



# **UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR**

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

**Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.**

**Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa**

**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura**

**Gabriel Augusto Rodrigues Beirão**

**Atividade biológica e composição química do óleo essencial e extrato bruto de  
*Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae)**

**Umuarama  
2026**

**Gabriel Augusto Rodrigues Beirão**

**Atividade biológica e química do óleo essencial e extrato bruto de *Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae)**

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientador(a): Dra. Zilda Cristiani Gazim

Umuarama  
2026

Ficha Catalográfica

B422a Beirão, Gabriel Augusto Rodrigues.  
Atividade biológica e composição química do óleo essencial  
e extrato bruto de *Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae) /  
Gabriel Augusto Rodrigues Beirão. – Umuarama : Universidade  
Paranaense – UNIPAR, 2025.  
63 f.  
  
Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Zilda Cristiani Gazim.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense –  
UNIPAR.  
  
1. Mirra. 2. Fator de proteção solar. 3. Atividade  
antioxidante. 4. Análise quantitativa. I. Universidade Paranaense  
– UNIPAR. II. Título.  
  
(21 ed.) CDD: 583.96

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

**Atividade biológica e composição química do óleo essencial e extrato bruto de**  
*Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae)

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

---

Dr. Antonio Laverde Junior  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

---

Dra. Maria Graciela Iecher Faria Nunes  
Universidade Paranaense - UNIPAR

---

Dr João Paulo Francisco - Suplente  
Universidade Estadual de Maringá - UEM

---

Dra. Juliana Silveira do Valle - Suplente  
Nome Instituição

---

Dra. Zilda Cristiani Gazim - Orientadora

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 01 Abril 2026

## **AGRADECIMENTOS**

Durante essa jornada que foi o mestrado, tenho muito a agradecer. Foi um período de genuíno aprendizado científico e pessoal. Mesmo durante um período tão desgastante da minha vida eu só tenho a agradecer aos meus professores, a minha orientadora, aos meus colegas e amigos, às pessoas que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho. Mas não posso deixar de agradecer exclusivamente a minha orientadora Zilda Cristiani Gazim e as minhas professoras Maria Graciela Iecher Faria Nunes, Fabiana Padilha e Ezilda Jacomassi por toda a compreensão, carinho e sábias palavras. Também aos meus parceiros Fabiana Pereira Alves da Silva e Vitor da Silva Borges pelo companheirismo, prontidão e carinho.

Aos meus pais Celma Batista Rodrigues Beirão e Anísio Sidney Martines Beirão e demais familiares por todo o apoio e oportunidade para a realização deste trabalho. Além do incentivo no foco, perseverança e temperança.

A Deus por colocar todas essas pessoas no meu caminho.

Não há palavras capazes de expressar o sentimento pela realização deste trabalho mesmo diante das dificuldades, apenas Gratidão!

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I LEVANTAMENTO DO POTENCIAL QUÍMICO, BIOLÓGICO E FARMACOLÓGICO DA ESPÉCIE *Tetradenia riparia*

1. INTRODUÇÃO	13
2. METODOLOGIA	14
3. DESENVOLVIMENTO	14
3.1. <i>Tetradenia riparia</i>	14
3.1.1. Identificação geográfica e taxonômica.	14
3.1.2. Sinonímia Científica.	15
3.1.3. Aspectos Botânicos.	16
3.1.4. Usos Populares e Atividades Biológicas.	17
3.1.5. Composição Química do Óleo Essencial e Extrato Bruto.	18
3.2. Radiação Solar, Câncer de Pele e Antioxidantes.	20
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
5. AGRADECIMENTOS	24
REFERÊNCIAS	24

### CAPÍTULO II DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS, BOTÕES FLORAIS E CAULE DE *Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae)

1. INTRODUÇÃO	31
2. MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Implantação da cultura e identificação botânica	33
2.2 Coleta e preparo das amostras	33
2.3 Obtenção do óleo essencial das folhas, botões florais e caule de <i>Tetradenia riparia</i> .	33
2.4 Identificação química do óleo essencial das folhas, botões florais e caule de <i>Tetradenia riparia</i> .	33
2.5 Obtenção do extrato bruto das folhas, botões florais e caule de <i>Tetradenia riparia</i> .	34
2.6 Identificação química dos extratos brutos das folhas, botões florais e caule de <i>Tetradenia riparia</i> por Cromatografia Líquida de Ultra-Performance acoplada à espectrometria de massa em tandem.	34
2.7 Determinação de fenóis totais (FT).	35
2.8 Determinação de flavonoides totais	36

2.9 Sequestro de radicais livres – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	36
2.10 Redução do ferro - Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)	36
2.11 Captura do radical livre – Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS+)	37
2.12 Atividade antioxidante pelo sistema de co-oxidação $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (BCAL)	38
2.13 Determinação do fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i>	38
2.14 Razão UVA/UVB e Comprimento de Onda Crítico ( $\lambda_C$ )	39
2.15 Análise estatística	40
3. RESULTADOS	40
3.1 Composição química do óleo essencial.	40
3.2 Composição química dos extratos brutos.	44
3.3 Quantificação de fenóis totais e flavonoides.	46
3.4 Testes antioxidantes.	47
3.5 Fator de proteção solar.	51
4. DISCUSSÃO	53
5. CONCLUSÕES	59
6. AGRADECIMENTOS	59
REFERÊNCIAS	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
**CG / EM** – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.  
**FT** – Determinação de Fenóis Totais  
**OE** – Óleo essencial  
**OETR** – Óleo essencial de *Tetradenia riparia*  
**OEf** – Óleo essencial das folhas  
**OEbf** – Óleo essencial dos botões florais  
**OEc** – Óleo essencial do caule  
**EB** – Extrato bruto  
**EBf** – Extrato bruto das folhas  
**EBbf** – Extrato bruto dos botões florais  
**EBc** – Extrato bruto do caule  
**RI** – índice de retenção  
**UHPLC/ MS** – Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas  
**DPPH** – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil  
**FRAP** – Ferric Reducing Antioxidant Power  
**ABTS** – Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico  
**BCAL** –  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico  
**FPS** – Fator de Proteção Solar  
**RUV** – Raios Ultravioleta  
**ERO** – Espécies Reativas de Oxigênio  
**EC<sub>50</sub>** – Concentração eficaz a 50%  
**RL** – Radicais Livres  
**NADPH** – Fosfato Diconucleotídico de Nicotinamida e Adenina  
**UV** – Ultra Violeta  
**INCA** – Instituto Nacional do Câncer  
**PABA** – Ácido Paraminobenzóico  
*T. riparia* – *Tetradenia riparia*

Atividade biológica e química do óleo essencial e extrato bruto de *Tetradenia riparia*  
Codd (Lamiaceae)

**RESUMO:** *Tetradenia riparia* é uma espécie arbustiva com potencial antioxidante, anti-inflamatório, analgésico, leishmanicida, antimicrobiano, antiviral, anti-tumor e inseticida. Neste sentido esta dissertação encontra-se estruturada em dois capítulos. No **capítulo I** foi realizada uma revisão sobre a espécie *T. riparia* pesquisando os aspectos botânicos e farmacológicos, assim como fatores que influenciam o fotoenvelhecimento como a radiação ultravioleta e moléculas antioxidantes. Devido a sua composição química rica em compostos como  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -cadinol,  $\beta$ -cariofileno,  $\delta$ -cadineno, fenchona, canfora, cis-murolol, ledol, limoneno e 6,7-deidroroileanona, a espécie apresenta atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral. Apesar disso, o fator de proteção solar é uma lacuna a ser preenchida, porém com evidências que sugerem a atividade fotoprotetora da *T. riparia* na qual pode servir como precursor para novas moléculas de fotoproteção menos agressivas que as atualmente utilizadas pela indústria cosmética. O **capítulo II** teve por objetivo investigar a composição química do óleo essencial e o extrato bruto de *T. riparia*, sua capacidade antioxidante, fator de proteção solar e razão ultravioleta A / ultravioleta B (UVA/UVB). A metodologia consistiu em realizar a extração do óleo essencial (OE) e obtenção dos extratos brutos das folhas (EBf), botões florais (EBbf) e caule (EBc) da mirra. A análise química dos óleos essenciais (OEs) foi por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e a análise dos extratos por cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC-MS/MS). As análises antioxidantes foram realizadas utilizando os protocolos do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), poder de redução do ferro (FRAP), captura do radical livre ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS<sup>+</sup>) e sistema de co-oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (BCAL). Foram avaliados os teores de fenóis totais (FT) e flavonoides nos extratos brutos, sendo também avaliado o fator de proteção solar, razão UVA/UVB e comprimento de onda crítico dos OEs e EBs. A composição química dos OEs indicou a presença de sesquiterpenos oxigenados e diterpenos como classes predominantes (40,94; 45,56 e 46,76%) e (31,45; 25,51 e 17,08%) nas folhas, botões florais e caule, respectivamente. Nos EBs, os resultados indicaram concentrações elevadas (>200  $\mu$ g/g) dos ácidos cafeico (EBf, EBbf e EBc), protocatecuico (EBf e EBc), vanílico (EBbf), fumárico (EBc) e málico (EBbf e EBc). Também foram observadas concentrações >200  $\mu$ g/g para os flavonoides, kaempferol e luteolina no EBbf. O teor de fenóis totais foi superior no EBbf (121,66  $\mu$ g de equivalente de ácido gálico/mg) enquanto o teor de flavonoides foi superior no EBf (896,99  $\mu$ g de equivalentes de quercetina/mg). O EBc apresentou melhor atividade nos protocolos antioxidantes FRAP (0,84  $\mu$ M de FeSO<sub>4</sub>) e DPPH (EC<sub>50</sub> = 0,54 mg mL), enquanto no ensaio ABTS, o EBc apresentou (1,32  $\mu$ g de ácido gálico/mg) e o EBbf (1,37  $\mu$ g de ácido gálico/mg). No ensaio do BCAL, as amostras EBf (71,63%), EBc (67,01%), OEc (67,40%), EBbf (63,93%), OEf (56,62%) e OEbf (50,85%) apresentaram inibição maior que 50% do radical. O fator de proteção solar (FPS) e razão UVA/UVB, evidenciou que o EBbf na concentração de 1 mg/mL = 36,31; 1,48), seguido pela folha (1 mg = 27,46; 1,32) e, por fim, caule (1 mg = 12,18; 1,37), respectivamente. Desta forma conclui-se que a rica composição química em ácidos fenólicos e orgânicos, flavonoides, aldeídos fenólicos e alcaloides da espécie *T. riparia* pode contribuir para seu fator de proteção solar que segundo estudos, protege cerca de

96% da radiação solar que atinge a superfície da terra, bem como atividade antioxidante por diferentes mecanismos de ação.

Palavras-chave: Mirra. Fator de Proteção Solar. Atividade Antioxidante. Análise Quantitativa.

Biological and Chemical Activities of the Essential Oil and Crude Extract of *Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae)

**ABSTRACT:** *Tetradenia riparia* is a shrub species with antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, leishmanicidal, antimicrobial, antiviral, antitumor, and insecticidal properties. Accordingly, this dissertation is organized into two chapters. **Chapter I** presents a review of the species *T. riparia*, examining its botanical and pharmacological aspects, as well as factors influencing photoaging, such as ultraviolet radiation and antioxidant molecules. Due to its chemical composition, which is rich in compounds such as  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -cadinol,  $\beta$ -caryophyllene,  $\delta$ -cadinene, fenchone, camphor, cis-murolol, ledol, limonene, and 6,7-dehydroroyleanone, the species exhibits antioxidant, antimicrobial, and antitumor activity. Despite this, the sun protection factor remains a gap to be filled; however, evidence suggests the photoprotective activity of *T. riparia*, which could serve as a precursor for new photoprotective molecules that are less aggressive than those currently used by the cosmetics industry. **Chapter II** aimed to investigate the chemical composition of the essential oil and crude extract of *T. riparia*, as well as their antioxidant capacity, sun protection factor, and ultraviolet A/ultraviolet B (UVA/UVB) ratio. The methodology consisted of extracting the essential oil (EO) and obtaining crude extracts from the leaves (LE), flower buds (FBEx), and stem (SEx) of the myrrh plant. The chemical analysis of essential oils (EOs) was performed using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS), and the analysis of extracts was performed using ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC-MS/MS). Antioxidant assays were conducted using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH), iron reduction capacity (FRAP), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS+) free radical scavenging, and the  $\beta$ -carotene/linoleic acid (BCAL) co-oxidation system. The total phenol (TP) and flavonoid contents in the crude extracts were evaluated, along with the sun protection factor, UVA/UVB ratio, and critical wavelength of the essential oils (EOs) and essential butter (EBs). The chemical composition of the OEs indicated the presence of oxygenated sesquiterpenes and diterpenes as the predominant classes (40.94%, 45.56%, and 46.76%) and (31.45%, 25.51%, and 17.08%) in the leaves, flower buds, and stem, respectively. In the EBs, the results indicated high concentrations (>200  $\mu\text{g/g}$ ) of caffeic acid (EBf, EBBf, and EBc), protocatechuic acid (EBf and EBc), vanillic acid (EBbf), fumaric acid (EBc), and malic acid (EBbf and EBc). Concentrations >200  $\mu\text{g/g}$  were also observed for the flavonoids kaempferol and luteolin in EBBf. The total phenolic content was higher in EBBf (121.66  $\mu\text{g}$  of gallic acid equivalent/mg), while the flavonoid content was higher in EBf (896.99  $\mu\text{g}$  of quercetin equivalents/mg). EBc exhibited the highest antioxidant activity in the FRAP (0.84  $\mu\text{M FeSO}_4$ ) and DPPH ( $\text{EC}_{50} = 0.54 \text{ mg/mL}$ ) assays, whereas in the ABTS assay, EBc exhibited (1.32  $\mu\text{g}$  gallic acid/mg) and EBBf (1.37  $\mu\text{g}$  gallic acid/mg). In the BCAL assay, the samples EBf (71.63%), EBc (67.01%), OEc (67.40%), EBBf (63.93%), OEf (56.62%), and OEbf (50.85%) exhibited inhibition of more than 50% of the radical. The sun protection factor (SPF) and UVA/UVB ratio showed that EBBf at a concentration of 1 mg/mL had values of 36.31 and 1.48, respectively, followed by the leaf (1 mg = 27.46; 1.32) and, finally, the stem (1 mg = 12.18; 1.37). Thus, it is concluded that the rich chemical composition of phenolic and organic acids, flavonoids, phenolic aldehydes, and alkaloids in the species *T. riparia* may contribute to its sun protection factor, which, according to studies, blocks

approximately 96% of the solar radiation reaching the Earth's surface, as well as antioxidant activity through many mechanisms of action.

