracts with the objective of measuring its preservative efficacy when compared against methylparaben, one of the chemical preservatives most used in the cosmetic industry. As a result, the antimicrobial activity of the extracts was comparable to that observed with the synthetic preservative. Through mass spectrometry (MS), was identified the chemical compounds present on the ethanolic extract. The main metabolite classes identified were flavonoids, tanines and phenolic acids, such as ellagic acid, gallic acid, punicalagin, pedunculagin, punicalin and HHDP glucose, which may be responsible for the observed activity. The results show that the extracts of *L. replicata* are a potentially good source of bioactives and that further study of their utility as chemical preservatives looks promising, as well as the contribution for the chemosystematics of the genus.

**KEYWORDS:** Mass spectrometry, dye, biological activities, challenge test, DPPH, FRAP.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Estruturas químicas de alguns parabenos	15
Figura 2:	Origem dos fármacos aprovados pela FDA de 1981 a 2019	15
Figura 3:	Pintura do túmulo de Nakht no antigo Egito, representando três mulheres em um banquete	18
Figura 4:	Desenho representativo da Cleópatra	19
Figura 5:	Taxa de crescimento anual do mercado global de cosméticos de 2004 a 2021	21
Figura 6:	Estruturas moleculares do BHA e BHT	27
Figura 7:	Etapas do processo de oxidação de lipídeos	28
Figura 8:	Mecanismo da reação entre radicais livres e antioxidantes fenólicos	29
Figura 9:	Estruturas moleculares de substâncias encontradas nos extratos de plantas usadas em produtos de HPPC	34
Figura 10:	Estruturas moleculares de tocoferóis e tecotrienóis	34
Figura 11:	Estruturas moleculares dos intermediários responsáveis pela formação dos metabólitos especializados	36
Figura 12:	Estruturas de taninos condensados e hidrolisáveis	38
Figura 13:	Fluxograma simplificado das rotas metabólicas.	39
Figura 14:	Estruturas dos compostos isolados das plantas do gênero <i>Lafoensia</i>	42
Figura 15:	Fotografias das espécies a) <i>Lafoensia pacari</i> b) <i>Lafoensia replicata</i>	43
Figura 16:	Esquema do preparo do material vegetal	46
Figura 17:	Esquema das formulações em base creme comercial manipuladas nesse estudo	54
Figura 18:	Reação do ácido gálico com molibdênio	59
Figura 19:	Mecanismos da reação entre compostos fenólicos e o radical DPPH	61
Figura 20:	Reação de redução do complexo TPTZ com $Fe^{3+}$ a $Fe^{2+}$ pela adição de um antioxidante	63
Figura 21:	Estrutura dos compostos identificados (Tabela 16: 1-13, 15-18) nos extratos etanólicos e tintura da <i>L. replicata</i>	76
Figura 22:	Estrutura dos compostos identificados (Tabela 16: 14, 19-32) nos extratos etanólicos e tintura da <i>L. replicata</i>	77
Figura 23:	Estrutura molecular da punicalagina	78

Figura 24:	Espectro de massas da punicalagina ( $m/z$ 1083,0578 [M - H] <sup>-</sup> ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM	79
Figura 25:	Proposta de fragmentação para a punicalagina	80
Figura 26:	Espectro de massas do HHDP-glicose ( $m/z$ 481,0635 [M - H] <sup>-</sup> ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM	81
Figura 27:	Proposta de fragmentação para HHDP-glicose	81
Figura 28:	Espectro de massas do ácido gálico ( $m/z$ 169,0139 [M - H] <sup>-</sup> ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM	82
Figura 29:	Proposta de fragmentação para o ácido gálico	82
Figura 30:	Espectro de massas do ácido flavogalônico ( $m/z$ 469,0051 [M - H] <sup>-</sup> ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM	83
Figura 31:	Proposta de fragmentação para o ácido flavogalônico	84
Figura 32:	Espectro de massas do canferol hexosídeo ( $m/z$ 447,0934 [M - H] <sup>-</sup> ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM	85
Figura 33:	Proposta de fragmentação para o canferol hexosídeo	86
Figura 34:	Espectro de massas do quercetina dihexosídeo ( $m/z$ 625,1412 [M - H] <sup>-</sup> ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM	86
Figura 35:	Proposta de fragmentação para a quercetina dihexosídeo	87
Figura 36:	Diagrama de Venn das propostas de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de <i>L. replicata</i>	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Parâmetros para controle microbiológico dos produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos	24
Tabela 2:	Exemplos de conservantes e suas estruturas moleculares, concentrações máximas e limitações permitidos pela ANVISA	25
Tabela 3:	Exemplos de empresas que utilizam plantas em suas formulações	30
Tabela 4:	Compostos isolados de plantas do gênero <i>Lafoensia</i>	41
Tabela 5:	Quantidade de material vegetal e solvente utilizada nas extrações	47
Tabela 6:	Quantidade de material vegetal e solvente utilizada no preparo da tintura	47
Tabela 7:	Rendimentos obtidos dos EH, EE e tintura seca, das folhas, cascas e galhos da <i>L. replicata</i>	56
Tabela 8:	Prospecção fitoquímica dos extratos hexânicos e etanólicos de folhas, cascas e galhos da planta <i>Lafoensia replicata</i> e da tintura	57
Tabela 9:	Teor de fenóis totais dos extratos hexânicos e etanólicos de folhas, cascas e galhos da planta <i>Lafoensia replicata</i> e da tintura.	58
Tabela 10:	Teor de fenóis totais para extratos de espécies da família Lythraceae	59
Tabela 11:	Relação entre os valores de CE <sub>50</sub> e a intensidade de atividade antioxidante	61
Tabela 12:	Valores de CE <sub>50</sub> da análise da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH dos extratos da planta <i>L. replicata</i>	62
Tabela 13:	Valores de Equivalente de Trolox em µmol/g de amostra da análise da atividade antioxidante pelo método da capacidade da redução do ferro dos extratos da planta <i>L.replicata</i>	64
Tabela 14:	Concentrações inibitórias mínima (CIM) dos extratos da planta <i>L. replicata</i>	65
Tabela 15:	Teste de eficácia do sistema conservante dos cremes com metilparabeno, tintura e extrato etanólico das folhas de <i>Lafoensia replicata</i> , nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias.	68
Tabela 16	Proposta de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de <i>L. replicata</i> .	71

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<i>ATCC</i>	<i>American Type Culture Collection</i>
BHA	butilhidroxianisol
BHT	2,6-di- <i>terc</i> -butil-4-metilfenol
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CEMBIO	Centro de Espectrometria de Massas de Biomoléculas
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazila
EAG	Equivalente ácido gálico
EE	Extrato etanólico
EH	Extrato hexânico
EM	Espectrometria de massas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EROs	Espécies reativas de oxigênio
<i>FRAP</i>	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FT	Fenóis totais
HPPC	Higiene pessoal, perfumes e cosméticos
IES	Ionização por eletrospray
LaPeMA	Laboratório de Pesquisa em Microbiologia Aplicada
<i>LC</i>	<i>Liquid Chromatography</i>
NP	Difenilboriloxietilamina
NUPPeN	Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais
PEG 100	Polietilenoglicol 100
PEG 4000	Polietilenoglicol 4000
PN	Produtos naturais
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
TPTZ	2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina
TROLOX	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carboxílico
UFC	Unidades formadoras de colônia

## SUMÁRIO

<b>1-</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b>	14
<b>2-</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	17
<b>2.1</b>	<b>Cosméticos</b>	17
<b>2.1.1</b>	<i>Atividade antimicrobiana, antioxidante e o uso de conservantes em cosméticos</i>	22
<b>2.1.2</b>	<i>O uso de Produtos Naturais nos cosméticos</i>	29
<b>2.2</b>	<b>Metabolismo especializado (secundário)</b>	35
<b>2.3</b>	<b>Família Lytraceae</b>	39
<b>2.3.1</b>	<i>Gênero Lafoensia</i>	40
<b>2.3.2</b>	<i>Lafoensia replicata Pohl</i>	44
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	45
<b>4</b>	<b>PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS</b>	45
<b>4.1</b>	<b>Instrumentação</b>	45
<b>4.2</b>	<b>Solventes e reagentes</b>	45
<b>4.3</b>	<b>Material vegetal</b>	46
<b>4.3.1</b>	<i>Coleta e preparo</i>	46
<b>4.3.2</b>	<i>Obtenção dos extratos hexânicos e etanólicos</i>	47
<b>4.3.3</b>	<i>Obtenção da tintura (extrato comercial)</i>	47
<b>4.4</b>	<b>Prospecção fitoquímica</b>	48
<b>4.5</b>	<b>Determinação do teor de fenóis totais (FT)</b>	49
<b>4.6</b>	<b>Determinação da atividade antioxidante</b>	49
<b>4.6.1</b>	<i>Método do sequestro do radical DPPH</i>	49
<b>4.6.2</b>	<i>Método da capacidade de redução do Ferro (“Ferric Reducing Antioxidant Power” – FRAP)</i>	50
<b>4.7</b>	<b>Avaliação das atividades antimicrobianas</b>	51
<b>4.7.1</b>	<i>Microrganismos utilizados</i>	51
<b>4.7.2</b>	<i>Determinação da concentração inibitória mínima pelo método da microdiluição</i>	51
<b>4.8</b>	<b>Avaliação da atividade antifúngica</b>	52
<b>4.8.1</b>	<i>Microrganismos utilizados</i>	52
<b>4.8.2</b>	<i>Determinação da concentração inibitória mínima pelo método da microdiluição</i>	52

4.9	Análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE-IES-EM)	53
4.10	Preparação de cremes hidratantes utilizando extrato etanólico das folhas de <i>Lafoensia replicata</i> , tintura e metilparabeno	54
4.11	Teste de eficácia do sistema conservante dos cremes (“Challenge Test”)	54
4.12	Análise estatística	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	55
5.1	Rendimento dos extratos obtidos	55
5.2	Prospecção fitoquímica	56
5.3	Análise do teor de fenóis totais	57
5.4	Atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre (DPPH)	60
5.5	Atividade antioxidante pelo método da capacidade da redução do ferro (FRAP)	63
5.6	Atividade antimicrobiana dos extratos <i>Lafoensia replicata</i>	64
5.7	Análise do teste de eficácia do sistema conservante dos cremes – “Challenge Test”	66
5.8	Identificação dos compostos nos extratos por espectrometria de massas	70
6	CONCLUSÕES	89
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
8	APÊNDICE	104

## 1- INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos (HPPC) são:

“preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unha, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado.” (BRASIL, 2005)

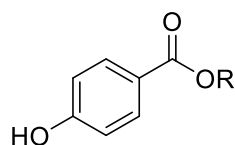
É extremamente comum o uso de cosméticos (pastas de dente, sabonetes, xampus, cremes, etc.) na rotina diária das pessoas para cuidar da higiene pessoal. Tais cuidados são formas de prevenir o contágio de algumas doenças infecciosas, além de serem utilizados para fins estéticos para melhorar a aparência física (NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021).

Em 2020, o mercado global de cosméticos foi de 277,67 bilhões de dólares e apesar do aumento no consumo de cosméticos no mundo nos últimos anos, o mercado registrou uma queda de 8% neste mesmo ano, devido à crise financeira global e a pandemia de COVID-19. Projeta-se que o mercado global de cosméticos chegue a US\$ 415,29 bilhões até 2028, com uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 5,3% (COSMETICS, 2020).

Uma das preocupações das indústrias de cosméticos é prolongar o período de uso dos mesmos, aumentando sua vida útil. Para isso, é comum o uso de conservantes (substâncias que inibem o crescimento de microrganismos e que evitam a oxidação do produto) em suas formulações (NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021).

Dentre os conservantes existentes, um dos mais utilizados é o parabeno (éster do ácido *para*-hidroxibenzoico), que tem sido o tema de vários estudos pelos seus supostos efeitos adversos, tais como sensibilização pelo contato e capacidade de interferir no sistema endócrino. Pelo fato das crescentes tendências pró-ecológicas e a busca por um estilo de vida sustentável, os produtores de cosméticos buscam cada vez mais alternativas para substituir conservantes sintéticos por outros, preferencialmente de origem natural (FRANSWAY et al., 2019); (NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021). Os parabenos são encontrados em diferentes formas e alguns exemplos estão representados na Figura 1.

Figura 1: Estruturas químicas de alguns parabenos.



sendo:

R= CH<sub>3</sub>: metilparabeno

R= CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>: etilparabeno

R= CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>: Propilparabeno

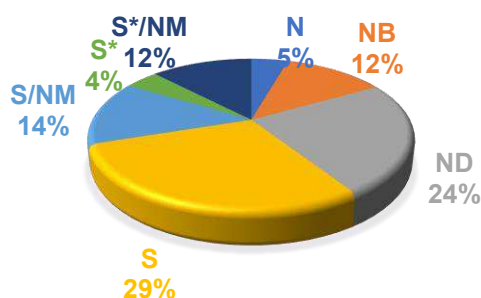
R= CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>: Butilparabeno

Fonte: a autora.

Os produtos naturais são utilizados desde as civilizações mais antigas para fins medicinais e para cuidados com a pele. Os extratos de plantas são utilizados devido à sua capacidade antioxidante (conservante natural), de pigmentação e inibição de atividade microbiana, que também pode ser benéfica para prevenção de várias doenças (FOWLER et al., 2010). Ao longo dos anos, o uso com maiores registros para produtos naturais se dá para fins medicinais.

Newman e Cragg (2020) fizeram a classificação dos fármacos aprovados pelo *FDA* (do inglês *Food and Drug Administration*) entre os anos de 1981 e 2019, considerando as seguintes classes: produto natural sem nenhuma modificação estrutural, mesmo que semi ou totalmente sintético (N), derivado de produto natural, geralmente com modificação sintética (ND), produto natural “botânico” (NB), fármaco produzido de forma sintética, porém com um grupo farmacóforo retirado de um produto natural (S\*), puramente sintético (S), macromoléculas biológicas como proteínas ou peptídeos (B) e vacinas (V), além das subcategorias nomeadas de NM, que são substâncias que imitam produtos naturais, sendo colocadas como S/NM e S\*/NM. Dentro dessa classificação, ao considerar somente moléculas pequenas, (fora as vacinas e macromoléculas biológicas), os fármacos produzidos inspirados em produtos naturais, representam 66,7%, como representado na Figura 2, mostrando a importância da química de PN nos dias atuais (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Figura 2: Origem dos fármacos aprovados pela FDA de 1981 a 2019.



Fonte: adaptado de Newman e Cragg (2020).



Durante estes 38 anos de pesquisa, os fármacos desenvolvidos tiveram maiores indicações para doenças infecciosas, incluindo microbianas, parasitárias e viral, representando 25% do total de fármacos desenvolvidos. Destes 25%, 16% foram desenvolvidos a partir de produtos naturais. Outras doenças, como câncer, diabetes e inflamações tiveram mais de 50 medicamentos derivados de PN aprovados para cada uma (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Tendo em vista essa importância da Química de PN para a descoberta de novos fármacos, fitoterápicos, bem como potenciais utilizações nas indústrias de cosméticos e alimentos, e sabendo que as plantas são fontes promissoras de compostos bioativos, percebe-se a necessidade da continuidade desses estudos e de aprofundar as investigações nos PN.

O uso de antimicrobianos de origem vegetal, capazes de agir no controle de bactérias, atrasando ou impedindo seu crescimento, tem ganhado atenção mundial. Um dos motivos de algumas plantas possuírem capacidade antimicrobiana é o fato de elas produzirem, durante o metabolismo secundário, compostos bioativos para se protegerem de ataques de bactérias, fungos, vírus, insetos e até mesmo de outras plantas concorrentes (ESSAWI; SROUR, 2000, SCHÄFER; WINK, 2009).

Para uma possível atuação como conservante natural, além da atividade antimicrobiana, a substância também precisa ter uma boa capacidade antioxidante.

Os radicais livres no organismo humano correspondem às espécies reativas de oxigênio (EROs) e em baixo nível são importantes para muitos processos bioquímicos (LIMA; BEZERRA, 2012). Quando acontece um desequilíbrio entre a produção de agentes oxidativos e sua degradação, tem-se o estresse oxidativo (SIES, 1991). Este processo possui importante papel no desenvolvimento de doenças crônicas como o envelhecimento, diabetes e câncer. O corpo humano possui alguns mecanismos para reduzir este estresse oxidativo, produzindo antioxidantes naturalmente ou fornecidos através de suplementos e alimentação (PHAM-HUY, LIEN AI; HE, HUA; PHAM-HUY, CHUONG, 2008).

Nos últimos anos, muitos estudos clínicos e laboratoriais identificaram os benefícios de uma variedade de ingredientes naturais para cuidados com a pele (FOWLER et al., 2010). Famílias vegetais como a Rosaceae, Ericaceae, Punicaceae, entre outras, que fornecem frutas como o morango, a amora, entre outras, possuem compostos considerados benéficos por possuírem alta atividade antioxidante. Algumas especiarias e ervas, como tomilho, orégano, lavanda e alecrim, também demonstraram ser fontes promissoras de moléculas antioxidantes naturais (HALVORSEN et al., 2002, EMBUSCADO, 2015, LOURENÇO; MOLDÃO-MARTINS; ALVES, 2019).

O Brasil se destaca em relação a disponibilidade de material vegetal, uma vez que é o país com maior biodiversidade do mundo, abrigando aproximadamente 20% do total de espécies encontradas em terra e água. São mais de 46 mil espécies vegetais conhecidas, espalhadas pelos seis biomas (Amazônia, Cerrado, Caatinga, Pampa, Pantanal e Mata Atlântica) (BIODIVERSIDADE, 2022).

O Cerrado é um dos maiores biomas da América do Sul e ocupa cerca de 23% do território nacional, abrigando 12.829 espécies nativas. Destas, apenas 17% se encontram em seu estado de conservação. Boa parte deste bioma encontra-se sob alguma categoria de ameaça de extinção, devido à destruição ambiental, principalmente voltada ao desenvolvimento de atividades agropecuárias. Ainda assim, este bioma possui um papel social importante, pois muitas populações sobrevivem de seus recursos naturais e possuem um conhecimento tradicional de sua biodiversidade (CERRADO, 2022). Isto representa uma grande perda em termos de biodiversidade e de possíveis compostos bioativos. Por isso, é notória a necessidade da continuidade dos estudos de diversas espécies para evitar que o conhecimento ainda disponível na natureza seja perdido.

Diante deste contexto, o presente trabalho estudou a composição química das folhas, galhos e cascas de *Lafoensia replicata* Pohl, uma planta endêmica do Cerrado, e avaliou as atividades antimicrobiana e antioxidante. Destaca-se que até o momento não foram encontrados estudos em relação à composição química desta planta, bem como de atividade biológica. Somente um estudo farmacológico constatou-se que essa espécie é muito utilizada pela população local do leste do Maranhão para solucionar problemas relacionados ao fígado, inflamações, cicatrização, cura ou alívio de problemas renais, gastrite, pressão alta, dor de cabeça e dor de barriga. Contudo, não há estudo químico-biológico suficiente desta planta para alicerçar os dados etnofarmacológicos apresentados (SOBRINHO; ALMEIDA; MONTEIRO, 2016).

Dessa forma, este trabalho visa contribuir para a valorização de espécies presentes no Cerrado, bem como seu possível potencial biológico.

## **2- REFERENCIAL TEÓRICO**

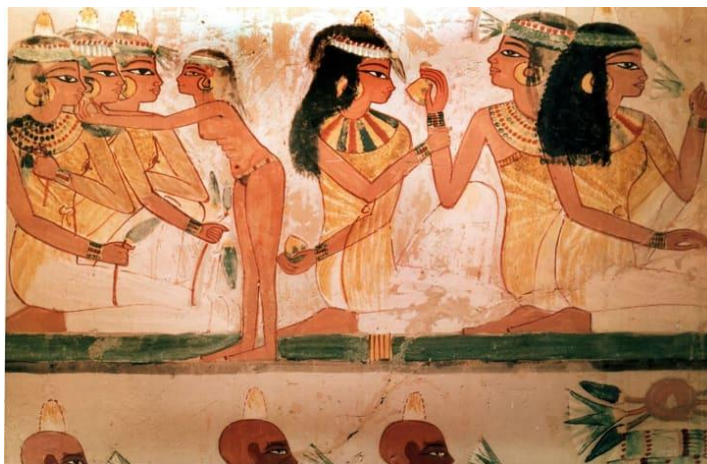
### **2.1 Cosméticos**

A palavra cosmético é derivada do grego *Kosmetikós* que significa “hábil em adornar”, que por sua vez teve sua origem na palavra Kosmos, que está relacionada com algo organizado, harmonioso e em equilíbrio (SARTORI; LOPES; GUARATINI, 2010). Diversos tipos de cosméticos fazem parte da rotina de milhões de pessoas com finalidades distintas, como realizar a higiene pessoal e melhorar a aparência e estética corporal. Os consumidores procuram por

produtos cada vez mais eficazes, o que faz com que as indústrias cosméticas invistam em pesquisas científicas para o desenvolvimento de novos produtos, que além dessas funções, também beneficie a saúde, causando modificações positivas e duráveis na pele, mucosa e couro cabeludo, originando produtos que renovem, restaurem e rejuvenesçam (LUPO, 2001, COSMETICS, 2020).

Existem registros arqueológicos do uso de substâncias químicas para fins cosméticos e para cuidados com a higiene pessoal desde aproximadamente 3000 anos antes de Cristo. Supõe-se que esses materiais foram utilizados em diversas situações. As mulheres na Grécia Antiga e no Império Romano utilizavam substâncias para melhorar a aparência, esconder manchas, engrossar ou alongar sobrancelhas, mudar a cor da pele pelo uso de pós faciais feitos de giz em pó, argilas e chumbo brancos. Lábios e bochechas eram coloridos com o uso de minerais extraídos de frutos e plantas. No antigo Egito, pinturas (Figura 3), textos escritos e estátuas mostram o uso de corantes utilizados por suas propriedades estéticas, religiosas e terapêuticas, durante rituais e funerais. Os rostos eram pintados para proteger de infecções, raios solares e insetos. Extratos vegetais eram usados para tingir cabelos e barbas. Além disso, era usado gordura animal e vegetal, cera de abelha, mel e leite no preparo de cremes e pomadas para proteger a pele de altas temperaturas e secura do deserto (VAN ELSLANDE et al., 2008, PÉREZ-ARANTEGUI et al., 2009, SARTORI; LOPES; GUARATINI, 2010, TAPSOBA et al., 2010).

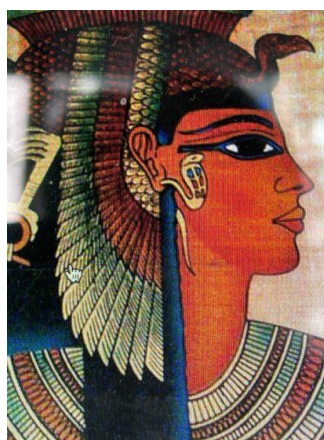
Figura 3: Pintura do túmulo de Nakht no antigo Egito representando três mulheres em um banquete.



Fonte: (CNN, 2020) apud Werner Forman / Universal Images Group Editorial / via Getty Images.

A rainha do Egito, Cleópatra, é considerada como o símbolo do início do desenvolvimento da cosmetologia, por conta de seus cuidados de beleza. Existem registros de que ela utilizava leite para manter pele e cabelos limpos e hidratados e lamas do rio Nilo para melhorar o viço da pele. A maquiagem também fazia parte do cotidiano da rainha, bem como de outras mulheres, homens e crianças. A pintura tradicional dos olhos geralmente era feita de cor esverdeada e o olhar era alongado (conhecido como *Khôl*) com uma pasta preta de gordura animal e chumbo natural (PEYREFITTE et al., 1998), como pode ser visto na Figura 4.

Figura 4: Desenho representativo da Cleópatra.



Fonte: (LEAL, 2022).

Na Grécia Antiga, a prática de tomar banhos era bastante comum e a higiene e o asseio eram valorizados. Lavavam-se antes de preces e viagens e ao chegar ao destino, o anfitrião oferecia água para lavar as mãos ou até mesmo um banho. Pessoas de classe privilegiada possuíam sala de banho e banhava-se para ficar mais confortável e atraente. Os servos utilizavam da água de cisternas ou poços próximos a estas salas. Em Atenas, pessoas de classe mais baixa tomavam banho de tempos em tempos em locais públicos, mantidos pelo governo e por iniciativa privada, conhecidos como casas de banho, utilizando substâncias de limpeza como cinzas de madeira e argilas. Além disso, também existia o banho do Ginásio (que significa “lugar nu” em grego), no qual os atletas, após praticar exercícios físicos, passavam óleo e cobriam-se de areia que em seguida era retirada com o *estrigil* (espátula de metal curva) e seguiam-se para um banho frio em duchas, banheiras ou bacias (ASHENBURG, 2007).

Na Roma Antiga, utilizavam-se de argilas ou terras para limpeza facial e giz para cobrir o corpo das mulheres de altas posições sociais com pós a base de chumbo e outros metais, para demonstrar *status*. O banho, além de estar associado à higiene, também significava bem-estar e durante este momento, eram utilizados chás, ervas aromáticas e óleos para massagem. Os

romanos incorporaram os hábitos de higiene dos gregos e desenvolveram diversos sistemas de abastecimento de água. Os banhos duravam em torno de duas a três horas e a limpeza era considerada de grande elegância entre os povos dessa época (PEYREFITTE et al., 1998).

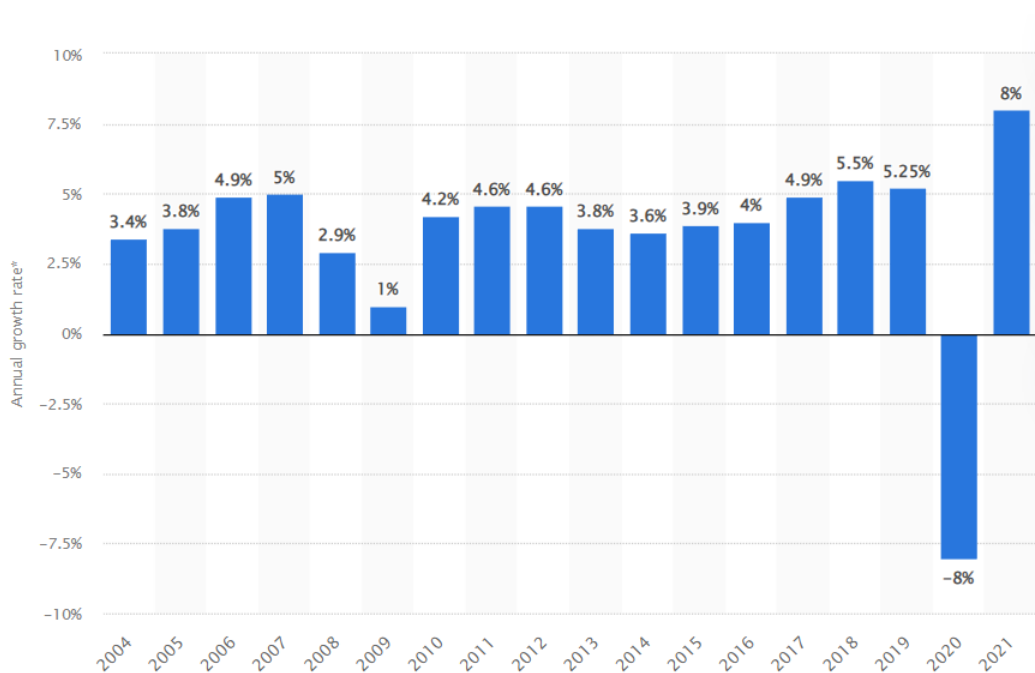
Porém, com a queda do império Romano e a entrada da Idade Média, um período marcado pelo rigor religioso do cristianismo, o culto à higiene e a exaltação da beleza entrou em decadência, pois acreditavam que com os banhos, o corpo ficaria suscetível a doenças. Esse hábito de higiene passou a ser remetido às religiões pagãs e os costumes passaram a se resumir em lavar as mãos e o rosto antes das refeições (ASHENBURG, 2007, TREVISAN, 2011).

Já na Idade Moderna, após a descentralização do poder da Igreja e o fortalecimento da medicina, a culpa por se embelezar diminuiu e a moda começa a ganhar espaço. Mesmo assim, o hábito de se banhar ainda era raro, pelo medo da volta de doenças da era passada, ficando restrito para os nobres em algumas ocasiões específicas. Elizabeth I da Inglaterra, banhava-se uma vez ao mês e seu sucessor, James I, declarava que lavava apenas os dedos das mãos (ASHENBURG, 2007). Apesar dessa restrição em relação aos hábitos de higiene, a maquiagem e o embelezamento estavam em alta. Os produtos aromáticos ganharam muita visibilidade devido aos péssimos hábitos de higiene da população e produtos feitos de tinta branca para o rosto e misturas para pintar o cabelo ganharam popularidade. Porém, o uso de cosméticos voltados principalmente para a estética, sofreu várias ondas de restrições (PEYREFITTE et al., 1998, TREVISAN, 2011).

Somente no século XIX, na Idade Contemporânea, os cosméticos e os hábitos de higiene voltam a ser enaltecidos. Os banhos completos começam a acontecer diariamente e leis foram criadas para encorajar a criação de estabelecimentos com rede de água corrente para este feito. A venda e o uso de produtos cosméticos para higiene pessoal e maquiagens no mundo todo, começaram a aumentar cada vez mais. Nos séculos XX e XXI, os produtos voltados para estética começam a acompanhar a moda, o filtro solar ganha importância e há um aumento na diversidade dos produtos que entram nessa categoria, bem como a busca obsessiva por unir beleza e higiene. Há também um aumento na negação com a aparência natural do corpo, fazendo com que as pessoas busquem cada vez mais por cirurgias e cosméticos para se sentirem melhor (PEYREFITTE et al., 1998, ASHENBURG, 2007, TREVISAN, 2011).

O mercado mundial de cosméticos sofreu algumas variações nas taxas de crescimento anual entre os anos de 2004 e 2021 (Figura 5), porém, é possível perceber o quanto é um mercado extremamente importante para a economia (COSMETICS, 2020, L'ORÉAL, 2022).

Figura 5: Taxa de crescimento anual do mercado global de cosméticos de 2004 a 2021.



Fonte: (L'ORÉAL, 2022).

Este setor na economia é responsável por movimentar aproximadamente 22 bilhões de dólares somente no Brasil. O país é o segundo mercado em fragrâncias, produtos masculinos e desodorantes e o segundo no *ranking* global de países que mais lançam produtos anualmente (ABIHPEC, 2022). Em 2018, as indústrias de produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos lançaram mais de 7400 produtos, gerando cerca de 125 mil empregos. Dentre os motivos para este crescimento, destaca-se o fato da busca constante por conhecimento, renovação e desenvolvimento de fórmulas que apresentem segurança aos consumidores, seguindo as novas tendências e exigências dos clientes (ABIHPEC, 2019).

Em dezembro de 2019, iniciou-se uma pandemia, causada pelo coronavírus SARS-CoV—2, na cidade de Wuhan, na China, o que pode explicar a variação do mercado global de cosméticos nos anos de 2020 e 2021. Desde então, a doença se espalhou rapidamente pelo mundo e foi declarada uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde, em março de 2020. Uma das principais medidas de prevenção contra a propagação da doença é a higienização das mãos. Isso inclui lavar as mãos com água e sabão por pelo menos 20 segundos, especialmente após tossir, espirrar, usar o banheiro ou tocar em superfícies compartilhadas. Quando não há água e sabão disponíveis, o uso de álcool em gel com pelo menos 70% de álcool é uma alternativa eficaz para desinfetar as mãos. Devido a necessidade dessa higienização, alguns produtos de HPPC ganharam muita atenção neste período. Porém, existiu neste período

pandêmico a política do “Fique em casa” ou “lockdown”, que foi adotada por muitos países como medida de prevenção e controle da pandemia de COVID-19 enquanto não existia outra alternativa para o controle da doença. Essa política envolveu medidas para limitar a circulação de pessoas e a interação social, incluindo o fechamento de escolas, empresas e outros locais públicos. A ideia por trás desta medida, era reduzir o contato entre as pessoas e, assim, diminuir a propagação do vírus. Como consequência, o uso de alguns produtos de HPPC, como maquiagens, diminuiu, o que pode ser explicado pela mudança na rotina das pessoas. Além disso, o uso de máscaras faciais também foi um limitante ao uso destes produtos (LANCET, 2020, BAKHATI; AGRAWAL, 2022, PREVENTION, 2023)

Os cosméticos no Brasil são controlados pela Câmara Técnica de Cosméticos da ANVISA e pela Resolução RDC número 211 de 14 de julho de 2005. Eles são divididos em quatro categorias (produtos para higiene, cosméticos, perfumes e produtos para bebês) e dois grupos de risco: nível 1 (risco mínimo), englobando maquiagens, perfumes, sabonetes, xampus, cremes de barbear, pastas de dente, cremes hidratantes, géis para fixação de cabelos, talcos perfumados, sais de banho, etc; e nível 2 (risco potencial), englobando xampu anticaspa, desodorantes e sabonetes íntimos, desodorante antitranspirante, protetores solares, clareadores de cabelos, óleos para massagem, etc. Todos os produtos para bebês se enquadram neste grupo e precisam passar por processos mais rigorosos de inspeção antes de serem comercializados (BRASIL, 2005).

Os produtos de HPPC antes de serem comercializados precisam ser notificados pela ANVISA e uma das exigências para isso, é que os produtos sejam livres de microrganismos que possam causar danos à saúde (BRASIL, 2022).

Para evitar esta proliferação de microrganismos e aumentar a vida útil dos cosméticos, as indústrias colocam em sua formulação substâncias conhecidas como conservantes.

### ***2.1.1 Atividade antimicrobiana, antioxidante e uso de conservantes em cosméticos***

Os cosméticos estão suscetíveis a sofrer alterações, tais como mudança das características organolépticas (cor, textura e cheiro), proliferação de fungos visível, variação de pH e viscosidade e liberação de gás, que podem acontecer devido à reações com oxigênio atmosférico e/ou a presença de microrganismos. Para evitar que isso aconteça, as indústrias optam por adicionar aos produtos, os conservantes (MARTINI, 2006).

A ANVISA define os conservantes como:

“Substâncias que são adicionadas como ingredientes aos produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes com a finalidade de inibir o

crescimento de microrganismos durante sua fabricação e estocagem ou proteger os produtos da contaminação inadvertida durante o uso” (RDC Nº 528, DE 4 DE AGOSTO DE 2021).” (BRASIL, 2021)

Os produtos de HPPC são formulações complexas de materiais orgânicos e inorgânicos com uma fase aquosa e, conseqüentemente, ricas em nutrientes, que favorecem o crescimento de microrganismos no seu meio. Isto pode afetar a eficácia dos conservantes que precisam funcionar em um amplo espectro (ser eficiente para diferentes tipos de microrganismos) para manter os produtos estáveis durante todo o seu período de validade e protegê-los durante a fabricação e sobretudo durante seu uso. Os conservantes utilizados em cosméticos se dividem em antimicrobianos e antioxidantes. O primeiro atua contra a proliferação de bactérias e fungos, enquanto o segundo evita os fenômenos de oxidação e o aparecimento de radicais livres na mistura (TOLER, 1985, MARTINI, 2006).

A contaminação microbiana de um cosmético pode ser proveniente de diversas fontes durante seu processo de fabricação ou uso pelo consumidor. Algumas bactérias Gram (-) estão relacionadas à contaminação de superfícies inertes que podem ser transferidas para o produto, enquanto bactérias Gram (+) são responsáveis pela contaminação ambiental. As bactérias podem ser divididas de acordo com a composição de suas paredes celulares, em Gram positivas (+) e Gram negativas (-). O primeiro grupo possui esta parede composta por peptidoglicano e imersos nesta camada podem estar presentes outros polímeros, como lipoteicoicos, ácidos teicoicos e polissacarídeo. Já nas bactérias Gram negativas, o peptidoglicano constitui uma camada delgada, sobre a qual se encontra outra camada composta por fosfolipídeos, lipoproteínas, proteínas e lipopolissacarídeos. (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

Existe também a contaminação que ocorre através dos funcionários, decorrente dos baixos níveis de higiene durante a fabricação dos produtos. A pele e as membranas mucosas possuem uma proteção natural e mecanismos de defesas contra os ataques de microrganismos. Embora comumente encontradas como constituintes da flora normal do corpo, bactérias como *Staphylococcus aureus* (Gram positiva), *Pseudomonas aeruginosas* (Gram negativa) e *Escherichia coli* (Gram negativa) podem ser transportadas através da pele, causando infecções. Por esse motivo, é necessário antes de sua comercialização que as fontes potenciais de contaminação (funcionários, instalações, equipamentos, aparelhos, materiais de produção e recipientes) passem por um adequado programa de sanitização e higiene para garantir a qualidade do produto e a segurança do consumidor. Alternativas possíveis para evitar a contaminação microbiológica durante o uso dos cosméticos consistem em remover os produtos com espátulas, o uso de luvas durante a aplicação e o acondicionamento em embalagens que



evitem o contato direto com o consumidor, como bisnagas (BRASIL, 2013, SCCS, 2021) (BAIRD et al., 1979, PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

No Brasil, a ANVISA é responsável por fiscalizar este setor e através da RDC nº 630 de 10 de março de 2022, estabelece os parâmetros para o controle microbiológico dos produtos de HPPC. Cada lote fabricado deve ser analisado antes de entrar no mercado, a fim de manter a carga microbiana dentro do padrão estabelecido, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros para controle microbiológico dos produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos.

<b>Microrganismos</b>	<b>Limite permitido no produto acabado</b>
Bactérias aeróbias mesófilas totais	< 10 <sup>2</sup> UFC/grama
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausência em 1 grama de produto
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	Ausência em 1 grama de produto
Coliformes totais e fecais	Ausência em 1 grama de produto

Nota: UFC= Unidade formadora de colônias.

Nos adultos saudáveis que apresentam resistência contra os microrganismos, o contato com produtos de HPPC contaminados não representa um risco sério, porém, em pessoas com o sistema imunológico fragilizado, crianças e idosos, pode acontecer infecções, principalmente se o produto for de uso em áreas da pele com lesões, membrana mucosa ou olhos. As infecções causadas por este tipo de contaminação dependem do microrganismo, da resistência do consumidor e da via de administração do produto (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

Os conservantes são utilizados para evitar a proliferação de microrganismos e aumentar a validade dos produtos. Para escolher qual utilizar, as indústrias cosméticas precisam se atentar ao que é permitido pela legislação. A RDC nº 528, de 4 de agosto de 2021, fornece uma lista de quase 60 conservantes, indicando os limites de concentrações a não ultrapassar e é constantemente atualizada pela ANVISA (BRASIL, 2021). Alguns exemplos das substâncias permitidas para os produtos de HPPC são encontrados na Tabela 2.

Tabela 2: Exemplos de conservantes e suas estruturas moleculares, concentrações máximas e limitações permitidos pela ANVISA.

(continua)

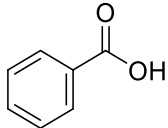
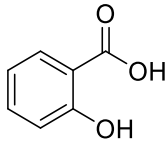
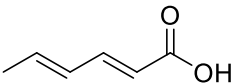
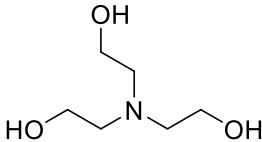
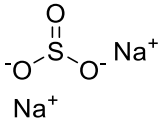
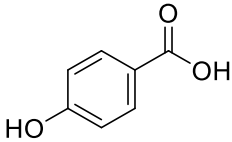
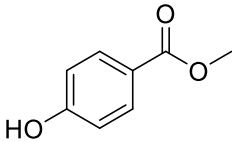
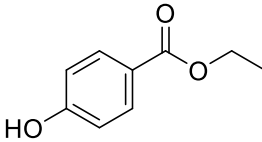
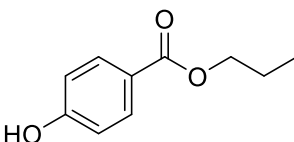
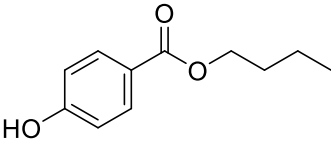
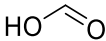
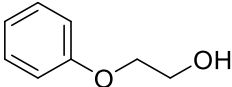
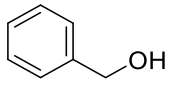
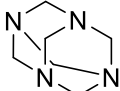
Substância	Estrutura molecular	Concentração máxima (m/v)/limitações
Ácido benzoico		a) 2,5% em produtos que se enxáguem, exceto os produtos para uso bucal. b) 1,7% em produtos para uso bucal. c) 0,5% em produtos que não se enxáguem.
Ácido salicílico		a) 0,5%. Proibido em produtos para crianças menores de 3 anos, produtos para uso bucal e cuja aplicação possa conduzir à exposição por via de inalação
Ácido sórbico		0,6%
Sorbato de trietanolamina		0,6%
Sulfito de sódio		0,2%
Ácido 4-hidroxibenzoico e seus sais		0,4% para cada substância considerada em forma individual e 0,8% para misturas.
Metilparabeno		0,4% para cada substância considerada em forma individual e 0,8% para misturas.
Etilparabeno		0,4% para cada substância considerada em forma individual e 0,8% para misturas.
Propilparabeno		0,14% em forma individual e 0,8% para misturas. Não usar em produtos que não enxáguem destinados a área de fraldas em crianças menores de 3 anos

Tabela 2: Exemplos de conservantes e suas estruturas moleculares, concentrações máximas e limitações permitidos pela ANVISA.