Key-words: Myrrh. Sun protection factor. Antioxidant activity. Quantitative analysis.

## CAPÍTULO I

### Levantamento do Potencial Químico, Biológico e Farmacológico da Espécie

#### *Tetradenia riparia.*

**RESUMO:** *Tetradenia riparia* é uma espécie da família Lamiaceae amplamente empregada na medicina tradicional africana, conhecida por seu aroma marcante e por uma composição química rica em terpenos. Seus extratos brutos e óleos essenciais podem apresentar uma grande diversidade de compostos fenólicos, antocianinas flavonoides, terpenoides e ácidos orgânicos, que são associados a propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Entre seus constituintes mais comuns estão kaempferol, luteolina, ácido cafeico, protocatecuico e rosmarínico, além de diterpenos característicos da espécie. Morfologicamente, refere-se a um arbusto aromático de crescimento rápido, com folhas glandulares e inflorescências que contribuem para sua utilização tradicional como repelente, antisséptico, expectorante, entre outros. A relevância da espécie é fomentada se avaliarmos o contexto da radiação solar, especialmente a radiação ultravioleta (UV), capaz de induzir danos diretos ao DNA e iniciar a formação de espécies reativas de oxigênio. A soma desses processos está entre os principais fatores associados ao câncer de pele, no qual a incidência global cresce de modo consistente. Neste cenário, compostos naturais com capacidade antioxidante e fotoprotetora se tornam objetos de estudo para auxiliar na prevenção dos efeitos nocivos da exposição solar. Os antioxidantes presentes na espécie estudada podem atuar neutralizando radicais livres e modulando respostas inflamatórias, contribuindo para a redução do estresse oxidativo induzido por UV. Somada ao seu histórico e a perfil químico equilibrado, a espécie configura um recurso valioso para estudos visando ao desenvolvimento de alternativas naturais e multifuncionais para fotoproteção e cicatrização.

Palavras-chave: Fotoproteção. Radiação Ultravioleta. Antioxidante. Produtos Naturais.

## CHAPTER I

### Survey of the Chemical, Biological, and Pharmacological Potential of the Species *Tetradenia riparia*.

**ABSTRACT:** *Tetradenia riparia* is a species of the Lamiaceae family widely used in traditional African medicine, known for its distinctive aroma and a chemical composition rich in terpenes. Its crude extracts and essential oils may contain a wide variety of phenolic compounds, anthocyanins, flavonoids, terpenoids, and organic acids, which are associated with antioxidant and anti-inflammatory properties. Among its most common constituents are kaempferol, luteolin, caffeic, protocatechuic, and rosmarinic acids, as well as diterpenes characteristic of the species. Morphologically, it is a fast-growing aromatic shrub with glandular leaves and inflorescences that contribute to its traditional use as a repellent, antiseptic, and expectorant, among other applications. The species' relevance is heightened when considering the context of solar radiation, especially ultraviolet (UV) radiation, which can cause direct DNA damage and trigger the formation of reactive oxygen species. The sum of these processes is among the main factors associated with skin cancer, for which the global incidence is growing consistently. In this scenario, natural compounds with antioxidant and photoprotective properties become subjects of study to aid in the prevention of the harmful effects of sun exposure. The antioxidants present in the species under study may act by neutralizing free radicals and modulating inflammatory responses, thereby helping to reduce UV-induced oxidative stress. Combined with its history and balanced chemical profile, the species represents a valuable resource for studies aimed at developing natural, multifunctional alternatives for photoprotection and wound healing.

Key-words: Photoprotection. Ultraviolet radiation. Antioxidant. Natural products.

## 1. INTRODUÇÃO

A espécie *Tetradenia riparia*, popularmente conhecida como falsa-mirra, é arbustiva e pode atingir até 3 metros de altura. Tem sua origem no continente africano (Powó, 2024) e é usada popularmente para diversos fins. As partes da planta comumente utilizadas são aquelas renováveis, como caule, folhas e botões florais. A espécie floresce apenas em áreas livres de geada (Blythe *et al.*, 2020). Suas folhas são ricas em óleo essencial e possuem aroma de incenso (Panda *et al.*, 2022).

A espécie é utilizada comumente na medicina popular contra abscessos dentários (Melo *et al.*, 2015), malária, angina, dores de cabeça, bronquite, gastroenterites (Araújo, 2018), suas folhas eram colocadas em silos para conservar os alimentos (Puyvelde *et al.*, 1986).

Seu óleo essencial pode variar a cor conforme a parte da planta extraída, apresentando-se como laranja pálido, laranja escuro ou avermelhado. Alguns de seus compostos majoritários são  $\alpha$ -cadinol, 14-hydroxy-9-epi-caryophyllene, 9 $\beta$ ,13 $\beta$ -epoxi-7-abietadiene, 6,7-dehrdroroleanone, entre outros (Panda *et al.*, 2022). Foi estudado seu efeito antimicrobiano, com resultados positivos contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (Gazim *et al.*, 2010). Esta planta possui ações farmacológicas já conhecidas, como atividade antimicrobiana, antituberculose (Baldin *et al.*, 2018), leishmanicida, imunomoduladora (Cardoso *et al.*, 2015; Demarchi *et al.*, 2015), carrapaticida (Zardeto-Sabec *et al.*, 2020) e atividade antioxidante (Sena *et al.*, 2024), podendo contribuir indiretamente para proteção contra os raios ultravioleta (RUV)

Os RUV podem causar danos cumulativos no organismo humano (Organização Mundial da Saúde, 2017). Um dos mecanismos de ação é a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) acarretando estresse oxidativo e inflamatório (Dunaway *et al.*, 2018). Os RUV podem ser evitados com a utilização de protetores solares ou contornados com o auxílio de antioxidantes a fim de reparar as ERO e danos causados decorrentes da exposição solar (Stevanato; Bertelle; Fabris, 2014). Com isso em vista, a busca por fontes naturais e renováveis de fotoproteção e antioxidantes tornou-se uma necessidade para a saúde humana (Milutinov *et al.*, 2024).

Apesar da espécie *T. riparia* já ser estudada quanto à sua composição química e algumas atividades, não se encontram relatos de sua atividade fotoprotetora, tendo como objetivo esse trabalho discutir seu potencial fotoprotetor.

## 2. METODOLOGIA

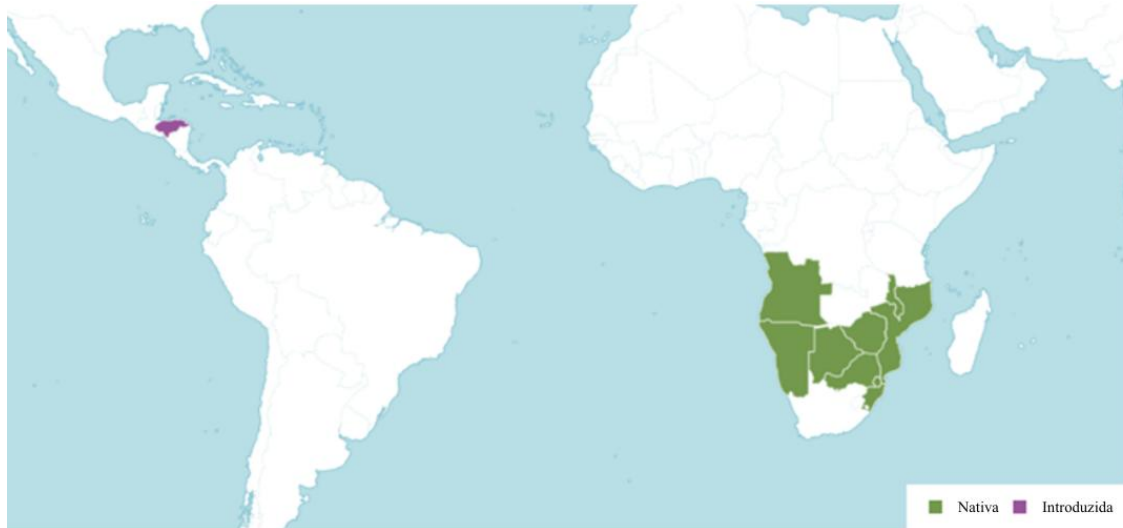
A metodologia utilizada foi uma pesquisa de revisão bibliográfica, descritiva e de abordagem qualitativa do conteúdo, interpretando as produções já existentes. Para construção do *corpus* de análise foram utilizados o *site* e banco de dados *Google Acadêmico OnLine* utilizando os termos “*Tetradenia riparia*”, “Mirra”, “Antioxidantes”, “Fator de proteção solar” e aspectos farmacológicos de *T. riparia* como descritores de pesquisa. Foram selecionados trabalhos relacionados ao tema, sem distinção de período, que exploram os aspectos taxonômicos da espécie *T. riparia*. Desta maneira, a pesquisa buscou consolidar informações sobre os aspectos químicos e farmacológicos da *T. riparia*, bem como antioxidantes naturais e o processo de fotoenvelhecimento.

## 3. DESENVOLVIMENTO

### 3.1 *Tetradenia riparia*.

#### 3.1.1. Identificação geográfica e taxonômica

*Tetradenia riparia* é nativa da África Austral (**Fig.1**). Adaptada ao clima tropical seco, se desenvolve com facilidade. Foi introduzida em Honduras (**Fig.1**), e então acredita-se que a partir de lá se difundiu pelas Américas (Powo, 2024). Estudos conduzidos por Zelnick *et al.* (1978) pontuam que a planta se adaptou com sucesso ao clima brasileiro. Foi utilizada como planta ornamental exótica em jardins, residências e hortos no estado de São Paulo e é conhecida popularmente como mirra, falsa-mirra, pluma-de-névoa, incenso, lavândula e limonete (Martins; Martins; Cavalheiro, 2008). Embora no Brasil o uso medicinal da *T. riparia* não seja tão comum, em Rwanda, sua utilização é muito difundida, sendo até cultivada em volta das casas para repelir insetos (Puyvelde *et al.*, 1986). A classificação botânica da falsa mirra é apresentada na **Tabela 1**.



**Figura 1:** Distribuição geográfica da espécie *T. riparia* (fonte: POWO, 2024)

**Tabela 1:** Identificação taxonômica da espécie *T. riparia*. (Powo, 2024)

Reino	Plantae
Divisão	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Subclasse	Magnoliidae
Ordem	Lamiales
Família	Lamiaceas
Gênero	<i>Tetradenia</i>
Epíteto Específico	<i>riparia</i>

### 3.1.2. Sinonímia Científica

A *Tetradenia riparia* possui 8 sinônimos: *Iboza riparia* (Hochst.) NEBr, *Basilicum riparium* (Hochst.) Kuntze, *Moschosma myriostachyum* Benth., *Mochosma riparium* Hochst., *Basilicum myriostachyum* (Benth.) Kuntze, *Gumira ferrugínea* (A. Rich) Kuntze., *Premna ferruginea* A. Rich., *Plectranthus riparius* Hochst. (Powo, 2024).

### 3.1.3. Aspectos Botânicos

Esta espécie arbustiva pode alcançar até três metros de altura, é ramificada e dióica (**Fig. 2A**). Apresenta caule quebradiço e semi-suculento. Com folhas pecioladas, crenado dentadas de formato quadrangular arredondado e ricas em óleo essencial devido à distribuição de tricomas glandulares nas duas faces (Codd, 1983; Gairola *et al.*, 2009) (**Fig. 2B**). O florescimento ocorre apenas em áreas de clima subtropical, áreas temperadas e livres de geada (Blythe *et al.*, 2020). Os botões florais surgem durante o inverno, Junho no hemisfério sul, e se abrem em Julho (Panda *et al.*, 2022). Os botões florais possuem coloração rosa claro ou branco (**Fig. 2D**) e é produzido em grande quantidade, em formato de panícula vistosa (**Fig. 2C**) (Blythe *et al.*, 2020).



**Figura 2:** Legenda: A = Canteiro de *T. riparia*; B = Folha de *T. riparia*; C = Botões florais em formato panícula ; D = Botões florais no início da floração.

Fonte: Autor.

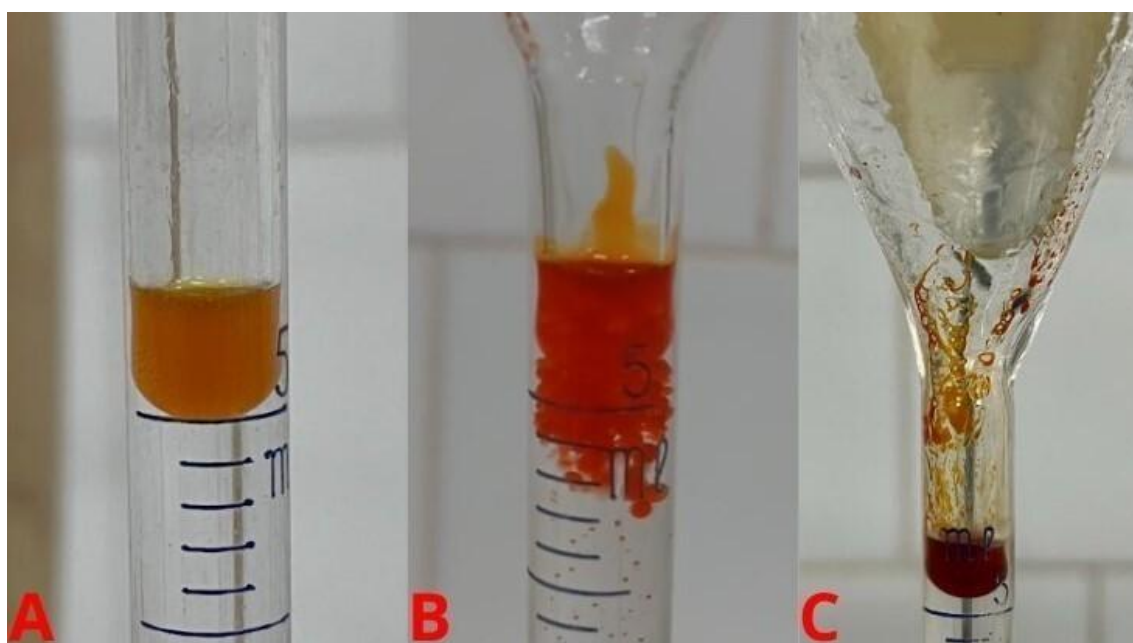
### 3.1.4. Usos Populares e Atividades Biológicas

Esta planta apresenta vários usos populares. Sua infusão pode ser utilizada para tratamento de doenças respiratórias e tosse (Lorenzi; Matos, 2008), dor de cabeça, dor no estômago, diarreia, febre, malária, angina, tremeliques, doenças causadas por anti-helmínticos, gonorreia e abscesso dentários (Puyvelde *et al.*, 1986), além de dengue (Panda *et al.*, 2022). As folhas podem ser utilizadas em compressas para o tratamento de dores de cabeça e dores de dente (Lorenzi; Matos, 2008). As folhas também podem ser utilizadas para preservação de feijões em silos, para afastar insetos que possam causar prejuízos (Puyvelde; Pagezy; Kayonga, 1975; Puyvelde, 1976). A aplicação para esta finalidade foi fortalecida por Weaver *et al.* (1994) que utilizou o óleo essencial de *T. riparia* contra o caruncho do feijoeiro (*Zabrotes subfasciatus*). Ademais, a mirra também apresenta atividade antimicrobiana significativa contra diversos fungos e bactérias, atividade antioxidante (Gazim *et al.*, 2010) leishmanicida e imunomoduladora (Demarchi *et al.*, 2015), potencial como antioxidante para tratamento de distúrbios dérmicos (Ghuman *et al.*, 2019) e ação repelente (Martins; Martins; Cavalheiro, 2008).

Seu extrato foi investigado por Fernandez *et al.* (2017) quanto à atividade antioxidante e antimicrobiana, que apresentou valor superior a 50% de inibição pelo ensaio  $\beta$ -Caroteno/Ácido linoleico em 1 mg de amostra, e  $0,91 \pm 0,01$  mg mL no ensaio de DPPH, na qual o controle quercetina apresentou o resultado de  $0,02 \pm 0,01$ , tendo bom resultado nos ensaios antioxidantes. Quanto à ação antimicrobiana, o extrato teve concentração inibitória mínima (CIM) de  $62,5 \mu\text{g/mL}$ , sendo um resultado promissor. Já Sena *et al.* (2024) identificaram uma inibição de 102,25 a 95,98% de inibição do  $\beta$ -Caroteno/Ácido linoleico nas concentrações de 1,00 a 0,25 mg do extrato das folhas de mirra. Os autores avaliaram o extrato das folhas e observaram 82% de atividade antioxidante celular. Além das folhas, o extrato bruto do caule apresentou resultados satisfatórios no ensaio do radical DPPH ( $0,51 \pm 0,03 \text{ mL}^{-1}$ ) e teor de fenóis totais de  $111,68 \mu\text{g}$  de ácido gálico mg/mL de amostra. Ademais, os extratos da folha e do caule somados ao óleo essencial da folha apresentaram os melhores resultados contra células de adenocarcinoma gástrico, enquanto o óleo essencial das folhas foi o mais promissor contra células de adenocarcinoma colorretal e atividade antiviral eficaz ( $\text{EC}_{50} = 9,64 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

### 3.1.5 Composição Química do Óleo Essencial e Extrato Bruto

A composição química e rendimento (%) do óleo essencial variam de acordo com fatores externos, como a sazonalidade (Gazim *et al.*, 2010; Cardoso *et al.*, 2015) e nível de luz (Araújo *et al.*, 2018). Apesar disso, seu óleo é composto majoritariamente por monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. O óleo essencial extraído de *T. riparia* é aromático com característica olfativa do incenso, podendo variar sua cor entre um laranja pálido encontrado nos caules (Fig. 3 (A)) a laranja escuro nas folhas (Fig. 3 (B)), e nos botões florais um tom avermelhado (Fig. 3 (C)). Esta mesma coloração foi identificada por Panda *et al.* (2022).



**Figura 3:** Óleo essencial de *T. riparia*. A = Óleo essencial do caule; B = Óleo essencial das folhas; C = Óleo essencial dos botões florais. Fonte: autor.

Com relação ao rendimento (%), estudos conduzidos por Araújo *et al.* (2018) em uma área experimental em Goiânia (GO), foi o cultivado *T. riparia* em diferentes níveis de luz, sendo estes 100, 80, 50 e 30%, o rendimento de óleo essencial foi maior em 30, 50, 100 e 80% respectivamente, todavia, em todos os tratamentos o composto que teve maior concentração foi o 14-hidroxi-9-epi-(E)-cariofileno, a fenchona também se destaca como composto majoritário em três dos quatro tratamentos utilizados.

**Tabela 2:** Compostos majoritários do óleo essencial de *T. riparia*

Composto	Área (%)	Órgão da planta	Referência
$\alpha$ -terpineol	22.6	Partes aéreas	Campbell <i>et al.</i> , 1997
Fenchona	13.6		
Fenchil Alcool	10.7		
$\beta$ -cariofileno	7.9		
Fenchona	64.82	Folhas	Omolo <i>et al.</i> , 2004
Fenchona	19.9	Folhas	Godoy <i>et al.</i> , 1999
14- hidroxí- 9- epi (E)- cariofieno	12.3		
$\alpha$ -cadinol	5.2		
isocariofileno	3.9		
canfora	3.4		
$\sigma$ -cadineno	3.1		
14-hidroxí-9-epi-cariofileno	18.03	Folhas	Gazim <i>et al.</i> , 2011
<i>cis</i> -muurolol-5-em-4-a-ol	11.73		
Ledol	7.18		
$\alpha$ -cadinol	4.9		
Limoneno	3.69		
Fenchona	12.87		
14-hidroxí-9-epi-cariofileno	16.03		
Fenchona	7.9	Folhas e caule	Blythe <i>et al.</i> , 2020
14-hidroxí-9-epi-cariofileno	7.9		
tau-cadinol	6.9		
$\delta$ -cadineno	10.6		
Fenchona	14.8	Folhas, botões florais e caule	Zardeto-Sabec <i>et al.</i> , 2020
$\alpha$ -cadinol	13.69		
14-hidroxí-9-epi-cariofileno	15.38		
$\alpha$ -cadinol	12.21		
Fenchona	11.57		
$\alpha$ -pineno	6.77		
Fenchona	38.62	Folhas	de Oliveira <i>et al.</i> , 2022
Canfora	5.6		
$\beta$ -cariofileno	5.81		
14-hidroxí-9-epi-cariofileno	9.58		
14-oxi- $\alpha$ muuroleno	5.7		

Quanto ao trabalho de Sena *et al.* (2024), a composição química dos óleos essenciais das folhas, botões florais e caule foram analisados, além de sua atividade antioxidante. Os compostos que apresentaram maior área relativa (>4%) foram fenchona,  $\beta$ -cariofileno, biciclogermacreno,  $\delta$  cadineno, espatulenol, óxido de cariofileno,  $\alpha$  cadinol, 14- hidroxí-9-E-cariofileno, 9- $\beta$ -13- $\beta$ -epoxi-7-abietenol e 6,7-deidroileanona.

Quanto a composição química do extrato, no estudo recente de Sena e colaboradores (2024) avaliou qualitativamente a presença de diversos compostos, como pelargonidina, cianidina, malvidina (antocianinas), astragalina, luteolina, apigenina (flavonoides), ácidos sagérico, 4-hidroxi benzoico, p-cumarico, ferúlico, protocatecuico, cafeico e rosmarinico (ácidos fenólicos), procianidina (taninos). Além de terpenos que também podem ser encontrados no óleo essencial, como sandaracopimaradienolal, 14-hidroxi humuleno, abieta-7,9 (11)-dien-13 $\beta$ -ol, 8(14),15-sandaracopimaradiene-2 $\alpha$ , 18-diol, campesterol, eugenol, ácidos carbônico, ketobetulinico, maslinico e sadaracopimarico, carnosol, rosmanol, rosmarinidifenol, rosmariniquinona, aldeído de betulina, betulina, sandaracopimaradienediol e 6,7-deidrooleanona. Ademais, Fernandez *et al.* (2017) encontrou em frações do extrato os compostos abieta-7,9(11)-dien-13 $\beta$ -ol, ibozol, derivados de sandaracopimaradieno, boronolida,  $\alpha$ -pirona, luteolina, astragalina.

Zelnick *et al.* (1978) foram capazes de isolar os compostos 7 $\alpha$ -hidroxioleanona e sitosterol do extrato das folhas da mirra cultivada em São Paulo. Assim como Puyvelde *et al.* (1981) que obteve sitosterol, stigmasterol e campesterol. Anteriormente, Van Puyvelde *et al.* (1979) já haviam isolado os compostos umurabumbolide,  $\alpha$ -pirona, deacetilumuravumbolide, deacetilboronolide.

### **3.2 Radiação Solar, Câncer de Pele e Antioxidantes**

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2017), são diagnosticados 2 a 3 milhões de cânceres de pele não-melanoma e 132.000 cânceres de pele melanoma globalmente. Em 2022, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou um total de 704 mil casos de câncer no Brasil até 2025, ressaltando ainda a porcentagem dos principais cânceres incidentes no Brasil, tendo o não-melanoma com a maior taxa de 31,3%. A cada três casos de câncer diagnosticados, pelo menos um é câncer de pele, o que evidencia a relevância do tema para a saúde pública.

Os raios ultravioletas (RUV) são divididos em três faixas: UVA (315–400 nm), UVB (280–315 nm) e UVC (100–280 nm). A UVC é praticamente retida pela atmosfera, portanto, os RUV que atingem a Terra podem ser classificados em UVA (95%) e UVB (5%) (Solar and ultravioleta radiation, 1992). Essa distribuição

espectral explica por que a proteção eficiente deve considerar tanto UVB (eritema) quanto UVA (fotoenvelhecimento e dano dérmico profundo).

O fotoenvelhecimento é um efeito cumulativo da exposição aos RUV e manifesta-se por rugas, perda de elasticidade e alterações da pigmentação, com maior intensidade em indivíduos de pele clara (Fisher *et al.*, 2002). Esses sinais decorrem de processos como inflamação crônica, acúmulo de células senescentes, estresse oxidativo e degradação de matriz extracelular, incluindo colágeno e elastina (Fisher *et al.*, 2002; Salminen; Kaarniranta; Kauppinen, 2022).

É sabido que a exposição excessiva aos RUV é uma maneira eficaz de induzir imunossupressão local e sistêmica. A inflamação crônica, junto a imunossupressão, são aspectos primordiais para a indução do fotoenvelhecimento (Salminen; Kaarniranta; Kauppinen, 2022). Embora os aspectos estéticos decorrentes do RUV possam ser atenuados por procedimentos corretivos, os danos podem se estender ao surgimento de patologias, como tumores. A supressão imunológica é considerada basal na carcinogênese cutânea não-melanoma (Matsui *et al.*, 2009).

Um importante mediador desses efeitos são as espécies reativas de oxigênio (ERO), geradas após exposição aos RUV. As ERO promovem inflamação, vasodilatação, edema e eritema, direcionando neutrófilos e células T inflamatórias que liberam citocinas e agravam as respostas inflamatórias e imunossupressoras (Dunaway *et al.*, 2018). O aumento do estresse oxidativo lesiona lipídios, proteínas e DNA, contribuindo tanto com o envelhecimento precoce quanto com a promoção de processos neoplásicos, em longo prazo, a ativação de metaloproteinases da matriz acelera a degradação de colágeno e elastina, dificultando a reparação tecidual e favorecendo o aparecimento de rugas (Travassos *et al.*, 2024; Brar *et al.*, 2025).

O excesso de radicais livres (RL) pode também comprometer órgãos e sistemas além da pele, estando implicado em doenças cardiovasculares, inflamatórias, mal de alzheimer, Parkinson e cânceres (Melo *et al.*, 2006; Ramalho; Jorge, 2006; Moon, 2009). Esse dano oxidativo pode ser mitigado por moléculas antioxidantes, compostos capazes de reduzir, atrasar ou reparar o dano a alvos biomoleculares (Halliwell, 1995; Halliwell; Gutteridge, 1995). Estudos sobre frutas amazônicas (Lamarão *et al.*, 2020) ilustram o potencial de fontes naturais como açaí, cupuaçu, bacuri, piquiá e camu-camu atuando como reservatórios de antioxidantes com interesse nutracêutico e cosmético.

Apesar da eficácia dos fotoprotetores comerciais em reduzir a exposição aos RUV, existem preocupações relacionadas à biossegurança e ao impacto ambiental de alguns filtros. Em 2021, o estado do Havaí (2021) exibiu um projeto de lei que proíbe a venda e distribuição de protetores solares que continham o filtro ‘benzofenona-3’ com o intuito de preservar o ecossistema marinho. Em testes realizados por Downs *et al.* (2015) evidenciou a toxicidade deste filtro aos corais, e sua toxicidade é aumentada quando exposta à luz.

Além dos efeitos ambientais, a segurança cutânea e sistêmica de filtros orgânicos tem sido alvo de questionamento. Compostos clássicos, como derivados do ácido aminobenzóico, o ácido paraminobenzóico (PABA) foi associado a reações alérgicas e foram progressivamente abandonados (Edlich *et al.*, 2004). Estudos também apontam que a combinação de diferentes filtros pode aumentar irritabilidade e que alguns filtros orgânicos penetram a barreira cutânea, entram na circulação sanguínea e difundem-se pelo corpo. Uma vez dentro do organismo, agem como hormônio sexual feminino. Nas usuárias, este falso hormônio pode alterar o ciclo menstrual e causar males, como endometriose e crescimento anormal da parede uterina. Já nos homens pode causar uma diminuição na quantidade de espermatozoides e atrofia dos testículos. Em ambos os casos, não se descarta a hipótese de câncer. (Flor; Davolos, 2007).

Diante desse cenário, Dunaway *et al.* (2018) indicaram que a adição de antioxidantes aos filtros UV é atraente devido a capacidade de neutralizar radicais livres, efeito conhecido dos RUV. Ainda que os extratos vegetais não possam substituir completamente os filtros ultravioleta convencionais, eles podem diminuir consideravelmente a dependência dos filtros físicos ou químicos (He *et al.*, 2021). Resende *et al.* (2022) ressaltam que o setor cosmético foi estimulado a desenvolver formulações com princípios ativos naturais, que ganharam espaço no mercado consumidor após a popularização dos efeitos negativos que os filtros solares podem causar no organismo, ressaltando o papel que dos fotoprotetores naturais como efeito fotoprotetor complementar tanto aos RUV quanto ao dano causado por ele.

Em síntese, a literatura aponta para uma abordagem integrada: manter o uso de fotoprotetores clinicamente eficazes, pela redução direta de exposição aos RUV, enquanto se investiga e incorpora adjuvantes antioxidantes naturais que complementem a proteção e minimizem impactos ambientais e riscos potenciais.