Substância	Estrutura molecular	Concentração máxima (m/v)/limitações
Butilparabeno		0,14% em forma individual e 0,8% para misturas. Não usar em produtos que não enxáguem destinados a área de fraldas em crianças menores de 3 anos
Ácido fórmico		0,5%
2-feniletanol		1,0%
Álcool benzílico		1,0%
Hexametileno-tetra- amina		0,15%

Fonte: Brasil (2021).

Para fazer a escolha de qual conservante utilizar, também é necessário levar em conta o tipo de produto a ser formulado, para analisar as possíveis incompatibilidades com os componentes da fórmula, insumos, embalagens, instalações e equipamentos. Algumas propriedades físico-química dos produtos de HPPC afetam diretamente o crescimento microbiológico e/ou a capacidade do conservante em atuar, como por exemplo: pH e quantidade de água, nutrientes e oxigênio disponível (MARTINI, 2006, PINTO; KANEKO; PINTO, 2010, ANVISA, 2021). Algumas substâncias que atuam como conservantes já foram removidas da lista da ANVISA após estudos mais aprofundados que revelaram possíveis reações nos usuários.

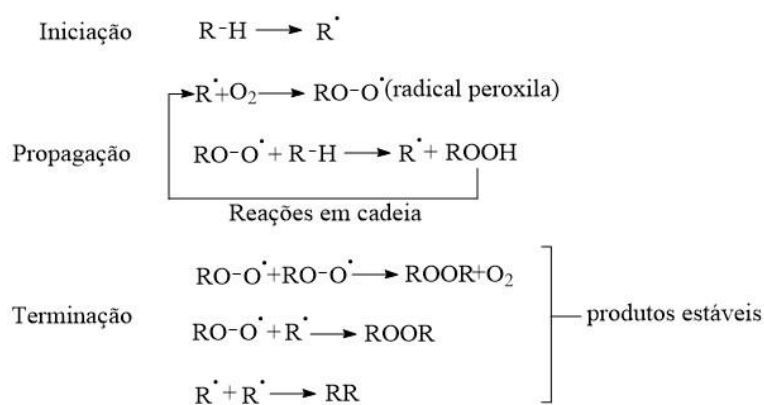
Os ésteres do ácido 4-hidroxibenzoico, sob os nomes de metil, etil, propil, butil parabeno, citados na Tabela 2, são os conservantes mais utilizados pelas indústrias de cosméticos e podem ser utilizados sozinhos ou associados, respeitando-se os limites individuais de cada conservante às condições para as misturas. A concentração máxima permitida para estes conservantes é de 0,14 a 0,4% quando utilizados sozinhos, ou 0,8% para misturas. Eles são escolhidos por conseguirem atuar em um amplo espectro (atuam contra bactérias Gram positivas, negativas e fungos), por terem fácil solubilidade e boa sensibilidade às variações de pH. Porém, a classe dos parabenos têm sido o tema de vários estudos pelos seus supostos efeitos adversos por uso contínuo, como sensibilização pelo contato e capacidade de interferir no sistema endócrino ou



formação das espécies reativas de oxigênio, também conhecidas como radicais livres. Essas espécies são fundamentais para diversos processos bioquímicos do organismo, como a geração de energia, ativação de genes e participação de mecanismos de defesa. Entretanto, quando há um desequilíbrio entre sua formação e remoção, ocorre o estresse oxidativo. Os níveis de antioxidante no organismo não são capazes de compensar os efeitos nocivos dos radicais livres, causando danos as estruturas celulares através da oxidação de biomoléculas, levando a problemas como envelhecimento, diabetes e câncer. Para impedir os efeitos negativos das EROs, desativando-as antes de atacarem as estruturas células, a indústria cosmética opta por utilizar em suas formulações, compostos antioxidantes que são mais facilmente oxidados do que as estruturas celulares (FERREIRA; MATSUBARA, 1997, SHAMI; MOREIRA, 2004, SARTORI; LOPES; GUARATINI, 2010).

A oxidação de lipídeos insaturados acontece em três etapas diferentes (Figura 7). O processo é iniciado a partir da interação de um iniciador [radicais peroxila ( $\text{HO}^\cdot$ ) ou hidroperoxila ( $\text{HOO}^\cdot$ )] ocorrendo a retirada de um átomo de hidrogênio do carbono alfa à dupla ligação do lipídeo insaturado, dando origem a um radical livre. Assim sendo, a fase de propagação é caracterizada por várias reações que levam à formação de diversos peróxidos, substâncias responsáveis pela deterioração de produtos, alimentos e/ou estresse oxidativo no organismo humano. Cada radical peróxido pode retirar um hidrogênio de uma molécula de ácido graxo que não foi oxidada. Porém, como os peróxidos são moléculas instáveis, sua formação é limitada pelas fases iniciais da oxidação que continuam até a fase de terminação. Com o esgotamento dos substratos, os radicais peroxila são transformados em compostos de oxidação não radicalares. Radicais livres interagem entre si para formar substâncias estáveis ou não reativas, como álcoois, cetonas, aldeídos, éteres e hidrocarbonetos (ZEB, 2020)

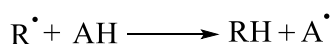
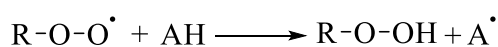
Figura 7: Etapas do processo de oxidação de lipídeos.



Fonte: adaptado de Zeb (2020).

As moléculas dos antioxidantes têm uma ou mais hidroxilas capazes de interromper a reação em cadeia (que acontece na fase de propagação da oxidação) que leva à formação de hidroperóxidos ou peróxidos através da remoção ou inativação dos radicais livres. Na Figura 8 é mostrado as equações da reação de ação, no qual o radical livre captura o hidrogênio ativo do antioxidante com mais facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas, formando espécies inativas para a reação em cadeia e um radical estável por ressonância e não é capaz de iniciar uma reação oxidativa.

Figura 8: Reações entre radicais livres e antioxidantes fenólicos.



Nota: ROO $\cdot$  e R $\cdot$  são radicais livres, AH antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A $\cdot$  radical estável.

Fonte: Adaptado de Zeb (2020).

Diante das controvérsias existentes em relação aos conservantes sintéticos e a crescente tendência pró ecológica, juntamente com a busca por um estilo de vida mais saudável de grande parte da população, as indústrias cosméticas buscam cada vez mais alternativas para substituir essas substâncias por outras, de origem natural (FRANSWAY et al., 2019, NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021). E para que estas substâncias naturais consigam atuar como conservantes, é necessário que possuam atividades antimicrobiana e antioxidante expressivas.

### **2.1.2 O uso de produtos naturais nos cosméticos**

As indústrias cosméticas têm tido interesse em fitoquímicos com atividade antioxidante, pois é uma estratégia promissora por minimizarem os danos causados pela radiação na pele, uma vez que essa exposição à luz solar está relacionada aos danos oxidativos que podem levar aos efeitos do envelhecimento, como rugas, falta de elasticidade e marcas de despigmentação ou hiperpigmentação. Extratos naturais de plantas e óleos essenciais podem atuar nessas áreas e produzirem suavização, cura e efeitos rejuvenescedores, além de terem propriedades antimicrobiana, emolientes, corantes, umectantes, cicatrizantes, antimutagênicos e são considerados possíveis substituintes para os conservantes sintéticos (KOLE et al., 2005, CHANCHAL; SWARNLATA, 2008, RIVELLI et al., 2008, SARAF; KAUR, 2010).

Têm se tornado cada vez mais comum o uso de plantas para a formulação de produtos de HPPC e isso se deve aos benefícios que elas possuem e que estão sendo mostrados em diversos estudos, como por exemplo o alto teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante dos mesmos. Várias empresas fazem o uso de plantas em seus cosméticos e alguns exemplos se encontram na Tabela 3.

Tabela 3: Exemplos de empresas que utilizam plantas em suas formulações.

(continua)

<b>Espécie vegetal</b>	<b>Empresas</b>	<b>Produtos</b>
<i>Persea americana</i> (Abacate)	Avon <sup>1</sup>	Hidratantes corporal
	Boticário <sup>2</sup>	Xampu, condicionador, máscara capilar, hidratante corporal
	Dove <sup>3</sup>	Xampu, condicionador, máscara capilar, hidratante corporal
	Garnier <sup>4</sup>	Tintura de cabelo
	Nivea <sup>6</sup>	Hidratante corporal, hidratante labial, desodorante
<i>Aloe vera</i> (Babosa)	Avon <sup>1</sup>	Máscara capilar, hidratante corporal
	Boticário <sup>2</sup>	Hidratante, pós barba
	Dove <sup>3</sup>	Espuma de barbear
	Nivea <sup>6</sup>	Hidratante labial e corporal, sabonete, espuma de barbear
	Pantene <sup>7</sup>	Xampu, condicionador
<i>Bambusoideae</i> (Bambu)	Boticário <sup>2</sup>	Sabonete
	Dove <sup>3</sup>	Xampu, condicionador, máscara de tratamento capilar
	Pantene <sup>7</sup>	Xampu, condicionador, máscara capilar, creme para pentear
<i>Calendula officinalis</i> (Calêndula)	Boticário <sup>2</sup>	Desodorante
	Dove <sup>3</sup>	Hidratante corporal
	Simple organic <sup>8</sup>	Espuma facial
<i>Matricaria chamomilla</i> (Camomila)	Boticário <sup>2</sup>	Hidratante, sabonete, loção pós barba
	Dove <sup>3</sup>	Espuma de barbear, sabonete corporal
	Garnier <sup>4</sup>	Máscara facial
	Nivea <sup>6</sup>	Sabonete íntimo, desodorante, loção pós barba
	Simple organic <sup>8</sup>	Balm para os olhos
<i>Cymbopogon citratus</i> (Capim Limão)	L'occitane <sup>5</sup>	Hidratante, sabonete, desodorante, xampu, condicionador
	Natura <sup>9</sup>	Sabonetes, desodorantes, hidratante corporal

Tabela 3: Exemplos de empresas que utilizam plantas em suas formulações.

(conclusão)

<b>Espécie vegetal</b>	<b>Empresas</b>	<b>Produtos</b>
<i>Simmondsia chinensis</i> (Jojoba)	Dove <sup>3</sup>	Xampu, condicionador, máscara capilar
	Nivea <sup>6</sup>	Hidratante labial e corporal, sabonete íntimo
	Pantene <sup>7</sup>	Máscara de tratamento capilar
<i>Macadamia</i>	Avon <sup>1</sup>	Hidratante corporal
	Natura <sup>9</sup>	Sabonete, hidratante corporal, desodorante
	Pantene <sup>7</sup>	Máscara de tratamento capilar
<i>Vitellaria paradoxa</i> (Manteiga de karité)	Boticário <sup>2</sup>	Hidratante, xampu, sabonete, batom
	Dove <sup>3</sup>	Hidratante corporal, sabonete corporal
	Nivea <sup>6</sup>	Hidratante corporal e labial
	Simple organic <sup>8</sup>	Hidratantes
<i>Punica granatum</i> (Romã)	Avon <sup>1</sup>	Hidratante corporal
	Dove <sup>3</sup>	Hidratante corporal, sabonete corporal
	L'occitane <sup>5</sup>	Gelatina de banho, batom
	Natura <sup>9</sup>	Gel esfoliante, hidratante corporal
	Pantene <sup>7</sup>	Máscara de tratamento capilar, reconstrutor capilar
Ácido ascórbico (Vitamina C)	Avon <sup>1</sup>	Máscara esfoliante, hidratantes, vitamina C concentrada
	Boticário <sup>2</sup>	Sérums, maquiagens, hidratantes
	Garnier <sup>4</sup>	Sérums, máscara facial, gel de limpeza, hidratante, protetor
	Nivea <sup>6</sup>	Hidratantes, creme antissinais
	Simple organic <sup>8</sup>	Hidratante para área dos olhos, solução vitamina C
Vitamina E	Boticário <sup>2</sup>	Hidratante, ampola capilar, óleo de limpeza facial
	Dove <sup>3</sup>	Espuma de barbear
	Garnier <sup>4</sup>	Máscara facial, hidratante, tintura para cabelo
	L'occitane <sup>5</sup>	Batom
	Nivea <sup>6</sup>	Hidratante labial e corporal, loção pós barba, sabonete
	Simple organic <sup>8</sup>	Batom, hidratante, sérum
	Pantene <sup>7</sup>	Condicionador, máscara capilar, reconstrutor capilar

Nota: Produtos consultados nos sites das respectivas empresas <sup>1</sup>www.avon.com.br<sup>2</sup>www.boticario.com.br <sup>3</sup>www.dove.com.br <sup>4</sup>www.garnier.com.br <sup>5</sup>www.loccitaneaubresil.com.br<sup>6</sup>www.nivea.com.br <sup>7</sup>www.pantene.com.br <sup>8</sup>www.simpleorganic.com.br <sup>9</sup>www.natura.com.



O extrato de abacate (*Persea americana*) possui grande quantidade de compostos fenólicos e já foram identificados flavonoides derivados de glicosídeos de quercetina, proantocianidinas, canferol e ácidos fenólicos derivados do ácido clorogênico e cumárico (Figura 9). Estudos mostraram elevadas atividades antimicrobiana e antioxidante para os extratos de cascas, semente e polpa do fruto, sendo um bom aliado para a produção de produtos de HPPC. Uma patente foi depositada em 1999 de uma formulação contendo de 5 a 15% em massa de lipídios extraídos do caroço e se mostrou eficaz para melhorar estrias e outras lesões cutâneas através da aplicação tópica na pele afetada (MOY, 1999, KOSIŃSKA et al., 2012, MELGAR et al., 2018).

A *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*), da família Xanthorrhoeaceae, popularmente conhecida como babosa, tem sido amplamente utilizada com aplicações cosméticas e tradicionalmente é empregada para tratar irritações na pele, queimaduras, picadas de inseto e feridas, por possuir propriedades anti-inflamatória e cicatrizante. Além disso, melhora a hidratação por meio de seu mecanismo umectante, bem como auxilia no tratamento e redução de rugas. O gel de *Aloe vera* contém ácido salicílico (Figura 9) que possui propriedades bacteriostáticas e é citado como um bom aliado para peles secas e propensas à inflamações, por possuir propriedade hidratante (CHOI et al., 2001, WEST; ZHU, 2003, CHANDAN et al., 2007). Além disso, outros princípios ativos isolados (antraquinonas) das folhas da *Aloe vera* (aloesina, aloemodina e barbaloina) foram testados e se mostraram eficazes para exercer efeito quimiopreventivo (EL-SHEMY et al., 2010).

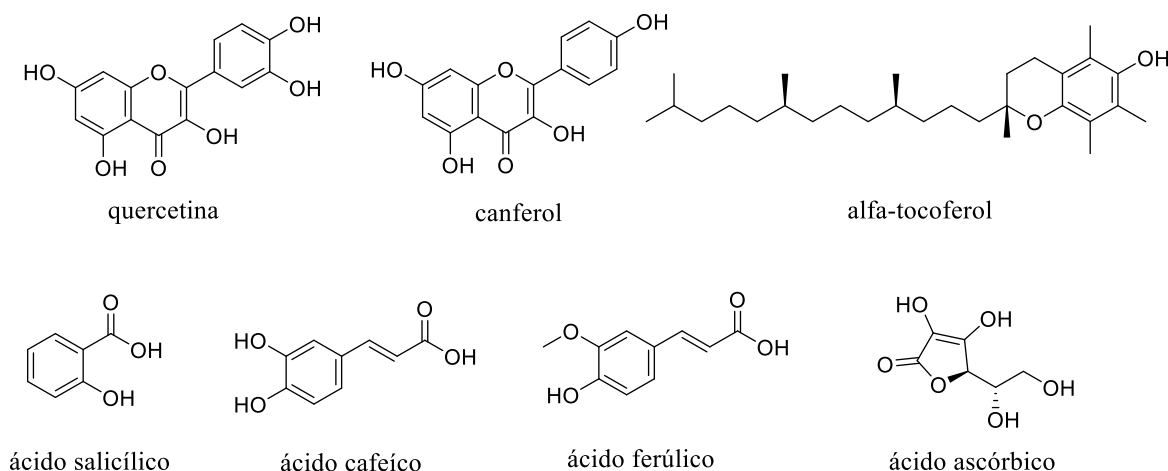
A camomila (*Matricaria chamomilla*) é uma planta muito usada pela medicina popular, principalmente em forma de chá, para acalmar, reduzir a ansiedade, insônia e ajudar em problemas com o sono e suas flores eram usadas na Roma e Antigo Egito eram utilizadas em rituais para reduzir a febre. Em livros recentes sobre aromaterapia e fabricação de cosméticos vendidos na Internet e cada vez mais comuns, encontra-se a indicação de extratos e óleo essencial de camomila para a formulação de produtos para aliviar problemas como acne, couro cabeludo seco, queimaduras, picadas de inseto e erupções cutâneas, bem como seu uso de forma aromaterapêutica para dores de cabeça, problemas de menopausa, gastrite entre outros (LAVABRE, 2001, JONES, 2011). Estudos já mostraram a presença de vários flavonoides, como quercetina, canferol, rutina e derivados dos ácidos cafeico e ferúlico (Figura 9), responsáveis pelas atividades antioxidante, anticoagulante e antiplaquetária dos extratos dessa planta. Devido às suas propriedades anti-inflamatórias, é utilizada também para tratamentos respiratórios, gastroentérico, mucosas e irritações na pele (MCKAY; BLUMBERG, 2006,

BIJAK et al., 2013, HAGHI et al., 2014, KOLODZIEJCZYK-CZEPAS et al., 2015, RAUF et al., 2021).

Como observado na Tabela 3, outra planta utilizada por várias empresas na fabricação de hidratantes corporais, sabonetes, desodorantes e máscaras de tratamento capilar, é a *Macadamia*. Suas nozes são ricas em compostos fenólicos, tocoferóis e tocotrienóis (Figura 9), o que confere propriedades antioxidante, anticancerígena e redutora de colesterol aos consumidores. Por conter estas substâncias, o óleo de macadâmia pode ser considerado um bom aliado em produtos para a pele, pois estes compostos são eficazes na prevenção do estresse oxidativo induzido pela luz solar (KOHNO et al., 1995, QUINN; TANG, 1996, PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001, WALL, 2010). Já existem diversas patentes de formulações contendo óleo de macadâmia, dentre elas, um produto para cuidados dos lábios contendo pelo menos 0,5% da massa total do óleo ou um de seus derivados juntos com uma cera também de origem natural, sendo a empresa L'Oréal a requerente (BLIN; GUILLARD, 2010).

Dentre as substâncias naturais mais utilizadas e conhecidas pelo seu poder antioxidante, encontra-se as vitaminas C e E (Figura 9). A primeira, também conhecida como ácido ascórbico, é encontrada em frutas cítricas e vegetais. Além de sua propriedade antioxidante e de atuar diretamente nos radicais livres induzidos por UV, também é considerada um ingrediente antienvelhecimento pelo fato de conseguir estimular a produção de colágeno (DARR et al., 1992, CHAN, 1993, PHILLIPS; COMBS; PINNELL, 1994). Tanto o ácido ascórbico, quanto alguns de seus derivados como palmitato de ascorbila, ascorbil fosfato de magnésio e ácido ascórbico, estão associados como inibidor de parâmetros relacionados à produção de tumores de pele em camundongos, além de ajudar contra queimaduras de UV, melhora na cicatrização, psoríase e eczemas, o que é justificado pelas suas atividades antioxidante e anti-inflamatória (SMART; CRAWFORD, 1991, RAMALHO; JORGE, 2006, LIMA et al., 2009). Como observado na Tabela 3, esta substância muitas vezes é vendida de forma pura e concentrada pelas empresas de cosméticos, principalmente para produtos relacionados ao rosto e rejuvenescimento.

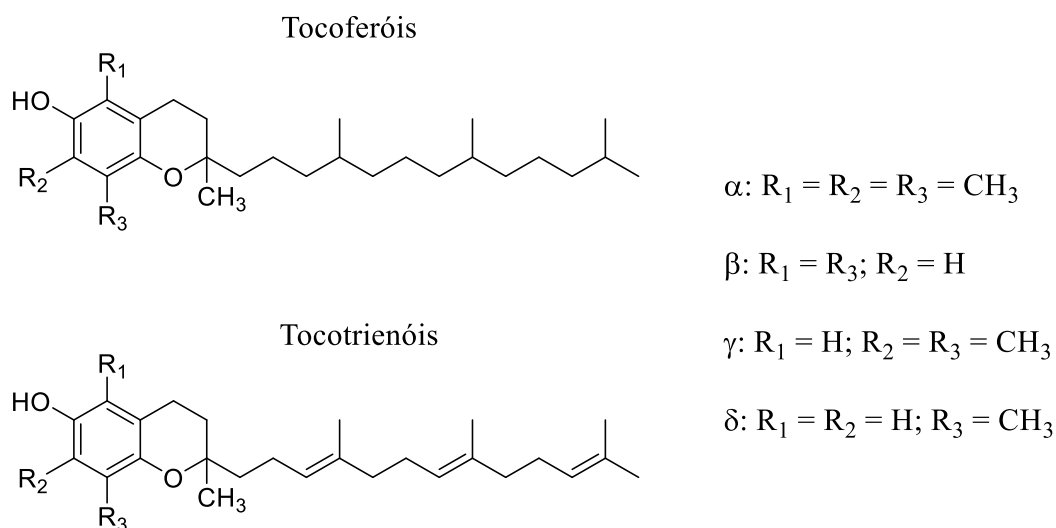
Figura 9: Estrutura molecular de substâncias encontradas nos extratos de plantas usados em produtos de HPPC.



Fonte: a autora.

A vitamina E é conhecida por ocorrer na natureza em pelo menos oito formas diferentes:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferol e  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  tocotrienol, sendo diferenciados pelo número e posição do grupo metila na parte fenólica do anel de cromanol. São antioxidantes lipossolúveis com um anel de cromanol e cadeia lateral hidrofóbica. No caso dos tocoferóis, essa cadeia lateral insaturada contém 16 átomos de carbono (fitil) e os tocotrienóis possuem uma cadeia mais curta, com cadeias laterais insaturadas (isoprenil) (NGUYEN; HE; PHAM-HUY, 2006, PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C., 2008, SCHWARTZ et al., 2008), conforme mostrado na Figura 10.

Figura 10: Estruturas moleculares de tocoferóis e tocotrienóis.



Fonte: adaptado de (PACKER; WEBER; RIMBACH, 2001).

Dentre todos esses, o  $\alpha$ -tocoferol é o mais bioativo para seres humanos e o Instituto Internacional de Medicina definiu que ele é o único que contribui para poder ser chamado de vitamina E. Estudos mostram que esta vitamina é encontrada em óleos vegetais, soja, nozes e farinha e está relacionada com a redução dos danos causados pela radiação UV, queimaduras solares, diminuição das rugas e se mostrou benéfica contra câncer de cólon, próstata, mama e doenças cardiovasculares (GENSLER; MAGDALENO, 1991, BEIJERSBERGEN VAN HENEGOUWEN; JUNGINGER; DE VRIES, 1995, LOPEZ-TORRES et al., 1998, PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C., 2008, AZZI, 2019).

Várias dessas matérias primas naturais são obtidas através do metabolismo especializado (secundário) das plantas e muitas delas estão sendo estudadas e usadas em formulações de produtos de higiene pessoal, perfumes e cosméticos.

## **2.2 Metabolismo especializado (secundário)**

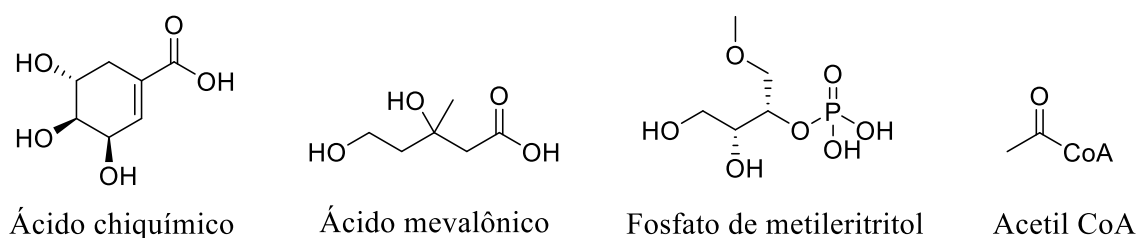
O metabolismo de uma planta é o conjunto de reações químicas mediadas por enzimas que está sempre acontecendo nas células. Esses sistemas enzimáticos são conhecidos como vias metabólicas e são cruciais para a manutenção da vida dos organismos. Os compostos químicos formados, transformados ou degradados, recebem o nome de metabólitos e são divididos em metabólitos centrais (ou primários) e especializados (ou secundários). As plantas são eficientes na síntese de compostos orgânicos via fotossíntese a partir de materiais inorgânicos encontrados no meio ambiente, enquanto outros organismos, como os animais, dependem de conseguir estas matérias-primas através de dietas ricas em consumo de plantas (DEWICK, 2002).

O metabolismo central acontece da mesma forma em praticamente todos os organismos, com pequenas variações e compreende a produção de substâncias vitais para a sobrevivência das plantas, como carboidratos, proteínas, polissacarídeos, lipídeos, ácidos graxos e nucleicos. Já o metabolismo especializado acontece em grupos específicos dos vegetais, expressando a individualidade das espécies e possui funções importantes para o crescimento das plantas. Os metabólitos especializados (ME) não são necessariamente produzidos sob todas as condições e as vias de biossíntese podem ser ativadas durante um estágio particular do desenvolvimento ou durante um processo de estresse. Os ME são produzidos para auxiliar na proteção das plantas contra agentes externos, na defesa contra exposição a raios UV-B e na comunicação da planta para atrair ou alertar outros organismos. Apesar de não serem considerados essenciais para a vida dos vegetais, já que sua ausência não leva o espécime à morte, são importantes para sua sobrevivência e é o metabolismo especializado que fornece a maioria dos produtos naturais

farmacologicamente ativos (DEWICK, 2002, WINK, 2010, KROYMANN, 2011, POTT; OSORIO; VALLARINO, 2019).

As principais classes de ME são derivados do metabolismo central, através de quatro intermediários principais: acetil coenzima A (acetil\_CoA), ácido chiquímico, ácido mevalônico e fosfato de metileritritol (Figura 11), através de suas vias metabólicas: via do acetato, chiquimato, mevalonato e metileritriol.

Figura 11: Estruturas moleculares dos intermediários responsáveis pela formação dos metabólitos secundários.



Fonte: a autora.

Estes compostos sofrem reações catalisadas por enzimas, originando vários ME com uma grande complexidade de estruturas químicas. Os principais compostos originados destas vias metabólicas são os terpenos, alcaloides e compostos fenólicos. Os primeiros, juntamente com os esteroides, são produzidos pela via do mevalonato e metileritritol fosfato. Possuem diversas funções nas plantas que possibilitam a sinalização entre organismos simbióticos e são utilizados para atrair insetos polinizadores. Os monoterpenos encontrados nos óleos essenciais, são responsáveis pelo armazenamento e excreção de diversas substâncias, como por exemplo o limoneno, responsável pelo cheiro de frutas cítricas como laranja e limão e o eucaliptol, com cheiro característico de menta. Além disso, os terpenos também atuam como agentes antimicrobianos das plantas, são constituintes da parede celular vegetal, podem ser usados como pigmentos, participam diretamente da fotossíntese e são responsáveis pela proteção da planta contra o excesso de radiação solar (DEMMIG-ADAMS; GILMORE; ADAMS, 1996, DEWICK, 2002, KABERA et al., 2014, BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015).

Os alcaloides são produzidos a partir de aminoácidos aromáticos pela via do chiquimato e de aminoácidos alifáticos oriundos do ciclo de Krebs. Já os compostos fenólicos contemplam uma diversidade de compostos. As antronas e antraquinonas são oriundas da via do acetato, fenilpropanoides, ligninas, lignanas, cumarinas e ácidos fenólicos são produzidos pela via do

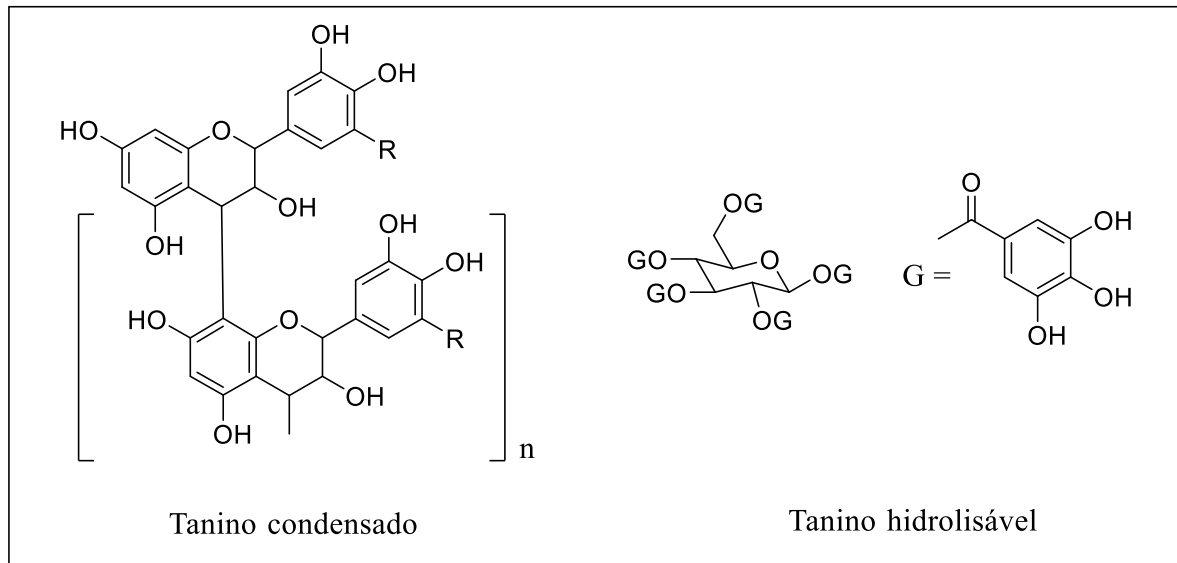
chiquimato. Os flavonoides podem ser oriundos das vias do acetato e chiquimato (DEWICK, 2002, GUNATILAKA, 2012).

Assim como os terpenos, os compostos fenólicos desempenham funções importantes de suporte e sustentação para as plantas, são responsáveis pela pigmentação de flores, pela atração de animais com finalidade de polinização, bem como proteção contra raios UV e microrganismos. As principais vias de síntese para estes compostos são acetato e chiquimato. Para os homens, estes compostos são altamente utilizados na produção de fármacos, por apresentarem atividades anti-inflamatórias, anti-hepatotóxicas, antimicrobianas, antivirais, dentre outras. Além disso, contribuem significativamente para a cor e sabor de alimentos e bebidas e são eficazes na eliminação de radicais livres (DEWICK, 2002, BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015, HUSSEIN; EL-ANSSARY, 2019).

Como exemplo destes compostos, tem-se as catequinas (flavan-3-ol) também são encontradas na natureza na forma de oligômeros (pequenos polímeros), que são chamados de proantocianidinas ou taninos condensados. Eles contribuem com adstringência para alimentos e bebidas e são importantes para o curtimento de couro (DEWICK, 2002, TSIMOGLIANNIS; OREOPOULOU, 2019). Os taninos condensados possuem sua estrutura baseada em precursores de flavonoides, portanto, também são sintetizados pelas via acetato e chiquimato e a hidrólise destes compostos leva a formação de antocianidina (QUEIROZ; MORAIS; NASCIMENTO, 2002, HUSSEIN; EL-ANSSARY, 2019).

Já os taninos hidrolisáveis são polímeros fenólicos que não são originados dos flavonoides e são formados a partir de várias moléculas de ácidos fenólicos, como gálico e hexahidroxidifênico, unidos por ligações éster a uma molécula central de glicose. Os elagitaninos e galotaninos são exemplos de taninos hidrolisáveis e compostos de unidade de ácido elágico e gálico, respectivamente (HUSSEIN; EL-ANSSARY, 2019, TSIMOGLIANNIS; OREOPOULOU, 2019). As estruturas dos taninos condensados e hidrolisáveis são mostradas na Figura 12.

Figura 12: Estruturas de taninos condensados e hidrolisáveis.

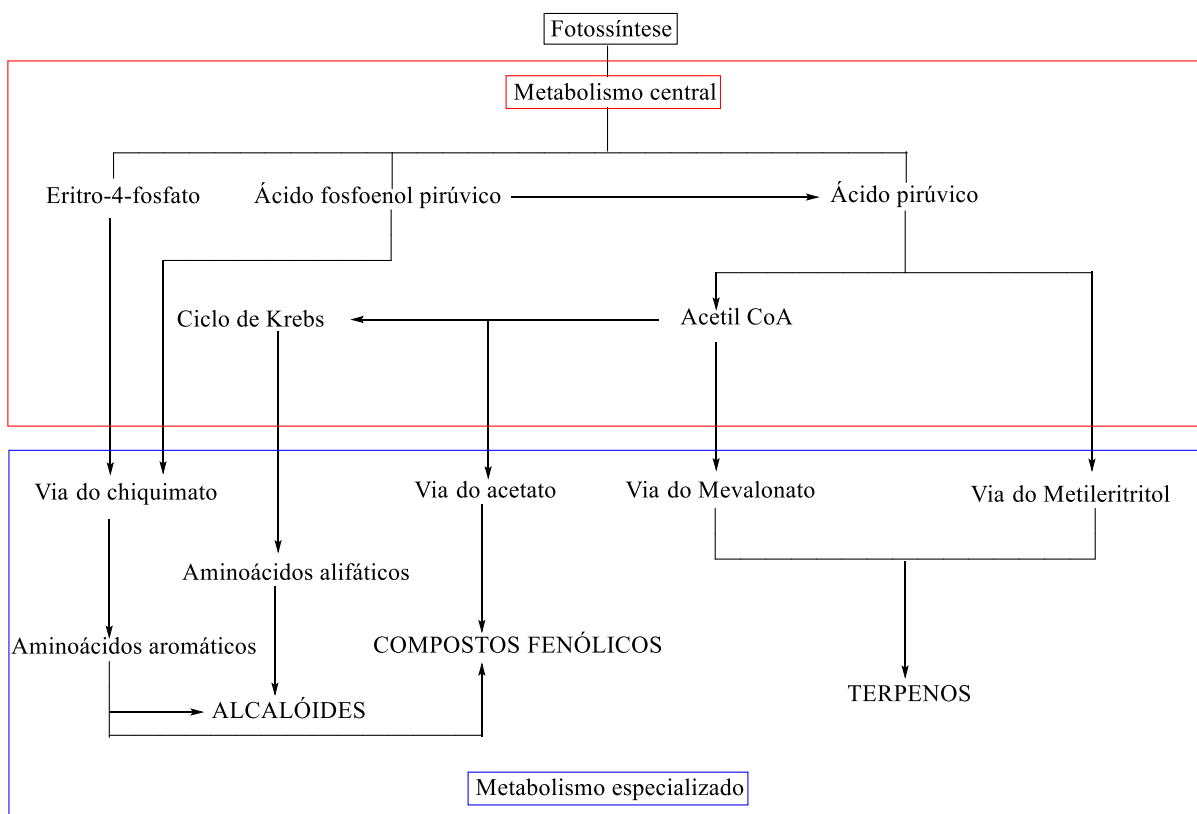


Fonte: adaptado de (GIADA, 2013).

Os taninos são encontrados em frutas como maçãs, bananas, amoras, tâmaras, uvas, peras, framboesas, legumes, grãos como favas, ervilhas, vinhos etc. A ingestão moderada de alguns tipos de tanino pode ser benéfica para a saúde humana e estão sendo amplamente investigado pelas suas ações terapêuticas e como forma de prevenir diversos tipos de câncer. Possuem função de inibir herbívoros, atividade antimicrobiana, antiviral e alguns estudos mostram atividade antitumoral e anticancerígena (CHUNG et al., 1998, PIZZI, 2008).

Na Figura 13 são mostradas as rotas envolvidas na biossíntese dos metabólitos especializados de forma simplificada.

Figura 13: Fluxograma simplificado das rotas metabólicas.



Fonte: adaptado de (CASTRO et al., 2004).

Como citado anteriormente, os estudos dos metabólitos especializados das plantas possuem grande importância para a sociedade, para a criação de novos fármacos e fitoterápicos, bem como para as possíveis utilizações nas indústrias de cosméticos e alimentos. Plantas do Cerrado têm ganhado cada vez mais atenção nestes estudos, dentre elas, espécies da família Lythraceae.

### 2.3 Família Lythraceae

A família Lythraceae é representada por ervas, (sub)arbustos, arvoretas ou árvores, distribuídas principalmente nas regiões dos trópicos, com poucos registros de algumas ervas em regiões temperadas. Ocupam brejos, campos áridos e pedregosos, cerrados e raramente florestas tropicais. Inclui 32 gêneros e aproximadamente 600 espécies (CAVALCANTI; NORONHA, 2009). No Brasil, encontram-se nove gêneros, sendo *Cuphea* e *Diplusodon* os mais comuns, com cerca de 120 e 85 espécies, respectivamente. Algumas espécies desta família são cultivadas no país, como por exemplo, *Lafoensia acuminata*, nativas do Peru para o uso em arborização nas ruas e parques e *Lawsonia inermis* L. (conhecida como Henna), espécie da África e Eurásia, utilizada nas indústrias de cosméticos como tintura para cabelos (CAVALCANTI, GRAHAM, 2002; CAVALCANTI, NORONHA, 2009).



Dentre as espécies mais conhecidas desta família, encontra-se a romã (*Punica granatum* L.). É conhecida pelo seu poder antioxidante, anti-inflamatório, anticancerígeno e antimicrobiano. Normalmente, essas atividades estão relacionadas principalmente aos compostos fenólicos, taninos e seus monômeros (ácidos elágico e gálico), ácidos orgânicos e flavonoides encontrados nas suas sementes, fruto e polpa. Além disso, essa espécie tem sido estudada e utilizada em formulações cosméticas (GUBITOSA et al., 2018, GE et al., 2021, MACHADO; FERREIRA; SOARES, 2023). Empresas como Avon, Dove, Natura e Pantene utilizam do extrato de *P. granatum* em sabonetes, hidratantes, batom e produtos para tratamento capilar.

Dentre os gêneros da família Lythraceae, o *Cuphea* é o que possui maior quantidade de espécies no Brasil. É utilizada na medicina tradicional para tratamento de hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, aterosclerose e arritmias. Suas espécies são caracterizadas por possuírem grande quantidade de flavonoides já identificados, além de mostrarem alto teor de polifenóis, como quercetina, canferol e éster do ácido gálico, conferindo poder antioxidante para essas espécies (SANTOS; SALATINO; SALATINO, 1995, ZAGO et al., 2019).

Outro gênero pertencente a esta família é o *Lafoensia*, sendo encontradas sete espécies no Brasil: *L. acuminata*, *L. glyptocarpa*, *L. nummularifolia*, *L. pacari*, *L. puniceifolia*, *L. replicata* e *L. vandelliana* (CAVALCANTI, 2022a).

### 2.3.1 Gênero *Lafoensia*

O gênero *Lafoensia* distribui-se do sul do México e no Brasil, com ocorrência confirmada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Sudeste (CAVALCANTI, 2022a). É composto por árvores a arvoretas e raro arbustos, com folhas oposto-cruzadas e flores branca, creme ou amarelo-clara (CAVALCANTI, GRAHAM, 2002). Trata-se de um gênero pouco estudado, apesar de sua grande variedade de espécies. Grande parte dos relatos encontrados são da espécie *L. pacari*, a qual é usada na medicina popular para tratamento de úlcera gástrica, cicatrizante, tônico, dores na coluna e câncer (SOLON et al., 2000, NUNES et al., 2003, MUNDO, 2007).