Uma espécie conhecida por usos populares variados é *Tetradenia riparia*. Sabe-se sobre sua atividade antimicrobiana (Gazim *et al.*, 2010), imunomoduladora (Demarchi *et al.*, 2015), tratamento de dermatites (Ghuman *et al.*, 2019), atividades essas que poderiam auxiliar de maneira complementar a fotoproteção, porém seu fator de proteção solar é desconhecido.

Sua atividade antioxidante vem sendo investigada por diversos autores, Sena *et al.* (2024) por exemplo, realizou uma análise qualitativa dos compostos presentes no extrato bruto das folhas, botões florais e caule da *T. riparia*. Foi encontrado diversos compostos como antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos, taninos e terpenos. Stevanato e colaboradores (2014) investigaram o fator de proteção solar (FPS) de compostos isolados e identificaram que a apigenina possui FPS de 28,8, ácido cumárico com FPS de 9,3, ácido ferulico com FPS 11,9 e ácido cafeico com FPS de 28,0. Compostos estes que foram identificados nos extratos de *T. riparia* por Sena *et al.* (2024), indicando-a como uma candidata promissora a apresentar fator de proteção solar ainda inexplorado.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante do exposto, pode observar que a composição química do óleo essencial pode variar significativamente diante das condições de cultivo, como exposição à luz solar, sazonalidade e condições climáticas e de solo. A espécie *T. riparia* já teve atividades biológicas estudadas, como leishmanicida, antiviral, antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, porém não há relatos da sua capacidade fotoprotetora. A presença de compostos fenólicos sugere que a planta possui potencial a atuar como fator de proteção solar. Somada a isso, a atividade antioxidante e antitumoral a qualifica como ótima candidata para desenvolvimento de formulações cosméticas.

O surgimento de espécies reativas de oxigênio é o passo inicial para o desenvolvimento de células anormais, devido a danos ao DNA e à integridade celular. Pode-se observar que os compostos antioxidantes capazes de reduzir esses danos estão presentes em abundância na natureza, sendo necessário identificá-los.

## 5. AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Universidade Paranaense - UNIPAR, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq) por fomentar o desenvolvimento científico.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. L. N. *et al.* Yield and composition of the essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd (Lamiaceae) cultivated under different shading levels.

**Planta Daninha**, v. 36, e018164745, 2018. doi: 10.1590/S0100-83582018360100066

BALDIN, V. P. *et al.* Anti-Myco**acterium tuberculosis** activity of essential oil and 6, 7-dehydroroyleanone isolated from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae).

**Phytomedicine**, v. 47, p. 34-39, 2018.

BATISTA, C. M. *et al.* The photoprotective and anti-inflammatory activity of red propolis extract in rats. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**.

v. 180, p. 198–207, 2018. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.01.028

BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the *in vivo* evidence. **Nature Review Drug Discovery**.

v. 5, p. 493–506. 2006. doi: 10.1038/nrd2060

BLYTHE, E. K. *et al.* Chemical Composition of Essential Oil from *Tetradenia riparia* and its Attractant Activity for Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis Capitata*.

**Natural Product Communications**. v. 15, n. 9, p. 1934578-20953955, 2020. doi: 10.1177/1934578X20953955

BOLFA, P. *et al.* Photoprotective effects of Romanian propolis on skin of mice exposed to UVB irradiation. **Food and Chemical Toxicology**.

v. 62, p. 329–342, 2013. doi: 10.1016/j.fct.2013.08.078

BRAR, G. *et al.* A comprehensive review of the role of UV radiation in photoaging processes between different types of skin. **Cureus**, v. 17, n. 3, p. e81109, 2025.

BYUN, S. *et al.* The NADPH oxidase inhibitor apocynin inhibits UVB-induced skin carcinogenesis. **Experimental Dermatology**.

v. 25, p. 489–491, 2016. doi: 10.1111/exd.12989

CARDOSO, B. M. *et al.* Antileishmanial activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* obtained in different seasons. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**,

v. 110, n. 8, p. 1024-1034, 2015.

CODD, L. E. The genus *Tetradenia* Benth. (Lamiaceae). I. African species. **Bothalia**, v. 14, n. 2, p. 177-183, 1983.

DE OLIVEIRA, A. C. *et al.* Toxicity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter.) Codd (Lamiaceae) and its principal constituent against malaria and dengue vectors and non-target animals. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 188, p. 105265, 2022. doi: 10.1016/j.pestbp.2022.105265.

DEMARCHI, I. G. *et al.* Immunomodulatory activity of essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd in murine macrophages. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 30, n. 6, p. 428-438, 2015. doi: 10.1002/ffj.3284

DIKALOV, S.; LOSIK, T.; ARBISER, J. L. Honokiol is a potent scavenger of superoxide and peroxy radicals. **Biochemical Pharmacology**, v. 76, n. 5, p. 589-596, 2008. doi: 10.1016/j.bcp.2008.06.012

DOWNS, C. A. *et al.* Toxicopathological effects of the sunscreen UV filter, oxybenzone (benzophenone-3), on coral planulae and cultured primary cells and its environmental contamination in Hawaii and the US Virgin Islands. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, n. 2, p. 265-288, 2016. doi: 10.1007/s00244-015-0227-7

DUNAWAY, S. *et al.* Natural antioxidants: multiple mechanisms to protect skin from solar radiation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 392, 2018. doi: 10.3389/fphar.2018.00392

EDLICH, R. *et al.* Photoprotection by sunscreens with topical antioxidants and systemic antioxidants to reduce sun exposure. **Journal of Long-Term Effects of Medical Implants**, v. 14, n. 4, 2004. doi: 10.1615/JLongTermEffMedImplants.v14.i4.40

FERNANDEZ, A. C. A. M. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of the extract and fractions of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) leaves from Brazil. **Current Microbiology**, v. 74, p. 1453-1460, 2017. doi: 10.1007/s00284-017-1340-9

FISHER, G. J. *et al.* Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. **Archives of Dermatology**, v. 138, n. 11, p. 1462-1470, 2002.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química Nova**, v. 30, p. 153-158, 2007. doi: 10.1590/S0100-40422007000100027

GAIROLA, S. *et al.* An investigation of the foliar trichomes of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd [Lamiaceae]: an important medicinal plant of Southern Africa. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 204, n. 4, p. 325-330, 2009. doi: 10.1016/j.flora.2008.04.002

GAZIM, Z. C. *et al.* New natural diterpene-type abietane from *Tetradenia riparia* essential oil with cytotoxic and antioxidant activities. **Molecules**, v. 19, n. 1, p. 514-524, 2014. doi: 10.3390/molecules19010514

GAZIM, Z. C. *et al.* Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. **Molecules**, v. 15, n. 8, p. 5509-5524, 2010. doi: 10.3390/molecules15085509

GHUMAN, S. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory and wound healing properties of medicinal plant extracts used to treat wounds and dermatological disorders. **South African Journal of Botany**, v. 126, p. 232-240, 2019. doi: 10.1016/j.sajb.2019.07.013

HALLIWELL, B., & GUTTERIDGE, J. M. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 18, e. 1, p. 125–126, 1995. doi: 10.1016/0891-5849(95)91457-3

HALLIWELL, B.. How to characterize an antioxidant: An update. **Biochemical Society Symposia**, v. 61, p. 73–101, 1995. doi: 10.1042/ bss0610073

HAWAI'I. Legislature. **House Bill 102**. Session 2021. Disponível em: [https://www.capitol.hawaii.gov/sessions/session2021/bills/HB102\\_.HTM](https://www.capitol.hawaii.gov/sessions/session2021/bills/HB102_.HTM). Acesso em: 19 nov. 2025.

IARC. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Solar and Ultraviolet Radiation**. v. 55. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1992.

INCA, Instituto Nacional de Câncer. 2022. Estimativa de 2023, Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br>. Acesso em: 11 de Maio, 2024.

KIM, H. B.; YOO, B. S. Propolis inhibits uva-induced apoptosis of human keratinocyte HaCaT cells by scavenging ROS. **Toxicological Research**. v. 32, p. 345–351. 2016. doi: 10.5487/TR.2016.32.4.345

LAMARÃO, C. V. *et al.* Antioxidantes inorgânicos em frutos amazônicos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 12237-12253, 2020. doi: 10.34117/bjdv6n3-184

LEPHART, E. D.; SOMMERFELDT, J. M.; ANDRUS, M. B. Resveratrol: influences on gene expression in human skin. **Journal Functional Foods**. v. 10, p. 377–384. 2014. doi: 10.1016/j.jff.2014.07.017

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

MARTINS, M. B. G.; MARTINS, R. G. M.; CAVALHEIRO, J. A. Histoquímica e atividade antibacteriana de folhas do incenso (*Tetradenia riparia*). **Revista Biociências**, v. 14, n. 2, 2008.

MATSUI, Mary S. *et al.* Non-sunscreen photoprotection: antioxidants add value to a sunscreen. **In: Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**. Elsevier, 2009. p. 56-59.

MELO, E. A. *et al.* Antioxidant capacity of vegetables commonly consumed. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 639-644, 2006. doi: 10.1590/S0101-20612006000300024

MELO, N. I. *et al.* Antimicrobial activity of the essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd. (Lamiaceae) against cariogenic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2015, v. 46, n. 2, p. 519-525.

MILUTINOV, J. *et al.* The potential of natural compounds in UV protection products. **Molecules**, v. 29, n. 22, p. 5409, 2024.

MOON J.K.; SHIBAMOTO T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 57, n. 5, p. 1655–1666, 2009. doi: 10.1021/jf803537k

Organização Mundial da Saúde (OMS): RADIAÇÃO: Radiação ultravioleta (UV) e o câncer de pele. 16 out. 2017. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/radiation-ultraviolet-\(uv\)-radiation-and-skin-cancer](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/radiation-ultraviolet-(uv)-radiation-and-skin-cancer). Acesso em: 22 maio 2024.

PANDA, S. K. *et al.* Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae). **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 896078, 2022. doi: 10.3389/fphar.2022.896078

POWO, Plants of the World Online. 2024. Facilitado pelo Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>. Acesso em: 17 de Junho, 2024.

PUYVELDE, L. *et al.* 1', 2'-Dideacetylboronolide, an  $\alpha$ -pyrone from *Iboza riparia*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 12, p. 2753-2755, 1981.

PUYVELDE, L. *et al.* New  $\alpha$ -pyrones from *Iboza riparia*. **Phytochemistry**, v. 18, n. 7, p. 1215-1218, 1979.

PUYVELDE, L. V. *et al.* Active principles of *Tetradenia riparia*. I. Antimicrobial activity of 8 (14), 15-sandaracopimaradiene-7 $\alpha$ , 18-diol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17, n. 3, p. 269-275, 1986.

PUYVELDE, L. V. L'Umuravumba - *Iboza riparia* (Hochst.) N.E.Br. (Lamiaceae), la plante medicinale d'usage courant au Rwanda. **Deutieme Colloque du CAMES**, Niamey (Niger), p. 60. 1976.

PUYVELDE, L. V.; PAGEZY, H.; KAYONGA, A. Plantes medicinales et toxiques du Rwanda (I). **Afrique Medicale**, v. 14, p. 925-930. 1975.

RAMALHO, V.C.; JORGE N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Química Nova**, v. 29, p. 755–760, 2006. doi: 10.1590/S0100-40422006000400023

RESENDE, D. I. S. P. *et al.* Up-to-date overview of the use of natural ingredients in sunscreens. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 3, p. 372, 2022.

SALMINEN, A.; KAARNIRANTA, K.; KAUPPINEN, A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. **Inflammation Research**, v. 71, n. 7, p. 817-831, 2022.

SENA, J. S. *et al.* Antioxidant Activity, Antiproliferative Activity, Antiviral Activity, NO Production Inhibition, and Chemical Composition of Essential Oils and Crude Extracts of Leaves, Flower Buds, and Stems of *Tetradenia riparia*. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 7, p. 888, 2024. doi: 10.3390/ph17070888

STEVANATO, R.; BERTELLE, M.; FABRIS, S. Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 69, n. 1, p. 71-77, 2014.

STOLK, J. *et al.* Characteristics of the inhibition of NADPH oxidase activation in neutrophils by apocynin, a methoxy-substituted catechol. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 11, n. 1, p. 95-102, 1994. doi: 10.1165/ajrcmb.11.1.8018341

TRAVASSOS, A. *et al.* Antioxidant activity of dried açai extract: is it a functional food?. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 3, p. 3793-3793, 2024. doi: 10.55905/cuadv16n3-125

VAID, M.; SHARMA, S. D.; KATIYAR, S. K. Honokiol, a phytochemical from the Magnolia plant, inhibits photocarcinogenesis by targeting UVB induced inflammatory mediators and cell cycle regulators: development of topical formulation. **Carcinogenesis**, v. 31, e. 11, p. 2004-2011. 2010. doi: 10.1093/carcin/bgq186

WEAVER, D. K. *et al.* Toxicity and Protectant Potential of the Essential Oil of *Tetradenia riparia* (Lamiales, Lamiaceae) against *Zabrotes subfasciatus* (Col.,Bruchidae) Infesting Dried Pinto Beans (Fabales, Leguminosae). **Journal of Applied Entomology**, v. 118, n. 1-5, p. 179-196, 1994. doi: 10.1111/j.1439-0418.1994.tb00793.x

ZARDETO-SABEC, G. *et al.* *Tetradenia riparia* ('Lamiaceae') essential oil: An alternative to *Rhipicephalus sanguineus*. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 10, p. 1608-1615, 2020. doi: 10.21475/ajcs.20.14.10.p2389

ZELNICK, R. *et al.* Ibozol, a new diterpenoid from *Iboza riparia*. **Phytochemistry**, v. 17, e. 10, p. 1795-1797, 1978. doi: 10.1016/S0031-9422(00)88701-4.

## CAPÍTULO II

### Determinação do Fator de Proteção Solar e Atividade Antioxidante do Óleo

#### Essencial e do Extrato Bruto das Folhas, Botões Florais e Caule de *Tetradenia*

*riparia*.

#### RESUMO:

A espécie *Tetradenia riparia* tem sido destacada pelo potencial fitoquímico e pelas propriedades bioativas de seus metabólitos. O objetivo foi avaliar o potencial fotoquímico e antioxidante das folhas, botões florais e caule, bem como caracterizar qualitativamente e quantitativamente seus constituintes. As amostras foram submetidas à extração do óleo essencial e do extrato bruto, seguidas de análises químicas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) e cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC-MS/MS) respectivamente, com ênfase na caracterização quantitativa inédita de compostos selecionados. A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de poder de redução do ferro (FRAP) e sequestro dos radicais livres ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS) e 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), e o potencial fotoprotetor foi avaliado por meio do fator de proteção solar (FPS) e do comprimento de onda crítico. Os resultados revelaram que o óleo essencial das folhas, botões florais e caule apresentaram  $\alpha$ -muuroleno, (-)-spathunelol, ledeno óxido-(II),  $\alpha$ -cadinol, 14-hidroxi-9-epi-cariofileno, 9 $\beta$ ,13 $\beta$ -epoxi-7abietenol, 6,7-deidrooleanona com áreas acima de 5%. No extrato bruto foram encontrados os ácidos p-cumarico, p-hidroxibenzoico, vanílico, protocatecuico, cafeico, nicotínico, fumarico e málico, além de kaempferol e luteolina com áreas acima de 100  $\mu$ g/g. Nos ensaios do DPPH, FRAP e ABTS o extrato do caule apresentou maior atividade antioxidante (0,54 $\pm$ 0,02 mg/mL, 1,084 $\pm$ 0,04  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>, mg/mL, 1,32 $\pm$ 0,09  $\mu$ g AG mg/mL) que os outros órgãos da planta. Para o ensaio do  $\beta$ -Caroteno Ácido/Linoleico, os extratos também apresentaram bons resultados comparados ao óleo essencial, tendo o melhor resultado pelo extrato bruto das folhas (71,63%). No ensaio de FPS o melhor resultado foi o extrato dos botões florais (36,31 $\pm$ 0,35), seguido pelas folhas (27,46 $\pm$ 0,13) e por fim o caule (12,18 $\pm$ 0,19). Foi observado que o extrato de *T. riparia* apresenta atividade antioxidante relevante e FPS nas diferentes amostras, indicando forte potencial para aplicações farmacêuticas e cosméticas.

Palavras-chave: Mirra. Fotoprotetores naturais. Estresse oxidativo. Compostos UV-absorventes.

## CHAPTER II

### Determination of the Sun Protection Factor and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Crude Extract From the Leaves, Flower Buds, and Stem of

*Tetradenia riparia* Codd (Lamiaceae).

**ABSTRACT:** The species *Tetradenia riparia* has been highlighted for the phytochemical potential and bioactive properties of its metabolites. The objective was to evaluate the phytochemical and antioxidant potential of the leaves, flower buds, and stem, as well as to qualitatively and quantitatively characterize their constituents. The samples underwent essential oil and crude extract extraction, followed by chemical analyses via gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) and ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC-MS/MS), respectively, with an emphasis on the unprecedented quantitative characterization of selected compounds. Antioxidant activity was determined using the ferric reduction capacity (FRAP) and free radical scavenging assays with 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH), and photoprotective potential was evaluated using the sun protection factor (SPF) and critical wavelength. The results revealed that the essential oil from the leaves, flower buds, and stem contained  $\alpha$ -muurolene, (-)-spathunelol, ledeno oxide-(II),  $\alpha$ -cadinol, 14-hydroxy-9-epi-caryophyllene, 9 $\beta$ ,13 $\beta$ -epoxy-7-abietene, and 6,7-dehydroroyleanone, with areas exceeding 5%. In the crude extract, p-coumaric, p-hydroxybenzoic, vanillic, protocatechuic, caffeic, nicotinic, fumaric, and malic acids were found, in addition to kaempferol and luteolin, with areas exceeding 100  $\mu$ g/g. In the DPPH, FRAP, and ABTS assays, the stem extract exhibited higher antioxidant activity ( $0.54 \pm 0.02$  mg/mL,  $0.84 \pm 0.04$   $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/mg/mL,  $1.32 \pm 0.09$   $\mu$ g AG/mg/mL) than the other plant organs. In the  $\beta$ -carotene/linoleic acid assay, the extracts also showed good results compared to the essential oil, with the best result obtained from the crude leaf extract (71.63%). In the SPF assay, the best result was from the flower bud extract ( $36.31 \pm 0.35$ ), followed by the leaves ( $27.46 \pm 0.13$ ) and finally the stem ( $12.18 \pm 0.19$ ). It was observed that the *T. riparia* extract exhibits significant antioxidant activity and SPF in the different samples, indicating strong potential for pharmaceutical and cosmetic applications.

Palavras-chave: Myrrh. Natural photoprotectors. Oxidative stress. UV-absorbing compounds.

## 1. INTRODUÇÃO

Um importante fator de risco para carcinogênese é a radiação ultravioleta, que pode causar alterações na integridade de proteínas, lipídeos e DNA. Os danos no DNA são fortemente relacionados aos cânceres de melanoma, carcinoma basocelular e espinocelular (Al-Sadek; Yusuf, 2024). Essa ameaça pode ser neutralizada com o uso de protetores solares, porém, há grandes dúvidas quanto à segurança das moléculas utilizadas como fotoprotetores (He *et al.*, 2021).

Para atender ao mercado consumidor, fontes naturais, como plantas, têm sido pesquisadas para avaliar seus efeitos de proteção solar (Resende *et al.*, 2020). Conseqüentemente ao avanço investigativo, diversas plantas foram estudadas e algumas já confirmadas por minimizar os danos do fotoenvelhecimento como *Angelica archangelica*, *Aspalathus linearis*, *Camellia sinensis*, *Capsicum annuum*, *Citrus x bergamia*, *Citrus x paradisi*, *Citrus sinensis*, *Coffea* spp., *Cyclopia* spp., *Foeniculum vulgare*, *Glycine max*, *Panax ginseng*, *Passiflora edulis* e *Pinus densiflora*, como compilado por Cavinato *et al.* (2017). Além disso, há extratos que bloqueiam diretamente a radiação UV, como é o caso da espécie *Linaria scariosa*, que apresentou fator de proteção solar (FPS) total de 38,46 no extrato metanólico (Mouffouk *et al.*, 2020). O extrato etanólico da fibra de casca de coco também demonstrou efeito fotoprotetor (Oliveira *et al.*, 2021).

Pesquisas investigando fator de proteção solar em plantas vem sendo alvo de pesquisadores buscando novas biomoléculas com intuito de desenvolver filtros 100% naturais, como é o caso do estudo de Nunes *et al.* (2018) que investigou o fator de proteção solar de espécies do cerrado, como folhas de *Amburma cearenses* (17,60), *Dimorphandra gardneriana* (20,12), *Lippia microphylla* (26,82), *Luehea paniculata* (16,26), assim como compostos isolados de duas das espécies: *D. gardneriana* (quercetina 22,31) e *L. microphylla* (sakuranetina 38,27). Foi utilizado o octil metoxicinamato como controle (40,0). Este estudo ressalta a importância, tal qual a capacidade do fator de proteção solar que pode ser aproveitado em espécies vegetais.

Esse efeito fotoprotetor observado no extrato de plantas pode ser explicado pela presença de compostos fenólicos. Já foi verificado, em teste *in vivo*, que o ácido ferúlico é capaz de aumentar o FPS de uma formulação, bem como sua estabilidade e o espectro protetor UVA/UVB (Peres *et al.*, 2018). Ademais, Stevanato, Bertelle e Fabris (2014) estudaram os compostos fenólicos e constataram que flavonoides, estilbenos e derivados

de ácido hidroxicinâmico foram capazes de absorver radiação UV, em diferentes quantidades de acordo com o peso e a estrutura molecular.

Milutinov *et al.* (2024) reportam que os flavonoides, além de absorverem a radiação UV, são capazes de reduzir os danos oxidantes, inflamatórios e carcinogênicos, contribuindo de maneira complementar à proteção causada pelos RUV. Fuentes *et al.* (2022) utilizaram extratos de flores ornamentais e observaram que eram ricas em compostos fotoprotetores. *Posoqueria latifolia* foi a espécie que se demonstrou mais estável e promissora para utilização em formulações para proteção solar.

Uma espécie que apresenta potencial para utilização na proteção solar é a falsa-mirra. *Tetradenia riparia*, apresenta óleo essencial rico em terpenos, além de compostos outras classes no extrato bruto, como pelargonidina, cianidina, malvidina (antocianinas), astragalina, luteolina, apigenina (flavonoides), ácidos sagérico, 4-hidroxibenzoico, p-cumarico, ferrulico, protocatecuico, cafeico, rosmarinico (ácidos fenólicos), procianidina (taninos), sandaracopimaradienolal, 14-hidroxihumuleno, abieta-7,9 (11)-dien-13 $\beta$ -ol, 8(14),15-Sandaracopimaradiene2 $\alpha$ ,18-diol, campesterol, eugenol, ácido carnósico, carnosol, rosmanol, romarinidifenol, rosmariniquinona, aldeido betulina, betulina, ácidos ketobetulinico, maslinico, sandaracopimarico, sandaracopimaradienediol, 6,7-deidorooleanona (terpenos) (Sena *et al.*, 2024).

A espécie é estudada quanto ao seu potencial biológico, sendo já relatado antifúngica (Scanavacca *et al.*, 2022), leishmanicida e imunomoduladora (Demarchi *et al.*, 2015), antimicrobiana, antituberculose (Baldin *et al.*, 2018), carrapaticida (Zaderto-Sabec *et al.*, 2020), analgésica (Gazim *et al.*, 2010), atividade anticolinesterase contra *Aedes aegypti* (Ferrarese *et al.* 2023), potencial antiinflamatório, antioxidante, anti-tumor, antiviral (Sena *et al.*, 2024) potencial antioxidante para tratamentos cutâneos (Ghuman *et al.*, 2019).

Sendo este o primeiro relato da investigação quantitativa da composição química dos extratos e da ação fotoprotetora para a espécie *Tetradenia riparia*. Nesse sentido, o presente estudo tem por objetivo investigar a composição química e como ela pode afetar a capacidade antioxidante pelos métodos FRAP, DPPH e ABTS, potencial fotoprotetor, comprimento de onda crítico e razão UVA-UVB.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Implantação da cultura e identificação botânica**

Utilizando estaquias foram implantados cultivares de *T. riparia* em canteiros do Horto Medicinal da Universidade Paranaense – UNIPAR da cidade de Umuarama localizado nas coordenadas S23° 46,225' e WO 53° 16,730' com altitude de 391m. A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ezilda Jacomassi realizou a identificação botânica e está depositada no Herbário Educacional da Universidade Paranaense – HEUP, sob o n° 2502. O cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) se encontra cadastrado sob o n° AD97496H.

### **2.2 Coleta e preparo das amostras**

Foram coletados folhas, botões florais e caule no período de floração, que ocorre entre junho a julho (meses mais frios do hemisfério sul) no ano de 2024. Após a coleta, o material foi seco em temperatura ambiente.

### **2.3 Obtenção do óleo essencial das folhas, botões florais e caule de *T. riparia***

Para a extração do óleo essencial foi selecionado o método de hidrodestilação com aparato de Clevenger modificado (Sena *et al.*, 2024) durante três horas. O óleo então foi retirado utilizando hexano como diluente, filtrado então em sulfato de sódio anidro, refrigerado em temperatura de -4 C° até que todo o solvente houvesse evaporado completamente.

### **2.4 Identificação química do óleo essencial das folhas, botões florais e caule de *T. riparia***

A identificação química do óleo essencial foi realizada por GC-MS, utilizando Cromatografia Gasosa Agilent 7890B acoplada à Espectrometria de Massas Agilent 5966A MSD e HP5-MS UI – Agilent (coluna capilar de sílica fundida: 30 X 250 µm X 0,25 µm; Agilent Technologies). A temperatura inicial do forno foi 80 C°, onde permaneceu por 1 minuto, seguido de um aumento para 185 C° a uma taxa de 2 C°/min, mantido por 1 minuto. Em seguida, a temperatura foi elevada para 275 C° a uma taxa de 9 C°/min, permanecendo estável por 1 minuto. O gás hélio foi utilizado como gás

carreador, com velocidade linear de 1 mL/min até 300 C° e pressão de 56 kPa. A temperatura do injetor foi ajustada para 280°C; o volume de injeção foi 1 µL, com injeção no modo split (2:1). As temperaturas da linha de transferência da fonte iônica e do quadrupolo foram de 280 C°, 230 C° e 150 C°, respectivamente. A detecção Espectrometria de Massas do sistema foi em modo ‘‘scan’’, na taxa massa/carga/carga ( $m/z$ ) de 40-600, com ‘‘delay de solvente’’ de 3 min. Os compostos foram identificados comparando os espectros de massas encontrados em bibliotecas NIST 11.0 e comparando os índices de retenção (RI) obtidos por uma série homologada de padrão *n*-alcano (C7-C28) (Adams, 2012). Este ensaio foi realizado no Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas – LIABQ, na Universidade Cesumar – UniCesumar, Maringá, Estado do Paraná, Brasil.

## **2.5 Obtenção do extrato bruto das folhas, botões florais e caule de *T. riparia***

Após a secagem do material vegetal, as diferentes partes da planta foram pulverizadas em liquidificador industrial e padronizado a granulometria utilizando peneiras com abertura de 850 µm/20 mesh. Então o pó pulverizado foi pesado e acondicionado em frasco âmbar com álcool etílico absoluto e submetido a agitação diária. Posteriormente foi iniciado o processo de filtragem do macerado, o solvente foi retirado em evaporador rotativo TE-210 (Tecnal) à 35 C°, o álcool foi adicionado novamente ao macerado, enquanto o extrato foi armazenado em potes protegidos da luz e refrigerado a -4 C° até término da maceração. O processo se repetiu até o esgotamento do material vegetal (Fernandez *et al.*, 2017; Sena *et al.*, 2024).