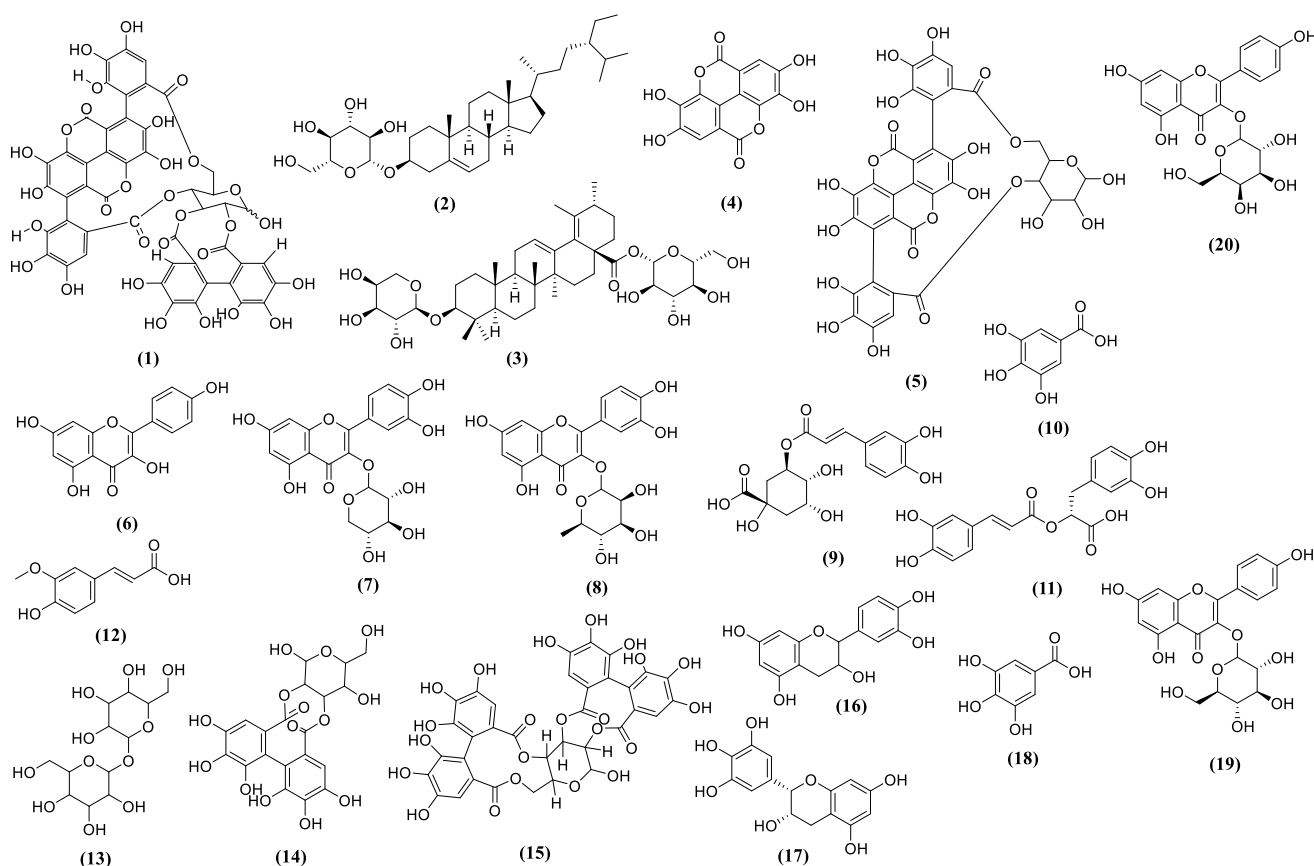
Análises fitoquímicas qualitativas do extrato etanólico dos caules e folhas de *L. pacari* mostram a presença de compostos fenólicos, particularmente taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas e triterpenos (LIMA et al., 2006, VIOLANTE et al., 2009). No extrato hidroalcolico das cascas foi encontrado resultado positivo para taninos, esteroides, triterpenos e saponinas (SOLON et al., 2000).

Alguns metabólitos isolados de espécies do gênero *Lafoensia* são apresentados na Tabela 4, com suas respectivas atividades biológicas. Na Figura 14 são mostradas as estruturas destes compostos.

Tabela 4: Compostos identificados de plantas do gênero *Lafoensia*.

<b>Espécie</b>	<b>Composto isolado</b>	<b>Referências</b>
<i>L. puniceifolia</i>	punicalagina (1)	(KIM et al., 2021)
<i>L. glyptocarpa</i>	3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-glucopiranosilitosterol (2)	(ALVES DE CARVALHO; DE CARVALHO; BRAZ-FILHO, 1999)
	3 $\beta$ -O- $\beta$ -L-arabnopyranosylolean-12-en-28-oic acid 28-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (3)	
	canferol-O-glicosídeo (19)	(C. SANTOS; LUIZA F. SALATINO; SALATINO, 2000)
	canferol-O-galactosídeo (20)	
<i>L. pacari</i>	punicalagina (1)	(PEREIRA et al., 2018) (REICHERT et al., 2018)
	ácido elágico (4)	(SOLON et al., 2000) (ROGERIO et al., 2006) (PEREIRA et al., 2018) (JÚLIO DE SOUZA et al., 2020)
	punicalina (5)	(PEREIRA et al., 2018) (REICHERT et al., 2018)
	canferol (6)	PEREIRA et al., 2018)
	quercetina-3-O-xilopiranosídeo (7)	(PEREIRA et al., 2018) (REICHERT et al., 2018)
	quercetina-3-O-hamnopiranosídeo (8)	(PEREIRA et al., 2018)
	ácido clorogênico (9)	
	ácido gálico (10)	
	ácido rosmarínico (11)	
	ácido ferúlico (12)	
di-hexosídeo (13)		
HHDP—hexosídeo (14)	(REICHERT et al., 2018)	
HHDP-galoi glicose		
di-HHDP-O-hexosídeo (pedunculagina) (15)		
catequina (16)		
galocatequina (17)		

Figura 14: Estruturas dos compostos identificados das plantas do gênero *Lafoensia*.



Fonte: a autora.

Dos compostos mostrados na Tabela 8, o único avaliado para atividades biológicas foi o ácido elágico, o qual mostrou potencial antioxidante e ser inibidor da enzima xantina oxidase, inibindo a produção de ácido úrico (PEREIRA et al., 2018). Já o extrato de *L. pacari* revelou atividades antimicrobiana, antioxidante, poder analgésico, cicatrizante, anti-inflamatório e eficiente para tratamento de feridas cutâneas. Além disso, possui efeito antieosinofílico e pode desempenhar um papel benéfico na prevenção e progresso de doenças crônicas inflamatórias como asma, neurodegeneração e doenças cardiovasculares (SOLON et al., 2000, ROGERIO et al., 2006, ROGERIO et al., 2008, PEREIRA et al., 2018, JÚLIO DE SOUZA et al., 2020), PORFÍRIO et al. (2009).

A partir desse levantamento realizado, fica evidente a importância do gênero. São vários compostos isolados de diversas classes, além de uma variedade de atividades biológicas. Existem poucos ou nenhum estudo das outras espécies de *Lafoensia*, dentre elas a *L. replicata* Pohl. *L. replicata* e *L. pacari* são visualmente muito parecidas, se diferindo nas cristas que são menos pronunciadas na *L. replicata* e muitas vezes são confundidas, conforme mostrado na Figura 15.

Figura 15: Fotografias das espécies a) *Lafoensia pacari* b) *Lafoensia replicata*.



Fonte: a autora.

### 2.3.2 *Lafoensia replicata* Pohl

A *L. replicata* é uma árvore endêmica do Brasil com ocorrência no Cerrado de Goiás e Minas Gerais. Possui caule de 2 a 5 metros de altura, folhas com 5 a 15 cm de comprimento e 6 a 11 cm de largura (CAVALCANTI, 2022b). Entretanto, existem poucas informações botânicas sobre essa espécie.

Um estudo etnofarmacológico sobre *L. replicata* foi realizado em 2016, a partir de entrevistas com pessoas da população no leste do Maranhão, constatando que essa espécie é muito utilizada no local para solucionar problemas relacionados ao fígado, inflamações, cicatrização, cura ou alívio para os problemas dos rins. Também foi citado pelos entrevistados seu uso para problemas como gastrite, pressão alta, dor de cabeça e dor de barriga (SOBRINHO; ALMEIDA; MONTEIRO, 2016).

A planta é conhecida na região como mangabeira e a casca do caule foi a parte mais indicada da planta para ser administrada, sendo que todas as pessoas entrevistadas indicam seu uso por via oral. Cerca de 31% dos entrevistados afirmaram que o tratamento é contraindicado durante a gravidez e 15% não recomendaram o uso para crianças. Porém, não há estudo suficiente desta espécie para alicerçar com os dados etnofarmacológicos obtidos a partir dessa população (SOBRINHO, ALMEIDA, MONTEIRO, 2016).

Em um trabalho realizado em 2014 encontrou-se aproximadamente 7,3% (72,75 mg/g de taninos totais) de taninos totais do peso total seco nas cascas do caule de *L. replicata*, através da precipitação de caseína (MONTEIRO et al., 2014), o que pode ser indicativo para uma boa atividade anti-inflamatória e cicatrizante. Vieira et al. (2017) compararam a concentração de fenóis totais nas cascas do caule e nas folhas desta espécie, no Piauí, pelo método Folin-Ciocalteu, e verificaram que não houve diferença no teor de fenóis quando comparado com a parte da planta utilizada. As quantidades de fenóis variaram nos extratos hidrometanólicos das cascas de 2,20 a 6,8%. Nos extratos das folhas, essa variação foi entre 0,62 e 7,08%. Além disso, foi comparado extratos feitos utilizando partes da planta de diferentes alturas e concluiu-se que a altura da espécie e circunferência de seu caule não influenciam na quantidade desses compostos (VIEIRA et al., 2017).

É uma espécie pouco estudada, principalmente quando relacionado a todos os órgãos da planta, tendo poucos trabalhos sobre a sua composição química e avaliação biológica. Assim, o presente trabalho propõe o estudo químico dos extratos das folhas, cascas e galhos da *L. replicata* e a avaliação do seu potencial biológico.

### 3- OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral a avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos das folhas, galhos e cascas de *Lafoensia replicata* frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e o fungo *Candida albicans*, além da identificação dos constituintes químicos destes extratos e verificação do comportamento dos extratos como conservantes em cosmético. Também é objetivo deste trabalho, a comparação das atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos secos obtidos por maceração e tintura.

### 4- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 4.1 Instrumentação

- Balança analítica SHIMADZU modelo ATX224.
- Balança de luz infravermelho para determinação da umidade Quimis modelo Kett FD-600.
- Evaporador rotatório IKA modelo RV 10.
- Liofilizador TERRONI modelo LS3000.
- Lavadora ultrassônica UNIQUE modelo USC 750.
- Espectrofotômetro Thermo Scientific modelo Genesys 10S UV-Vis
- Espectrômetro de massas Maxis Impact, configuração ESI-Q-TOF (Bruker).
- Sistema de cromatografia líquida de alta eficiência Nexera, da Shimadzu
- Incubadora B.O.D. Nova Ética modelo 411/FDP 155L;

#### 4.2 Solventes e reagentes

Os solventes químicos utilizados foram de grau analítico. Solventes para a extração: hexano e etanol que foram destinados para maior grau de pureza. Hexano e acetato de etila foram adquiridos na Isofar. Acetato de sódio, ácido gálico, polietilenoglicol 4000, carbonato de sódio, cloreto alumínio, álcool de cereais, cloreto férrico hexahidratado e vanilina foram adquiridos da Vetec. Ácido acético glacial, ácido sulfúrico concentrado e metanol foram adquiridos da Synth. 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH) e 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) foram adquiridos da Sigma. O ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carboxílico (TROLOX) foi adquirido da Aldrich. Folin-Ciocalteu da marca Dinâmica. O metilparabeno foi adquirido da Casa das Essências.

### 4.3 Material vegetal

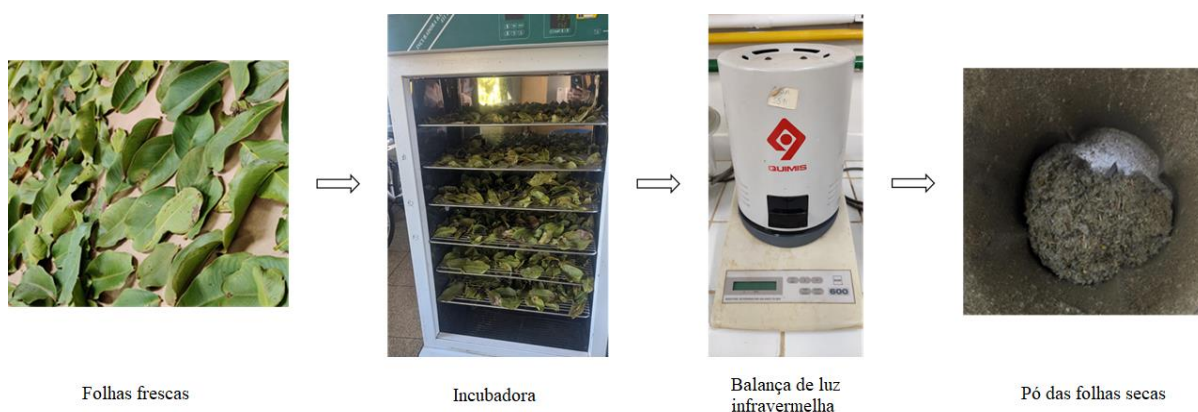
#### 4.3.1 Coleta e preparo

Para acesso ao material vegetal, inicialmente foi realizado o cadastro no Sistema Nacional De Gestão Do Patrimônio Genético E Do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), gerando o número AFB587D. Em seguida, folhas, galhos e cascas da *L. replicata* foram coletados na BR-497 (-18.988982478881983, -48.42070073656116 ou 18°59'20.3"S 48°25'14.5"W, sentido Uberlândia – Prata), no dia 14 de julho de 2021 às 09:00 horas, com o auxílio do Dr. Benedito Alísio da Silva Pereira. As exsiccatas foram preparadas e identificadas pela professora Dra. Taciana B. Cavalcanti, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Posteriormente, foram depositadas nos herbários CEN em Brasília –DF, onde recebeu o número de tombamento CEN 121433 e no herbário da Universidade Federal de Uberlândia, sob o número de registro HUFU 82057.

Após a coleta, as partes aéreas foram levadas para o Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NuPPEN) no Instituto de Química da UFU e colocadas em uma incubadora com circulação de ar a 35 °C para secagem por 5 dias.

O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico através de uma balança de luz infravermelho utilizando-se cerca de 1,0 grama do material vegetal sob temperatura de aproximadamente 105 °C por 15 minutos. Após atingir umidade inferior a 10%, o material foi triturado em liquidificador industrial até se reduzir a pó. Na Figura 16 é apresentado o esquema do preparo do material vegetal.

Figura 16: Esquema do preparo do material vegetal.



Fonte: a autora.

#### 4.3.2 Obtenção dos extratos hexânicos e etanólicos

Os extratos das folhas, cascas e galhos foram obtidos através do processo de maceração, em que o material vegetal triturado foi colocado em contato com o hexano durante 48 horas a temperatura ambiente. Após decorrido o tempo, o solvente foi filtrado e concentrado utilizando um evaporador rotatório à pressão reduzida e banho a 40 °C. O procedimento foi realizado cinco vezes com o solvente hexano, totalizando uma extração por 240 horas, e ao final foi obtido o extrato hexânico (EH). Posteriormente, o extrato etanólico (EE) foi obtido através da adição de etanol ao material remanescente da extração em hexano e repetido o mesmo procedimento por cinco vezes. A relação massa:volume de solvente utilizado por extração para cada parte da planta de *L. replicata* está na Tabela 5.

Tabela 5: Quantidade de material vegetal e solvente utilizada nas extrações.

<b>Parte da planta</b>	<b>Massa após secagem (g)</b>	<b>Volume hexano (mL)</b>	<b>Volume etanol (mL)</b>
Folhas	246,58	670	430
Galhos	423,07	400	300
Cascas	418,54	560	400

Após a remoção dos solventes através do evaporador rotatório à pressão reduzida e banho-maria a 40 °C, os extratos obtidos foram congelados e posteriormente, liofilizados para remoção de água.

#### 4.3.3 Obtenção da tintura (extrato comercial)

A tintura das folhas de *L. replicata* foi obtida de acordo com a literatura (LEMOS; VELHO, 2016), (ANVISA, 2019), através do processo de maceração. O material vegetal seco e triturado foi colocado em contato com álcool de cereais por 30 dias, a temperatura ambiente. Esse extrato foi preparado em duplicata, como descrito na Tabela 6.

Tabela 6: Quantidade de material vegetal e solvente utilizada no preparo da tintura.

<b>Tintura</b>	<b>Massa de folha seca (g)</b>	<b>Volume álcool de cereais (mL)</b>
01	101,72	1000
02	100,51	1000



Em seguida, o solvente da tintura 01 foi filtrado e removido através do evaporador rotatório à pressão reduzida e banho a 40 °C. A tintura 02 foi filtrada e armazenada em temperatura ambiente, em frasco de vidro âmbar, dando origem ao que é comercializado como tintura.

#### 4.4 Prospecção fitoquímica preliminar

As classes de compostos presentes nos extratos de *L. replicata* foram identificadas preliminarmente por meio da prospecção fitoquímica, utilizando-se reações colorimétricas.

Para tanto, os extratos foram solubilizados em metanol obtendo-se a concentração de 1 mg mL<sup>-1</sup> e aplicados, com o auxílio de um capilar, em placas de cromatografia de camada delgada (CCD) da marca SysCroma, com fase estacionária de sílica (60G) gel e indicador de fluorescência.

Para os extratos hexânicos utilizou-se a fase móvel composta por hexano:acetato de etila (7:3, v/v) e para os extratos etanólicos e tintura, a fase móvel foi formada por acetato de etila: hexano: ácido fórmico (9:1:0,2, v/v/v).

O preparo dos reveladores utilizados na análise foi realizado de acordo com WAGNER; BLADT (1996), conforme descrito a seguir:

a) Detecção de terpenos, esteroides, açúcares e fenóis

Anisalaldeído-ácido sulfúrico: Uma solução contendo 5% (v/v) em ácido acético glacial foi preparada. A esta solução foram adicionados 85,0 mL de metanol e 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, nessa ordem. A placa CCD foi borrifada com o revelador e aquecida a 100 °C por aproximadamente 10 minutos.

b) Detecção de terpenos e esteroides

Liebermann-Burchard: 5,0 mL de anidrido acético e 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado foram adicionados cuidadosamente a 50,0 mL de etanol absoluto, sob banho de gelo. A placa CCD foi pulverizada com 10,0 mL da solução e aquecida por aproximadamente 10 minutos e posteriormente observada em câmara luz UV (365 nm).

c) Detecção de terpenos, taninos, flavonoides e saponinas

Vanilina: Uma solução A contendo vanilina 1% (m/v) em etanol e uma solução B contendo ácido sulfúrico 5% (v/v) em metanol foram preparadas. A placa CCD foi borrifada com solução A seguida da B e aquecida a 100 °C por aproximadamente 10 minutos.

d) Detecção de alcaloides

Dragendorf: Uma solução A foi preparada, dissolvendo-se 0,85 g de nitrato de bismuto em 10,0 mL de ácido acético glacial e adicionados 40,0 mL de água destilada, sob aquecimento. Uma solução B foi preparada dissolvendo-se 8,0 gramas de iodeto de potássio em 30,0 mL de água.

Uma solução estoque foi preparada misturando a solução A e B na mesma proporção. A solução reveladora foi preparada com 1,0 mL da solução estoque, 2,0 mL ácido acético glacial e 10,0 mL de água.

Iodocloroplatinado: Foi preparada uma solução A com ácido hexacloroplatínico (IV) 5% em água (m/v) e uma solução B contendo iodeto de potássio 10% em água (m/v). A solução reveladora foi preparada com 1,0 mL da solução A, 9,0 mL da solução B e 10,0 mL de água.

e) Detecção de flavonoides

NP/PEG: Foi preparada uma solução A contendo difenilboriloxietilamina (NP) 1% ( $m\ v^{-1}$ ) em metanol e uma solução B contendo polietilenoglicol 4000 (PEG 4000) 5% ( $m\ v^{-1}$ ) em etanol. A solução reveladora foi preparada com 10,0 mL da solução A e 8,0 mL da solução B. Após a borrifação, a placa CCD foi observada em câmara de luz UV (365 nm).

Cloreto de alumínio: Uma solução contendo  $AlCl_3$  1% ( $m\ v^{-1}$ ) em metanol foi preparada. A placa CCD foi borrifada com o revelador e observada em luz visível.

#### 4.5 Determinação do Teor de Fenóis Totais (FT)

O teor de fenóis totais para os extratos das folhas, cascas e galhos foi determinado de acordo com a metodologia de QUARESMA et al. (2020). Foi adicionado 0,5 mL de solução metanólica do extrato com concentração de  $250\ \mu g\ mL^{-1}$  em um tubo de ensaio, juntamente com 2,0 mL de uma solução recém preparada de carbonato de sódio 7,5% ( $m\ v^{-1}$ ), seguida de 2,5 mL de solução aquosa do reagente de Folin-Ciocalteu 10% ( $v\ v^{-1}$ ). Essa mistura foi mantida em banho a  $50\ ^\circ C$  por 5 minutos. Para preparo do branco, foi feito o mesmo procedimento utilizando 0,5 mL de metanol.

Uma curva analítica de absorvância *versus* concentração de ácido gálico utilizada foi construída, variando-se a concentração deste entre soluções metanólicas de 5 a  $60\ \mu g\ mL^{-1}$ , reagindo com o Folin-Ciocalteu.

A absorvância da mistura foi medida em 760 nm, utilizando-se um espectrofotômetro. O resultado obtido foi expresso em mg equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato. As análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.6 Determinação da atividade antioxidante

##### 4.6.1 Método do sequestro do radical DPPH

As análises de atividade antioxidante dos extratos das folhas, cascas, galhos e tintura, foram realizadas de forma adaptada, segundo QUARESMA et al. (2020), pelo método espectrofotométrico em 517 nm. Uma solução de DPPH foi preparada em metanol na

concentração de  $38 \text{ mg mL}^{-1}$ , sendo diluída até apresentar uma absorvância de 0,99. As soluções dos extratos foram preparadas em metanol nas concentrações de 50 a  $333,3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para os extratos hexânicos, 0,08 a  $8,30 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para os extratos etanólicos e comercial e 0,14 a  $1,70 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para o BHT (hidroxitolueno butilado). Foram adicionados 0,2 mL destas soluções e 2,8 mL de DPPH em tubos de ensaio, protegidos da luz e mantidos em repouso por 1 hora, em temperatura ambiente. Após este intervalo, as absorvâncias das amostras foram medidas em 517 nm no espectrofotômetro. O controle foi realizado substituindo-se 0,2 mL de extrato por metanol e o branco substituindo-se 2,8 mL de DPPH por metanol. O BHT foi utilizado como controle positivo.

O cálculo da porcentagem de atividade antioxidante (AA) que corresponde à porcentagem de DPPH sequestrado foi feito a partir da Equação 1:

$$AA = DPPH_{\text{sequestrado}} (\%) = \left( \frac{Abs_{\text{controle}} - (Abs_{\text{amostra}} - Abs_{\text{branco}})}{Abs_{\text{controle}}} \right) 100 \text{ Equação 1}$$

em que  $Abs_{\text{controle}}$ ,  $Abs_{\text{amostra}}$  e  $Abs_{\text{branco}}$  são, respectivamente, absorvância inicial da solução metanólica de DPPH, absorvância da mistura reacional (amostra + DPPH) após 1 hora de reação e absorvância da amostra em metanol.

As medidas das concentrações eficientes ( $CE_{50}$ ), que representam a concentração de amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais de DPPH, foram calculadas através da regressão linear da curva analítica do gráfico da porcentagem de DPPH sequestrado após 1 hora de reação *versus* as concentrações dos extratos.

#### **4.6.2 Método da capacidade de redução do Ferro (Ferric Reducing Antioxidant Power – FRAP)**

O ensaio foi feito de acordo com MALTA; LIU (2014), com algumas modificações. Inicialmente foram preparadas as soluções estoques:

- a) Solução de HCl 40 mM: Adicionou-se 0,334 mL de HCl concentrado em um balão volumétrico de 100 mL e completou o volume com água destilada. Homogeneizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar.
- b) Solução de 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) 10 mM: Dissolveu-se 0,078 g de TPTZ em HCl 40 mM e completou-se o volume para 25 mL em um balão volumétrico com HCl 40 mM.
- c) Solução de cloreto férrico 20 mM: Dissolveu-se 0,0539 g de  $\text{FeCl}_3$  em água destilada e completou-se o volume para 100 mL em um balão volumétrico com água destilada.

- d) Solução tampão acetato 0,3 M pH 3,6: Dissolveu-se 0,3103 g de acetato de sódio em 1,6 mL de ácido acético glacial e completou-se o volume para 100 mL em um balão volumétrico com água destilada.
- e) Solução do reagente *FRAP*: Misturou-se 100 mL de tampão acetato 0,3 M, 10 mL da solução de TPTZ e 10 mL da solução de cloreto férrico 20 mM. Essa solução foi aquecida por 30 minutos, logo antes de ser usada.
- f) Solução padrão de Trolox 1600 µM: Dissolveu-se 0,0800 g de Trolox em metanol e completou-se o volume para 200 mL em um balão volumétrico com metanol.

A partir da solução mãe de Trolox, preparou-se uma curva padrão entre 25 e 480 µmol/L em metanol.

Os extratos foram preparados na concentração de 50 µg mL<sup>-1</sup> em metanol. Em tubos de ensaio, 0,15 mL das soluções da curva padrão e dos extratos foram deixadas reagir com 2,85 mL da solução *FRAP* (anteriormente aquecida) por 10 minutos no escuro. As leituras do produto colorido foram feitas em 593 nm. Os resultados foram expressos em µmol de Trolox por grama de massa.

#### **4.7 Avaliação da atividade antibacteriana**

A atividade antibacteriana foi avaliada utilizando-se o método de microdiluição em caldo, seguindo a metodologia descrita por CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) para as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. As análises foram realizadas em colaboração com o Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins do Laboratório de Ensaio Antimicrobianos (LEA).

##### **4.7.1 Microrganismos utilizados**

A atividade antibacteriana da tintura e dos extratos etanólicos e hexânicos das folhas, cascas e caules de *L. replicata* foi avaliada utilizando-se as seguintes cepas de bactérias aeróbias provenientes da *ATCC* (*American Type Culture Collection*) (Rockville MD, USA): *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

##### **4.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição**

O meio de cultura utilizado foi o caldo Mueller-Hinton (MH) (CLSI, 2012). Para os inóculos utilizados, com o auxílio de uma alça de platina esterilizada, culturas de 24 horas dos microrganismos crescidos no meio de cultura de ágar Mueller-Hinton, foram transferidas para

tubos contendo caldo MH. Através de um turbidímetro, os inóculos foram padronizados fazendo a comparação de sua turbidez com o tubo 0,5 da escala de McFarland (correspondente à  $1,5 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>). A análise da atividade antibacteriana foi realizada em uma microplaca contendo 96 poços. O inóculo, o caldo e as amostras foram adicionados em cada orifício, obtendo-se um volume final de 200 µL. O volume de inóculo adicionado nos orifícios da microplaca foi de 20 µL. O volume de amostra e de caldo variou conforme a concentração da amostra desejada no orifício. As amostras foram inicialmente preparadas com concentração de 8000 µg mL<sup>-1</sup> em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluídas para 3200 µg mL<sup>-1</sup> utilizando o caldo. A faixa de concentração de amostras utilizada nos experimentos foi de 0,39 a 800 µg mL<sup>-1</sup>. Como controle negativo foi utilizado o DMSO (concentração de 4%, v:v, na microplaca). Como controle positivo foi empregada a gentamicina na concentração de 0,015 a 5,90 µg mL<sup>-1</sup>.

Em seguida, as microplacas foram seladas com parafilme e incubadas a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foram adicionados 30 µL do indicador resazurina (0,02% em água) em cada orifício, seguida de nova incubação por 30 minutos a 37 °C. A coloração azul após a adição do indicador representa a ausência de crescimento bacteriano, sendo a coloração vermelha a presença do crescimento bacteriano.

#### **4.8 Avaliação da atividade antifúngica**

A atividade antifúngica foi avaliada utilizando-se o método da microdiluição em caldo, seguindo a metodologia descrita por *CLSI* (2017). As análises foram realizadas em colaboração com o Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins do Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA).

##### **4.8.1 Microrganismo utilizado**

O fungo utilizado foi *Candida albicans*, obtido da *ATCC* (Rockville MD, USA).

##### **4.8.2 Determinação da concentração inibitória mínima pelo método da microdiluição**

Soluções estoque foram inicialmente preparadas dissolvendo-se as amostras dos extratos, em DMSO na concentração de 192.000 µg mL<sup>-1</sup>. Diluições com as soluções estoque foram realizadas em meio de cultura RPMI 1640 tamponado a pH 7,2 com 0,165 mol L<sup>-1</sup> do ácido 3-*N*-morfolinopropanosulfônico (MOPS) a 12.000 µg mL<sup>-1</sup> sendo estas as soluções de trabalho. O inóculo foi preparado usando método espectrofotométrico e comparado a escala de McFarland 0,5 para se obter o valor de  $6,0 \times 10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>. Em seguida foram realizadas as diluições recomendadas pela *CLSI* (2008) em caldo RPMI até que o inóculo atingisse  $1,2 \times 10^3$

UFC mL<sup>-1</sup>. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada em placas de microdiluição com 96 poços, em que foram feitas diluições seriadas com as concentrações finais dos extratos e frações variando entre 1,46 a 3000 µg mL<sup>-1</sup>. Cada poço recebeu 100 µL da suspensão do inóculo e o volume final em cada poço foi de 200 µL. O controle negativo (DMSO) foi testado com concentrações variando de 10 a 1% v/v e não influenciou no crescimento da *C. albicans*. O meio de cultura adicionado de inóculo foi usado como controle de crescimento. Para a validação dos ensaios, o controle positivo anfotericina B foi testado frente a cepas de referência *C. parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 6258) na concentração de 0,031 a 16 µg mL<sup>-1</sup>.

#### **4.9 Análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE-IES-EM)**

As análises para identificação de compostos presentes nos extratos foram feitas no Centro de Espectrometria de Massas de Biomoléculas (CEMBIO), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), empregando-se espectrômetro de massas Maxis Impact, configuração ESI-Q-TOF (Bruker) com fonte de ionização por electrospray, cuja calibração interna foi realizada com formiato de sódio a 100 µM em água/acetronitrila 1:1 e modo de aquisição dependente de dados (DDA/AutoMS), com isolamento/fragmentação de três precursores por ciclo. O fluxo de gás nebulizante foi de 8,0 L min<sup>-1</sup> e os dados foram adquiridos nos modos positivo e negativo. Para serem submetidos à análise de *LC-MS*, os extratos etanólicos e comercial foram preparados na concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup> em metanol. Os extratos hexânicos das cascas e galhos na concentração de 15 mg mL<sup>-1</sup> em metanol:clorofórmio (3:1, v/v). Para o extrato hexânico das folhas, foi preparada inicialmente uma solução de 15 mg mL<sup>-1</sup> em metanol:clorofórmio (1:1, v/v) e depois diluída em metanol para 2 mg mL<sup>-1</sup>.

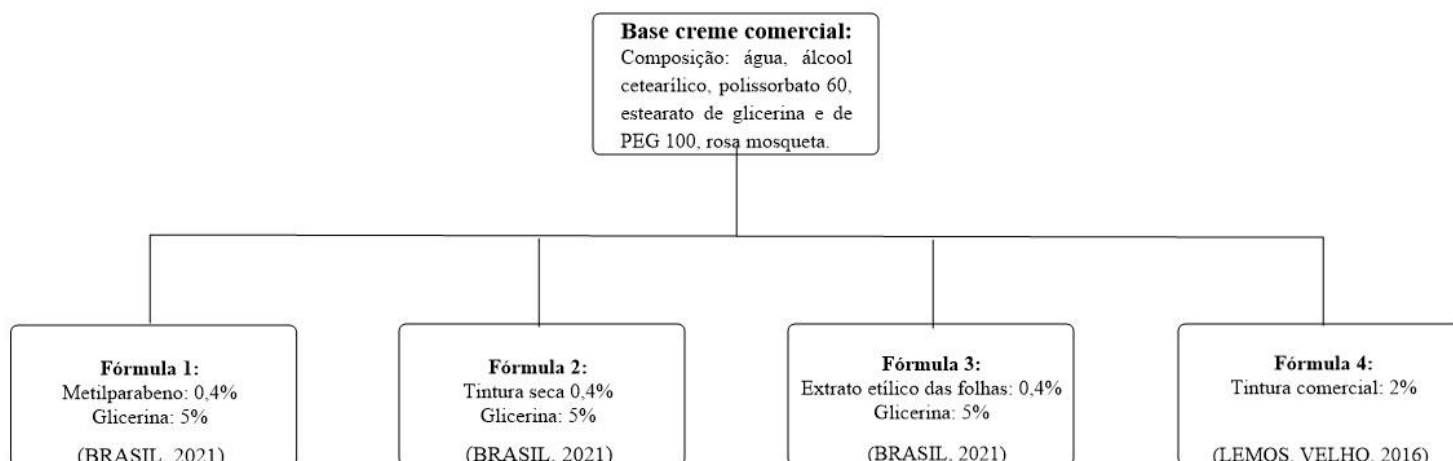
Acoplado ao espectrômetro de massas, foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência Nexera, da Shimadzu, com coluna Ascentis C18 150 x 1 mm, 3 µm de tamanho de partícula (Supelco), fase móvel A: água com 0,1% ácido fórmico e B: metanol. Foi injetado 10 µL de amostra, com fluxo 0,075 mL min<sup>-1</sup> utilizando-se o seguinte sistema gradiente de solvente: 5-75% de B (1 a 5 min); 75-100% de B (5 – 15 min); 100% de B (15 – 24 min); 100-5% de B (24 – 25,2 min); 5% de B (25,2 – 32 min).

#### 4.10 Preparação de cremes hidratantes utilizando extrato etanólico das folhas de *Lafoensia replicata*, tintura e metilparabeno

Quatro cremes hidratantes de uso tópico foram preparados, de acordo com a RDC nº 14, de 14 de março de 2013, em parceria com a empresa D'brisse® (BRASIL, 2013). Para todos eles, foi utilizada uma base creme vendida no mercado, com a seguinte composição: álcool cetearílico, polissorbato 60, estearato de glicerina e de PEG 100, rosa mosqueta e água.

O extrato etanólico das folhas, o metilparabeno e a tintura seca foram pesados e dissolvidos em 5% (em relação ao peso final do produto) de glicerina e em seguida incorporados no creme base até perfeita homogeneização. A tintura comercial foi adicionada diretamente na base creme. As proporções utilizadas estão descritas na Figura 17.

Figura 17: Esquema das formulações em base creme comercial manipuladas nesse estudo.



Fonte: a autora.

#### 4.11 Teste de eficácia do sistema conservante dos cremes – “Challenge Test”

O teste de desafio do sistema conservante de cosméticos consiste na contaminação proposital do produto com inóculos de células/g (a concentração do inóculo utilizado deve ser suficiente para se obter uma concentração final no produto entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  UFC/g O e o volume de inóculo a ser introduzido deve estar entre 0,5% e 1,0% em relação ao peso) de cada um dos microrganismos (*Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosas* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e determinação da carga sobrevivente em determinados intervalos de tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), avaliando-se a eficácia dos conservantes utilizados na produção.

Este ensaio foi realizado por um laboratório particular (Prolab Biotecnologia), em parceria com a empresa de cosméticos D'brisse®, de acordo com a legislação vigente na Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (ANVISA, 2019).

#### **4.12 Análise estatística**

Para avaliar os resultados obtidos nas análises de determinação de teor de fenóis totais e atividade antioxidante, utilizou-se o método da Análise de Variância (ANOVA), sendo que aqueles que apresentaram nível de significância menor que 5% ( $p < 0,05$ ) foram considerados estatisticamente diferentes. E para determinar as diferenças significativas entre as médias, foi considerado o teste de Tukey. As análises foram realizadas usando o programa SigmaPlot 11.0.

## **5- RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Rendimento dos extratos obtidos**

Na Tabela 7 são apresentados os rendimentos das extrações realizadas por maceração das folhas, galhos e cascas, a temperatura ambiente.

Inicialmente, foi feita a extração do material de estudo com hexano, dando origem aos extratos hexânicos (EH) para extrair compostos de baixa polaridade. Em seguida, os extratos etanólicos (EE) foram obtidos com o etanol 98%, permitindo a extração de compostos com diferentes polaridades (MEDEIROS; KANIS, 2010).

De acordo com a Farmacopeia Brasileira, tintura é:

“a preparação alcoólica ou hidroalcóolica resultante da extração de drogas vegetais ou da diluição dos respectivos extratos. São obtidas por extração a líquido usando 1 parte, em massa, de droga vegetal e 10 partes de solvente de extração. Outras proporções de droga vegetal e solvente de extração podem ser utilizadas” (ANVISA, 2019).

No mercado, é comum a venda do álcool etílico hidratado (96%) com o nome de álcool de cereais como totalmente natural e para a finalidade de produção de cosméticos (CEOTI, 2022, ESSÊNCIAS, C. D., 2022, ESSÊNCIAS, I. D., 2022, MIDELT, 2022). Por esse motivo, a tintura foi preparada utilizando este solvente.



Tabela 7: Rendimentos obtidos dos EH, EE e tintura seca, das folhas, cascas e galhos da *L. replicata*.

Extrato	Massa das folhas secas (g)	Massa obtida de extrato (g)	Rendimento (%)
EH folhas	246,58	8,85	3,59
EH cascas	418,54	0,47	0,11
EH galhos	423,07	0,87	0,21
EE folhas	246,58	16,43	6,66
EE cascas	418,54	11,83	2,83
EE galhos	423,07	7,22	1,71
Tintura seca	101,72	14,80	14,55

Nota: EH: Extrato hexânico; EE: extrato etanólico.

É possível notar que os extratos etanólicos tiveram maior rendimento que os hexânicos e isso acontece devido a polaridade do etanol. Nota-se que a tintura obteve o maior rendimento, seguido dos extratos etanólicos das folhas, cascas e galhos, respectivamente. Comparando as partes da planta, os extratos que obtiveram maiores rendimentos foram os extraídos a partir das folhas. Essa diferença de rendimento para a tintura se deve ao fato de que em sua preparação, não houve a extração com mais de um solvente. Diferente dos demais extratos nos quais os compostos de baixa polaridade ficaram retidos no extrato hexânico e os compostos polares no extrato etanólico, na tintura todos os compostos ficaram juntos na mesma fração.

Compostos macromoleculares como celulose, lignina e hemicelulose que compõem a parede celular e são responsáveis pela sustentação vegetal, representam a maior parte da composição dos troncos da árvore e não são extraídos pelo método de maceração com solventes orgânicos. Isso justifica o menor rendimento dos extratos dos galhos e cascas da *L. replicata*, uma vez que a quantidade de compostos que podem ser extraídos por solventes orgânicos é menor.

## 5.2 Prospecção fitoquímica

De acordo com a Tabela 8, é possível notar um comportamento muito semelhante entre os extratos preparados utilizando-se o mesmo solvente. Para os extratos hexânicos de todas as partes da planta, evidenciou-se a presença de terpenos, esteroides, açúcares e fenóis. Os mesmos compostos estão presentes nos extratos etanólicos e no extrato comercial, sendo que nestes, nos quais foi usado um solvente com polaridade maior, também confirmou-se a presença de flavonoides.

A presença de alcaloides não foi observada em nenhum dos extratos, o que foi avaliado através dos reagentes Iodocloro platinado e Reagente de Dragendorff.

Tabela 8: Prospecção fitoquímica dos extratos hexânicos e etanólicos de folhas, cascas e galhos da planta *Lafoensia replicata* Pohl e da tintura.

	Flavonoides		Alcaloides		Terpenos, Esteroides	Terpenos, esteroides, açúcares e fenol	
	NP/PEG	AlCl <sub>3</sub>	Iodocloro platinado	Dragendorff	Liebermann Burchard	Anisaldeído	Vanilina sulfúrica
EH folhas	-	-	-	-	+++	+++	++
EH cascas	-	-	-	-	++	++	+
EH galhos	-	-	-	-	++	+++	++
EE folhas	+++	++	-	-	+++	+++	+++
EE cascas	+++	++	-	-	+++	++	++
EE galhos	+++	++	-	-	+++	+++	++
Tintura seca	+++	+++	-	-	+++	++	++

Nota: EH: Extrato hexânico; EE: extrato etanólico; Intensidade: (-): ausente; (+): fraca; (++) : média; (+++): forte.

### 5.3 Análises do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por comparação com uma curva analítica de um gráfico da absorvância do produto da reação entre o ácido gálico e o reagente Folin-Ciocalteu *versus* a concentração do ácido gálico, da qual se obteve a equação  $y = 0,0147x + 0,0554$  com  $r^2 = 0,9904$ , sendo  $y$  a absorvância e  $x$  a concentração de ácido gálico. O teor de FT foi expresso em  $mg$  de equivalente de ácido gálico por grama de extrato ( $mgEAG\ g_{extrato}^{-1}$ ). Quanto maior for este valor, maior é o teor de FT na amostra. Na Tabela 9 são mostrados os resultados obtidos para todos os extratos em estudo.

Tabela 9: Teor de fenóis totais dos extratos hexânicos e etanólicos de folhas, cascas e galhos da planta *Lafoensia replicata* e da tintura.

Amostra	Teor de fenóis totais (mg EAG g <sub>extrato</sub> <sup>-1</sup> )
EH folhas	43,4 ± 1,8 <sup>a</sup>
EH cascas	40,7 ± 0,2 <sup>b</sup>
EH galhos	28,3 ± 1,3 <sup>c</sup>
EE folhas	253,7 ± 2,6 <sup>d</sup>
EE cascas	270,4 ± 2,2 <sup>e</sup>
EE galhos	272,1 ± 1,6 <sup>e</sup>
Tintura seca	230,2 ± 2,1 <sup>f</sup>

Nota: EH: Extrato hexânico; EE: extrato etanólico. As análises com a mesma letra não mostraram diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey a 5% para o mesmo ensaio. Foi obtido p <0,01 para todas as correlações com médias diferentes.

Os extratos etanólicos e a tintura apresentaram maiores índices de fenóis totais, com teores entre 230 e 272 mg EAG g<sub>extrato</sub><sup>-1</sup>. Estatisticamente, os únicos extratos que não possuem diferença nos valores de fenóis totais entre si são os extratos etanólicos dos galhos e cascas, entretanto o extrato etanólico das folhas e tintura também apresentam considerável teor de FT. Já as extrações hexânicas apresentaram baixas concentrações de fenóis, variando de 28 a 43 mg EAG g<sub>extrato</sub><sup>-1</sup>.

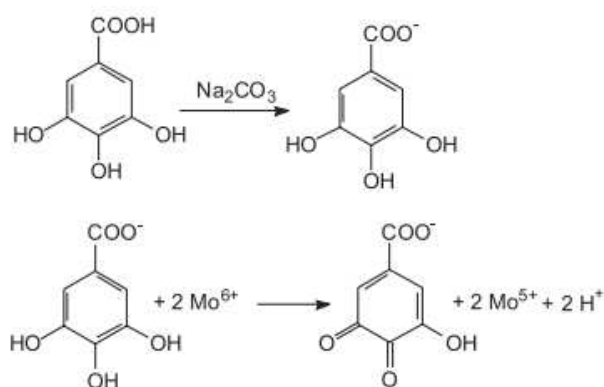
Algumas espécies da mesma família já tiveram o teor de FT determinados, utilizando-se a mesma metodologia deste trabalho e na Tabela 10 são mostradas algumas espécies e seus respectivos valores em mg EAG g<sub>extrato</sub><sup>-1</sup>. Pelos dados mostrados pode-se observar que os extratos da espécie estudada apresentaram valores maiores aos obtidos por outras espécies da mesma família.

Tabela 10: Teor de fenóis totais para extratos de espécies da família Lythraceae.

Espécie	Teor de fenóis totais (mg EAG g <sub>extrato</sub> <sup>-1</sup> )	Referência
Extrato hidroetanólico das folhas de <i>Lythrum salicaria</i> L (Sérvia)	201,50 ± 11,49	(SREČKOVIĆ et al., 2020)
Extrato aquoso <i>Cuphea calophylla</i> (Antioquia Oriental)	248,0 ± 3,3	(JIMÉNEZ et al., 2015)
Extrato aquoso <i>Cuphea aequipetala</i> (México)	109,9 ± 10,3	(PALACIOS-ESPINOSA et al., 2014)

O reagente Folin-Ciocalteu é a mistura entre dois ácidos: fosfotúngstico ( $H_3P(W_3O_{10})_4$ ) e fosfomolibídico ( $H_3P(Mo_3O_{10})_4$ ). O molibdênio deste reagente se encontra no estado de oxidação (VI) e possui coloração amarela. Quando entra em contato com compostos fenólicos (que são agentes redutores), são formados complexos de coloração azul e os estados de oxidação dos metais (molibdênio-tungstênio) variam entre (V) e (VI), permitindo através do método colorimétrico, determinar a concentração de substâncias redutoras presentes nos extratos (OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 18: Reação do ácido gálico com molibdênio.



Fonte: (OLIVEIRA et al., 2009).

De maneira geral, os compostos fenólicos são polares e os diferentes valores na concentração de FT nos extratos podem ser explicados pela diferença de polaridade do hexano (apolar) e etanol (polar) que foram utilizados na extração que faz com que compostos distintos presentes nas amostras solubilizem com os solventes. Essas interações entre solvente e extrato

são responsáveis pelas características individuais de cada extrato, podendo estar presente uniformemente em diferentes locais da planta ou somente em alguma área específica.

As plantas sintetizam, durante seu metabolismo secundário por vias bioquímicas, compostos fenólicos como resposta à estímulos ambientais como ataque de patógenos e insetos, ferimentos e radiação UV (KENNEDY; WIGHTMAN, 2011).

Estes compostos possuem em sua estrutura, um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila. Dentre eles, estão os taninos condensados, ácidos fenólicos, ligninas, lignanas e flavonoides. São considerados de grande interesse por possuírem propriedades antioxidantes, pois são capazes de eliminar os radicais livres, através da doação de átomos de hidrogênio ou elétrons. A estrutura do composto é determinante para sua atividade. Nos ácidos fenólicos, por exemplo, a quantidade e a posição das hidroxilas em relação à carboxila influenciam diretamente na atividade antioxidante do composto (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

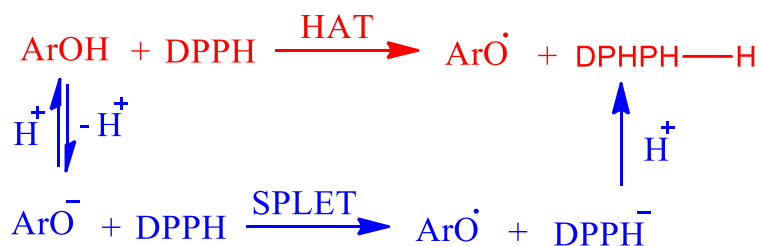
Os resultados espectrofotométricos para o teor de FT corroboram com a prospecção fitoquímica, na qual os extratos etanólicos de *L. replicata* indicaram na sua composição a presença de compostos fenólicos, incluindo flavonoides. Por isso, foram realizados os testes para verificar a atividade antioxidante dos mesmos.

#### **5.4 Atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH**

A análise da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH é baseada na medida do consumo do radical DPPH pelo extrato. Para isso, mede-se a capacidade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil em reagir com substâncias doadoras de hidrogênio, incluindo compostos fenólicos (MENSOR et al., 2001). Ocorre uma reação de oxirredução, na qual o radical DPPH com coloração violeta, é reduzido para DPPH-H, alterando a coloração da mistura para amarelo (BADARINATH et al., 2010).

Os compostos fenólicos podem reagir com o radical DPPH por dois mecanismos: perda sequencial de próton na transferência de elétron (*SPLET – Sequential proton loss electron transfer*) ou por transferência de hidrogênio (*HAT – Hydrogen atom transfer*), como descrito na Figura 19.

Figura 19: Mecanismos da reação entre compostos fenólicos e o radical DPPH



Fonte: a autora

No mecanismo *HAT*, mede-se a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais livres pela doação de hidrogênio do composto fenólico para o radical DPPH (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005), enquanto que no mecanismo *SPLET* é medida a capacidade do ânion ( $\text{ArO}^-$ ) de transferir um elétron ao radical DPPH, após a hidroxila do grupo fenólico ter desprotonado (FOTI; DAQUINO; GERACI, 2004)

Os extratos hexânicos e etanólicos foram avaliados quanto a capacidade de reação com o radical DPPH. Os resultados foram expressos em concentração eficiente ( $\text{CE}_{50}$ ), em  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de extrato, que é a concentração de extrato necessária para reagir com 50% do radical DPPH. Quanto menor for este valor, maior é atividade antioxidante da amostra.

De acordo com REYNERTSON; BASILE; KENNELLY (2005), a intensidade da atividade antioxidante de um extrato pode ser relacionada com o valor obtido de  $\text{CE}_{50}$ , conforme mostrado na Tabela 11.

Tabela 11: Relação entre os valores de  $\text{CE}_{50}$  e a intensidade de atividade antioxidante.

DPPH ( $\text{CE}_{50}$ , $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Intensidade de atividade antioxidante
< 50	Elevada
50 – 100	Moderada
100 - 200	Baixa
>200	Inativa

As absorvâncias da reação entre 0,2 mL dos extratos preparados em diferentes concentrações (50 a  $333,3 \mu\text{g mL}^{-1}$  para os extratos hexânicos, 0,08 a  $8,30 \mu\text{g mL}^{-1}$  para os extratos etanólicos e comercial e 0,14 a  $1,70 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o BHT) com 2,8 mL do reagente DPPH, foram medidas em 517 nm, em triplicata. Os valores de  $\text{CE}_{50}$  foram determinados por regressão linear e se obteve o gráfico no qual a abscissa representa a concentração do extrato testado e a ordenada a proporção da porcentagem da atividade antioxidante.

Na Tabela 12 são apresentados os valores de  $CE_{50}$  da análise de sequestro do radical DPPH dos extratos etanólicos, hexânicos das folhas, galhos e cascas e do extrato comercial.

Tabela 12: Valores de  $CE_{50}$  da análise da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical DPPH dos extratos da planta *L. replicata*.

<b>Amostra</b>	<b>DPPH (<math>CE_{50}</math> <math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
EH folhas	> 200
EH cascas	> 200
EH galhos	> 200
EE folhas	$4,24 \pm 0,16^a$
EE cascas	$4,35 \pm 0,37^a$
EE galhos	$3,52 \pm 0,10^b$
Tintura seca	$3,50 \pm 0,06^b$
BHT	$2,58 \pm 0,01^c$
Extrato hidroetanólico de <i>L. pacari</i> (PEREIRA et al., 2018)	$8,5 \pm 0,10$

Nota: EH: Extrato hexânico; EE: extrato etanólico. As análises com a mesma letra não mostraram diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey a 5% para o mesmo ensaio. Foi obtido  $p < 0,01$  para todas as correlações com médias diferentes.

A partir dos dados das Tabelas 15 e 16, pode-se verificar que o extrato comercial e os extratos etanólicos apresentaram valores de  $CE_{50}$ , todos menores que 50, ou seja, apesar da diferença estatisticamente significativa entre eles, todos tiveram intensidade de atividade antioxidante elevada e com valores próximos ao  $CE_{50}$  do BHT, um antioxidante sintético e utilizado como padrão positivo. Além disso, os valores encontrados para estes extratos foram melhores que o resultado que Pereira et. al (2018) encontrou para o extrato hidroetanólico de *L. pacari*. Isto mostra quão promissor são os extratos da planta *L. replicata*.

Os extratos hexânicos apresentaram valores de  $CE_{50} > 200 \mu\text{g mL}^{-1}$ , ou seja, não possuem boa atividade antioxidante. Isso pode ser explicado pelo fato de possuírem menor quantidade de compostos fenólicos em suas composições.

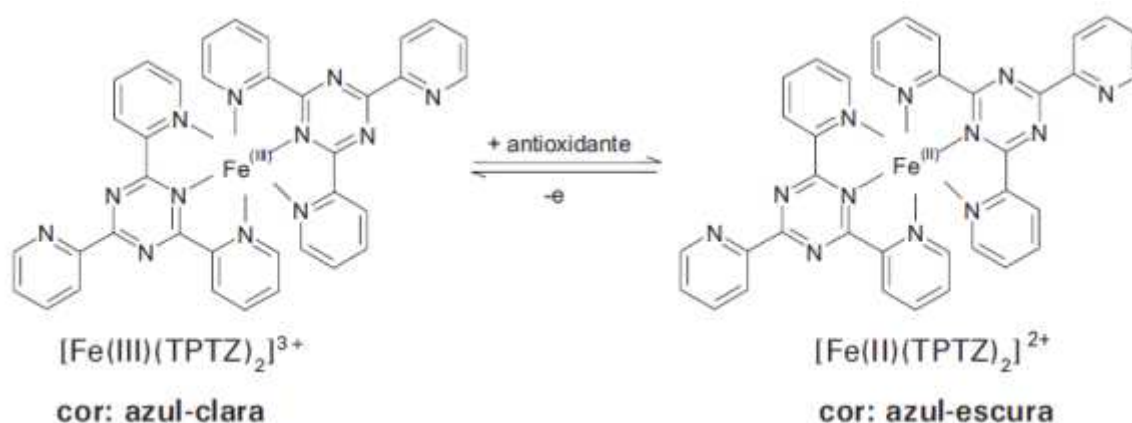
Baseado no mecanismo da redução da molécula de DPPH e nos resultados obtidos nos ensaios de prospecção fitoquímica e índice de fenóis dos extratos, é possível relacionar esta alta atividade antioxidante dos extratos etanólicos e comercial, pelo menos em parte, à presença de

substâncias com hidroxilas disponíveis, como por exemplo, flavonoides (MENSOR et al., 2001).

### 5.5 Atividade antioxidante pelo método da capacidade da redução do ferro (*FRAP*)

Este é um ensaio colorimétrico e mede a capacidade dos fenóis de reduzir o  $\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{Fe}^{2+}$  em condições ácidas. Quando isso acontece na presença de 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-trizina (TPTZ) forma-se um complexo com uma cor azul intensa, com absorção em 593 nm (BENZIE; STRAIN, 1996).

Figura 20: Reação de redução do complexo TPTZ com  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  pela adição de um antioxidante.



Fonte: (RUFINO et al., 2006).

A atividade antioxidante pelo método *FRAP* é determinada por comparação com uma curva analítica de um gráfico da absorbância da reação entre o Trolox e o reagente *FRAP* versus a concentração do Trolox, da qual se obteve a equação  $y = 0,0019x + 0,0489$  com  $r^2 = 0,9908$ , sendo  $y$  a absorbância e  $x$  a concentração de Trolox. O resultado foi expresso em  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente/g de amostra. Sendo assim, esse método foi utilizado para ver o potencial redutor das amostras. Quanto mais  $\text{Fe}^{2+}$  no final da reação, maior será a atividade antioxidante. Na Tabela 13 são mostrados os resultados obtidos para todos os extratos em estudo.



Tabela 13: Valores de Equivalente de Trolox em  $\mu\text{mol/g}$  de amostra da análise da atividade antioxidante pelo método da capacidade da redução do ferro dos extratos da planta *L. replicata*.

Amostra	Equivalente de Trolox em $\mu\text{mol g}_{\text{amostra}}^{-1}$
EH folhas	$84,67 \pm 3,47^a$
EH cascas	$46,42 \pm 2,78^b$
EH galhos	$156,25 \pm 3,25^c$
EE folhas	$473,79 \pm 6,82^d$
EE cascas	$389,23 \pm 8,61^e$
EE galhos	$548,17 \pm 7,31^f$
Tintura seca	$681,16 \pm 5,23^g$

Nota: EH: Extrato hexânico; EE: extrato etanólico. Não houve resultado sem diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey a 5% para o mesmo ensaio. Foi obtido  $p < 0,01$  para todas as correlações com médias diferentes.

O extrato comercial foi o que apresentou maior atividade antioxidante comparada com os outros extratos. Nota-se que os extratos hexânicos, pela falta de compostos fenólicos em sua composição, possuem baixa atividade.

Ao comparar os testes de DPPH e FRAP, observa-se que para ambos, o extrato comercial foi o que apresentou a melhor atividade antioxidante, seguido dos extratos etanólicos dos galhos, folhas e cascas.

Essa atividade antioxidante dos extratos de *L. replicata* pode ser explicada pelo alto teor de compostos fenólicos encontrado pelo método Folin.

### 5.6 Atividade antimicrobiana dos extratos de *Lafoensia replicata*

A Resolução RDC nº 630, de 10 de março de 2022 estabelece parâmetros para o controle microbiológico de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Dentre os microrganismos que devem ser avaliados estão *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas* e coliformes totais e fecais (BRASIL,2022).

Estes produtos estão sujeitos à contaminação por microrganismos durante todo o processo de fabricação. Por isso, é necessário antes de sua comercialização que as fontes potenciais de contaminação (funcionários, instalações, equipamentos e aparelhos, materiais de produção e recipientes) sejam submetidas a um programa adequado de sanitização e higiene (BRASIL, 2013).

Um produto que possui conservantes que previnam o crescimento microbiano em sua composição pode sofrer degradação se apresentar elevada quantidade de microrganismos, comprometendo a qualidade e segurança do mesmo (HUGO, 1991). Além disso, um cosmético contaminado representa risco de infecção em pacientes imunocomprometidos. A contagem e o tipo de microrganismo que se deve pesquisar podem variar dependendo do uso do produto. A *Pseudomonas aeruginosa* está dentro de um dos patogênicos conhecidos mais pesquisados, a *E.coli* é um indicador de contaminação fecal e o *Staphylococcus aureus* é um indicador de baixo nível de higiene (PINTO; KANKO; PINTO, 2015).

O conservante a ser utilizado na fabricação dos cosméticos, também é escolhido de acordo com seu espectro de atividade. Existem poucos conservantes que são universais. Alguns são preferencialmente ativos para bactérias Gram positivas, outros são fungicidas. Portanto, é essencial determinar o valor da concentração inibitória mínima da substância para cada microrganismo.

Uma das formas de inibir este crescimento microbiano é utilizando conservantes nas formulações. Por isso, foi avaliada a concentração inibitória mínima de cada extrato para os microrganismos mais propícios de serem encontrados em cosméticos, para uma possível utilização deles como conservantes em cremes hidratantes.

Os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos hexânicos, etanólicos e comercial de *L. replicata* estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Concentrações inibitórias mínima (CIM) dos extratos da planta *L. replicata*.

Microrganismos	Concentração inibitória mínima (CIM) - $\mu\text{g mL}^{-1}$						
	Extratos brutos						Tintura
	EH folhas	EH cascas	EH galhos	EE folhas	EE cascas	EE galhos	
<i>Staphylococcus aureus</i>	>800	>800	>800	50	100	50	25
<i>Escherichia coli</i>	>800	>800	>800	>800	>800	>800	>800
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	>800	800	>800	100	100	200	50
<i>Candida albicans</i>	400	800	100	3,12	1,56	3,12	3,12

Nota: EH: extrato hexânico; EE: extrato etanólico. Concentração do controle positivo gentamicina:  $0,0115 \mu\text{g mL}^{-1}$  a  $5,90 \mu\text{g mL}^{-1}$ ; antofericina B =  $0,031 \mu\text{g mL}^{-1}$  a  $16,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Pode-se observar que todos os extratos etanólicos da planta inibiram o crescimento dos microrganismos avaliados, exceto para *E.coli* com valores de CIM entre  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

mL<sup>-1</sup>. A tintura mostrou-se mais ativa contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosas*, com CIM de 25 µg mL<sup>-1</sup> e 50 µg mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

Nota-se que para o fungo *Candida albicans*, todos os extratos, exceto o hexânico extraído das cascas e folhas, apresentaram CIM < 100 µg mL<sup>-1</sup>, sendo que os extratos etanólicos apresentaram valores baixos (entre 1,56 µg mL<sup>-1</sup> e 3,12 µg mL<sup>-1</sup>), mostrando uma boa atividade antifúngica.

O extrato etanólico das folhas de *L. pacari* mostrou atividade antimicrobiana com concentração inibitória mínima (CIM) de 312,5 µg/mL contra *S. aureus* e o extrato etanólico do caule apresentou CIM de 625 µg/mL contra essa mesma bactéria (LIMA et al., 2006). PORFÍRIO et al. (2009) encontraram uma CIM de 250 µg/mL para *P. aeruginosa* e CIM de 125 µg/mL contra *S. aureus* para o extrato hidroalcoólico das folhas de *L. pacari*. Para os extratos obtidos das cascas do caule, a CIM para as duas bactérias foi de 250 µg/mL.

Os resultados dessa análise são considerados relevantes e promissores, visto que todos os extratos etanólicos e tintura apresentaram valores de CIM menores que 100 µg mL<sup>-1</sup> para três dos microrganismos avaliados (RÍOS; RECIO, 2005), além de apresentarem resultados melhores quando comparado com a espécie *L. pacari*.

### **5.7 Análise do teste de eficácia do sistema conservante dos cremes – “Challenge Test”**

Devido aos bons resultados das análises do teor de fenóis totais, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos etanólicos de *L. replicata*, optou-se por avaliar o seu uso como conservante em cosméticos.

A ANVISA, através da RDC nº 528, de 4 de agosto de 2021, dispõe sobre a lista de substâncias de ação conservante permitidas para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. A partir disso, foi feito um creme hidratante com 0,4% de metilparabeno, um dos conservantes mais utilizados nas indústrias cosméticas (BRASIL, 2021).

Pela grande busca das pessoas por um estilo de vida saudável, várias pessoas buscam comprar produtos que não possuem conservantes sintéticos nas suas formulações e pelos extratos etanólicos terem apresentado boa atividade antimicrobiana e antioxidante, foram produzidos cremes hidratantes utilizando os extratos de *L. replicata* para verificar sua possível utilização como conservantes em cosméticos.

O teste de desafio (*Challenge test*) é usado durante o desenvolvimento de um produto para determinar a eficácia e estabilidade do conservante ao longo do tempo. Ele é realizado através da inoculação de uma quantidade conhecida de microrganismos (bactérias e fungos). Os recipientes são protegidos da luz e incubados por 28 dias.

Para tanto, o teste foi realizado de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, e consistiu em inocular nos produtos, determinada quantidade de microrganismos específicos (*Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) para se obter uma concentração final no produto entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  UFC/g de amostra. As taxas de mortalidade foram medidas com 7, 14, 21 e 28 dias. Os resultados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15: Teste de desafio do sistema conservante dos cremes com metilparabeno, tintura e extrato etanólico das folhas de *Lafoensia replicata*, nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias.

	<b>Microrganismos</b>	<b>0 dias log/UFC</b>	<b>7 dias log/UFC</b>	<b>14 dias log/UFC</b>	<b>21 dias log/UFC</b>	<b>28 dias log/UFC</b>
Creme sem adição de conservantes	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5,70	5,65	5,63	5,69	5,72
	<i>Candida albicans</i>	6,91	6,74	6,74	6,88	6,84
	<i>Escherichia coli</i>	7,20	7,11	7,31	7,20	7,12
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,18	6,14	6,14	6,21	6,26
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,26	6,35	6,35	6,25	6,43
Creme com metilparabeno	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Candida albicans</i>	6,08	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Escherichia coli</i>	6,14	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,15	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,36	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Creme com tintura	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5,86	1,24	1,24	< 1,00	< 1,00
	<i>Candida albicans</i>	6,43	1,70	1,70	< 1,00	< 1,00
	<i>Escherichia coli</i>	6,60	3,21	2,30	< 1,00	< 1,00
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,49	3,18	3,18	< 1,00	< 1,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,91	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Creme com tintura seca	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5,78	1,74	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Candida albicans</i>	6,33	2,01	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Escherichia coli</i>	6,46	2,12	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,89	2,34	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,47	2,14	< 1,00	< 1,00	< 1,00
Creme com EE das folhas	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	5,63	< 1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Candida albicans</i>	6,89	1,00	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Escherichia coli</i>	6,89	2,31	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,88	2,90	2,04	< 1,00	< 1,00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6,71	1,30	< 1,00	< 1,00	< 1,00

Nota: Log/UFC – Unidades Formadoras de Colônia em logaritmo de base 10.

Para estimar o nível de microrganismos inoculados em uma amostra de cosmético, é necessário selecionar as condições adequadas de cada cultura (meio de cultura, temperatura e período de incubação) e elas devem proporcionar um crescimento ilimitado de microrganismos, resultando na inativação do sistema conservante presente na amostra. O número de microrganismos viáveis existentes na suspensão do inóculo é determinado pelo método de contagem em placas, medido em UFC/g no produto. A carga microbiana é determinada em 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação e o número de microrganismos (UFC/g) é determinado a cada intervalo de tempo, sendo a porcentagem de microrganismos estimado em relação a concentração inicial.

Nos testes realizados, pode-se observar que para todos os cremes houve redução progressiva da carga microbiana em relação ao tempo. A partir do sétimo dia aconteceu redução de bactérias viáveis da contagem inicial, seguida de redução contínua até a finalização do ensaio. Esse perfil também aconteceu para o fungo *Candida albicans*.

Para o creme produzido com metilparabeno, um dos conservantes mais utilizados na indústria cosmética, no sétimo dia já não havia mais nenhum microrganismo no produto. Para os cremes fabricados com a tintura e o extrato etanólico das folhas da *L. replicata*, apesar de a partir de 7 dias já ter sido observado redução da carga de microrganismos, apenas com 21 dias não havia mais crescimento deles.

Foram feitos dois cremes utilizando a tintura. Em um deles, foi utilizado 2% de tintura no álcool de cereais e no outro, foi utilizado 0,4% da tintura seca dissolvida em glicerina, da mesma forma como foi feito com o metilparabeno. Para o creme utilizando 2% de tintura, foram necessários 21 dias para a inibição completa dos microrganismos, enquanto para o creme utilizando 0,4% de tintura seca, com 14 dias já não tinha mais proliferação de bactérias e fungos. Isso pode ser explicado, pelo fato de que 2% da tintura comercial em 350 gramas de creme, corresponde a aproximadamente uma concentração de 0,3% de extrato.

Já para o creme em que não foi adicionado nenhum sistema conservante, não houve redução na quantidade de microrganismos no produto. Apesar da tintura e o extrato etanólico das folhas da planta precisarem de mais dias para inibir o crescimento microbiano quando comparado com o metilparabeno, ambos também estão dentro do permitido pela legislação para uso como conservantes (inibição total do crescimento microbiano até 28 dias) (ANVISA, 2019). Pode-se então considerar os extratos obtidos desta espécie como uma fonte natural promissora para o estudo de outras atividades e novos testes para seu uso como conservante aliado na produção de cosméticos.

### **5.8 Identificação por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas dos compostos presentes nos extratos**

A caracterização dos compostos presentes nos extratos foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-EM), com sistema de ionização por electrospray (IES). As análises foram feitas em modo negativo. Na Tabela 16 são mostradas as propostas de identificação dos compostos para o extrato etanólico das folhas, cascas e galhos e tintura das folhas de *L. replicata* com seus respectivos valores de  $m/z$  e o erro em ppm atribuído para cada composto. Nas Figuras 21 e 22 estão representadas as estruturas dos compostos identificados. O cromatograma do modo negativo e os espectros de massas de cada substância da tabela se encontram no apêndice.

Tabela 16: Proposta de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de *L. replicata*

(continua)

$T_R$ (min)	Composto	Fórmula molecular [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ experimental [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ Calculado [M – H] <sup>-</sup>	Erro (ppm)	Fragmentos $MS^2$	Extratos	Referências	
1	1,967	Sorbitol	$C_6H_{13}O_6^-$	181,0724	181,0718	3,31	163	EE folhas; EE cascas, EE galhos Tintura	(LIMA et al., 2022); (JIN et al., 2018)
2	1,967	HHDP-glicose	$C_{20}H_{17}O_{14}^-$	481,0635	481,0622	0,70	421, <b>301</b> , 275	EE folhas; EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (MENA et al., 2012)
3	2,094	Pedunculagina isômero (bis HHDP hexoside)	$C_{34}H_{23}O_{22}^-$	783,0685	783,0686	-0,12	481, <b>301</b> , 291, 275, 249, 145	EE folhas; EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (CAROCHO et al., 2014); (MENA et al., 2012)
4*	2,097	Pedunculagina isômero (bis HHDP hexoside)	$C_{34}H_{23}O_{22}^-$	391,0303	391,0307	-1,02	<b>301</b> , 291, 275, 145	Tintura	(CHANG et al., 2019)
5	2,178	Sacarose + ácido fórmico	$C_{12}H_{21}O_{11}^-$	387,1166	387,1144	5,68	<b>341</b> , 179, 161, 143	EE folhas; EE cascas, EE galhos, Tintura	(JIN et al., 2018)
6	2,220	Punicalina	$C_{34}H_{21}O_{22}^-$	781,0530	781,0530	0,00	765, 721, 601, 575, 481, 393, <b>301</b> , 299, 273	EE folhas, EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (MENA et al., 2012)



Tabela 16: Proposta de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de *L. replicata*.

(continuação)

$T_R$ (min)	Substância	Fórmula molecular [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ experimental [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ Calculado [M – H] <sup>-</sup>	Erro (ppm)	Fragmentos MS <sup>2</sup>	Extratos	Referências	
7	2,473	HHDP – galoil glicose isômero I	C <sub>27</sub> H <sub>21</sub> O <sub>18</sub> <sup>-</sup>	633,0733	633,0733	0,00	463, 275, <b>301</b> , 249, 169	EE folhas, EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (CAROCHO et al., 2014); (MENA et al., 2012)
8*	2,490	Punicalagina isômero	C <sub>48</sub> H <sub>27</sub> O <sub>30</sub> <sup>-</sup>	541,0269	541,0260	-0,17	601, 531, 402, 301, 124	EE folhas, EE cascas, EE galhos, Tintura	(MENA et al., 2012)
9	2,515	Galoil glicose	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> O <sub>10</sub> <sup>-</sup>	331,0686	331,0671	0,45	304, <b>170</b> , 169, 139, 125	EE folhas, EE cascas, Tintura	(SINGH et al., 2016)
10	2,541	trisgaloil -HHDP glicose	C <sub>41</sub> H <sub>27</sub> O <sub>27</sub> <sup>-</sup>	951,0784	951,0740	0,46	907, 605, 425, <b>341</b> , 301, 275	EE folhas	(SINGH et al., 2016); (QUATRIN, 2019)
11	2,566	Galoil punicalina	C <sub>41</sub> H <sub>25</sub> O <sub>26</sub> <sup>-</sup>	933,0627	933,0640	1,39	631, <b>451</b> , 425, 301	EE folhas, EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016)
12	2,617	Ácido gálico	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>5</sub> <sup>-</sup>	169,0139	169,0142	1,77	<b>125</b>	EE folhas; EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016),
13	2,687	Ácido flavogalônico	C <sub>21</sub> H <sub>9</sub> O <sub>13</sub> <sup>-</sup>	469,0051	469,0049	0,43	470, <b>425</b> , 407, 299	Tintura, EE cascas	(SINGH et al., 2016)

Tabela 16: Proposta de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de *L. replicata*.

(continuação)

$T_R$ (min)	Substância	Fórmula molecular [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ experimental [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ Calculado [M – H] <sup>-</sup>	Erro (ppm)	Fragmentos MS <sup>2</sup>	Extratos	Referências	
14	2,768	Terflavin A	$C_{48}H_{29}O_{30}^-$	1085,0754	1085,074	0,46	933, 783, 631, 601, <b>451</b> , 301	EE folhas; EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016)
15	2,937	Punicalagina isômero	$C_{48}H_{27}O_{30}^-$	1083,0578	1083,059	-1,38	781, 601, 451, <b>301</b>	EE folhas, EE cascas, EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (MENA et al., 2012)
16	3,131	HHDP – galoil glicose isômero II	$C_{27}H_{21}O_{18}^-$	633,0725	633,0733	1,26	<b>301</b> , 275	EE folhas, EE cascas EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (MENA et al., 2012)
17	4,251	HHDP – galoil glicose isômero III	$C_{27}H_{21}O_{18}^-$	633,0686	633,0733	7,42	<b>301</b> , 275	EE folhas, EE cascas EE galhos, Tintura	(SINGH et al., 2016); (MENA et al., 2012)
18	4,639	HHDP – galoil glicose isômero IV	$C_{27}H_{21}O_{18}^-$	633,0736	633,0733	0,47	<b>301</b> , 275	EE folhas, EE cascas, EE galhos Tintura	(SINGH et al., 2016); (MENA et al., 2012)
19	9,385	Trigaloil hexosídeo	$C_{27}H_{23}O_{18}^-$	635,0895	635,0890	0,79	483, <b>465</b> , 313, 301, 169, 125	EE folhas, Tintura	(SINGH et al., 2016); (KACHKOUL et al., 2020); (CHANG et al., 2019)

Tabela 16: Proposta de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de *L. replicata*.

(continuação)

$T_R$ (min)	Substância	Fórmula molecular [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ experimental [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ Calculado [M – H] <sup>-</sup>	Erro (ppm)	Fragmentos MS <sup>2</sup>	Extratos	Referências	
20	9,385	Pterocararina C	C <sub>41</sub> H <sub>29</sub> O <sub>26</sub> <sup>-</sup>	937,0968	937,0953	1,60	785, 635, 465, <b>301</b> , 275, 169,125	Tintura	(HOOI POAY; SUI KIONG; CHENG HOCK, 2011)
21	9,764	Tetragaloil hexose	C <sub>34</sub> H <sub>27</sub> O <sub>22</sub> <sup>-</sup>	787,0977	787,0999	-2,79	635, 617, <b>465</b> , 169	EE folhas, Tintura	(ABU-REIDAH et al., 2015), (ERŞAN et al., 2016); (SINGH et al., 2016);(WYREPKOWSKI et al., 2014)
22	10,101	Etil galato	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>5</sub> <sup>-</sup>	197,0456	197,0455	0,51	169, <b>125</b>	EE folhas, Tintura; EE cascas	(SINGH et al., 2016);(WYREPKOWSKI et al., 2014)
23	10,312	Pentagaloil hexosídeo	C <sub>41</sub> H <sub>31</sub> O <sub>26</sub> <sup>-</sup>	939,1112	939,1109	0,32	<b>787</b> , 617, 465, 393, 241, 169	Tintura	(ABU-REIDAH et al., 2015)
24	10,481	Quercetina dihexosídeo	C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> O <sub>17</sub> <sup>-</sup>	625,1412	625,1410	0,32	581, 579, 487, 463, 301, <b>300</b> , 271, 169, 151	EE folhas; Tintura	(GOUVEIA; CASTILHO, 2010); (HAMED et al., 2016)
25	10,481	Hexosídeo de isorhamnetina	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub> <sup>-</sup>	477,1036	477,1038	- 0,42	433, 314, <b>313</b> , 301, 271, 169, 125	Tintura; EE cascas	(ABU-REIDAH et al., 2015) (BEN SAID et al., 2017) (HAMED et al., 2016)
26	10,565	Quercetina arabinoglicosídeo	C <sub>26</sub> H <sub>27</sub> O <sub>16</sub> <sup>-</sup>	595,1315	595,1305	1,68	<b>300</b> , 301, 271, 169	EE folhas, Tintura	(DA VEIGA CORREIA et al., 2021)

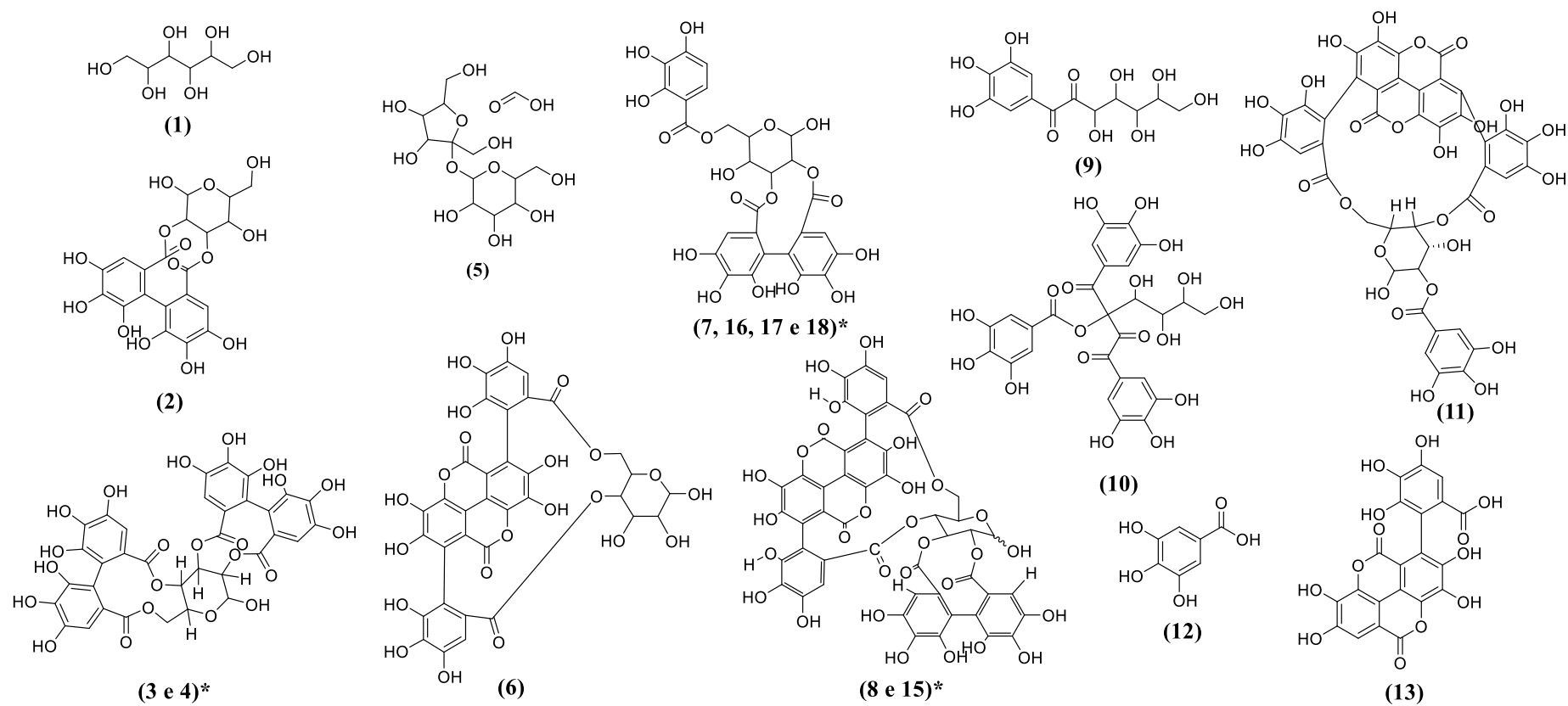
Tabela 16: Proposta de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de *L. replicata*.

(conclusão)

$T_R$ (min)	Substância	Fórmula molecular [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ experimental [M – H] <sup>-</sup>	$m/z$ Calculado [M – H] <sup>-</sup>	Erro (ppm)	Fragmentos MS <sup>2</sup>	Extratos	Referências	
27	10,776	Quercetina Galoil hexosídeo	C <sub>28</sub> H <sub>23</sub> O <sub>16</sub> <sup>-</sup>	615,0982	615,0992	-1,62	463, <b>300</b> , 301, 271	EE folhas, Tintura	(PEREIRA et al., 2015) (SALDANHA; VILEGAS; DOKKEDAL, 2013)
28	11,071	Quercetina hexosídeo	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>12</sub> <sup>-</sup>	463,0882	463,0881	0,22	<b>301</b> , 300, 271	EE folhas, Tintura; EE cascas	(PEREIRA et al., 2015) (SALDANHA; VILEGAS; DOKKEDAL, 2013)
29	11,404	Galoil quercetrina	C <sub>28</sub> H <sub>23</sub> O <sub>15</sub> <sup>-</sup>	599,1040	599,1042	-0,33	<b>463</b> , 301, 285	EE folhas, Tintura; EE cascas	(ERŞAN et al., 2016); (ABU- REIDAH et al., 2015)
30	11,362	Ácido elágico	C <sub>14</sub> H <sub>5</sub> O <sub>8</sub> <sup>-</sup>	300,9996	300,9984	-0,39	284, 173, 145, 133	EE folhas; EE cascas, EE galhos, Tintura	(FRATERNALE et al., 2015); (MENA et al., 2012);
31	11,573	Canferol hexosídeo	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub> <sup>-</sup>	447,0934	447,0933	0,22	285, <b>284</b> , 255, 227	EE folhas; EE cascas, EE galhos, Tintura	(ABU-REIDAH et al., 2015); (COSTA SILVA et al., 2019) (MENA et al., 2012)
32	12,206	Quercetina	C <sub>15</sub> H <sub>9</sub> O <sub>7</sub> <sup>-</sup>	301,0370	301,0354	5,31	<b>273</b> , 169, 151, 134	EE folhas; Tintura	(ABU-REIDAH et al., 2015); (BEN SAID et al., 2017)

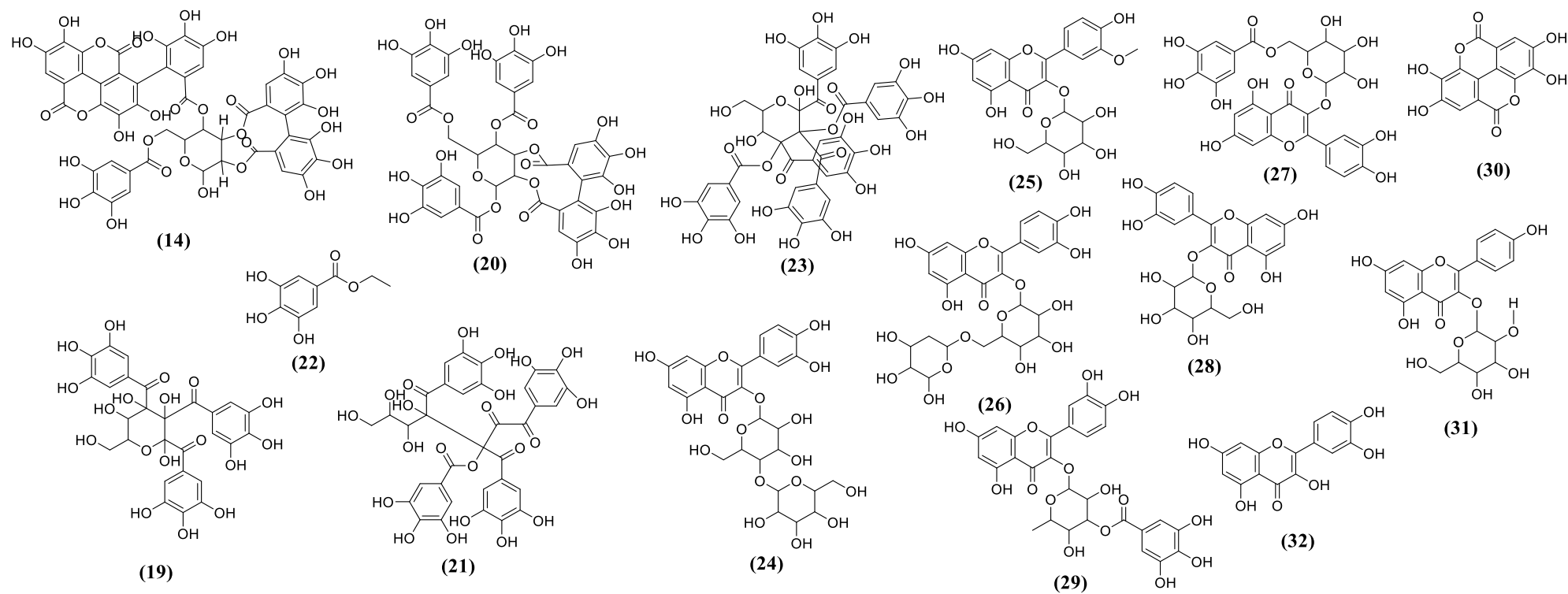
Nota:  $T_R$ : tempo de retenção; HHDP: Grupo hexaidroxidifenol, \*[M-2H]<sup>2-</sup>.

Figura 21: Estrutura dos compostos identificados (Tabela 20: 1-13, 15-18) nos extratos etanólicos e tintura da *L. replicata*.