## **2.6 Identificação química dos extratos brutos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia* por Cromatografia Líquida de Ultra-Performance acoplada à espectrometria de massa (UHPLC-MS/MS)**

O extrato bruto das folhas, botões florais e caule de *T. riparia* foi analisado usando Cromatografia Líquida de Ultra-Performance, acoplada com à espectrometria de massa em tandem (UHPLC-MS/MS) (Shimadzu ® modelo 8050 MS e Nexera ® X2 HPLC, Kyoto Japão), equipada com uma fonte de ionização por eletropulverização (EIS). A EIS foi utilizada nos modos negativo e positivo, digitalizada com o modo de monitorização de reações múltiplas (MRM). A energia de colisão foi de -15 V (positiva) e 30 V

(negativa). A tensão da interface foi de 3 kV, a corrente de  $7\mu\text{A}$ , a temperatura de  $300\text{ }^\circ\text{C}$ , e as taxas de fluxo do gás de nebulização e do gás de secagem foram de 3 L/min e 10 L/min, respectivamente. O argônio foi usado como gás de colisão a uma pressão máxima de 20 mPa. A separação cromatográfica foi realizada usando uma coluna C18 ( $5\ \mu\text{m}$ ,  $150\ \text{mm} \times 4,6\ \text{mm}$  Shimadzu®). As fases móveis foram água Milli-Q acidificada com ácido fórmico a 0,1% (A) e MS de grau metanol MS (Merck® (Darmstadt, Alemanha)) (B). Elas foram operadas no modo de gradiente linear, 1–9 min (20% B), 10–15 min (40% B) e 16–30 min (10% B), a uma taxa de fluxo de 0,5 mL/min, a  $40\text{ }^\circ\text{C}$ . As amostras foram filtradas (membrana hidrofóbica de PVDF, tamanho de poro  $0,45\ \mu\text{m}$  e 25 mm de diâmetro), e o volume de injeção foi de 1  $\mu\text{L}$ . Foram obtidas curvas analíticas (10–250  $\mu\text{g/L}$ ) para os seguintes compostos: Isovanilina, hidroxibenzaldeído, naringenina, seringaldeído, catequina, luteolina, kaempferol, cafeína, quercetina, vanilina, coniferil aldeído, rutina e ácidos nicotínico, gálico, siríngico, protocatecuico, vanílico, ferúlico, p-hidroxibenzoico, p-cumárico, cafeico, sinápico, quínico, málico e fumárico.

## 2.7 Determinação de fenóis totais (FT)

A metodologia elegida foi o protocolo realizado por Hillis e Swain (1959) modificado. Para preparo da solução Folin-Ciocalteu (10%) e solução carbonato de sódio (7,5%), o veículo foi água mili-Q. Os extratos foram solubilizados em metanol e diluídas para as concentrações de 1; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. A solução reagente foi composta por 155  $\mu\text{L}$  da solução Folin-Ciocalteu, 125  $\mu\text{L}$  da solução carbonato de sódio somados a 20  $\mu\text{L}$  das amostras. A mistura foi deixada em repouso na ausência de luz por 60 minutos, e analisada em aparelho SpectraMax Plus<sup>384</sup> Microplate Reader a 760 nm. A curva de calibração com ácido gálico obtida através de regressão linear está demonstrada na equação (Eq.1).

$$\text{Eq.1:} \quad A=0,0196 C-0,031$$

$$R=0,9997$$

Onde A representa a absorbância medida e C a concentração de equivalentes de ácido gálico. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g}$  de equivalente de ácido gálico (EAG) por mg de amostra.

## **2.8 Determinação de flavonoides totais**

O teor de flavonoides totais foi determinado utilizando o método colorimétrico com cloreto de alumínio (Alves e Kubota, 2013). Os extratos foram ressuspensos em etanol : água (80:20 volume/volume) para obtenção de concentrações de 1; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. A solução reagente foi composta por 150 µL da amostra sob 150 µL de solução cloreto de alumínio 2% (m/v) em metanol e mantida à temperatura ambiente por 10 minutos. A absorbância foi definida para 425 nm. O controle foi a solução cloreto de alumínio. A concentração de flavonoides foi calculada de acordo com a curva padrão de quercetina (5 – 40 µg/mL). Os resultados obtidos foram expressos em µg equivalente de quercetina (EQ) por mg de extrato.

## **2.9 Sequestro de radicais livres – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)**

A capacidade de sequestro de radicais livres de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi quantificada pela metodologia de Rufino *et al*, (2007a). Uma alíquota de 10 µL das diferentes concentrações dos extratos (1; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL) foram diluídas em 290 µL de solução metanólica de DPPH (60 µM), preparada no momento da atividade. A calibração da curva DPPH foi realizada utilizando solução de DPPH nas concentrações 0; 10; 20; 30; 40; 50 e 60 µM. Como controle, foi utilizado 10 µL de metanol somado a 290 µL da solução DPPH. A mistura foi mantida abrigada da luz à temperatura ambiente por 30 minutos. Programada a absorbância para 515 nm, foi utilizado aparelho SpectraMax Plus<sup>384</sup> Microplate Reader. O valor da capacidade antioxidante total dos extratos foi calculado utilizando uma solução padrão de quercetina (60 µM) como referência de 100%. Enquanto a correlação entre a absorbância e concentração da amostra, foi determinada a concentração necessária para reduzir 50% dos radicais livres (EC50).

## **2.10 Redução do ferro - Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)**

Conforme descrito por Rufino *et al*, (2006a), a técnica para este teste é o reagente FRAP, 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução aquosa de 2,4,6-Tris (2-piridil)-striaizina (TPTZ - 10 mM), 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM) e 3 mL de água destilada. A solução reagente foi composta por 10 µL dos extratos solubilizados de *T. riparia* nas concentrações 1; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL), 290 µL do reagente FRAP nos poços de microplaca de fundo chato. A mistura foi abrigada da luz e

mantida a 37 C° por 30 minutos. A leitura transcorreu em aparelho Spectra Max Plus<sup>384</sup> Microplate Reader com comprimento de onda de 595nm. A atividade antioxidante por redução do ferro foi mensurada a partir dos resultados obtidos frente à uma curva padronizada de sulfato ferroso 0-2000 mM conforme a equação (Eq. 2).

$$\text{Eq. 2: } Y=ax+b$$

Onde 'x' representa 1000 µM de sulfato ferroso (1 mM) de sulfato ferroso e 'Y' representa a absorbância correspondente a 1000 µM de sulfato ferroso. Os resultados foram expressos em µM FeSO<sub>4</sub>/mg de extrato

### **2.11 Captura do radical livre - Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS<sup>+</sup>)**

Para mensurar a capacidade antioxidante pelo radical livre, foi adaptado a metodologia de Rufino *et al.* (2007b) para realização em aparelho Spectra Max Plus<sup>384</sup> Microplate Reader. Uma alíquota de 10 µL dos extratos nas suas respectivas diluições foram misturados a 290 µL da solução radical ABTS<sup>+</sup>, composta por 5 mL de solução ABTS 7 mM, 88 µL de solução persulfato de potássio 140 mM e álcool etílico 96°G.L. q.s.p. absorbância 0,70 nm ± 0,05 nm no comprimento de onda de 734nm. Uma curva-padrão foi realizada com trolox 2000 µM. Os cálculos para a equação da reta (Eq.3), conversão em 'gramas' (Eq.4) e o resultado final (Eq.5) são necessários para determinação da atividade antioxidante total pelo método ABTS<sup>+</sup>

$$\text{Eq. 3: } Y=-ax+b$$

$$\text{Eq. 4: } G=x/1000$$

$$\text{Eq. 5: } Z=(1000G)*1$$

Onde 'Y' refere-se a absorbância que corresponde a 1000 µM de trolox e 'x' refere-se a concentração (mg/mL) equivalente a 1000 µM de trolox. Na equação 4, 'G' referencia o valor de 'x' na unidade de medida 'gramas'. Por fim, 'Z' pertence ao valor final, que deve ser expresso em µM trolox/g do extrato.

## 2.12 Atividade antioxidante pelo sistema de co-oxidação $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (BCAL)

A capacidade antioxidante do óleo essencial e extrato bruto das folhas, botões florais e caule foram avaliadas em sistema modelo de co-oxidação do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, de acordo com Mattos *et al.* (2009). A solução de  $\beta$ -caroteno (1 mL), foi preparada pela solubilização de 20 mg de  $\beta$ -caroteno em 1 mL de clorofórmio, então foi adicionada a um balão de fundo redondo contendo 40  $\mu$ L de ácido linoléico e 530  $\mu$ L de emulsificante Tween 40. Após a remoção do clorofórmio, em evaporador rotatório a 50 °C, foi adicionado 450 mL de água destilada (anteriormente saturada com oxigênio por 30 minutos) sob agitação vigorosa. Foram adicionados 280  $\mu$ L do sistema em poços de microplaca, juntamente com 20  $\mu$ L das amostras de óleo essencial e extratos brutos das folhas, botões florais e caule, nas concentrações 1,0; 0,75; 0,50 e 0,25 mg mL<sup>-1</sup>. Em seguida, a placa foi colocada em leitor Spectra Max Plus™ Microplate Reader a 45°C, durante 120 minutos, com absorbância mensurada em 470 nm, inicialmente e em intervalos de tempo de 5 minutos até o final do tempo. O trolox foi utilizado como padrão-referência. O método avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. A atividade antioxidante foi expressa como percentual de inibição da oxidação (%).

## 2.13 Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro*

Para determinação do FPS as amostras foram solubilizadas em etanol para as concentrações de 1; 0,75; 0,50 e 0,25 mg/mL. A absorbância das diluições foi realizada nos comprimentos de onda de 290 nm, com aumento sucessivo de 5 nm até atingir 320 nm. Como controle foi utilizado o etanol.

O cálculo do valor de FPS é baseado na equação (Eq.6).

$$\text{Eq. 6:} \quad \text{FPS} = \text{CF} \sum \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Onde:

CF = 10 (fator de correção)

EE( $\lambda$ ) = *erythema effect spectrum*

I( $\lambda$ ) = *solar intensity spectrum*

$Abs(\lambda)$  = absorvância da amostra no comprimento de onda  $\lambda$

Os valores de  $EE(\lambda) \times I(\lambda)$  são constantes (Mansur *et al.*, 1986).

### 2.14 Razão UVA/UVB e Comprimento de Onda Crítico ( $\lambda_C$ )

A razão UVA/UVB é a razão entre a área sob a curva do espectro de absorção UVA (320-400 nm) e a área sob a curva do espectro de absorção UVB (290-320 nm) (Wu *et al.*, 2020). Quanto mais próxima a proporção estiver da unidade, maior será a classificação de proteção UVA. O extrato foi diluído em álcool etílico para obter concentrações de 1,0, 0,75, 0,50 e 0,25 mg/mL. O espectro de absorção de cada diluição foi determinado em triplicata em comprimentos de onda de 290 a 400 nm em incrementos de 5 nm. O etanol foi usado como controle analítico. As proporções UVA/UVB foram calculadas de acordo com a equação (7)

Eq. 7:

$$\frac{UVA}{UVB} = \frac{\frac{\int_{320}^{400} A(\lambda)d(\lambda)}{\int_{320}^{400} d(\lambda)}}{\int_{290}^{320} A(\lambda)d(\lambda)}$$

O **Quadro 1** descreve como os extratos foram classificados de acordo com os níveis de proteção UVA do sistema de classificação por estrelas da Boots (Boots, 2008). O espectro de absorção também foi usado para determinar o comprimento de onda crítico, que representa o comprimento de onda abaixo do qual 90% da curva do espectro se situa entre 290 nm a 400 nm. O comprimento de onda crítico maior ou igual a 370 nm indica proteção solar de amplo espectro (Wang *et al.*, 2008).

**Quadro 1.** Grau de proteção UVA de acordo com o sistema de classificação de estrela de Boot's.

Limites de UVA/UVB						
	0 – 0,2	0,21 – 0,4	0,41 – 0,6	0,61 – 0,8	0,81 – 0,9	> 0,91
Número de estrelas	-	*	**	***	****	*****
Proteção UVA	Muito baixa	Moderada	Boa	Superior	Máxima	Ultra

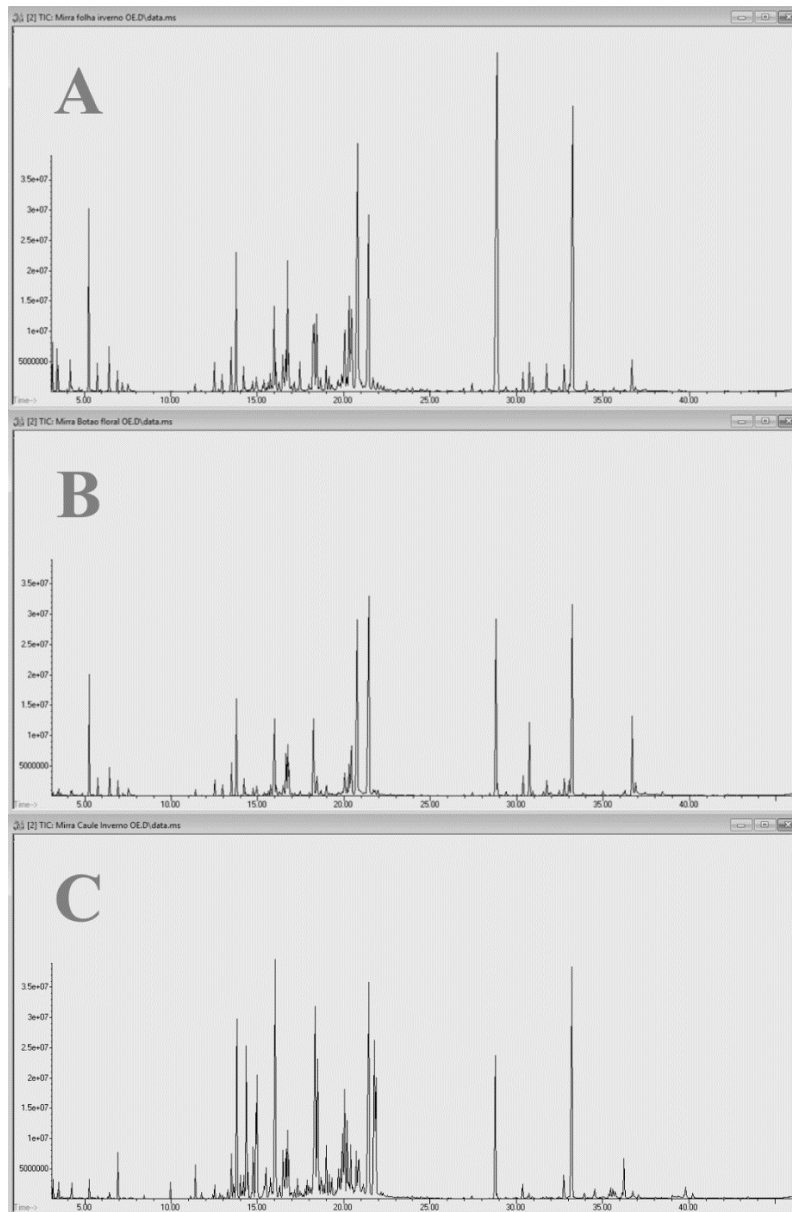
### **2.15 Análise estatística**

Os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram processados utilizando o software Minitab 17 por análise de variância (ANOVA), enquanto as diferenças entre as médias foram testadas com significância ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1. Composição química do óleo essencial**

As análises cromatográficas das amostras do óleo essencial encontram-se discriminadas na **Figura 4 e Tabela 2**. É possível observar uma similaridade na localização de alguns picos entre as diferentes amostras, como evidenciado na **Figura 4A, 4B e 4C**. De acordo com a **Tabela 2** foram identificados um total de 49 compostos no óleo essencial das folhas (OEf), 47 no OE dos botões florais (OEbf) e 45 no OE do caule (OEc).