**Nota:** \*compostos isômeros

Fonte: a autora.

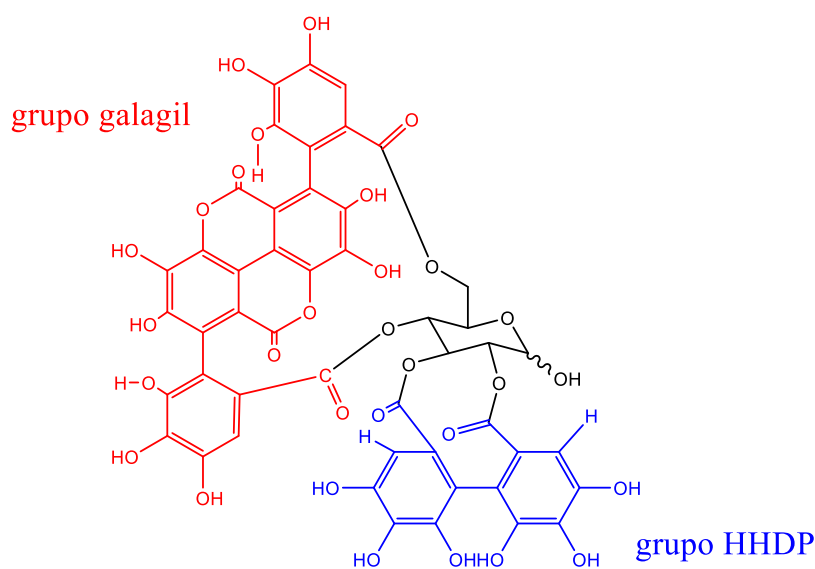
Figura 22: Estrutura dos compostos identificados (Tabela 20: 14, 19-32) nos extratos etanólicos e tintura da *L. replicata*.

Fonte: a autora.

Tanto o extrato etanólico das folhas como a tintura mostraram uma predominância de taninos, flavonoides e ácidos fenólicos. Os elagitaninos são taninos hidrolisáveis que têm atraído muita atenção por possuírem diversas propriedades benéficas à saúde humana, incluindo capacidade de reduzir riscos de diabetes, atividades anticancerígena e antioxidante (VIVAS et al., 2004).

A Punicalagina (Figura 23) faz parte deste grupo de taninos e contém em sua estrutura grupos galagil e HHDP (hexaidroxidifenóis) ligados a uma porção de glicose. Este composto é abundante em frutos de romã e já foi isolada da planta *L. pacari* (CARNEIRO et al., 2016), espécie pertencente a mesma família da *L. replicata*.

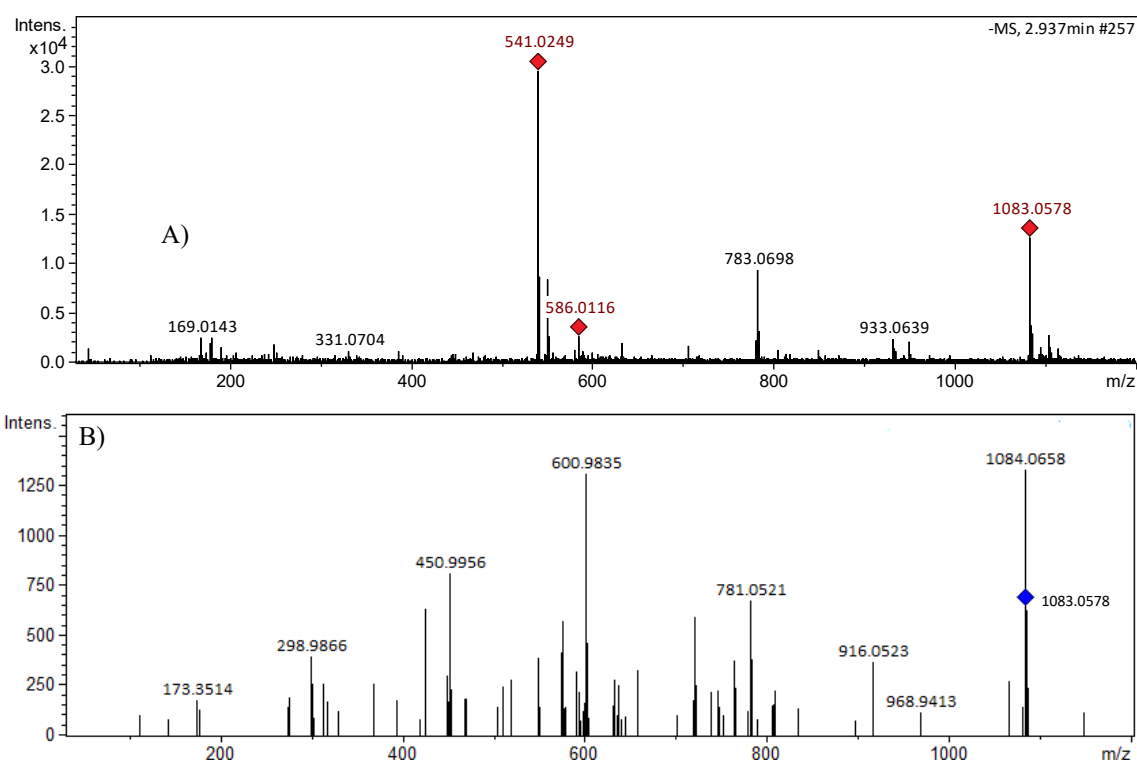
Figura 23: Estrutura molecular da punicalagina.



Fonte: a autora.

Na Figura 24 são apresentados os espectros de massas referentes a este composto, encontrado tanto no extrato etanólico das folhas como na tintura.

Figura 24: Espectro de massas da punicalagina ( $m/z$  1083,0578  $[M - H]^-$ ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM

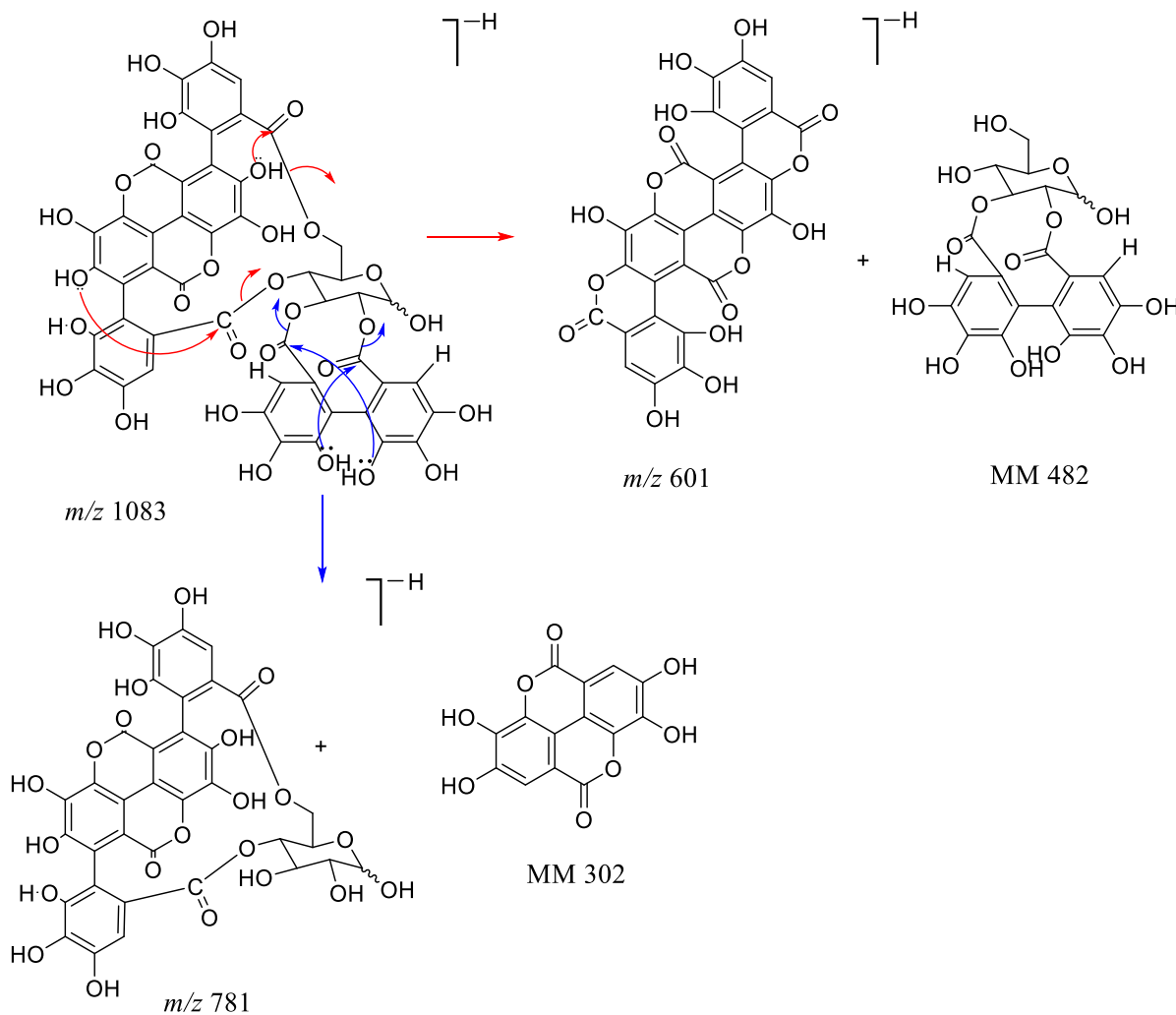


Fonte: a autora.

A proposta de fragmentação para este composto se encontra na Figura 25. A primeira fragmentação (linha azul) mostrada para a punicalagina é referente a perda de 302 u de massas (correspondente ao ácido elágico), formando o íon  $m/z$  781, identificado como punicalina (composto 6). O segundo padrão de fragmentação observado (linha vermelha) é referente ao íon  $m/z$  601, oriundo da perda de 482 u de massa atômica.



Figura 25: Proposta de fragmentação para a punicalagina.



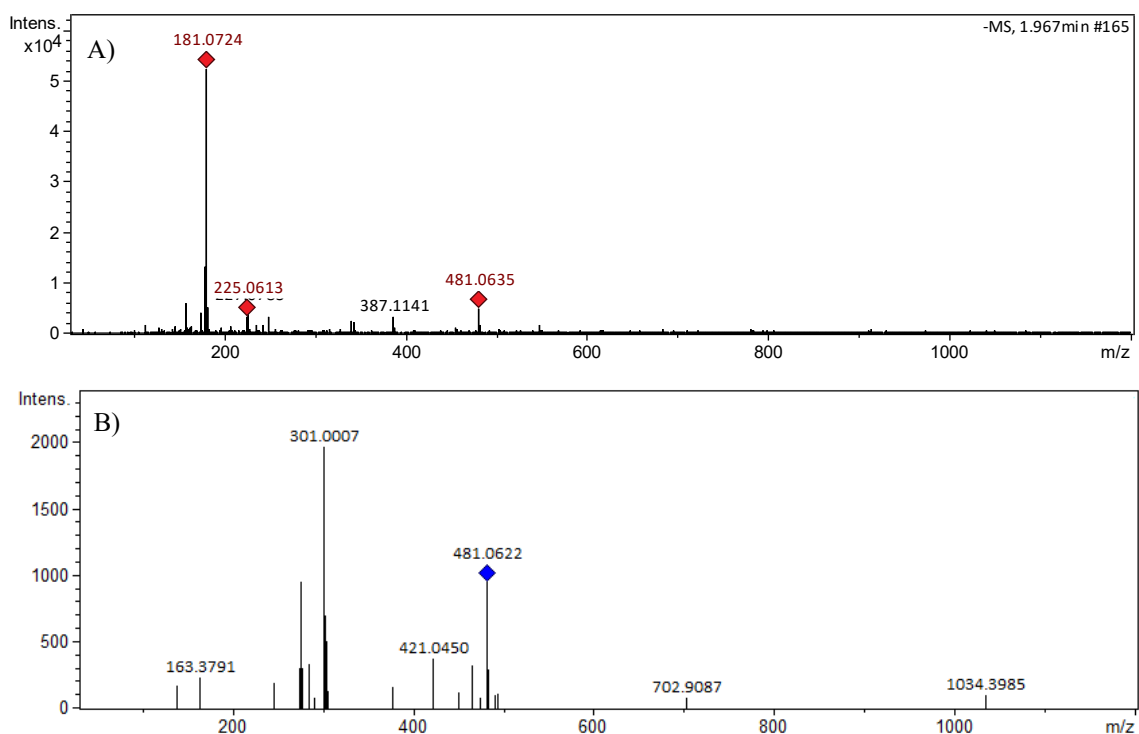
Fonte: a autora.

Alguns estudos já confirmaram atividades biológicas, como antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antimalária para este composto (REDDY et al., 2007, LEE et al., 2010).

Outro composto pertencente a classe de elagitanino que também foi identificado, foi a pedunculagina (composto 3), com íon molecular em  $m/z$  783, que produziu um fragmento de íon em  $m/z$  481 que corresponde ao HHDP-glicose (composto 2).

Na Figura 26 encontram-se os espectros de massas referentes ao composto 2, identificado tanto nos extratos etanólicos das folhas, cascas e galhos, como na tintura.

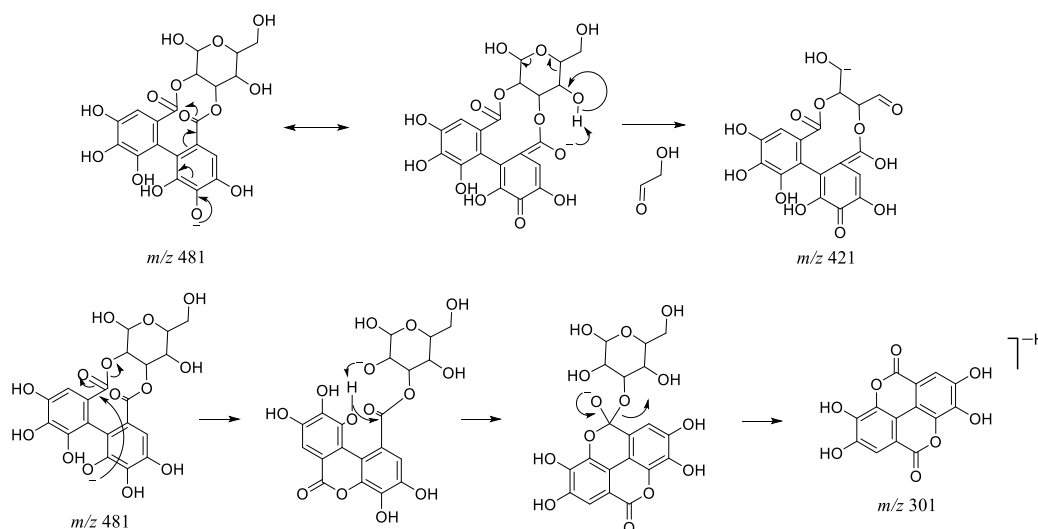
Figura 26: Espectro de massas do HHDP-glicose ( $m/z$  481,0635  $[M - H]^-$ ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora.

Na figura 27 tem-se uma representação das propostas de fragmentação para este composto, que se fragmenta em  $m/z$  301 (ácido elágico), após a perda de uma glicose e o fragmento  $m/z$  421 formado a partir da liberação de uma molécula neutra ( $C_2H_4O_2$ ).

Figura 27: Proposta de fragmentação para o HHDP-glicose.



Fonte: a autora.

Outra classe de compostos que também foi identificada, foi a dos ácidos fenólicos. Diversas frutas, legumes e plantas medicinais possuem em sua estrutura os ácidos fenólicos, incluindo o ácido gálico (composto 12) que foi encontrado neste extrato em estudo. Ele possui propriedades antibacteriana, antialérgica, antiviral e antioxidante. Com íon molecular  $m/z$  169, tem fragmento característico em  $m/z$  125 [ $M - H - CO_2$ ] (SIGNTH, 2016). Os espectros deste composto se encontram na Figura 28 e a proposta de mecanismo dos fragmentos se encontra na Figura 29.

Figura 28: Espectro de massas da ácido gálico ( $m/z$  169,0139 [ $M - H$ ]<sup>-</sup>): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM

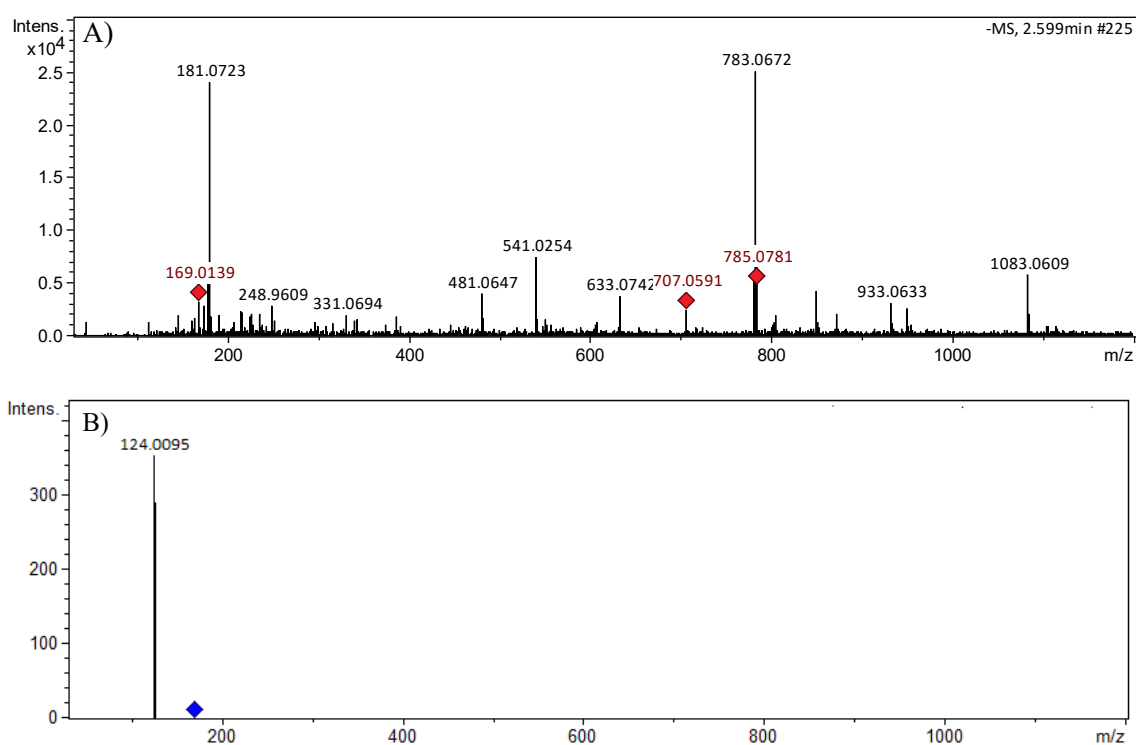
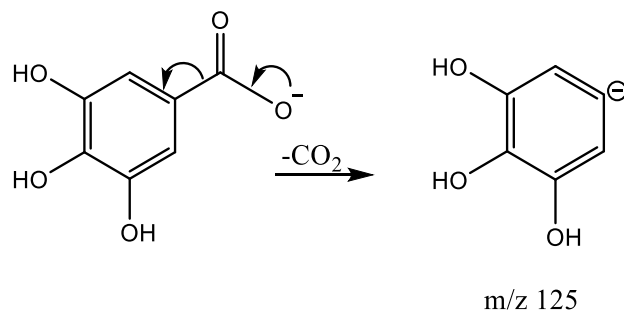


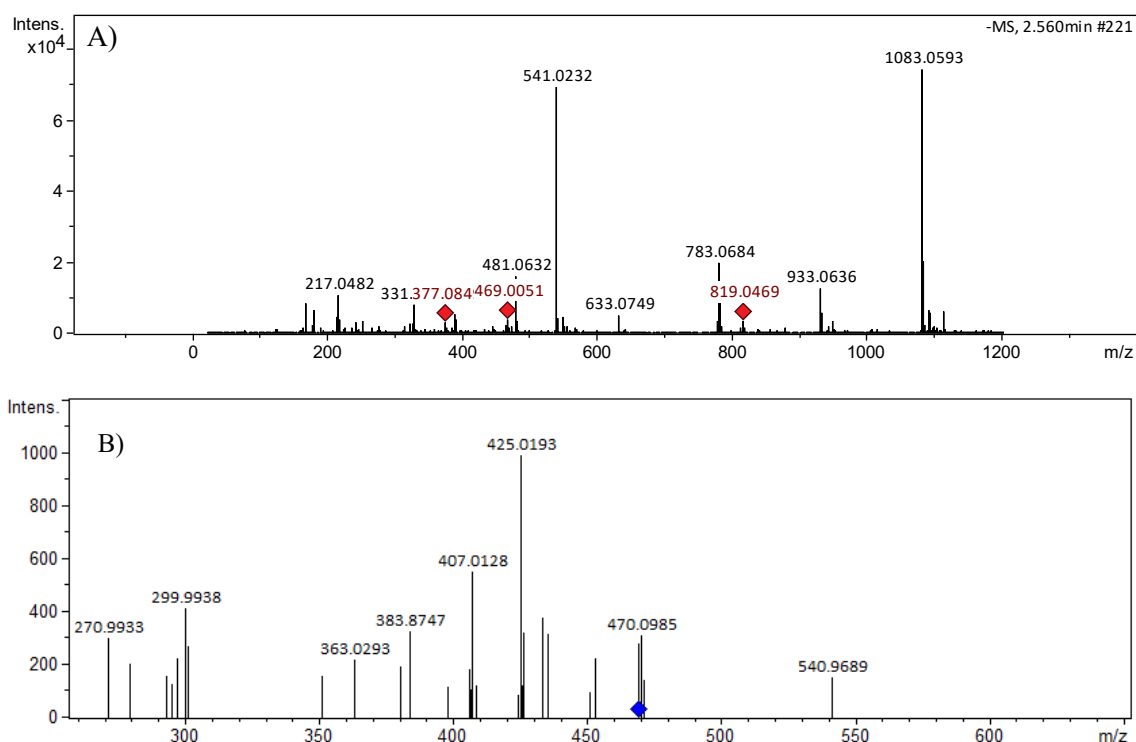
Figura 29: Proposta de fragmentação para o ácido gálico.



Fonte: a autora.

Outro ácido encontrado somente na tintura o no extrato etanólico das cascas, é o ácido flavogalônico (composto 13). Seus espectros de massas estão mostrados na Figura 30.

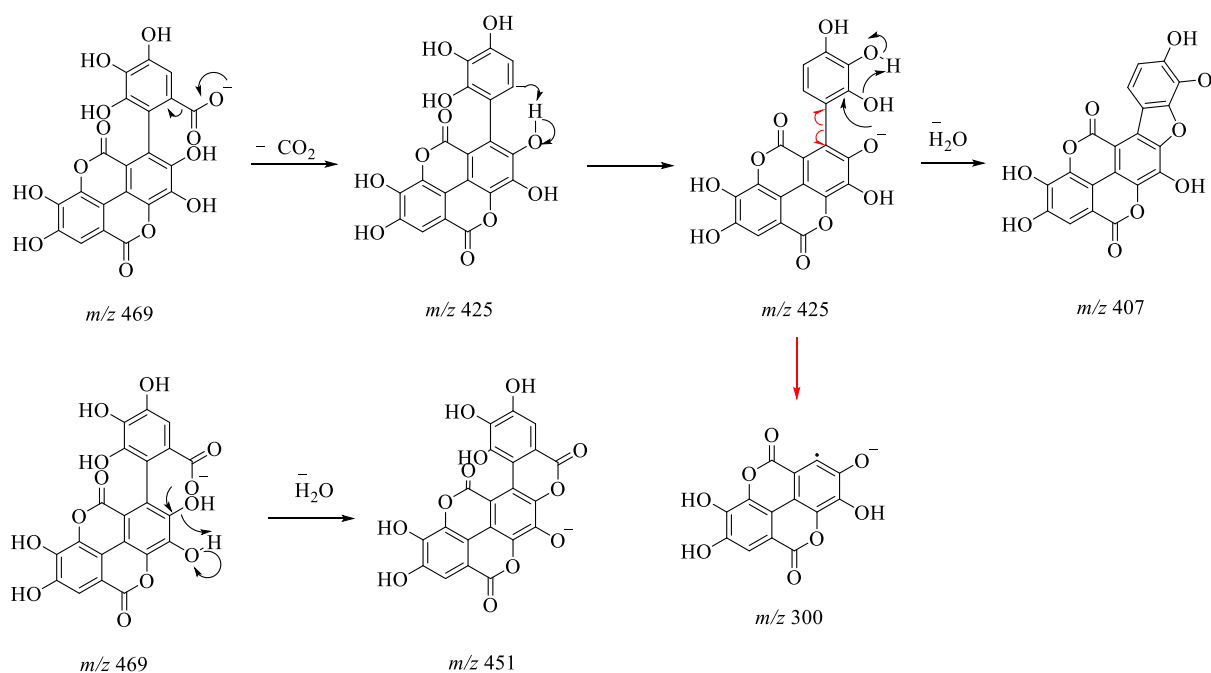
Figura 30: Espectro de massas do ácido flavogalônico ( $m/z$  469,0051  $[M - H]^-$ ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora.

O íon molecular  $m/z$  469 sofre descarboxilação e forma o fragmento  $m/z$  425. Ao perder uma molécula de água, este mesmo íon pode formar o fragmento  $m/z$  451. Através de uma quebra homolítica, o fragmento  $m/z$  425 forma o fragmento  $m/z$  300. Este mesmo fragmento, ao eliminar uma molécula de água, dá origem ao fragmento  $m/z$  407. A proposta de fragmentação para este composto está representada na Figura 31.

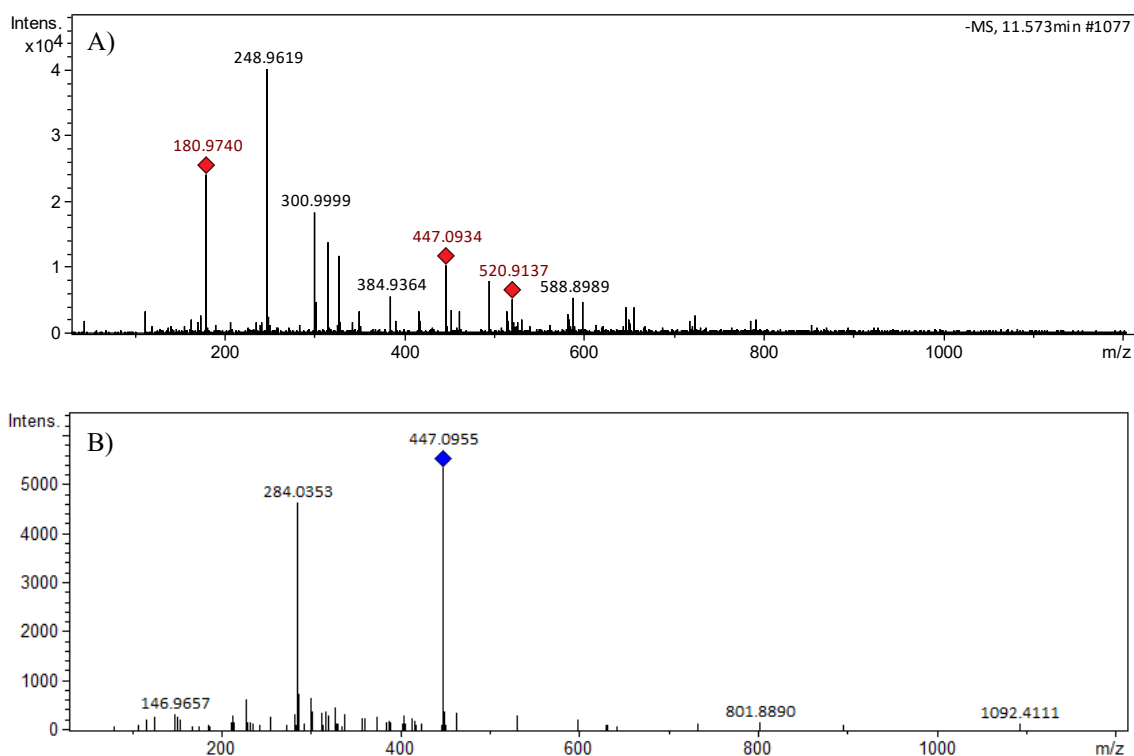
Figura 31: Proposta de fragmentação para o ácido flavogalônico.



Fonte: a autora.

Também era esperada pela prospecção fitoquímica encontrar flavonoides, que foi uma classe de compostos também identificada nos extratos. O composto 31 foi identificado como canferol hexosídeo, um flavonoide ligado a uma unidade de açúcar em sua estrutura. Seus espectros de massas se encontram na Figura 32.

Figura 32: Espectro de massas do canferol hexosídeo ( $m/z$  447,0934  $[M - H]^-$ ): A) (-)-IES-EM, B) (-)-IES-EM/EM.

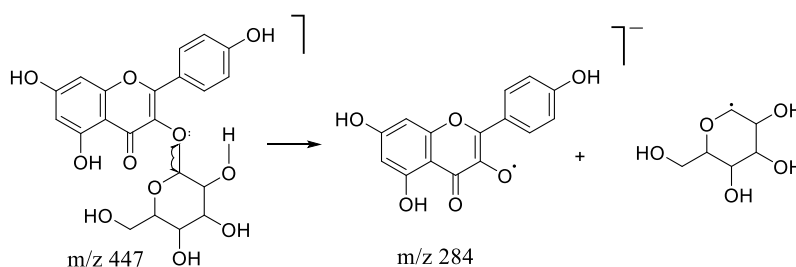


Fonte: a autora.

O fragmento  $m/z$  284 é formado a partir de uma quebra homolítica da ligação entre a unidade hexose e a aglicona canfero. Os demais fragmentos são correspondentes aos fragmentos do canferol, O fragmento  $m/z$  255 é formado através da liberação de uma molécula neutra de formaldeído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) em duas etapas: a quebra da ligação C3-C4 levando a abertura do anel com a formação de um aldeído na estrutura e em seguida formação de um epóxido com a liberação de  $\text{CH}_2\text{O}$ . O fragmento  $m/z$  227 forma-se a partir do fragmento  $m/z$  255 com a perda de uma molécula neutra de  $\text{CO}$ .

O flavonoide canferol foi isolado e caracterizado por RMN e EM-IES por Costa Silva et al. (2019) e apresentou elevada atividade antioxidante no método *ORAC* ( $4198,0 \pm 42,6 \mu\text{mol Trolox eq/g amostra}$  e foi ativo por DPPH ( $\text{CE}_{50} 10,2 \pm 0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). A proposta de fragmentação para este composto está na Figura 33.

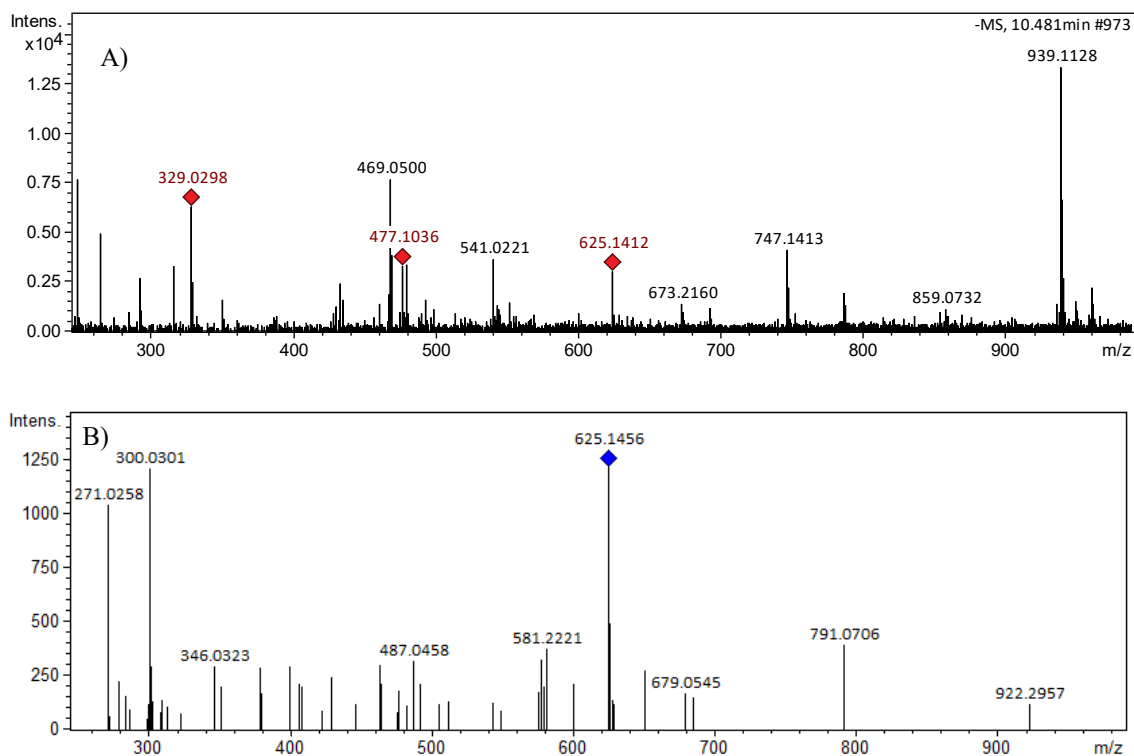
Figura 33: Proposta de fragmentação para o canferol hexosídeo.



Fonte: a autora.

Outro composto desta classe, também identificado nos extratos de *L. replicata*, foi a quercetina (composto 32) e quercetina dihexosídeo (composto 24). Este composto é um dos flavonoides antioxidantes mais eficazes e sua estrutura apresenta características que favorecem essa atividade, fazendo dela uma boa aliada no tratamento de diabetes, câncer e algumas doenças cardiovasculares (OZGEN; KILINC; SELAMOĞLU, 2016). Seus espectros de massa se encontram na Figura 34.

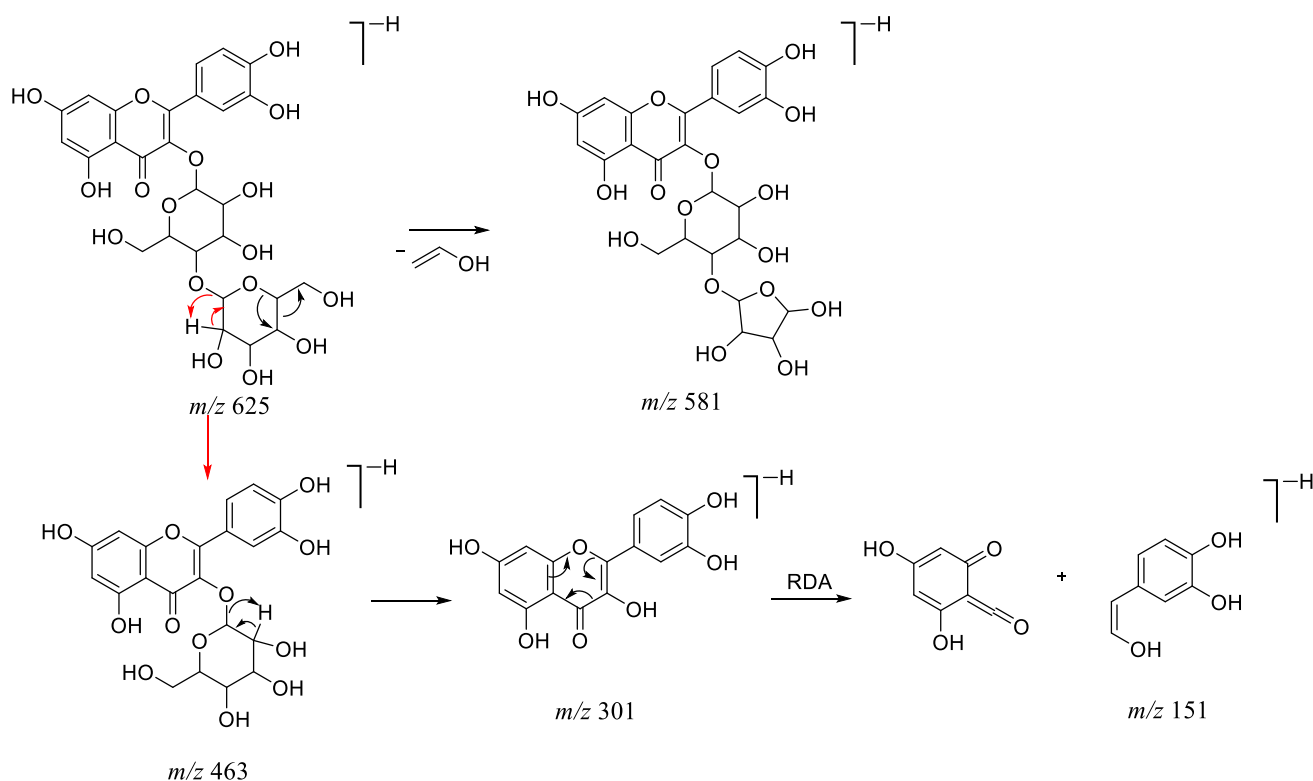
Figura 34: Espectro de massas da quercetina dihexosídeo ( $m/z$  625,1412  $[M - H]^-$ ): A) (–)-IES-EM, B) (–)-IES-EM/EM.



Fonte: a autora.

O fragmento  $m/z$  581 é formado a partir da eliminação de uma molécula neutra ( $C_2H_4O$ ). O fragmento  $m/z$  463 é formado pela quebra homolítica da ligação entre a unidade hexose e a quercetina. Este fragmento formado, perde uma unidade hexose, formando o fragmento  $m/z$  301 que através do mecanismo de RDA, forma o fragmento  $m/z$  151. A proposta de fragmentação para este composto está na Figura 35.

Figura 35: Proposta de fragmentação para a quercetina dihexosídeo.

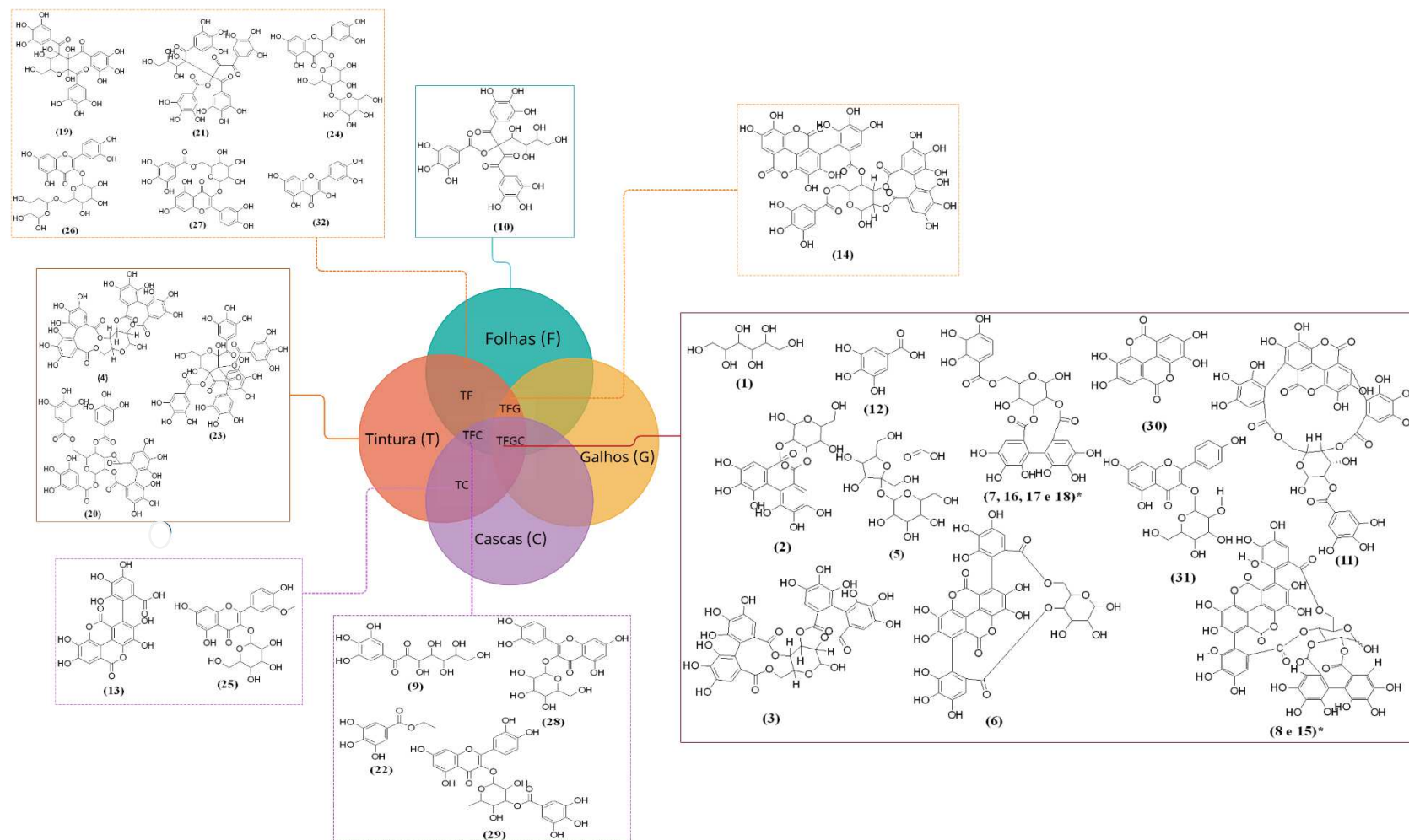


Fonte: a autora.

Organizando as propostas de identificação dos compostos da Tabela 16, em um Diagrama de Venn (Figura 36), é possível visualizar de uma melhor maneira, quais os compostos comuns em todos os extratos etanólicos e quais são aqueles encontrados em apenas um ou dois extratos.



Figura 36: Diagrama de Venn das propostas de identificação dos compostos dos extratos etanólicos e tintura de *L. replicata*



Nota: TF: Compostos identificados na tintura e EF; TFC: Compostos identificados na tintura, EF e EC; TC: Compostos identificados na tintura e EC; TFG: Compostos identificados na tintura, EF e EG; TFGC: Compostos identificados na tintura, EF, EG e EC

É possível perceber a grande quantidade de compostos fenólicos, que foram identificados pela análise pelo método de Folin-Ciocalteu, entre eles ácidos, flavonoides e taninos, os quais possivelmente são responsáveis pela alta atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos.

Como perspectivas para o grupo de pesquisa, será realizado o fracionamento dos extratos na tentativa de isolar moléculas responsáveis por estas atividades avaliadas.

## 6 CONCLUSÕES

Os extratos hexânicos, etanólicos e tintura das folhas, cascas e galhos da *Lafoensia replicata* foram preparados via extração por maceração.

A partir da prospecção fitoquímica preliminar realizada em CCD com a utilização de reveladores específicos, foi identificada a presença de classes de metabólitos especializados, como flavonoides, terpenos e ácidos fenólicos.

Através da análise de teor de fenóis totais, foi possível verificar que independente da parte da planta utilizada para preparar os extratos etanólicos (folhas, cascas ou galhos), todos apresentaram grande quantidade de compostos fenólicos (com teores entre 230 e 272 mg EAG  $\text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ ), alta atividade antioxidante ( $\text{CE}_{50} < 50 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o teste com DPPH e valores maiores que 350 Equivalente de Trolox em  $\mu\text{mol/g}$  de amostra para o teste FRAP), e potencial antimicrobiano ( $\text{CIM} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Além disso, foi possível observar que a tintura disponível comercialmente, obtida via extração com álcool de cereais de acordo com metodologias disponíveis na Internet, apresenta resultados similares com os extratos etanólicos de *Lafoensia replicata*.

A análise por CLAE-(-)-IES-EM possibilitou a identificação de alguns metabólitos presentes nestes extratos sendo possível correlacionar tal presença ao elevado teor de fenóis totais e as atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos.

Já os extratos hexânicos apresentaram baixo teor de fenóis totais e, conseqüentemente, baixa atividade antioxidante e antimicrobiana.

Ao comparar os cremes fabricados com os extratos das folhas de *L. repicata* e o creme utilizando metilparabeno, um dos conservantes mais utilizados nas indústrias de cosméticos, percebe-se que os extratos possuem a mesma capacidade de serem usados como conservantes, uma vez que foram capazes de reduzir as bactérias viáveis e fungos em pelo menos 99,9% da contagem inicial. Isso também está correlacionado às atividades encontradas através deste estudo. Pode-se então considerar os extratos obtidos desta espécie como uma fonte natural promissora para o estudo de outras atividades, bem como um possível aliado para a produção de cosméticos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIHPEC. Anuário 2019. 2019. Disponível em: < <https://abihpec.org.br/anuario-2019/mobile/index.html#p=1> >. Acesso em: 16/11/2022.

ABIHPEC. A Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos Essencial para o Brasil. 2022. Disponível em: < [https://abihpec.org.br/site2019/wp-content/uploads/2021/04/Panorama\\_do\\_setor\\_atualizado\\_01.11.22.pdf](https://abihpec.org.br/site2019/wp-content/uploads/2021/04/Panorama_do_setor_atualizado_01.11.22.pdf) >. Acesso em: 16/11/2022.

ABU-REIDAH, I. M.; ALI-SHTAYEH, M. S.; JAMOUS, R. M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chemistry**, v. 166, p. 179-191, 2015.

ALVES DE CARVALHO, G. J.; DE CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. A triterpenoid saponin isolated from *Lafoensia glyptocarpa*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 8, p. 1617-1619, 1999.  
ANVISA. Consumidor deve estar atento a substâncias proibidas em perfumes e cosméticos. 2021. Disponível em: < <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2021/08/consumidor-deve-estar-atendo-a-substancias-proibidas-em-perfumes-e-cosmeticos> >. Acesso em: 18/11/2022.

ASHENBURG, K. **Passando a limpo: o banho : da Roma antiga até hoje**. 2007, ISBN 9788576353331. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=i6iOPgAACAAJ> >.  
AZZI, A. Tocopherols, tocotrienols and tocomonoenols: Many similar molecules but only one vitamin E. **Redox Biology**, v. 26, p. 101259, 2019.

BADARINATH, A.; RAO, K. M.; CHETTY, C. M. S.; RAMKANTH, S.; RAJAN, T.; GNANAPRAKASH, K. A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 2, p. 1276-1285, 2010.

BAIRD, R. M.; FARWELL, J. A.; STURGISS, M.; AWAD, Z. A.; SHOOTER, R. A. Microbial contamination of topical medicaments used in the treatment and prevention of pressure sores. **J Hyg (Lond)**, v. 83, n. 3, p. 445-450, 1979.

BAKHATI, D.; AGRAWAL, S. COVID-19 pandemic lockdown—Is it affecting our skin hygiene and cosmetic practice? **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 21, n. 5, p. 1830-1836, 2022.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BEIJERSBERGEN VAN HENEGOUWEN, G. M.; JUNGINGER, H. E.; DE VRIES, H. Hydrolysis of RRR-alpha-tocopheryl acetate (vitamin E acetate) in the skin and its UV protecting activity (an in vivo study with the rat). **J Photochem Photobiol B**, v. 29, n. 1, p. 45-51, 1995.

BEN SAID, R.; HAMED, A. I.; MAHALEL, U. A.; AL-AYED, A. S.; KOWALCZYK, M.; MOLDOCH, J.; OLESZEK, W.; STOCHMAL, A. Tentative Characterization of Polyphenolic

Compounds in the Male Flowers of *Phoenix dactylifera* by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry and DFT. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 3, 2017.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BIJAK, M.; SALUK, J.; TSIRIGOTIS-MANIECKA, M.; KOMOROWSKA, H.; WACHOWICZ, B.; ZACZYŃSKA, E.; CZARNY, A.; CZECHOWSKI, F.; NOWAK, P.; PAWLACZYK, I. The influence of conjugates isolated from *Matricaria chamomilla* L. on platelets activity and cytotoxicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 61, p. 218-229, 2013.

BIODIVERSIDADE. Ministério do Meio Ambiente. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>>. Acesso em: 08/11/2022.

BLIN, X.; GUILLARD, S. **Cosmetic composition comprising macadamia oil, and a wax**: Google Patents 2010.

BOTTERWECK, A. A.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. **Food Chem Toxicol**, v. 38, n. 7, p. 599-605, 2000.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. John Wiley & sons, 2015, ISBN 0470714220.

C. SANTOS, D. Y. A.; LUIZA F. SALATINO, M.; SALATINO, A. Foliar flavonoids of *Lafoensia* (Lythraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 5, p. 487-488, 2000.  
CARNEIRO, C. C.; DA COSTA SANTOS, S.; DE SOUZA LINO, R., JR.; BARA, M. T.; CHAIBUB, B. A.; DE MELO REIS, P. R.; CHAVES, D. A.; DA SILVA, A. J.; SILVA, L. S.; DE MELO, E. S. D.; CHEN-CHEN, L. Chemopreventive effect and angiogenic activity of punicalagin isolated from leaves of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 310, p. 1-8, 2016.

CAROCHO, M.; BARROS, L.; BENTO, A.; SANTOS-BUELGA, C.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. *Castanea sativa* Mill. Flowers amongst the most powerful antioxidant matrices: a phytochemical approach in decoctions and infusions. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 232956, 2014.

CASTRO, H. D.; FERREIRA, F.; SILVA, D. D.; MOSQUIM, P. R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários. **Viçosa: Editora da UFV**, 2004.

CAVALCANTI, T. B.; NORONHA, S. E. **Plantas raras do Brasil**. 2009, 498 ISBN 978-85-98830-12-4.

CEOTI. Álcool de Cereais 92,8 INPM 5 L. 2022. Disponível em: <<https://cecoti.com/produto/alcool-de-cereais-92-8-inpm-5-l>>. Acesso em: 02/07/2022.

CERRADO. Ministério do Meio Ambiente. 2022. Disponível em: < <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/cerrado> >. Acesso em: 08/11/2022.

CHAN, A. C. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 71, n. 9, p. 725-731, 1993.

CHANCHAL, D.; SWARNLATA, S. Novel approaches in herbal cosmetics. **J Cosmet Dermatol**, v. 7, n. 2, p. 89-95, 2008.

CHANDAN, B. K.; SAXENA, A. K.; SHUKLA, S.; SHARMA, N.; GUPTA, D. K.; SURI, K. A.; SURI, J.; BHADAURIA, M.; SINGH, B. Hepatoprotective potential of Aloe barbadensis Mill. against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 560-566, 2007.

CHANG, Z.; ZHANG, Q.; LIANG, W.; ZHOU, K.; JIAN, P.; SHE, G.; ZHANG, L. A Comprehensive Review of the Structure Elucidation of Tannins from *Terminalia* Linn. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 8623909, 2019.

CHOI, S. W.; SON, B. W.; SON, Y. S.; PARK, Y. I.; LEE, S. K.; CHUNG, M. H. The wound-healing effect of a glycoprotein fraction isolated from aloe vera. **Br J Dermatol**, v. 145, n. 4, p. 535-545, 2001.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G.; SALGADO, H. Free radicals and antioxidant agents: concepts to application in pharmaceutical and cosmetic formulations. **Rev Bras Farm**, v. 88, n. 3, p. 113-118, 2007.

CHUNG, K.-T.; WONG, T. Y.; WEI, C.-I.; HUANG, Y.-W.; LIN, Y. Tannins and Human Health: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

CNN. How ancient Egyptian cosmetics influenced our beauty rituals. 2020. Disponível em: < <https://edition.cnn.com/style/article/ancient-egypt-beauty-ritual-artsy/index.html> >. Acesso em: 14/11/2022.

COSMETICS. Cosmetics Market Size, Share & COVID-19 Impact Analysis, By Category (Hair Care, Skin Care, Makeup, and Others), by Gender (Men and Women), by distribution channel (Specialty Stores, Hypermarkets/Supermarkets, Online Channels, and Others), and Regional Forecasts, 2021-2028. Fortune Business Insights, 2020. Disponível em: < <https://www.fortunebusinessinsights.com/cosmetics-market-102614> >. Acesso em: 03/11/2022.

COSTA SILVA, T. D.; JUSTINO, A. B.; PRADO, D. G.; KOCH, G. A.; MARTINS, M. M.; SANTOS, P. D. S.; MORAIS, S. A. L. D.; GOULART, L. R.; CUNHA, L. C. S.; SOUSA, R. M. F. D.; ESPINDOLA, F. S.; DE OLIVEIRA, A. Chemical composition, antioxidant activity and inhibitory capacity of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, lipase and non-enzymatic glycation, in vitro, of the leaves of *Cassia bakeriana* Craib. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111641, 2019.

DA VEIGA CORREIA, V. T.; D'ANGELIS, D.; MACEDO, M.; COELI, A.; VIEIRA, A.; QUEIROZ, V.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, A.; FANTE, C.; FERREIRA MELO, J. Perfil químico da farinha extrusada de sorgo do genótipo BRS 305 por paper spray. **Research, Society and Development**, v. 10, p. e40710111414, 2021.

DARR, D.; COMBS, S.; DUNSTON, S.; MANNING, T.; PINNELL, S. Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage. **British journal of dermatology**, v. 127, n. 3, p. 247-253, 1992.

DEBNATH, B.; SINGH, W. S.; DAS, M.; GOSWAMI, S.; SINGH, M. K.; MAITI, D.; MANNA, K. Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. **Materials Today Chemistry**, v. 9, p. 56-72, 2018.

DEMMIG-ADAMS, B.; GILMORE, A. M.; ADAMS, W. W., 3RD. Carotenoids 3: in vivo function of carotenoids in higher plants. **Faseb j**, v. 10, n. 4, p. 403-412, 1996.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002, ISBN 0471496413.

EL-SHEMY, H. A.; ABOUL-SOUD, M. A.; NASSR-ALLAH, A. A.; ABOUL-ENEIN, K. M.; KABASH, A.; YAGI, A. Antitumor properties and modulation of antioxidant enzymes' activity by Aloe vera leaf active principles isolated via supercritical carbon dioxide extraction. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 2, p. 129-138, 2010.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 811-819, 2015.

ERŞAN, S.; GÜÇLÜ ÜSTÜNDAĞ, Ö.; CARLE, R.; SCHWEIGGERT, R. M. Identification of Phenolic Compounds in Red and Green Pistachio (*Pistacia vera* L.) Hulls (Exo- and Mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MSn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 26, p. 5334-5344, 2016.

ESSAWI, T.; SROUR, M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **J Ethnopharmacol**, v. 70, n. 3, p. 343-349, 2000.

ESSÊNCIAS, C. D. Álcool etílico de cereais. 2022. Disponível em: < <http://www.centraldasessencias.com.br/product/alcool-etilico-de-cereais/> >. Acesso em: 02/07/2022.

ESSÊNCIAS, I. D. Álcool etílico hidratado de cereais. 2022. Disponível em: < <https://www.imperiodasessencias.com.br/alcool-etilico-hidratado-de-cereais-5lt-p1094> >. Acesso em: 02/07/2022.

FERREIRA, A.; MATSUBARA, L. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997. FOTI, M. C.; DAQUINO, C.; GERACI, C. Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH• Radical in Alcoholic Solutions. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 69, n. 7, p. 2309-2314, 2004.

FOWLER, J. F., JR.; WOOLERY-LLOYD, H.; WALDORF, H.; SAINI, R. Innovations in natural ingredients and their use in skin care. **J Drugs Dermatol**, v. 9, n. 6 Suppl, p. S72-81; quiz s82-73, 2010.

FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. **Prog Lipid Res**, v. 19, n. 1-2, p. 1-22, 1980.

FRANSWAY, A. F.; FRANSWAY, P. J.; BELSITO, D. V.; YIANNIAS, J. A. Paraben Toxicology. **Dermatitis**, v. 30, n. 1, p. 32-45, 2019.

FRATERNALE, D.; RICCI, D.; VERARDO, G.; GORASSINI, A.; STOCCHIA, V.; SESTILI, P. Activity of *Vitis vinifera* Tendrils Extract Against Phytopathogenic Fungi. **Natural Product Communications**, v. 10, p. 1037-1042, 2015.

GE, S.; DUO, L.; WANG, J.; GEGENZHULA; YANG, J.; LI, Z.; TU, Y. A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 271, p. 113877, 2021.

GENSLER, H. L.; MAGDALENO, M. Topical vitamin E inhibition of immunosuppression and tumorigenesis induced by ultraviolet irradiation. **Nutr Cancer**, v. 15, n. 2, p. 97-106, 1991.

GIADA, M. Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. **Oxidative stress and chronic degenerative diseases-A role for antioxidants**, v. 2013, p. 87-112, 2013.

GOUVEIA, S. C.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds in *Helichrysum melaleucum* by high-performance liquid chromatography with on-line ultraviolet and mass spectrometry detection. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 24, n. 13, p. 1851-1868, 2010.

GUBITOSA, J.; RIZZI, V.; LOPEDOTA, A.; FINI, P.; LAURENZANA, A.; FIBBI, G.; FANELLI, F.; PETRELLA, A.; LAQUINTANA, V.; DENORA, N.; COMPARELLI, R.; COSMA, P. One pot environmental friendly synthesis of gold nanoparticles using *Punica Granatum* Juice: A novel antioxidant agent for future dermatological and cosmetic applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 521, p. 50-61, 2018.

GUNATILAKA, L. **Plant Natural Products**. In: (Ed.), 2012. p.1-29. ISBN 9781118101179. HAGHI, G.; HATAMI, A.; SAFAEI, A.; MEHRAN, M. Analysis of phenolic compounds in *Matricaria chamomilla* and its extracts by UPLC-UV. **Res Pharm Sci**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2014.

HALVORSEN, B. L.; HOLTE, K.; MYHRSTAD, M. C.; BARIKMO, I.; HVATTUM, E.; REMBERG, S. F.; WOLD, A. B.; HAFFNER, K.; BAUGERØD, H.; ANDERSEN, L. F.; MOSKAUG, Ø.; JACOBS, D. R., JR.; BLOMHOFF, R. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. **J Nutr**, v. 132, n. 3, p. 461-471, 2002.

HAMED, A. I.; SAID, R. B.; KONTEK, B.; AL-AYED, A. S.; KOWALCZYK, M.; MOLDOCH, J.; STOCHMAL, A.; OLAS, B. LC-ESI-MS/MS profile of phenolic and glucosinolate compounds in samh flour (*Mesembryanthemum forsskalei* Hochst. ex Boiss) and the inhibition of oxidative stress by these compounds in human plasma. **Food Res Int**, v. 85, p. 282-290, 2016.

HOOI POAY, T.; SUI KIONG, L.; CHENG HOCK, C. Characterisation of galloylated cyanogenic glucosides and hydrolysable tannins from leaves of *Phyllagathis rotundifolia* by LC-ESI-MS/MS. **Phytochem Anal**, v. 22, n. 6, p. 516-525, 2011.

HUGO, W. B. The degradation of preservatives by microorganisms. **International Biodeterioration**, v. 27, n. 2, p. 185-194, 1991.

HUSSEIN, R. A.; EL-ANSSARY, A. A. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. **Herb. Med**, v. 1, n. 3, 2019.

JIMÉNEZ, N.; CARRILLO-HORMAZA, L.; PUJOL, A.; ÁLZATE, F.; OSORIO, E.; LARA-GUZMAN, O. Antioxidant capacity and phenolic content of commonly used anti-inflammatory medicinal plants in Colombia. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 272-279, 2015.

JIN, J.; LAO, J.; ZHOU, R.; HE, W.; QIN, Y.; ZHONG, C.; XIE, J.; LIU, H.; WAN, D.; ZHANG, S.; QIN, Y. Simultaneous Identification and Dynamic Analysis of Saccharides during Steam Processing of Rhizomes of *Polygonatum cyrtoneura* by HPLC-QTOF-MS/MS. **Molecules**, v. 23, n. 11, 2018.

JONES, M. **The Complete Guide to Creating Oils, Soaps, Creams, and Herbal Gels for Your Mind and Body: 101 Natural Body Care Recipes**. Atlantic Publishing Company, 2011, ISBN 160138369X.

JÚLIO DE SOUZA, A. L.; BEATRIZ MAHLER PEREIRA, A.; ROBISON DE OLIVEIRA, J.; SANTOS RAMALHO, L.; ISMARS DE SOUZA, H.; LACERDA NASCIMENTO, A.; UDDIN, M.; SÉRGIO PEREIRA, P.; NASCIMENTO SILVA TEIXEIRA, D.; ROBERTO DA SILVA, P.; ALVES DE ALBUQUERQUE, D.; HELENA FACCIOLI, L.; DE PAULA ROGÉRIO, A. Dermatophagoides pteronyssinus-induced pro-inflammatory responses mediated via STAT3 and NF-kappaB signaling pathways in human bronchial epithelial cells – Inhibitory effects of *Lafoensia pacari* and ellagic acid. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 142, n. 4, p. 157-164, 2020.

KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **J. Pharm. Pharmacol**, v. 2, n. 7, p. 377-392, 2014.

KACHKOUL, R.; HOUSSAINI, T. S.; MOHIM, M.; EL HABBANI, R.; LAHRICHI, A. Chemical Compounds Identification and Antioxidant and Calcium Oxalate Anticrystallization Activities of *Punica granatum* L. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, p. 9424510, 2020.

KENNEDY, D. O.; WIGHTMAN, E. L. Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain function. **Advances in Nutrition**, v. 2, n. 1, p. 32-50, 2011.

KIM, J.; GRIPENBERG, S.; KARONEN, M.; SALMINEN, J.-P. Seed tannin composition of tropical plants. **Phytochemistry**, v. 187, p. 112750, 2021.



KOHN, Y.; EGAWA, Y.; ITOH, S.; NAGAOKA, S.; TAKAHASHI, M.; MUKAI, K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. **Biochim Biophys Acta**, v. 1256, n. 1, p. 52-56, 1995.

KOLE, P. L.; JADHAV, H. R.; THAKURDESAI, P.; NAGAPPA, A. N. Cosmetics Potential of Herbal Extracts. 2005. 2005.

KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, J.; BIJAK, M.; SALUK, J.; PONCZEK, M. B.; ZBIKOWSKA, H. M.; NOWAK, P.; TSIRIGOTIS-MANIECKA, M.; PAWLACZYK, I. Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic-polysaccharide conjugates. **Int J Biol Macromol**, v. 72, p. 1152-1158, 2015.

KOSIŃSKA, A.; KARAMAĆ, M.; ESTRELLA, I.; HERNÁNDEZ, T.; BARTOLOMÉ, B.; DYKES, G. A. Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of *Persea americana* Mill. Peels and Seeds of Two Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 18, p. 4613-4619, 2012.

KROYMANN, J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Curr Opin Plant Biol**, v. 14, n. 3, p. 246-251, 2011.

L'ORÉAL. Annual growth of the global cosmetics market from 2004 to 2021. Statista Research Department, 2022. Disponível em: < <https://www.statista.com/statistics/297070/growth-rate-of-the-global-cosmetics-market/#statisticContainer> >. Acesso em: 04/11/2022.

LANCET, T. COVID-19 in Brazil: "So what?". **Lancet (London, England)**, v. 395, n. 10235, p. 1461, 2020.

LAVABRE, M. Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais. **Rio de Janeiro: Nova Era**, 2001.  
LEAL, A. B. O banho de Cleópatra. 2022. Disponível em: < <https://www.focus.jor.br/o-banho-de-cleopatra-por-angela-barros-leal/> >. Acesso em: 14/11/2022.

LEE, C.-J.; CHEN, L.-G.; LIANG, W.-L.; WANG, C.-C. Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne in vitro and in vivo. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 315-322, 2010.

LEMOS, M.; VELHO, A. Tintura de Ervas: O que é e Como fazer? , 2016. Disponível em: < <https://espiraldeervas.com.br/2016/08/06/tinturas-o-que-sao-para-que-servem-e-como-prepara-las/> >. Acesso em: 28/06/2022.

LIMA, C.; PEREIRA, A.; SILVA, J.; OLIVEIRA, L.; RESCK, M.; GRECHI, C.; BERNARDES, M.; OLÍMPIO, F.; SANTOS, A.; INCERPI, E. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 1195-1201, 2009.

LIMA, D. D. C.; PITORRO, T. E. A.; SANTIAGO, M. B.; FRANCO, R. R.; SILVA, T. D. C.; PRADO, D. G.; CUNHA, L. C. S.; ESPINDOLA, F. S.; TAVARES, D. C.; NICOLELLA, H. D.; MARTINS, C. H. G.; NOVAIS, V. R. In vitro evaluation of the antibacterial and cytotoxic activities of the *Euclea natalensis* crude extract and fractions against oral infection agents. **Archives Oral Biology**, v. 143, p. 105546, 2022.

LIMA, F. O.; BEZERRA, A. S. Flavonoides e radicais livres. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 13, n. 1, p. 111-124, 2012.

LIMA, M. R.; XIMENES, E. C.; LUNA, J. S.; SANT'ANA, A. E. G. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 300-306, 2006.

LOPEZ-TORRES, M.; THIELE, J. J.; SHINDO, Y.; HAN, D.; PACKER, L. Topical application of alpha-tocopherol modulates the antioxidant network and diminishes ultraviolet-induced oxidative damage in murine skin. **Br J Dermatol**, v. 138, n. 2, p. 207-215, 1998.

LOURENÇO, S. C.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. **Molecules**, v. 24, 2019.

LUPO, M. P. Antioxidants and vitamins in cosmetics. **Clinics in Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 467-473, 2001.

MACHADO, J. C. B.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L. Punica granatum leaves as a source of active compounds: A review of biological activities, bioactive compounds, food, and technological application. **Food Bioscience**, v. 51, p. 102220, 2023.

MALTA, L. G.; LIU, R. H. **Analyses of Total Phenolics, Total Flavonoids, and Total Antioxidant Activities in Foods and Dietary Supplements**. In: (Ed.), 2014. p.305-314. ISBN 9780080931395.

MARTINI, M. C. Conservateurs. **EMC - Cosmétologie et Dermatologie Esthétique**, v. 1, p. 50-120, 2006.

MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). **Phytother Res**, v. 20, n. 7, p. 519-530, 2006.

MEDEIROS, J. D.; KANIS, L. A. Avaliação do efeito de polietilenoglicóis no perfil de extratos de Mikania glomerata Spreng., Asteraceae, e Passiflora edulis Sims, Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 796-802, 2010.

MELGAR, B.; DIAS, M. I.; CIRIC, A.; SOKOVIC, M.; GARCIA-CASTELLO, E. M.; RODRIGUEZ-LOPEZ, A. D.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. R. F. Bioactive characterization of Persea americana Mill. by-products: A rich source of inherent antioxidants. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 212-218, 2018.

MENA, P.; CALANI, L.; DALL'ASTA, C.; GALAVERNA, G.; GARCÍA-VIGUERA, C.; BRUNI, R.; CROZIER, A.; DEL RIO, D. Rapid and comprehensive evaluation of (poly)phenolic compounds in pomegranate (*Punica granatum* L.) juice by UHPLC-MSn. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 14821-14840, 2012.

MENSOR, L.; BOYLAN, F.; LEITAO, G.; REIS, A.; SANTOS, T.; COUBE, C.; LEITÃO, S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research : PTR**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MIDELT. Álcool de cereais (milho). 2022. Disponível em: < [https://www.midelt.com.br/produtos\\_mostra.php?id=47](https://www.midelt.com.br/produtos_mostra.php?id=47) >. Acesso em: 02/07/2022.

MONTEIRO, J.; SOUZA, J.; LINS NETO, E.; SCOPEL, K.; TRINDADE, E. Does total tannin content explain the use value of spontaneous medicinal plants from the Brazilian semi-arid region? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 116–123, 2014.

MOY, L. S. **COSMETIC FORMULATION AND METHOD FOR AMELORATION OF SKIN KERATOSES AND STRIAE DISTENSÆ** 1999.

MUNDO, S. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de Dedaleiro: *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae). 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J Nat Prod**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

NGUYEN, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Chiral drugs: an overview. **Int J Biomed Sci**, v. 2, n. 2, p. 85-100, 2006.

NOWAK, K.; JABŁOŃSKA, E.; RATAJCZAK-WRONA, W. Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. **Environ Res**, v. 198, p. 110488, 2021.

NUNES, G. P.; SILVA, M. F. D.; RESENDE, U. M.; SIQUEIRA, J. R. M. D. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira De Farmacognosia-brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 13, p. 83-92, 2003.

OLIVEIRA, A.; VALENTIM, I.; GOULART, M.; SILVA, C.; BECHARA, E.; TREVISAN, M. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quimica Nova - QUIM NOVA**, v. 32, 2009.

OZGEN, S.; KILINC, O. K.; SELAMOĞLU, Z. Antioxidant activity of quercetin: a mechanistic review. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 4, n. 12, p. 1134-1138, 2016.

PACKER, L.; WEBER, S. U.; RIMBACH, G. Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. **J Nutr**, v. 131, n. 2, p. 369s-373s, 2001.

PALACIOS-ESPINOSA, J. F.; ARROYO-GARCÍA, O.; GARCÍA-VALENCIA, G.; LINARES, E.; BYE, R.; ROMERO, I. Evidence of the anti-*Helicobacter pylori*, gastroprotective and anti-inflammatory activities of *Cuphea aequipetala* infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 2, p. 990-998, 2014.

PEREIRA, L. O. M.; VILEGAS, W.; TANGERINA, M. M. P.; ARUNACHALAM, K.; BALOGUN, S. O.; ORLANDI-MATTOS, P. E.; COLODEL, E. M.; MARTINS, D. T. O. *Lafoensia pacari* A. St.-Hil.: Wound healing activity and mechanism of action of standardized hydroethanolic leaves extract. **J Ethnopharmacol**, v. 219, p. 337-350, 2018.

PEREIRA, V.; BENTO, C.; OLIVEIRA, P.; ROCHA, L.; AUGUSTI, R.; MENDONÇA, C.; SILVA, R. Electrospray Ionization Mass Spectrometry Fingerprint of the *Byrsonima* Species. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 2539-2548, 2015.

PÉREZ-ARANTEGUI, J.; CEPRIÁ, G.; RIBECHINI, E.; DEGANO, I.; COLOMBINI, M. P.; PAZ-PERALTA, J.; ORTIZ-PALOMAR, E. Colorants and oils in Roman make-ups—an eye witness account. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 8, p. 1019-1028, 2009.

PEYREFITTE, G.; MARTINI, M. C.; CHIVOT, M.; DE SOUZA CRUZ, J. R. A. **Estética-cosmética: cosmetologia, biologia geral, biologia da pele**. Organização Andrei, 1998, ISBN 9788574760506. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=w3VAYgEACAAJ> >.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **Int J Biomed Sci**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International journal of biomedical science : IJBS**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PHILLIPS, C. L.; COMBS, S. B.; PINNELL, S. R. Effects of ascorbic acid on proliferation and collagen synthesis in relation to the donor age of human dermal fibroblasts. **J Invest Dermatol**, v. 103, n. 2, p. 228-232, 1994.

PINTO, T. D. J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2010, 780 ISBN 978.85.7454.100.6.

PINTO, T. D. J. A.; KANKO, T. M.; PINTO, A. F. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. Malone: 2015,

PIZZI, A. **Chapter 8 - Tannins: Major Sources, Properties and Applications**. In: BELGACEM, M. N. GANDINI, A. (Ed.). **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. Amsterdam: Elsevier, 2008. p.179-199. ISBN 978-0-08-045316-3.

PORFÍRIO, Z.; MELO-FILHO, G. C.; ALVINO, V.; LIMA, M. R. F.; SANT'ANA, A. E. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., Lythraceae, frente a bactérias multirresistentes de origem hospitalar. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 785-789, 2009.

POTT, D. M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J. G. From Central to Specialized Metabolism: An Overview of Some Secondary Compounds Derived From the Primary Metabolism for Their Role in Conferring Nutritional and Organoleptic Characteristics to Fruit. **Front Plant Sci**, v. 10, p. 835, 2019.

PREVENTION, C. F. D. C. A. Hand Hygiene in Healthcare Settings. 2023. Disponível em: < [https://www.cdc.gov/handhygiene/index.html?CDC\\_AA\\_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fhcp%2Fhand-hygiene.html](https://www.cdc.gov/handhygiene/index.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fhcp%2Fhand-hygiene.html) >. Acesso em: 15/02/2023.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

QUARESMA, D.; JUSTINO, A.; SOUSA, R.; MUNOZ, R.; AQUINO, F.; MARTINS, M.; GOULART, L.; PIVATTO, M.; ESPINDOLA, F.; DE OLIVEIRA, A. Antioxidant compounds

from *Banisteriopsis argyrophylla* leaves as  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, lipase, and glycation inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 105, p. 104335, 2020.

QUATRIN, A. **Casca de jaboticaba: metabolização e implicações na prevenção das complicações do diabetes**. 2019. Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia dos alimentos, Universidade Federal de Santa Maria

QUEIROZ, C.; MORAIS, S.; NASCIMENTO, E. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, 2002.

QUINN, L.; TANG, H. Antioxidant properties of phenolic compounds in macadamia nuts. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 11, p. 1585-1588, 1996.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química nova**, p. 755-760, 2006.

RAUF, A.; AKRAM, M.; SEMWAL, P.; MUJAWAH, A. A. H.; MUHAMMAD, N.; RIAZ, Z.; MUNIR, N.; PIOTROVSKY, D.; VDOVINA, I.; BOUYAHYA, A.; ADETUNJI, C. O.; SHARIATI, M. A.; ALMARHOON, Z. M.; MABKHOT, Y. N.; KHAN, H. Antispasmodic Potential of Medicinal Plants: A Comprehensive Review. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2021, p. 4889719, 2021.

REDDY, M. K.; GUPTA, S. K.; JACOB, M. R.; KHAN, S. I.; FERREIRA, D. Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. **Planta Med**, v. 73, n. 5, p. 461-467, 2007.

REICHERT, C. L.; SILVA, D. B.; CAROLLO, C. A.; WEFFORT-SANTOS, A. M.; SANTOS, C. A. M. Metabolic profiling and correlation analysis for the determination of killer compounds of proliferating and clonogenic HRT-18 colon cancer cells from *Lafoesia pacari*. **J Ethnopharmacol**, v. 224, p. 541-552, 2018.

REYNERTSON, K.; BASILE, M.; KENNELLY, E. Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 3, 2005.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **J Ethnopharmacol**, v. 100, n. 1-2, p. 80-84, 2005.

RIVELLI, D. P.; ROPKE, C. D.; ALMEIDA, R. L. D.; SILVA, V. V. D.; SAWADA, T. C. H.; WASICKY, A.; KATO, E. T. M.; BACCHI, E. M.; BARROS, S. B. D. M. Atividade antioxidante de extratos de *Passiflora* sp(maracujá) por ORAC. **Cosmetics and Toiletries. Edição em Português**, v. 20, n. 4, p. 54-59, 2008.

ROGERIO, A. P.; FONTANARI, C.; BORDUCCHI, É.; KELLER, A. C.; RUSSO, M.; SOARES, E. G.; ALBUQUERQUE, D. A.; FACCIOLI, L. H. Anti-inflammatory effects of *Lafoesia pacari* and ellagic acid in a murine model of asthma. **European Journal of Pharmacology**, v. 580, n. 1, p. 262-270, 2008.

ROGERIO, A. P.; FONTANARI, C.; MELO, M. C. C.; AMBROSIO, S. R.; DE SOUZA, G. E. P.; PEREIRA, P. S.; FRANÇA, S. C.; DA COSTA, F. B.; ALBUQUERQUE, D. A.; FACCIOLI, L. H. Anti-inflammatory, analgesic and anti-oedematous effects of *Lafoesia*

pacari extract and ellagic acid. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, n. 9, p. 1265-1273, 2006.

RUFINO, M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E.; DE MORAIS, S.; SAMPAIO, C. D. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

SALDANHA, L. L.; VILEGAS, W.; DOKKEDAL, A. L. Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* Cambess. using FIA-ESI-IT-MS(n) and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8402-8416, 2013.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. Flavonoids of species of *Cuphea* (Lythraceae) from Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 23, n. 1, p. 99-103, 1995.  
SARAF, S.; KAUR, C. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetic formulations. **Pharmacognosy reviews**, v. 4, n. 7, p. 1, 2010.

SARMAH, R.; KANTA BHAGABATI, S.; DUTTA, R.; NATH, D.; POKHREL, H.; MUDOI, L. P.; SARMAH, N.; SARMA, J.; AHMED, A. M.; JYOTI NATH, R.; INGTIPI, L.; KUOTSU, K. Toxicity of a synthetic phenolic antioxidant, butyl hydroxytoluene (BHT), in vertebrate model zebrafish embryo ( *Danio rerio* ). **Aquaculture Research**, v. 51, p. 3839-3846, 2020.

SARTORI, L. R.; LOPES, N. P.; GUARATINI, T. **A Química no cuidado com a pele**. Sociedade Brasileira de Química: Coleção Química no cotidiano, 2010, ISBN 978-85-64099-05-0

SCHÄFER, H.; WINK, M. Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: progress in alkaloid biosynthesis. **Biotechnol J**, v. 4, n. 12, p. 1684-1703, 2009.

SCHWARTZ, H.; OLLILAINEN, V.; PIIRONEN, V.; LAMPI, A.-M. Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 2, p. 152-161, 2008.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 227-236, 2004.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **Am J Med**, v. 91, n. 3c, p. 31s-38s, 1991.

SINGH, A.; BAJPAI, V.; KUMAR, S.; SHARMA, K. R.; KUMARA, B. Profiling of Gallic and Ellagic Acid Derivatives in Different Plant Parts of *Terminalia arjuna* by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. **Natural Product Communications**, v. 11, n. 2, p. 239-244, 2016.

SMART, R. C.; CRAWFORD, C. L. Effect of ascorbic acid and its synthetic lipophilic derivative ascorbyl palmitate on phorbol ester-induced skin-tumor promotion in mice. **Am J Clin Nutr**, v. 54, n. 6 Suppl, p. 1266s-1273s, 1991.

SOBRINHO, F. C. B.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M. Estudo etnofarmacológico sobre *Lafoensia replicata* Pohl. no leste do Maranhão, Brasil: uma promissora espécie para bioprospecção. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 39, 2016.

SOLON, S.; LOPES, L.; TEIXEIRA DE SOUSA, P., JR.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavenging activity of *Lafoensia pacari*. **J Ethnopharmacol**, v. 72, n. 1-2, p. 173-178, 2000.

SREČKOVIĆ, N.; KATANIĆ STANKOVIĆ, J. S.; MATIĆ, S.; MIHAILOVIĆ, N. R.; IMBIMBO, P.; MONTI, D. M.; MIHAILOVIĆ, V. *Lythrum salicaria* L. (Lythraceae) as a promising source of phenolic compounds in the modulation of oxidative stress: Comparison between aerial parts and root extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 155, p. 112781, 2020.

TAPSOBA, I.; ARBAULT, S.; WALTER, P.; AMATORE, C. Finding Out Egyptian Gods' Secret Using Analytical Chemistry: Biomedical Properties of Egyptian Black Makeup Revealed by Amperometry at Single Cells. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 2, p. 457-460, 2010. TOLER, J. C. Preservative stability and preservative systems. **Int J Cosmet Sci**, v. 7, n. 4, p. 157-164, 1985.

TREVISAN, C. A. História dos cosméticos Conselho Regional de Química, 2011. Disponível em: < <https://www.crq4.org.br/historiadoscsmeticosquimicaviva> >. Acesso em: 16/11/2022.

TSIMOGIANNIS, D.; OREOPOULOU, V. **Classification of phenolic compounds in plants**. In: (Ed.). **Polyphenols in plants**: Elsevier, 2019. p.263-284.

VAN ELSLANDE, E.; GUÉRINEAU, V.; THIRIOUX, V.; RICHARD, G.; RICHARDIN, P.; LAPRÉVOTE, O.; HUSSLER, G.; WALTER, P. Analysis of ancient Greco-Roman cosmetic materials using laser desorption ionization and electrospray ionization mass spectrometry. **Anal Bioanal Chem**, v. 390, n. 7, p. 1873-1879, 2008.

VIEIRA, I.; SILVA, S.; SOUZA, J.; MONTEIRO, J. Relação entre parâmetros biométricos e teores de fenóis totais em *Lafoensia replicata* Pohl. – Um estudo de caso. **Scientia Plena**, v. 13, 2017.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 452-457, 2009.

VIVAS, N.; NONIER, M.-F.; DE GAULEJAC, N. V.; DE BOISSEL, I. P. Occurrence and partial characterization of polymeric ellagitannins in *Quercus petraea* Liebl. and *Q. robur* L. wood. **Comptes Rendus Chimie**, v. 7, n. 8, p. 945-954, 2004.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 1996, 384

WALL, M. M. Functional lipid characteristics, oxidative stability, and antioxidant activity of macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) cultivars. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1103-1108, 2010.

WEST, D. P.; ZHU, Y. F. Evaluation of aloe vera gel gloves in the treatment of dry skin associated with occupational exposure. **American Journal of Infection Control**, v. 31, n. 1, p. 40-42, 2003.

WINK, M. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. **Annual plant reviews volume 40: Biochemistry of plant secondary metabolism**, p. 1-19, 2010.