**FIGURA 4:** Cromatograma do óleo essencial extraído das folhas (A), botões florais (B) e caule (C) de *T. riparia*. Fonte: o autor.

**TABELA 2.** Composição química do óleo essencial das folhas, botões florais e caule de *T. riparia* realizada por GC-MS.

Pico	TR	Composto	FM	PM	Ri Calc	RI Lit	Parte da planta		
							Folha	Botão floral	Caule
Área Relativa%									
1	3.420	Canfeno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	951	951	0,63	0,06	0,22
2	3.425	Sabineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	952	952	0,56	0,1	0,06
3	3.490	(-)-β-pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	963	963	0,35	0,27	0,2
4	4.191	D-Limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1031	1030	0,52	0,07	-
5	4.241	Eucaliptol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1034	1033	-	0,1	0,32
6	4.688	γ-Terpineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1061	1061	0,2	0,08	-
7	5.254	Fenchona	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	154	1091	1092	3,26	3,58	0,28
8	5.751	β-Fenchol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1116	1116	0,46	0,53	0,05
9	6.438	Canfôra	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	1148	1148	0,82	0,95	0,1
10	6.913	endo-Borneol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1168	1168	0,41	0,52	0,81
11	7.197	Terpinen-4-ol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1180	1181	0,2	0,11	-
12	7.521	α-Terpineol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1192	1191	0,16	0,49	-
13	8.440	Formato de bornila	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	182	1229	1228	-	-	0,06
14	9.965	(-)-Bornil acetato	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	196	1285	1285	-	-	0,32
15	11.766	α-Copaeno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1350	1353	0,64	0,64	0,29
16	12.519	Isoledeno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1375	1373	0,17	0,26	0,89
17	12.977	(-)-β-Elemeno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1390	1391	0,45	0,52	0,08
18	13.488	α-Gurjuneno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1407	1408	0,99	1,34	2,29
19	13.781	Cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1418	1418	3,41	4,09	4,69
20	14.013	β-Gurjuneno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1427	1428	-	-	0,73
21	14.215	α-Bergamoteno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1434	1435	0,54	0,86	0,54
22	14.365	Humuleno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1439	1441	0,23	0,32	1,71
23	14.446	γ-Elemeno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1446	1438	2,4	4,72	-
24	14.741	Alloaromadendren o	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1453	1456	-	-	1,08
25	14.908	Aromadendreno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1458	1460	0,1	-	3,09
26	15.316	Aromadendreno, dehidro	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202	1472	1465	0,18		0,82
27	15.493	γ-Muuroleno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1478	1477	0,36	0,15	0,45
28	15.695	β-Eudesmeno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1584	1484	-	0,22	0,38
29	15.753	γ-Gurjuneno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1486	1479	0,41	0,6	3,94
30	15.982	Ledeno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1494	1497	0,43	-	0,18
31	16.044	α-Muuroleno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1495	1499	0,69	0,49	8,32
32	16.079	β-Guaieno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1497	1500	0,41	0,13	0,45
33	16.253	δ-Guaieno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1503	1503	1,08	0,26	-

34	16.473	$\gamma$ -Cadineno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1511	1511	2,26	2,71	1,4
35	16.753	$\delta$ -Cadineno	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1521	1521	3,54	-	1,6
36	17.975	Palustrol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1565	1567	0,87	0,9	0,62
37	18.225	Germacrene D-4-ol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1574	1574	2,05	4,24	-
38	18.300	(-)-Spathulenol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	1576	1576	1,6	1,96	7,41
39	18.437	Cariofileno óxido	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	1582	1582	2,78	3,73	4,77
40	18.664	Viridiflorol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1588	1588	0,38	0,23	0,47
41	18.982	Isoaromadendrene epoxide	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	1599	1594	1,19	0,1	2,3
42	18.997	Ledol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1600	1605	0,7	0,49	-
43	19.313	Cubenol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1612	1612	0,42	0,32	0,57
44	20.050	$\alpha$ -acorenol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1639	1633	2,71	1,5	-
45	20.173	Cadinol T	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1644	1645	2,64	1,6	3,45
46	20.289	$\delta$ -Cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1648	1646	0,4	0,36	-
47	20.427	$\alpha$ -Eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1653	1653	4,1	3,24	3,82
48	20.769	$\alpha$ -cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	1664	1663	13,01	12	8,01
49	21.443	14- hidroxí- 9- epi- cariofileno	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1689	1674	7,49	14,53	10,18
50	21.710	Ledeno óxido-(II)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	1699	1682	0,6	0,36	5,16
51	28.792	9 $\beta$ ,13 $\beta$ - epoxi - 7- abietadiene	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	1978	1988	16,66	9,98	5,88
52	29.389	Manool oxide	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	2005	1983	0,13	0,2	0,38
53	30.368	Abieta-8,11,13- triene	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub>	270	2048	2049	1,76	1,37	0,91
54	32.754	ni					0,79	0,83	-
55	33.349	6-7 dehidroroyleanona	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O	288	2081	2094	12,74	13,69	9,8
56	35.624	Esclareol	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	308	2187	2198	0,16	0,27	0,11
57	36.670	ni			2238		0,86	3,93	0,81
Total identificado:							98,25	95,24	99,19
monoterpenos hidrocarbonetos							2,26	0,58	0,48
monoterpenos oxigenados							5,31	6,28	1,94
sesquiterpenos hidrocarbonetos							18,29	17,31	32,93
sesquiterpenos oxigenados							40,94	45,56	46,76
Diterpenos							31,45	25,51	17,08
ni							1,65	4,76	0,81

Pico=Compostos listados por ordem de eluição a partir de uma coluna HP-5MS; TR=Tempo de retenção; FM=Fórmula Molecular; PM=Peso Molecular; RI calc. = identificação com base no índice de retenção (RI) calculado utilizando uma série homóloga padrão de n-alcacos C7 -C26 na coluna HP-5MS UI; RI lit. = identificação com base na comparação dos espectros de massa encontrados nas bibliotecas NIST 11.0; Área relativa (%) = porcentagem da área ocupada pelos compostos no cromatograma; ni=não identificado.

Foram considerados compostos majoritários aqueles com área >5%. Na classe de sesquiterpenos hidrogenados, o composto  $\alpha$ -Murolene (8,32%) foi destacado no OEc.

Para os sesquiterpenos oxigenados, os compostos (-)-Spathulenol (7,41%) e Ledeno óxido-(II) (5,16%) foram encontrados no OEc, além de  $\alpha$ -cadinol (13,01%, 12% e 8,01%), 14-hidroxi-9-epi-cariofileno (7,49%, 14,53% e 10,18%) encontrados nos OEf, OEbf e OEc, respectivamente. Por fim, os diterpenos majoritários foram 9 $\beta$ ,13 $\beta$ -epoxi-7-abietadiene (16,66%, 9,98% e 5,88%) e 6-7-dehidroileanona (12,74%, 13,69% e 9,8%) nos OEf, OEbf e OEc, respectivamente.

### 3.2. Composição química dos extratos brutos

Quanto aos extratos brutos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia*, a composição química realizada por UHPLC MS/MS foi pesquisada para 25 compostos, conforme a **Tabela 3**.

**TABELA 3.** Composição química do extrato bruto das folhas, botões florais e caule de *T. riparia* por UHPLC-MS/MS ( $\mu\text{g/g}$ ).

Composto	Precursor e Produção m/z [M-H]	Folhas	Botões Florais	Caule
Ácidos fenólicos				
Ac. Gálico	169,20 > 124,90	-	-	-
Ac. Sinápico	225,0 > 206,95	3,83 $\pm$ 0,35 Ak	-	4,09 $\pm$ 0,14 Ah
Ac. Quínico	191,20 > 84,80	-	13,52 $\pm$ 0,66 Afg	8,73 $\pm$ 0,02 Bg
Ac. Siríngico	197,20 > 182,05	4,65 $\pm$ 0,22 Cjk	56,47 $\pm$ 4,00 Ae	18,69 $\pm$ 1,43 Bf
Ac. Ferúlico	193,20 > 133,95	13,40 $\pm$ 0,76 Ch	65,31 $\pm$ 1,39 Ae	37,06 $\pm$ 0,60 Be
Ac. p-cumárico	163,20 > 119,00	50,41 $\pm$ 1,72 Cf	106,12 $\pm$ 0,08 Ad	80,11 $\pm$ 2,40 Bc
Ac. p-hiroxibenzoico	137,20 > 92,90	15,41 $\pm$ 0,57 Ch	147,02 $\pm$ 11,96 Ab	78,86 $\pm$ 1,17 Bc
Ac. Vanílico	167,40 > 152,00	67,33 $\pm$ 0,94 Ce	>200 Aa	89,85 $\pm$ 0,41 Bb
Ac. Protocatecuico	153,20 > 108,95	>200 Aa	149,13 $\pm$ 5,06 Bb	>200 Aa
Ac. Cafeico	179,20 > 135,00	>200 Aa	>200 Aa	>200 Aa
Ácidos orgânicos				
Ac. Nicotínico	122,40 > 77,90	7,15 $\pm$ 0,28 Ci	128,97 $\pm$ 0,26 Ac	77,35 $\pm$ 1,69 Bc
Ac. Fumárico	115,20 > 71,00	-	147,03 $\pm$ 8,55 Bb	>200 Aa
Ac. Málico	133,20 > 114,90	145,99 $\pm$ 1,81 Bd	>200 Aa	>200 Aa
Flavonoides				
Catequina	289,10 > 245,10	-	-	-

Quercetina	301,10 > 151,00	<1 Alm	<1 Ah	-
Rutina	609,00 > 300,00	2,64±0,23 Bkl	4,34±0,27 Agh	1,02±0,11 Ch
Naringenina	271,10 > 151,00	-	4,93±0,49 gh	-
Kaempferol	285,00 > 151,00	156,98±1,60 Bb	>200 Aa	65,86±2,20 Cd
Luteolina	286,90 > 152,85	149,29±0,09 Bc	>200 Aa	88,24±0,92 Cb
Aldeídos fenólicos				
Vanilina	151,40 > 136,05	<1 Alm	<1 Ah	<1 Ah
Isovanilina	153,10 > 65,00	3,08±0,01 Ckl	4,71±0,47 Bgh	21,24±0,55 Af
Coniferil Aldeído	177,00 > 147,00	-	-	9,89±0,59 G
Seringaldeído	183,00 > 94,95	6,01±0,17 Cij	18,75±1,63 Af	8,49±0,04 Bg
Hidroxibenzaldeído	123,10 > 76,95	26,29±0,18 Bg	22,06±1,32 Cf	36,48±1,76 Ae
Alcalóides				
Cafeína	194,90 > 137,95	2,75±0,14 Bkl	5,47±0,42 Agh	2,86±0,12 Bh

A classe dos ácidos fenólicos apresentou três compostos com resultados acima do padrão (>200 µg/g), ademais, os ácidos orgânicos e flavonoides apresentaram 2 compostos com áreas >200 µg/g, enquanto as outras classes permaneceram dentro da área da curva.

Foram considerados compostos de destaque aqueles com concentração >100 µg/g de extrato. Na classe dos flavonoides, é válido destacar os compostos Luteolina (149,29/EBf; >200/EBbf) e Kaempferol (156,98/EBf; >200/EBbf). Na classe dos ácidos orgânicos, receberam destaque os compostos Ác. malico (145,99/EBf; >200/EBbf e EBc), Ác. Fumárico (147,03/EBbf; >200/EBc) e Ác. nicotínico (128,97/EBbf). Para os ácidos fenólicos, os compostos destacados são Ác. cafeico (142,42/EBbf; >200/EBf e EBc), Ác. protocatecuico (>200/EBf, EBc; 149,13/EBbf), Ác. vanílico (>200/EBbf), Ác. p-hiroxibenzoico (147,02/EBbf) e Ác. p-cumarico (106,12/EBbf).

### 3.3. Quantificação de fenóis totais e flavonoides.

Os valores de fenóis totais dos extratos na concentração de 1 mg/mL obtiveram teor de 110,26±2,48; 121,66±3,24; 70,98±2,64 µg EAG/mg de EB para as folhas, os botões florais e os caules, respectivamente (**Tabela 4**).

**TABELA 4:** Quantificação do teor de fenóis totais e flavonoides totais do extrato bruto das folhas, botões florais e caule de *T. riparia*.

Teor de Fenóis Totais (µg de equivalentes de ácido gálico/mg de EB)				
	1 mg/mL	0,75 mg/mL	0,50 mg/mL	0,25 mg/mL
EBf	110,26±2,48 Ab	70,49±3,58 Ba	35,34±4,06 Ca	10,90±0,45 Da
EBbf	121,66±3,24 Aa	67,86±0,78 Ba	31,77±0,72 Ca	8,89±0,81 Db
EBc	70,98±2,64 Ac	43,96±4,72 Bb	17,77±1,82 Cb	3,83±0,04 Dc
Teor de Flavonoides (µg de equivalente de quercetina/mg de EB)				
Ebf	896,99±2,38 Ba	861,74±3,76 Ca	931,34±7,70 Aa	931,89±10,85 Aa
EBbf	412,34±2,40 Db	453,42±4,53 Bb	436,53±3,88 Cb	484,49±9,62 Ab
EBc	60,49±3,83 ABc	50,03±8,01 Bc	62,41±1,68 ABc	64,59±2,54 Ac

Fonte: o autor. EBf=Extrato Bruto da folha. EBbf= Extrato Bruto dos botões florais. EBc=Extrato Bruto do caule. Os valores são a média e o desvio padrão (±) do experimento realizado em triplicata. Foram empregadas a análise de variância (ANOVA) e comparações múltiplas de Tukey com significância de ( $p \leq 0,05$ ) para a análise estatística. Valores com letra maiúscula para análise em linha e letra minúscula para análise em coluna.

A amostra que obteve maior resultado na quantificação de fenóis totais foi o EBbf com concentração de 121,66±3,24 µg de equivalentes de ácido gálico (EAG) a 1 mg/mL, seguido pelo EBf com concentração de 110,26±2,48 µg EAG, por fim, o EBc com concentração de 70,98±2,64 µg EAG. Conforme é diminuída a concentração do extrato, o teor de fenóis também é reduzido.