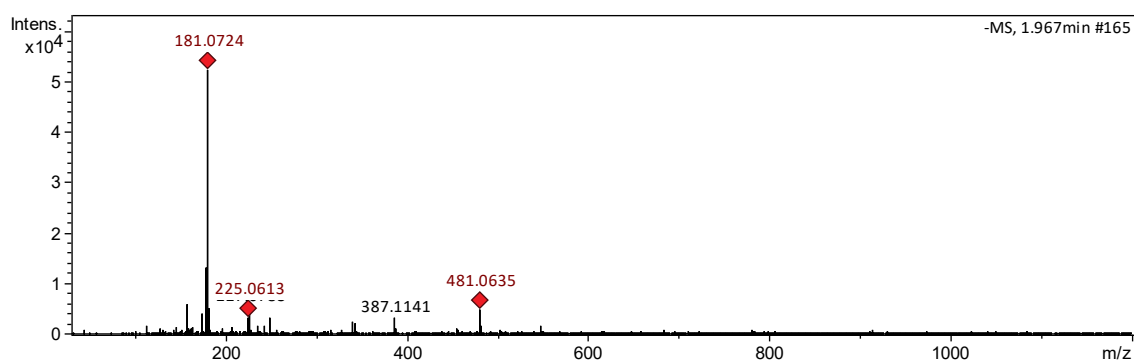
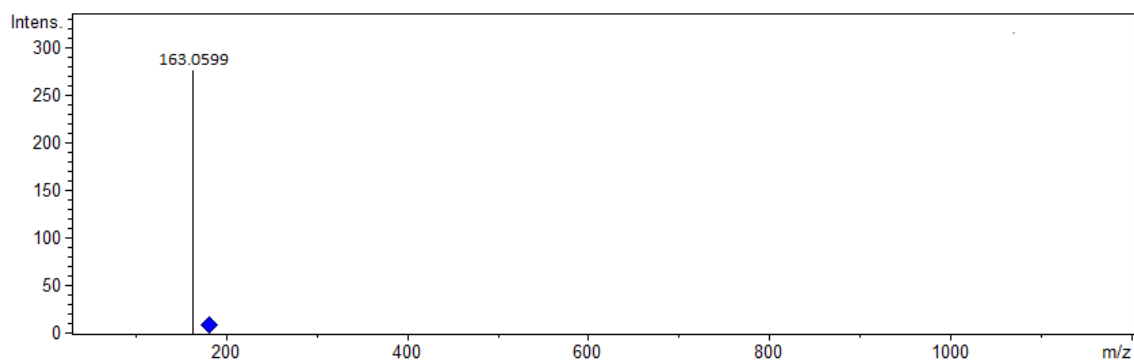
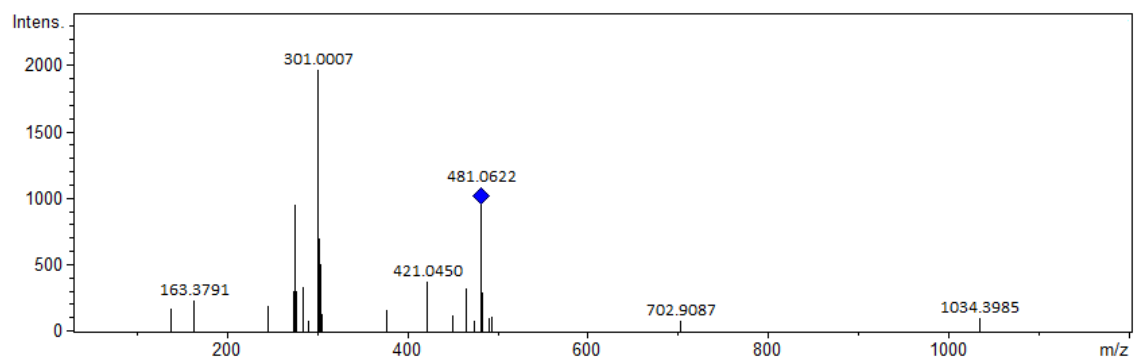
WYREPKOWSKI, C. C.; COSTA, D. L.; SINHORIN, A. P.; VILEGAS, W.; DE GRANDIS, R. A.; RESENDE, F. A.; VARANDA, E. A.; DOS SANTOS, L. C. Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16039-16057, 2014.

ZAGO, A. M.; CARVALHO, F. B.; GUTIERRES, J. M.; BOHNERT, C.; FERNANDES, M. D. C.; MORANDINI, L. M.; COELHO, H. S.; FOGAÇA, A. O.; ANDRADE, C. M.; MOSTARDEIRO, M. A.; DALCOL, I. I.; MOREL, A. F. A phytochemical study of the *Cuphea glutinosa* from Southern Brazil: Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity inhibition and antioxidant properties. **Natural Product Research**, v. 33, n. 23, p. 3426-3431, 2019.

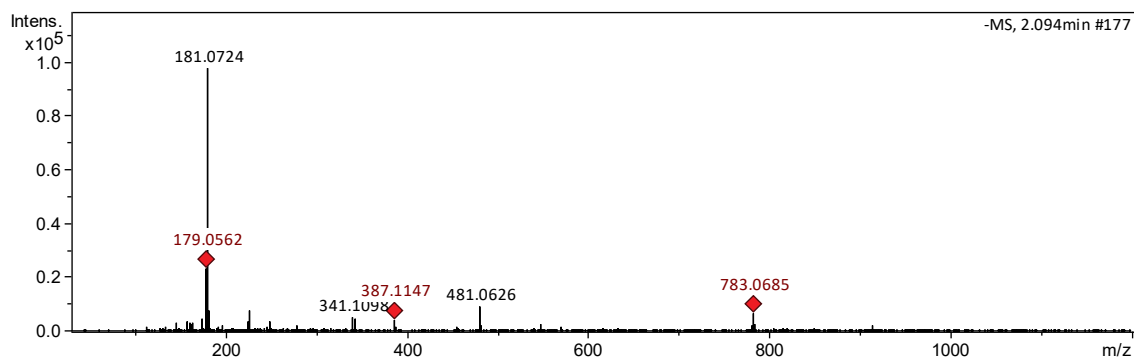
ZEB, A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 9, p. e13394, 2020.



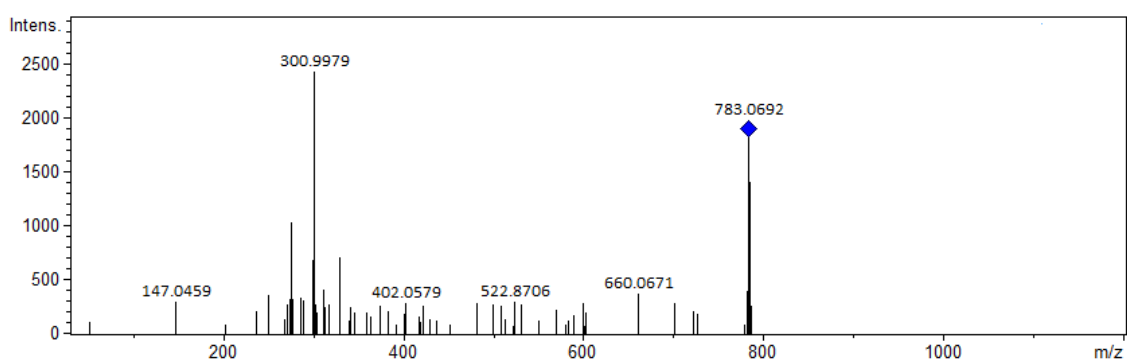
## APÊNDICE

**Figura A1:** (-)-EM dos compostos 1 e 2 ( $m/z$  181,0724 e 481,0635  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.**Figura A2:** (-)-IES-EM/EM do composto 1 ( $m/z$  181,0724  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.**Figura A3:** (-)-IES-EM/EM do composto 2 ( $m/z$  481,0635  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.

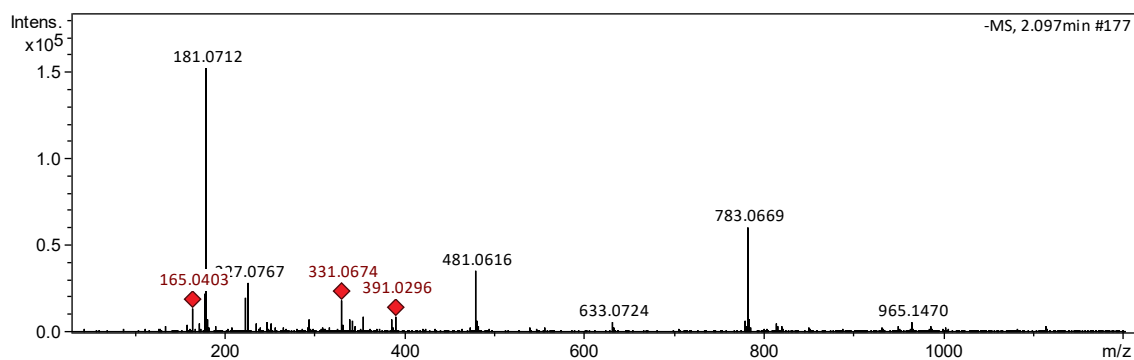
**Figura A4:** (-)-EM do composto 3 ( $m/z$  783,0685 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



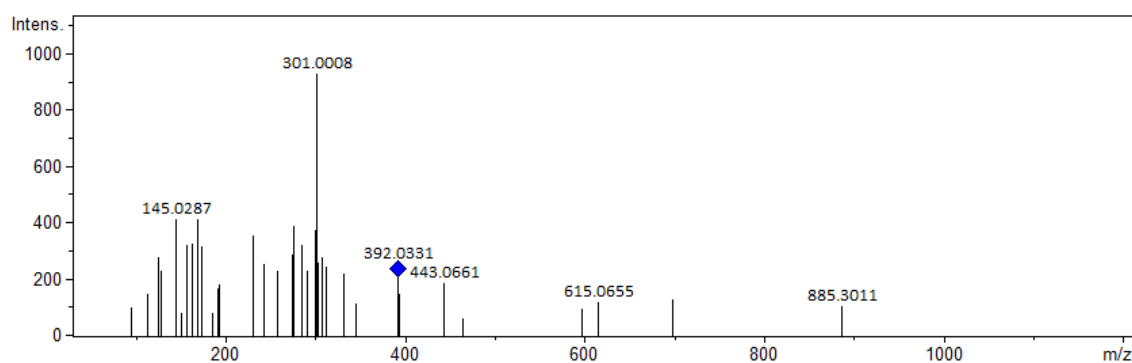
**Figura A5:** (-)-IES-EM/EM do composto 3 ( $m/z$  783,0685 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



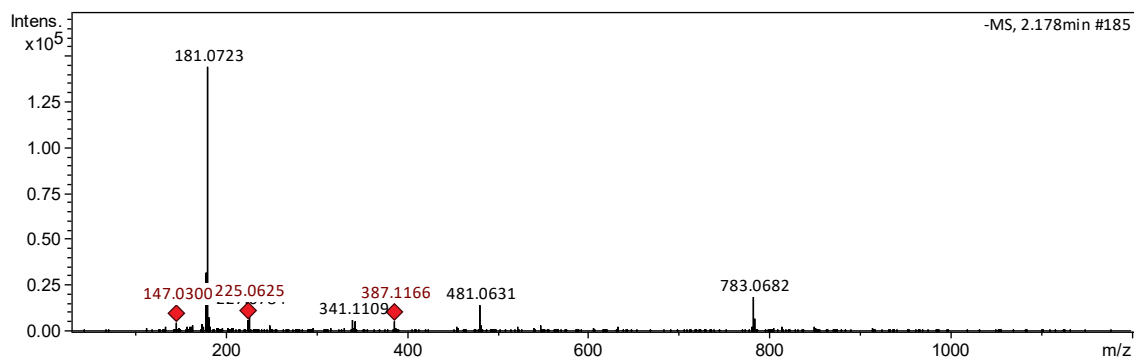
**Figura A6:** (-)-EM do composto 4 ( $m/z$  391,0303 [M-2H]<sup>2-</sup>) da Tabela 20.



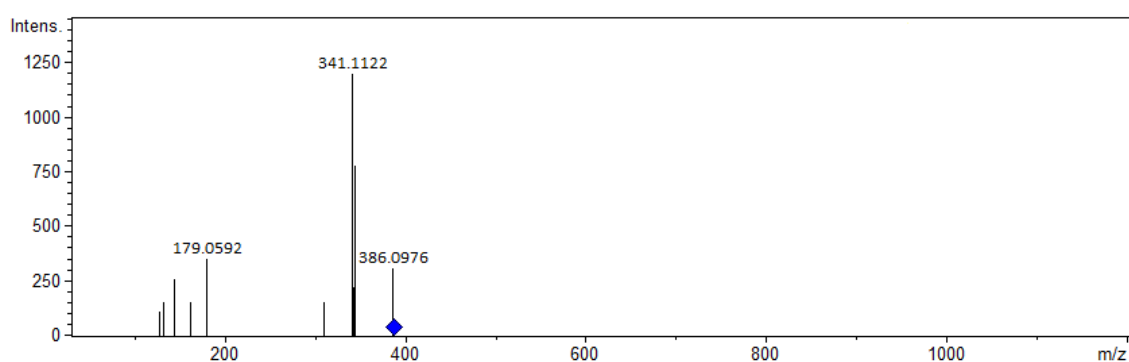
**Figura A7:** (-)-IES-EM/EM do composto 4 ( $m/z$  391,0303 [M-2H]<sup>2-</sup>) da Tabela 20.



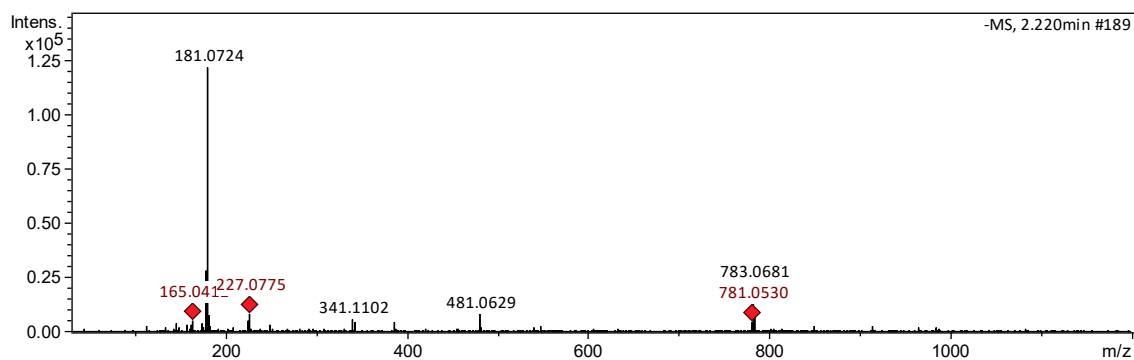
**Figura A8:** (-)-EM do composto 5 ( $m/z$  387,1166 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



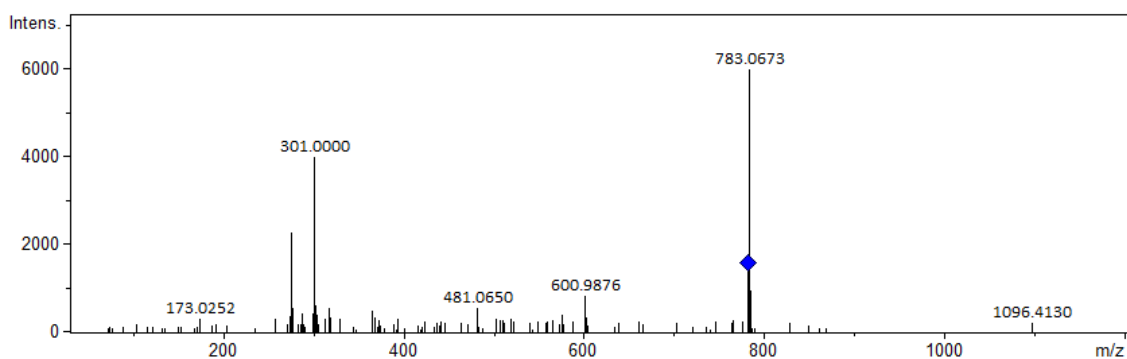
**Figura A9:** (-)-IES-EM/EM do composto 5 ( $m/z$  387,1166 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



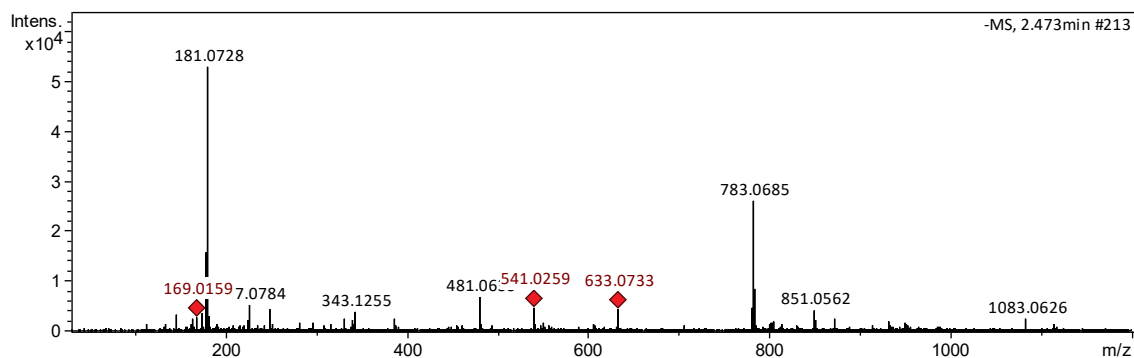
**Figura A10:** (-)-EM do composto 6 ( $m/z$  781,0530 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



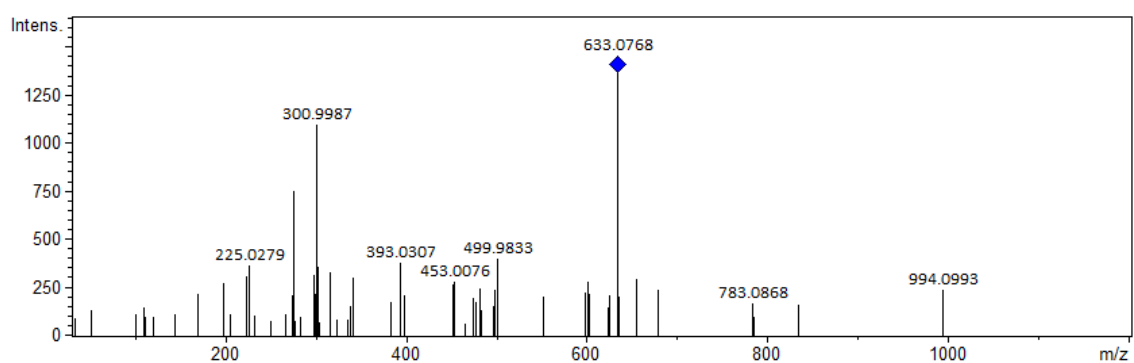
**Figura A11:** (-)-IES-EM/EM do composto 6 ( $m/z$  781,0530 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



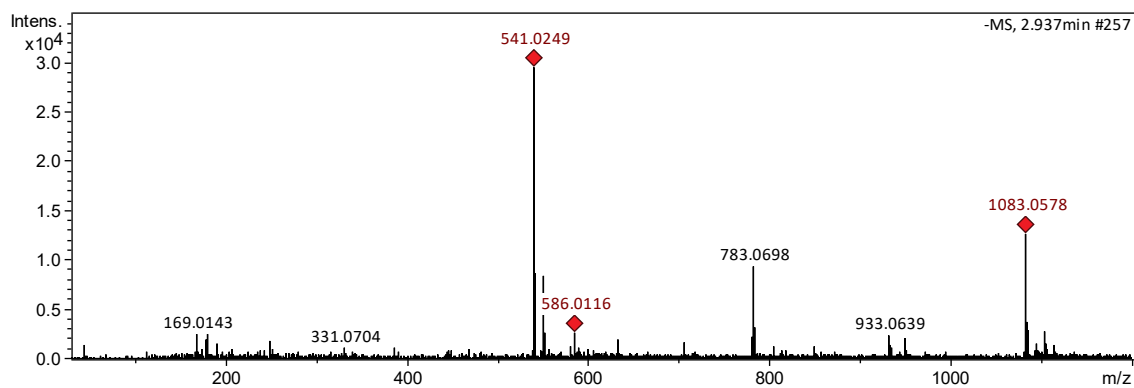
**Figura A12:** (-)-EM do composto 7 ( $m/z$  633,0733 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



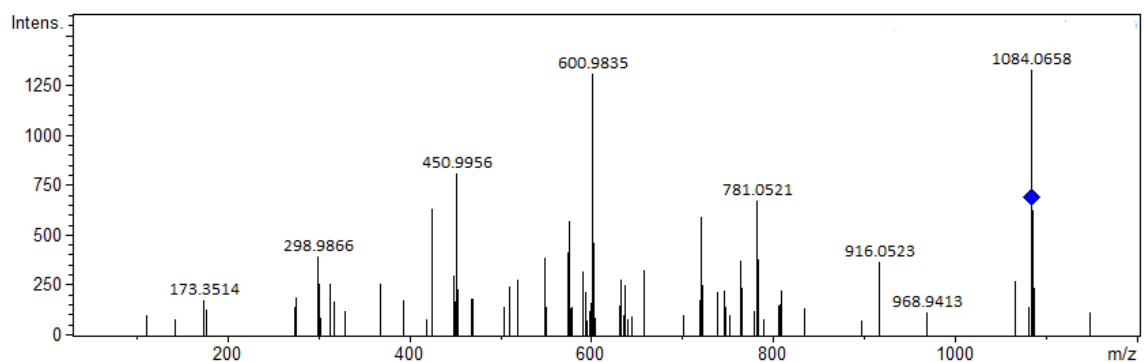
**Figura A13:** (-)-IES-EM/EM do composto 7 ( $m/z$  633,0733 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



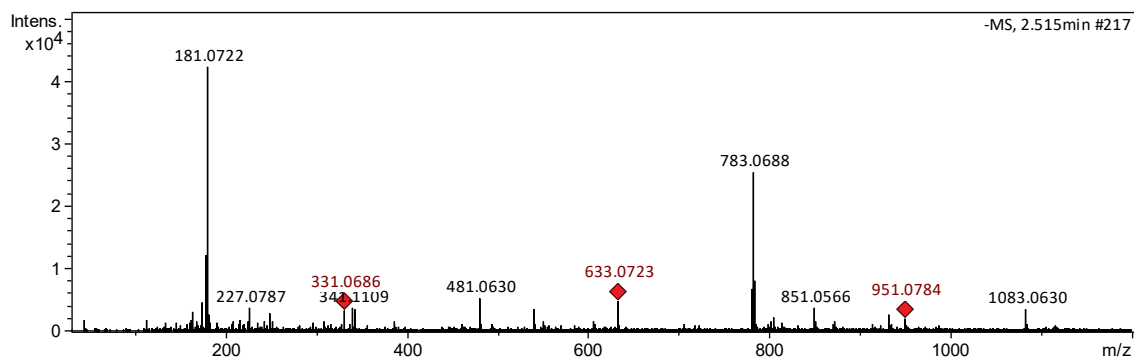
**Figura A14:** (-)-EM do composto 8 ( $m/z$  541,0249 [M - 2H]<sup>2-</sup>) da Tabela 20.



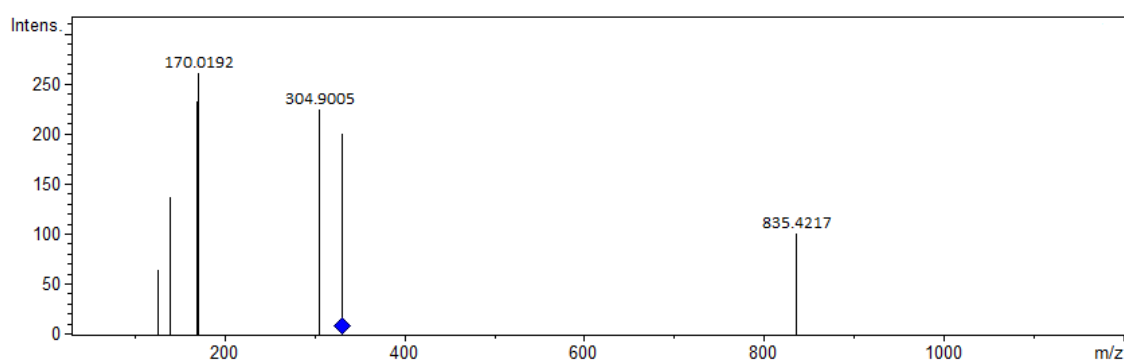
**Figura A15:** (-)-IES-EM/EM do composto 8 ( $m/z$  541,0249 [M - 2H]<sup>2-</sup>) da Tabela 20.



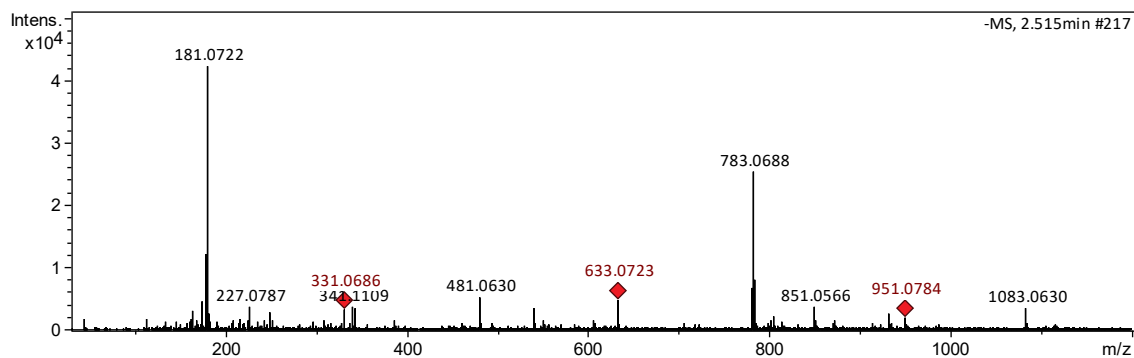
**Figura A16:** (-)-EM do composto 9 ( $m/z$  331,0686 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



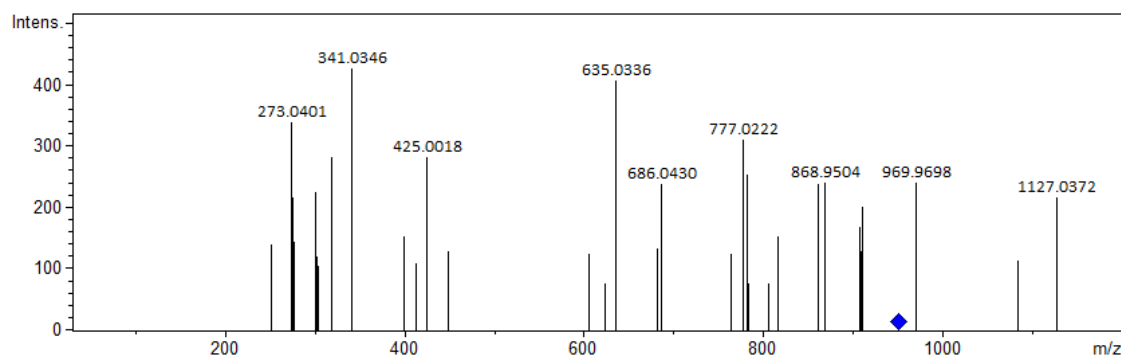
**Figura A17:** (-)-IES-EM/EM do composto 9 ( $m/z$  331,0686 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



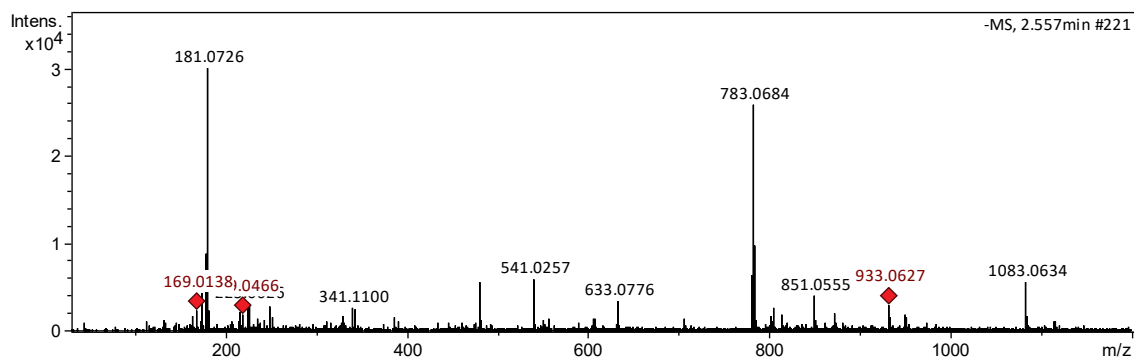
**Figura A18:** (-)-EM do composto 10 ( $m/z$  951,0784 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



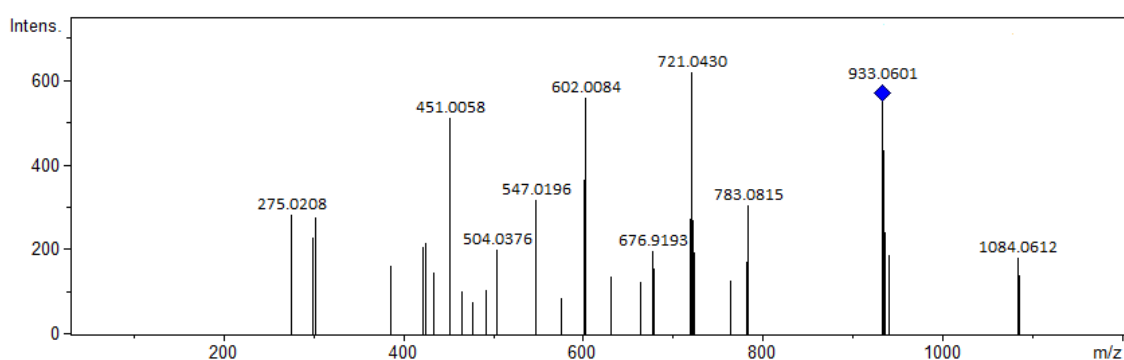
**Figura A17:** (-)-IES-EM/EM do composto 10 ( $m/z$  951,0784 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



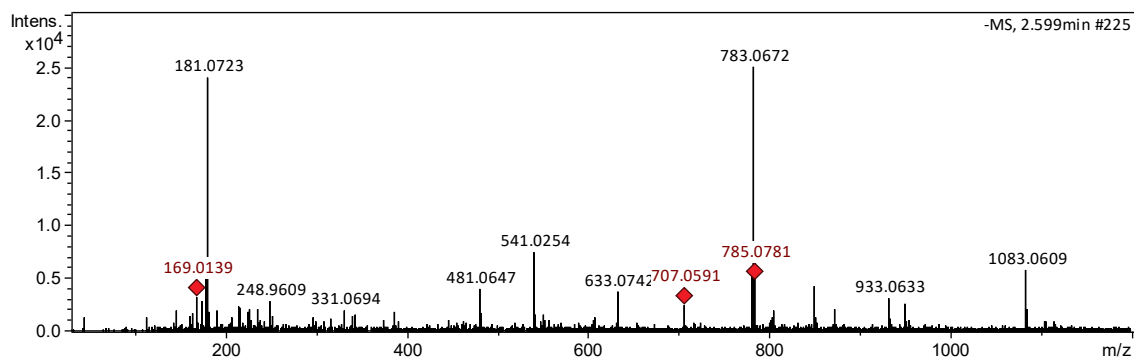
**Figura A19:** (-)-EM do composto 11 ( $m/z$  933,0627 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



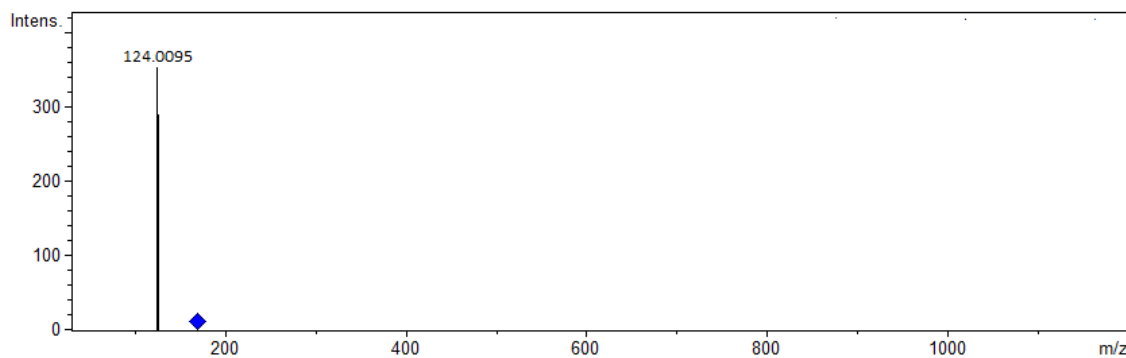
**Figura A20:** (-)-IES-EM/EM do composto 11 ( $m/z$  933,0627 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



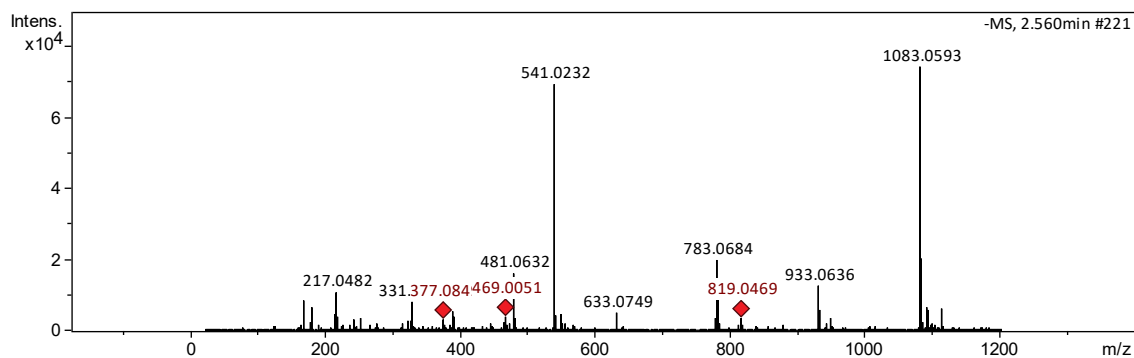
**Figura A21:** (-)-EM do composto 12 ( $m/z$  169,0139 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



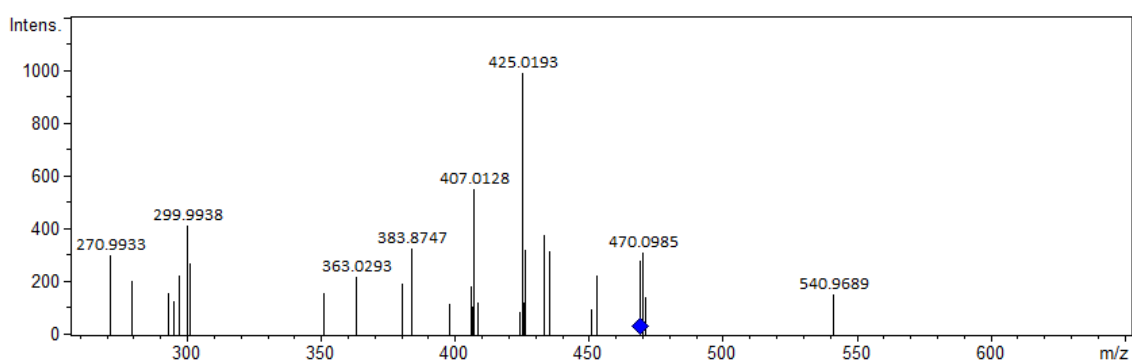
**Figura A22:** (-)-IES-EM/EM do composto 12 ( $m/z$  169,0139 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



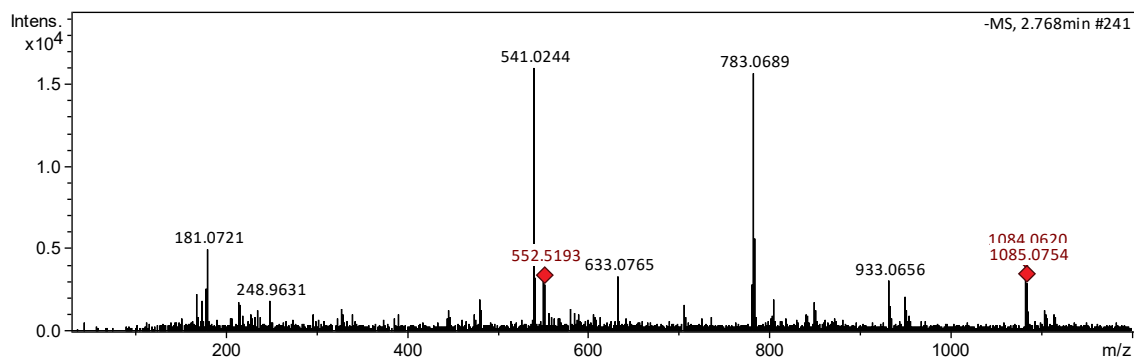
**Figura A23:** (-)-EM do composto 13 ( $m/z$  469,0051 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



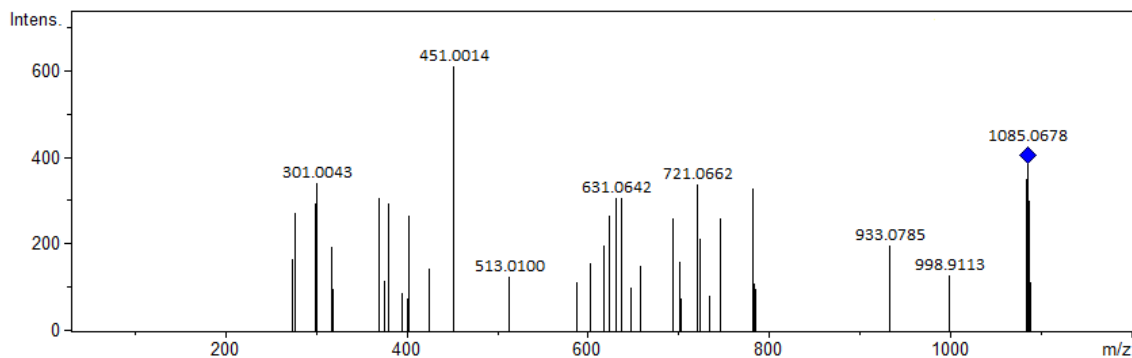
**Figura A24:** (-)-IES-EM/EM do composto 13 ( $m/z$  469,0051 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

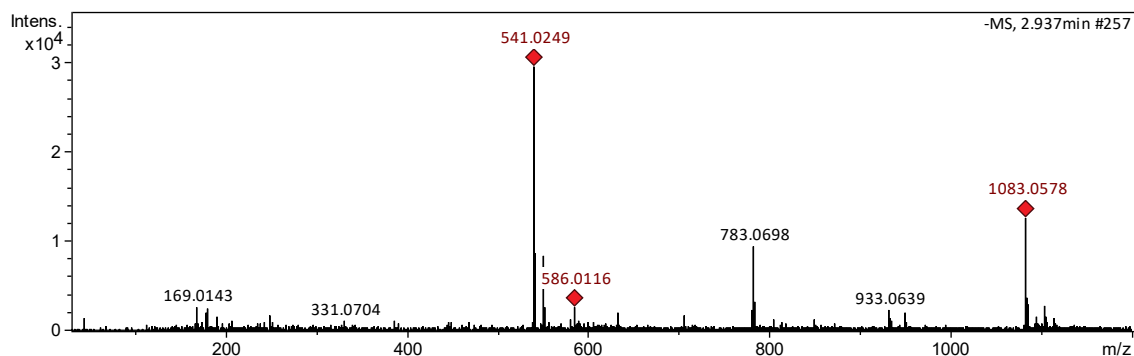
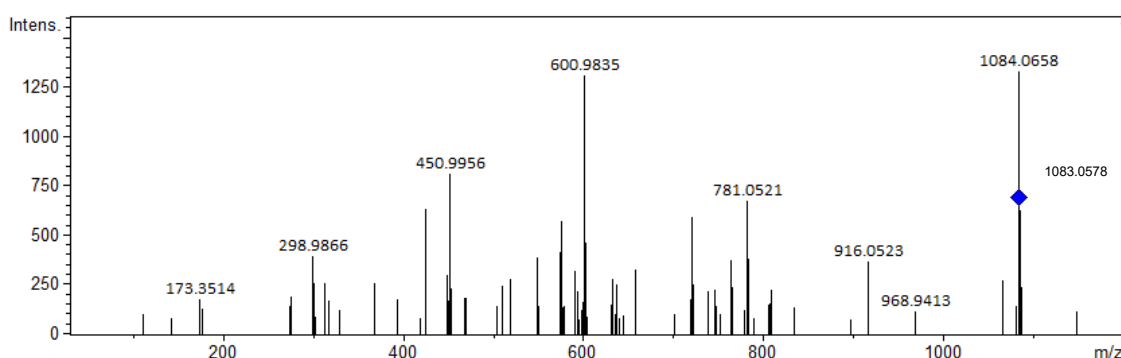
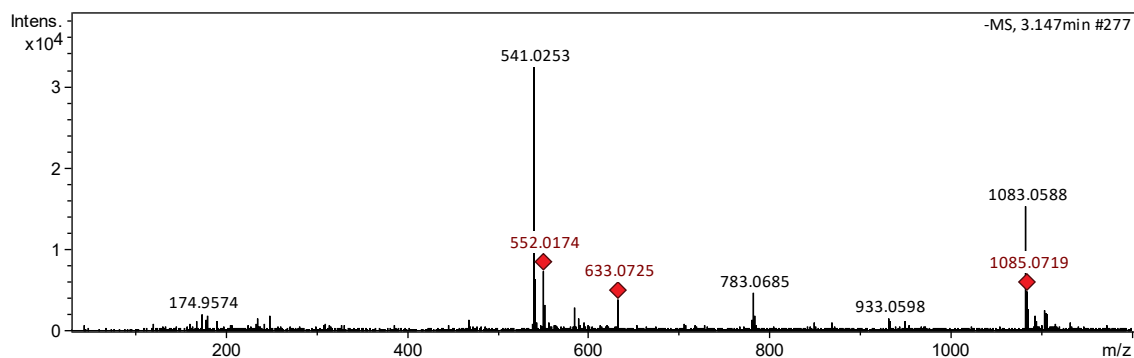
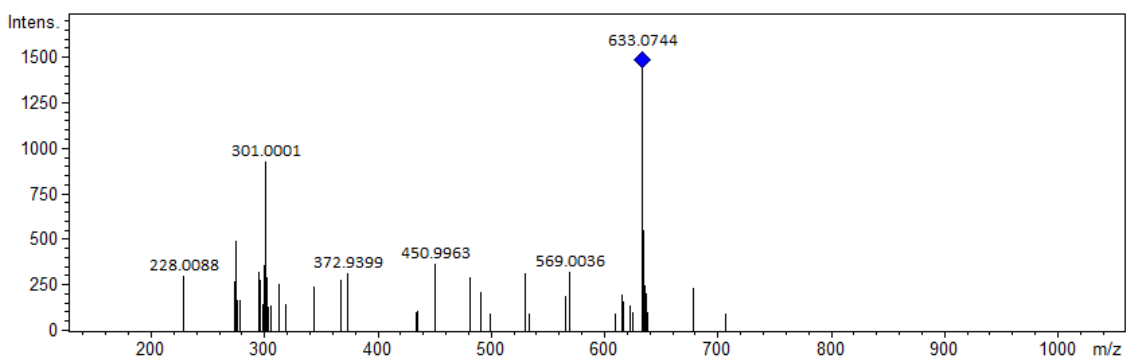


**Figura A25:** (-)-EM do composto 14 ( $m/z$  1085,0754 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

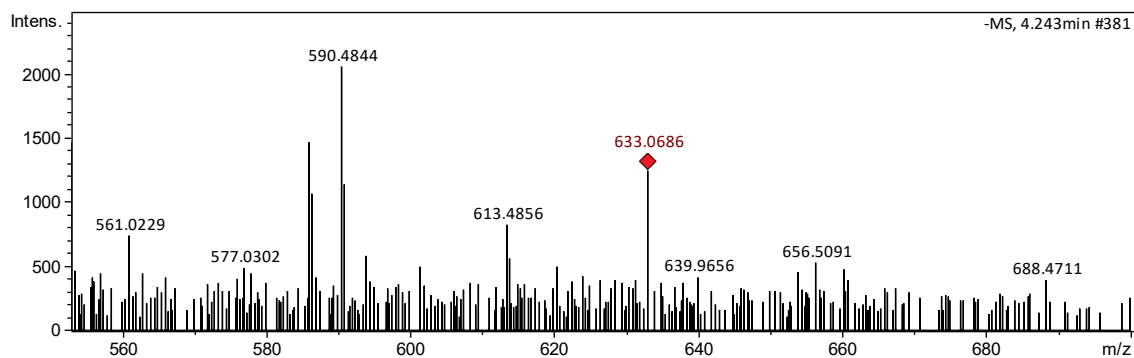
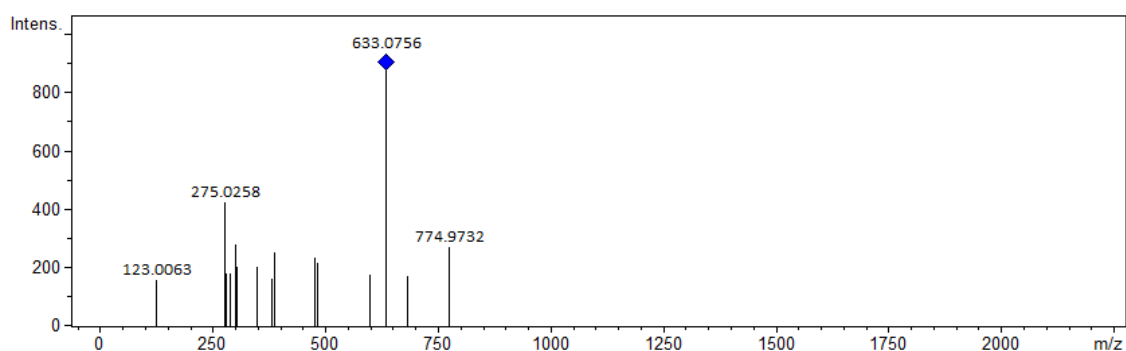
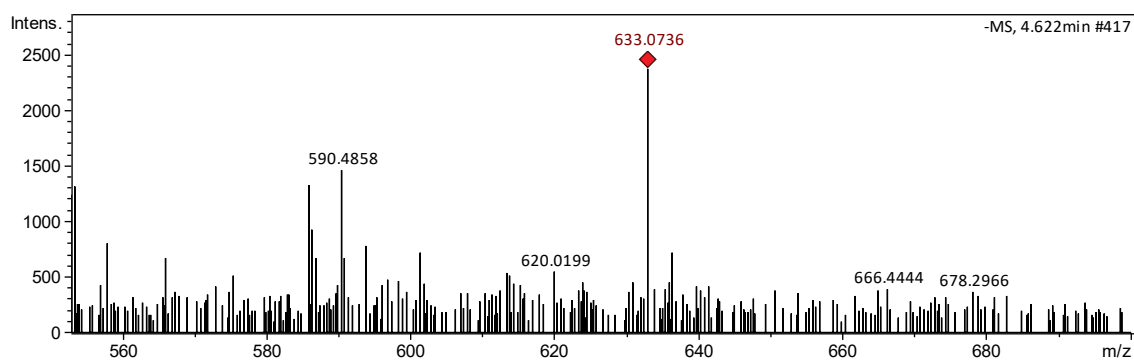
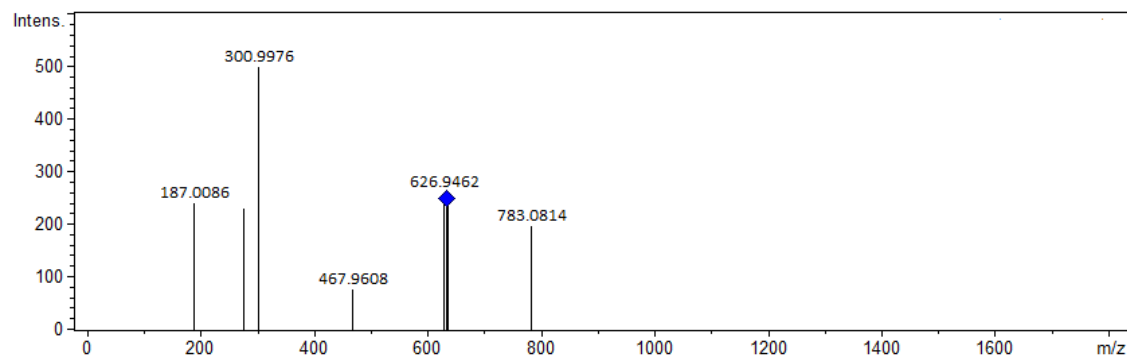


**Figura A26:** (-)-IES-EM/EM do composto 14 ( $m/z$  1085,0754 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

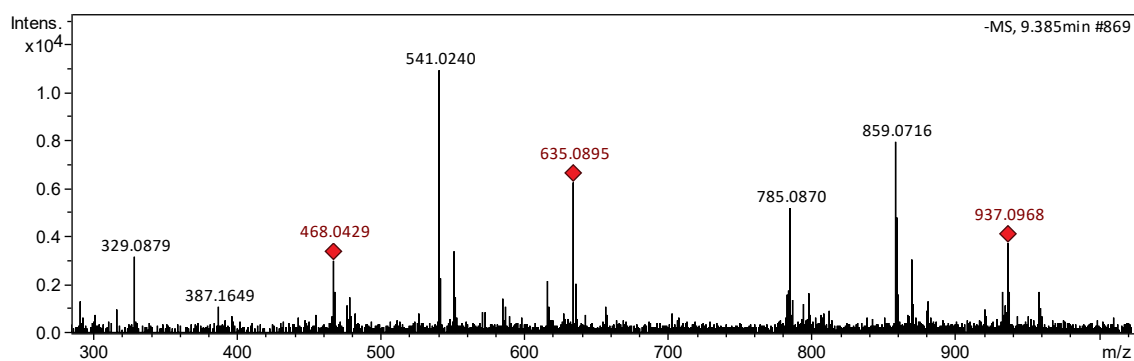


**Figura A27:** (-)-EM do composto 15 ( $m/z$  1083,0578 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A28:** (-)-IES-EM/EM do composto 15 ( $m/z$  1083,0578 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A29:** (-)-EM do composto 16 ( $m/z$  633,0725 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A30:** (-)-IES-EM/EM do composto 16 ( $m/z$  633,0725[M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

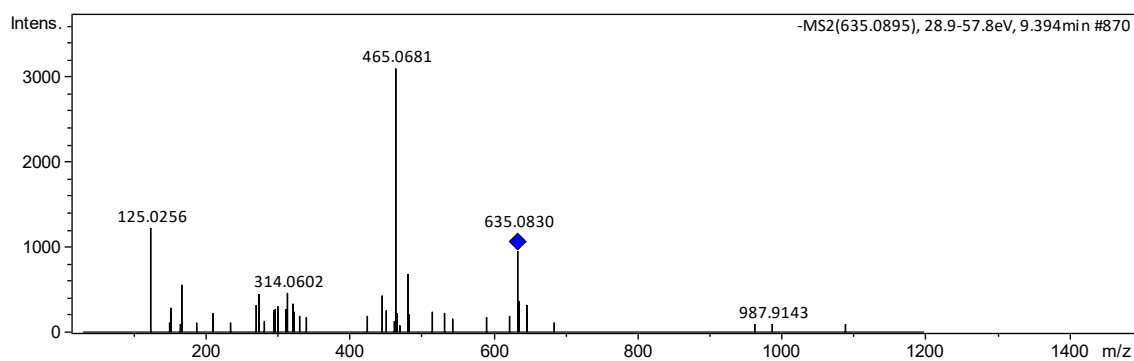


**Figura A31:** (-)-EM do composto 17 ( $m/z$  633,0686 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A31:** (-)-IES-EM/EM do composto 17 ( $m/z$  633,0686[M - H]<sup>-</sup>).**Figura A32:** (-)-EM do composto 18 ( $m/z$  633,0736 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A33:** (-)-IES-EM/EM do composto 18 ( $m/z$  633,0736 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

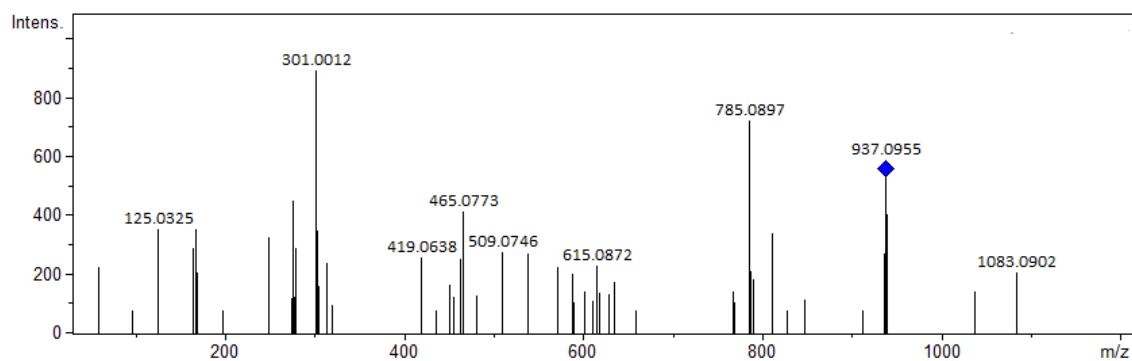
**Figura A33:** (-)-EM dos compostos 19 e 20 ( $m/z$  635,0895 e  $m/z$  937,0968 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

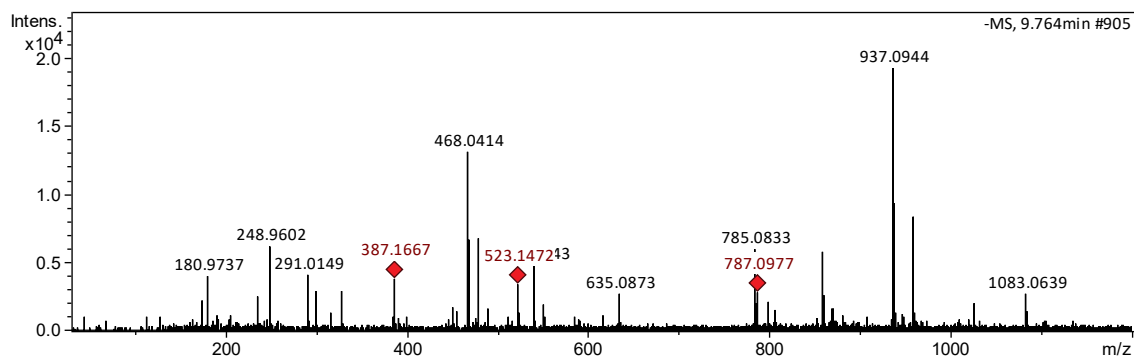
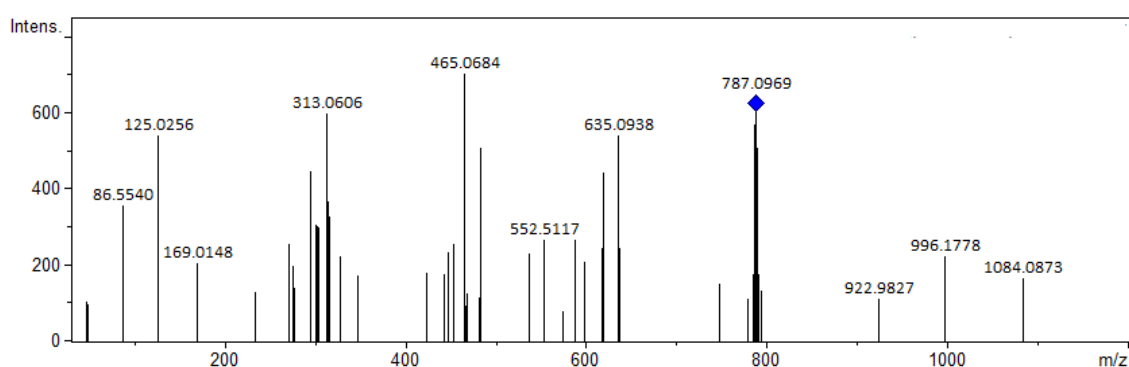
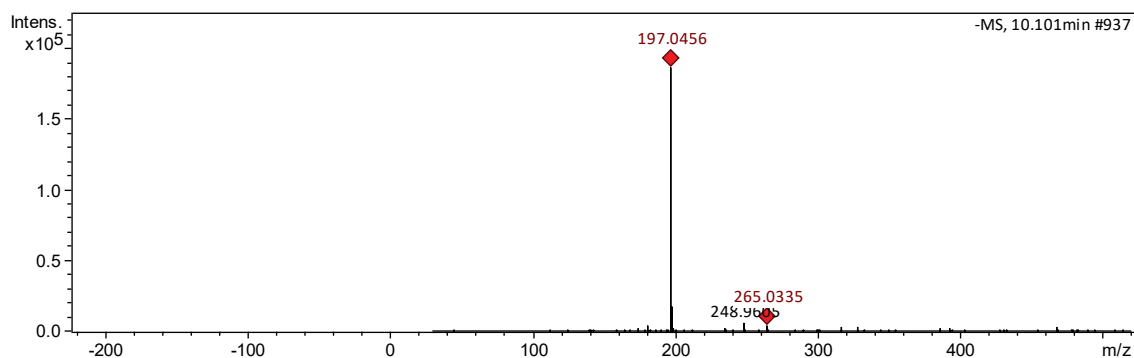
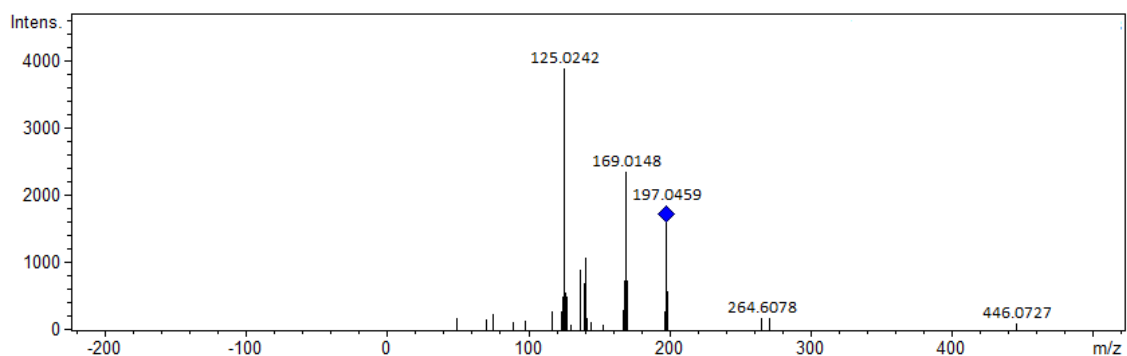


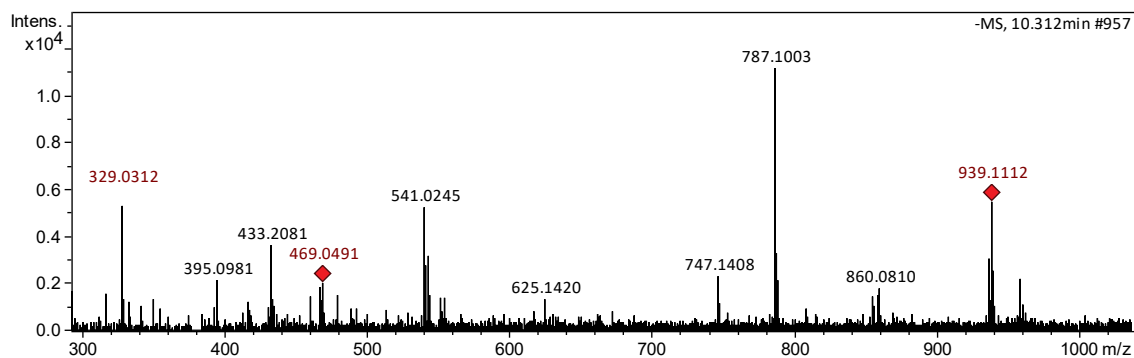
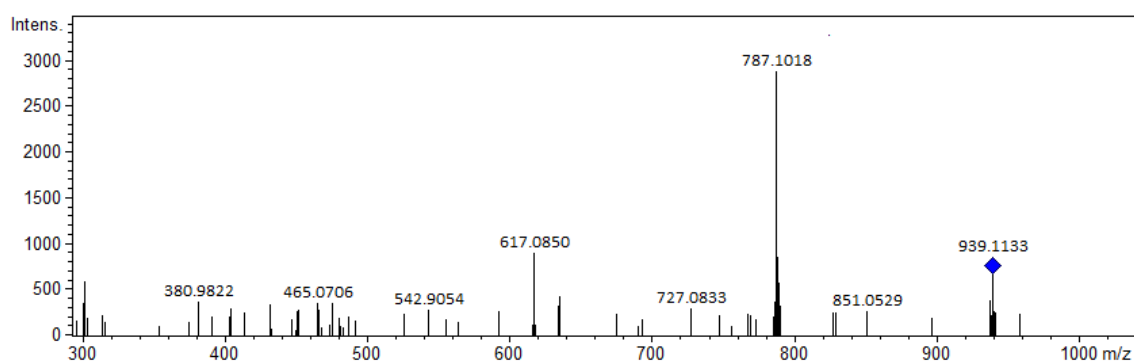
**Figura A34:** (-)-IES-EM/EM do composto 19 ( $m/z$  635,0895 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



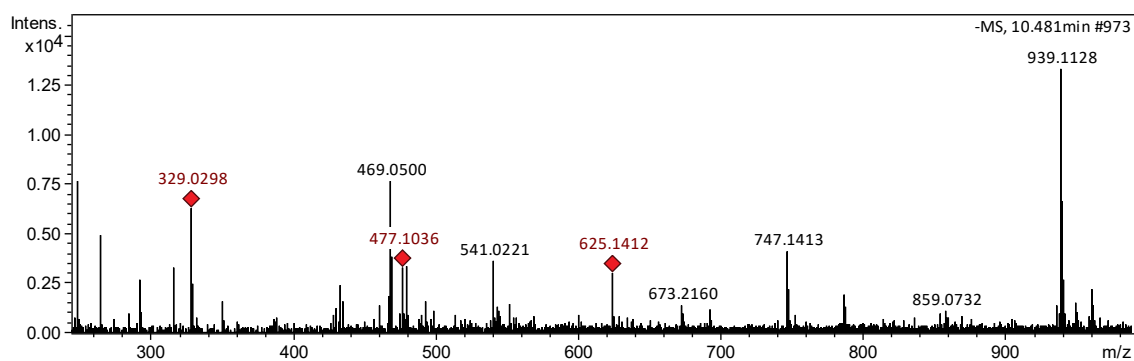
**Figura A35:** (-)-IES-EM/EM do composto 20 ( $m/z$  937,0968 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



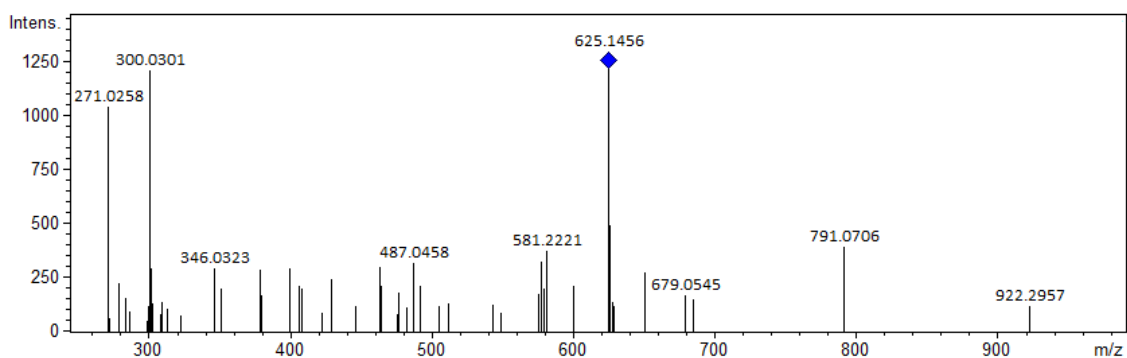
**Figura A36:** (-)-EM do composto 21 ( $m/z$  787,0977 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A37:** (-)-IES-EM/EM do composto 21 ( $m/z$  787,0977 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A38:** (-)-EM do composto 22 ( $m/z$  197,0456 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A39:** (-)-IES-EM/EM do composto 22 ( $m/z$  197,0456 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

**Figura A40:** (-)-EM do composto 23 ( $m/z$  939,1112 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A41:** (-)-IES-EM/EM do composto 23 ( $m/z$  939,1112 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.

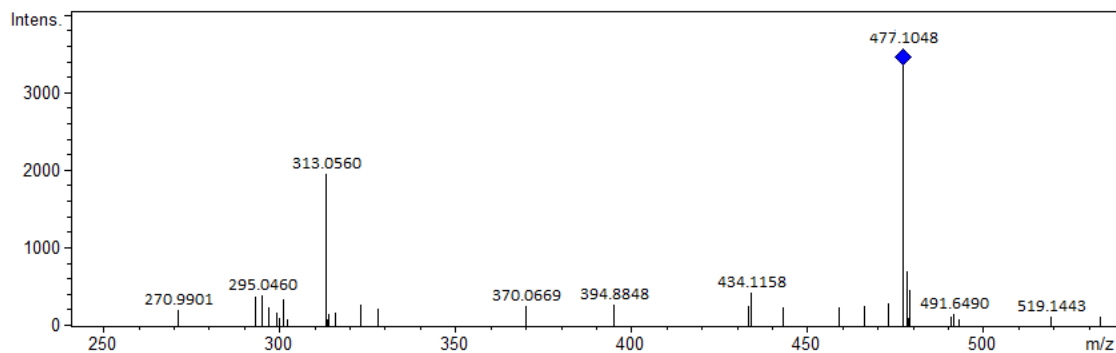
**Figura A42:** (-)-EM dos compostos 24 e 25 ( $m/z$  625,1412 e  $m/z$  477,1036  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.



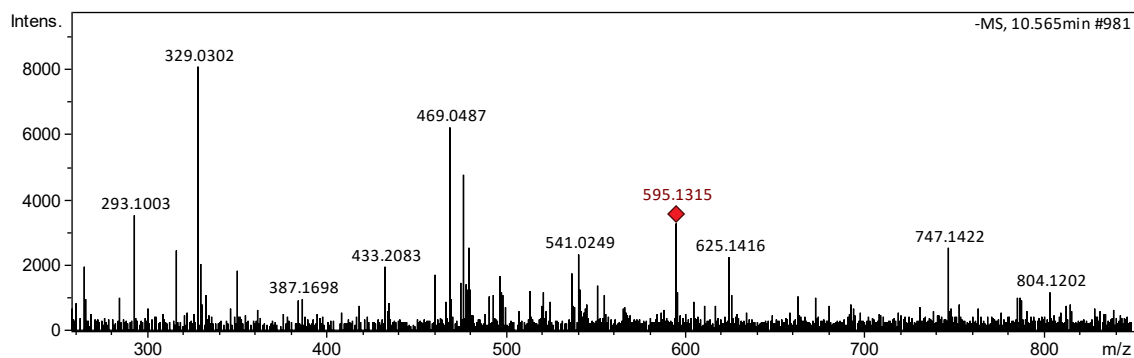
**Figura A43:** (-)-IES-EM/EM do composto 24 ( $m/z$  625,1412  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.



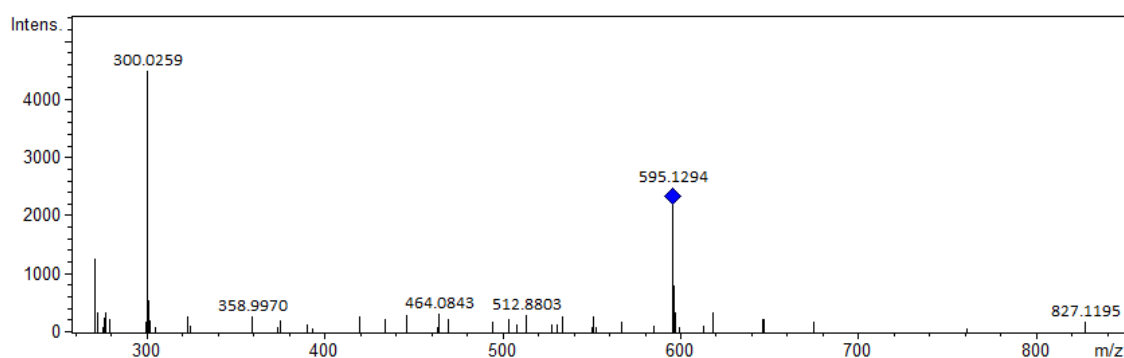
**Figura A44:** (-)-IES-EM/EM do composto 25 ( $m/z$  477,1036  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.



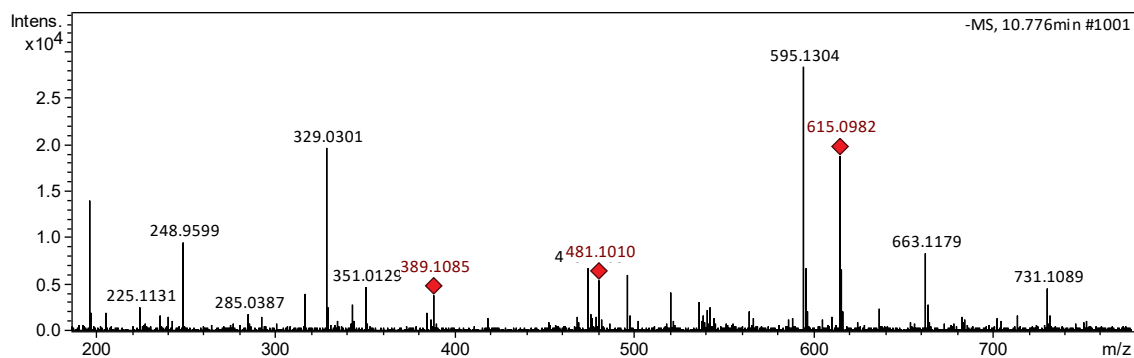
**Figura A45:** (-)-EM do composto 26 ( $m/z$  595,1315 [ $M - H$ ] $^-$ ) da Tabela 20.



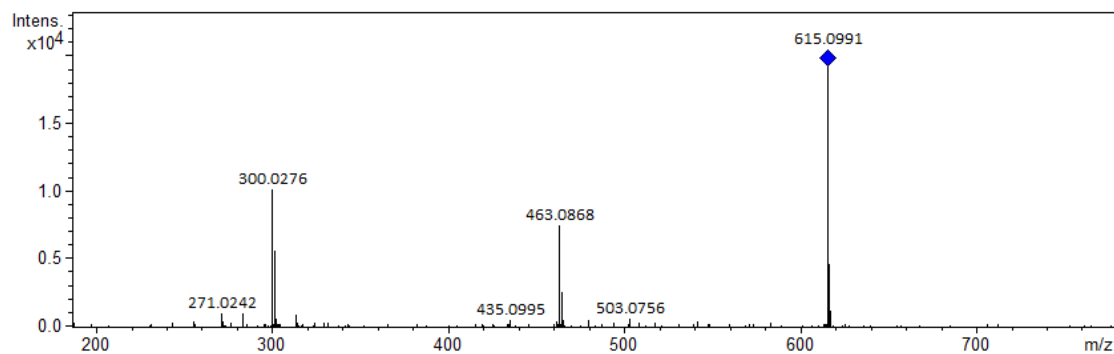
**Figura A46:** (-)-IES-EM/EM do composto 26 ( $m/z$  595,1315 [ $M - H$ ] $^-$ ) da Tabela 20.



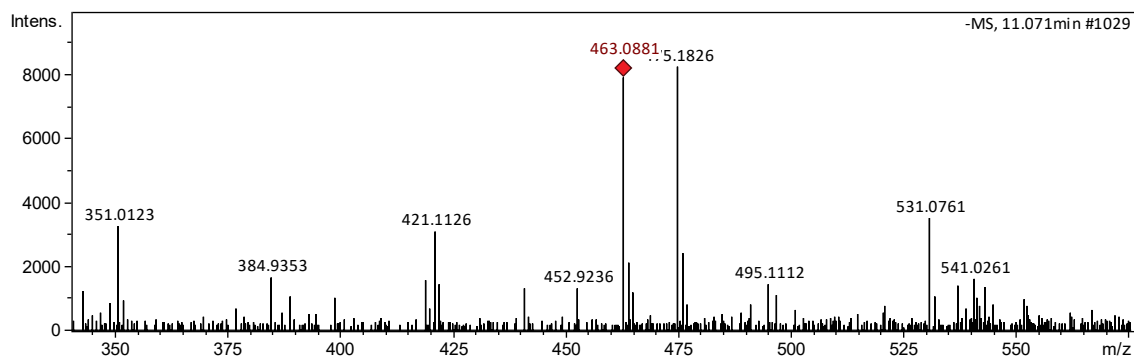
**Figura A47:** (-)-EM do composto 27 ( $m/z$  615,0982 [ $M - H$ ] $^-$ ) da Tabela 20.



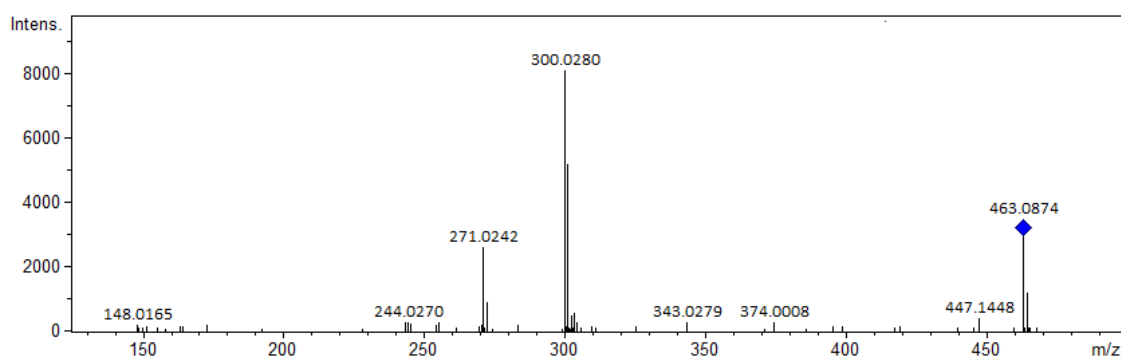
**Figura A48:** (-)-IES-EM/EM do composto 27 ( $m/z$  615,0982 [ $M - H$ ] $^-$ ) da Tabela 20.



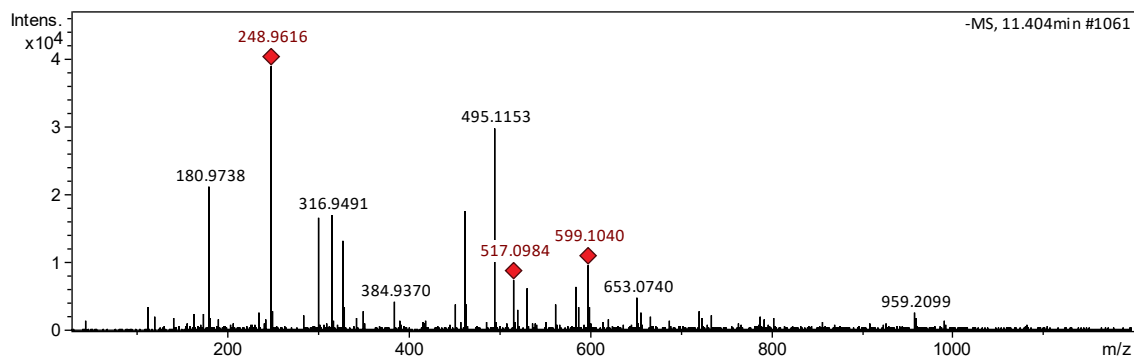
**Figura A49:** (-)-EM do composto 28 ( $m/z$  463,0881 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



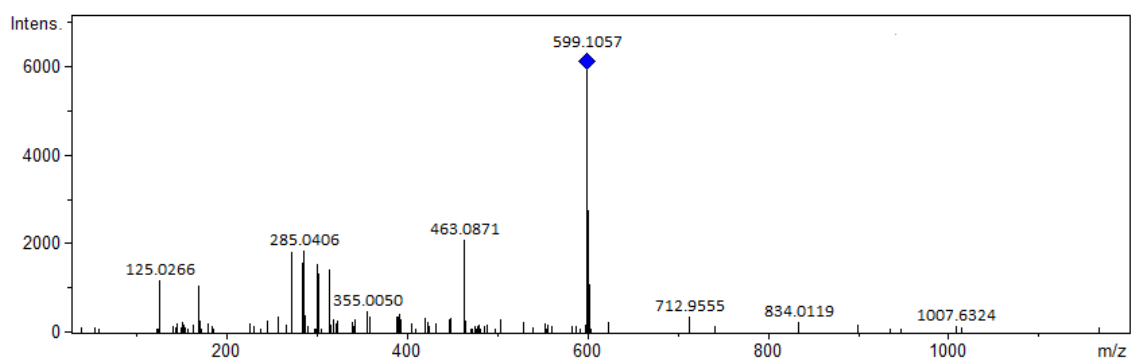
**Figura A50:** (-)-IES-EM/EM do composto 28 ( $m/z$  615,0982 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



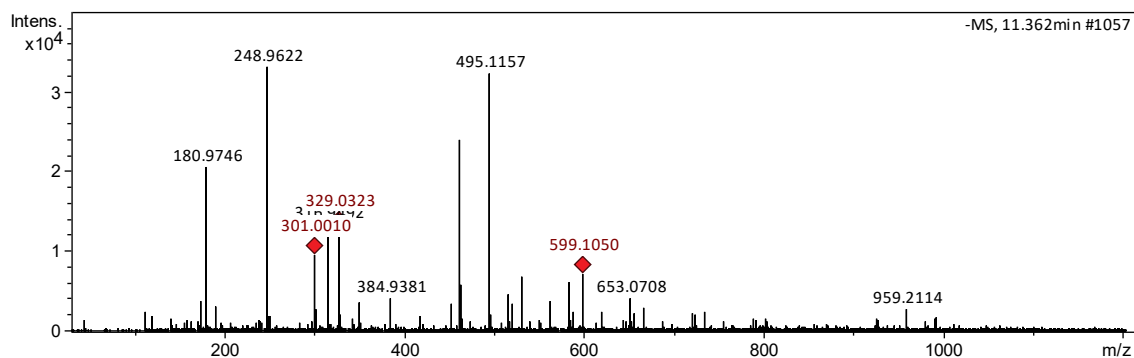
**Figura A51:** (-)-EM do composto 29 ( $m/z$  599,1040 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



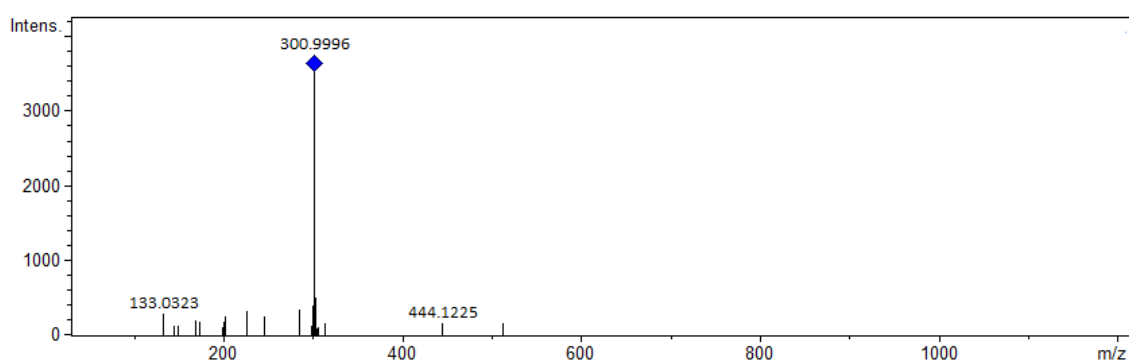
**Figura A52:** (-)-IES-EM/EM do composto 29 ( $m/z$  599,1040 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.



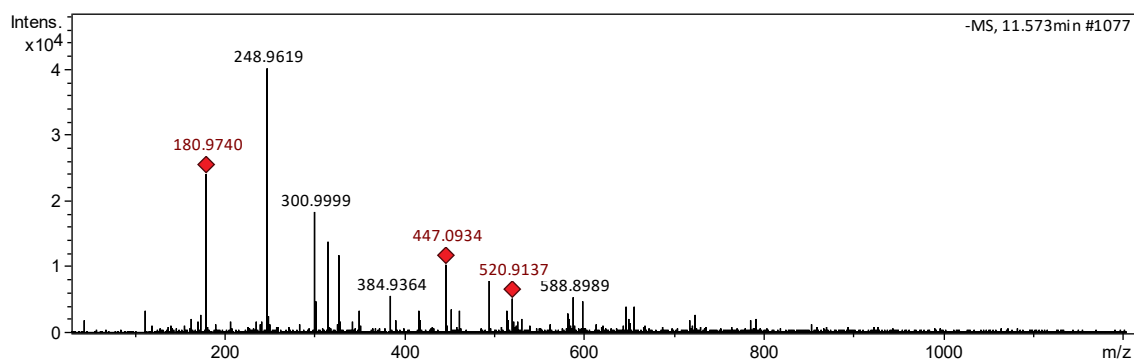
**Figura A53:** (-)-EM do composto 30 ( $m/z$  301,0010  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.



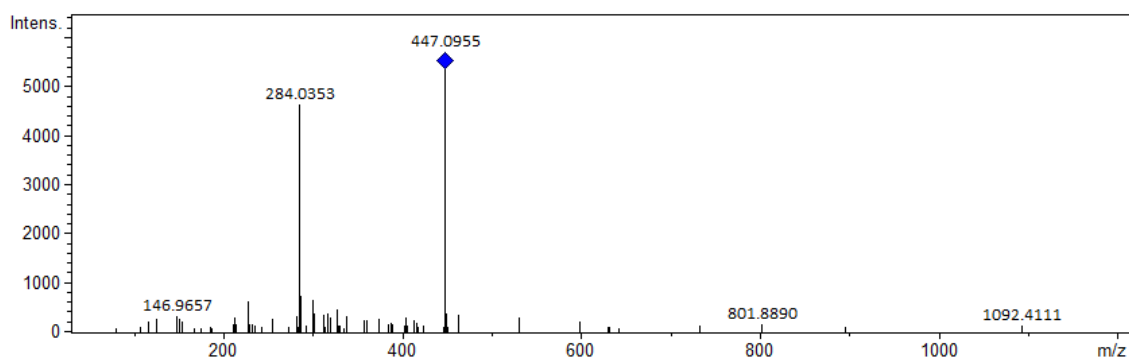
**Figura A54:** (-)-IES-EM/EM do composto 30 ( $m/z$  301,0010  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.



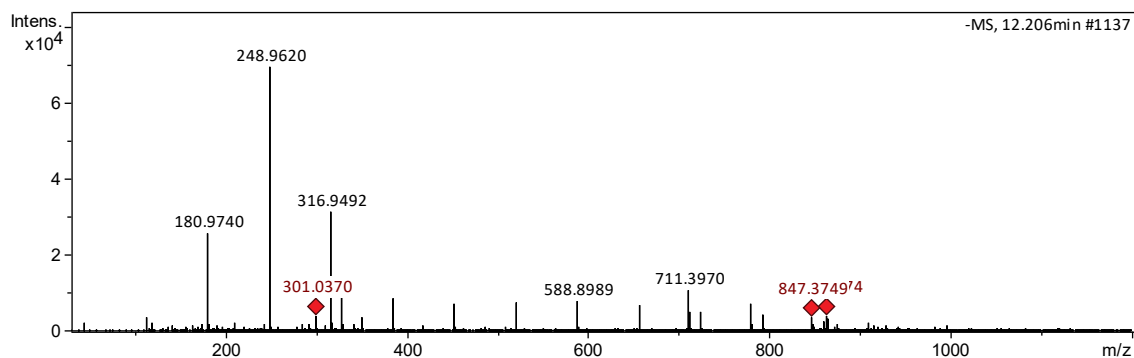
**Figura A55:** (-)-EM do composto 31 ( $m/z$  447,0934  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.



**Figura A56:** (-)-IES-EM/EM do composto 31 ( $m/z$  447,0934  $[M - H]^-$ ) da Tabela 20.





**Figura A57:** (-)-EM do composto 32 ( $m/z$  301,0370 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.**Figura A58:** (-)-IES-EM/EM do composto 32 ( $m/z$  301,0370 [M - H]<sup>-</sup>) da Tabela 20.