Diferentemente dos fenóis totais, os flavonoides totais não seguem uma progressão ou regressão de forma linear entre as concentrações, essa característica é observada nas amostras apesar de ser uma metodologia recomendada pela farmacopéia brasileira. Apesar disso, é observado que a maior quantidade foi encontrada na concentração de 0,25 mg/mL do extrato. A inconsistência dificulta a comparação entre as concentrações, todavia, a comparação foi realizada com a concentração mais confiável, apenas entre os diferentes órgãos da planta. Em todas as

concentrações é possível observar diferença estatística de maneira decrescente entre folhas, botões florais e caule, respectivamente.

### 3.4. Testes antioxidantes.

Para investigação do potencial antioxidante dos extratos brutos das folhas (EBf), botões florais (EBbf) e caule (EBc), foram utilizados os protocolos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP); Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS+), conforme discriminados na **Tabela 5**.

**Tabela 5:** Determinação da atividade antioxidante pelos métodos: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP); Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS+) dos extratos brutos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia*:

	DPPH	FRAP	ABTS
	EC <sub>50</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	( $\mu$ M sulfato ferroso mg <sup>-1</sup> amostra)	( $\mu$ M de ácido gálico mg <sup>-1</sup> de amostra)
EBf	3,83 $\pm$ 1,76 b	0,46 $\pm$ 0,01 c	3,74 $\pm$ 0,41 c
EBbf	1,04 $\pm$ 0,14 a	0,50 $\pm$ 0,01 c	1,37 $\pm$ 0,07 b
EBc	0,54 $\pm$ 0,02 a	0,84 $\pm$ 0,04 b	1,32 $\pm$ 0,09 b
Quercetina	0,01 $\pm$ 0,01 a	-	-
Trolox	-	9,17 $\pm$ 0,01 a	0,25 $\pm$ 0,01 a

Fonte: o autor. EBf=Extrato Bruto da folha. EBbf=Extrato Bruto dos botões florais. EBc=Extrato Bruto do caule. EC50=Concentração para inibição de 50%. Os valores são a média e o desvio padrão ( $\pm$ ) do experimento realizado em triplicata. Foram empregadas análise de variância (ANOVA) e comparações múltiplas de Tukey com significância de ( $p \leq 0,05$ ) para a análise estatística. Valores com letras minúsculas para análise em coluna.

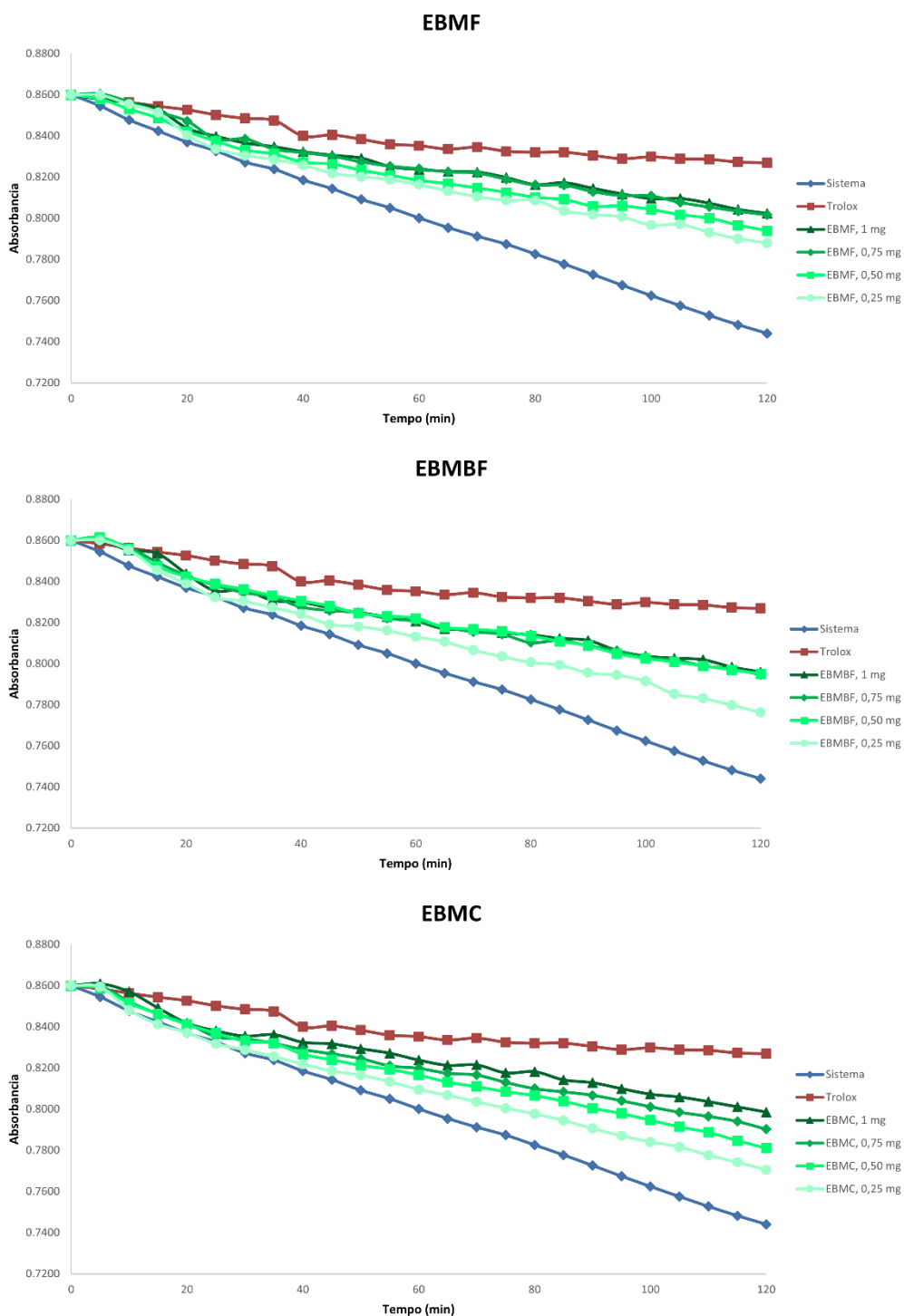
No ensaio de DPPH, foi utilizada a quercetina como controle (0,01 mg mL<sup>-1</sup>). Neste método, a amostra que obteve melhor resultado foi o EBc (0,54 $\pm$ 0,02 mg mL<sup>-1</sup>), seguido pelo EBbf (1,04 $\pm$ 0,14 mg mL<sup>-1</sup>), e EBf (3,83 $\pm$ 1,76 mg mL<sup>-1</sup>).

Para o teste de FRAP, o padrão utilizado foi o Trolox (9,17 $\pm$ 0,01  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub> mg/mL). O extrato com maior desempenho foi o EBc (0,84 $\pm$ 0,04  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub> mg/mL), seguido pelos extratos brutos das folhas e dos botões florais (0,46 $\pm$ 0,01 e 0,50 $\pm$ 0,01  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub> mg/mL, respectivamente), que apresentaram resultados próximos.

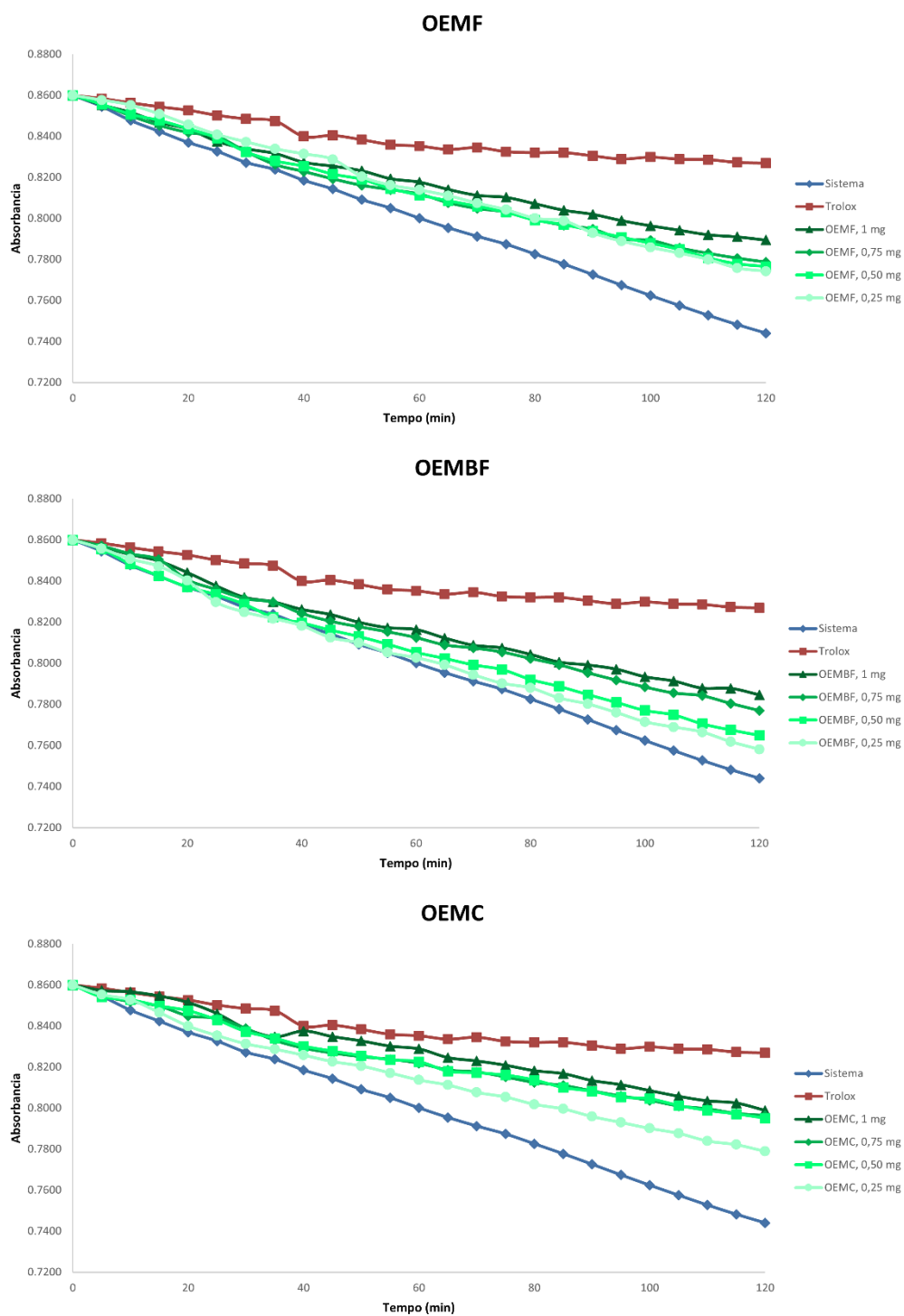
No teste de ABTS, a referência também foi o Trolox (0,25 $\pm$ 0,01  $\mu$ g AG mg/mL). Os extratos do caule e dos botões florais apresentaram atividade antioxidante semelhante

( $1,32\pm 0,09$  e  $1,37\pm 0,07$   $\mu\text{g AG mg/mL}$ ), e, por fim, o extrato das folhas apresentou ( $3,74\pm 0,41$   $\mu\text{g AG mg/mL}$ ).

De maneira complementar, foi realizado o método de inibição da atividade antioxidante pelo sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico como representado nas **Figuras 5 e 6** e descrito na **Tabela 6**.



**Figura 5.** Inibição do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico pelos extratos brutos.



**Figura 6.** Inibição do  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico pelos óleos essenciais.

Analisando os gráficos dos resultados, observa-se que nas amostras testadas as amostras tendem a estar no meio da área entre a curva do sistema e do Trolox no tempo 120 minutos, indicando que sua atividade inibitória do radical é próxima a 50%.

**Tabela 6:** Potencial inibitório do sistema de co-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico dos óleos essenciais e extratos brutos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia*.

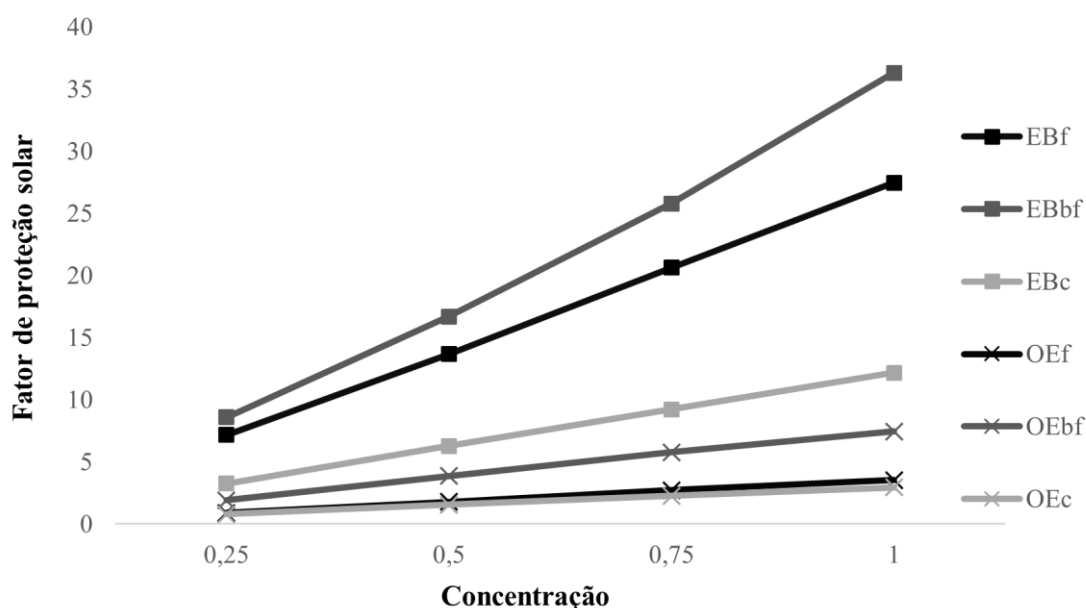
	Inibição do $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (%)			
	1 mg/mL	0,75 mg/mL	0,50 mg/mL	0,25 mg/mL
EBf	71,63±1,33 Aa	71,25±3,06 Aa	62,01±3,46 Ba	55,08±3,06 Ba
EBbf	63,93±2,40 Aabc	62,78±1,76 Aab	63,16±4,62 Aa	41,61±6,36 Bab
EBc	67,01±1,33 Aab	57,78±2,40 Bb	47,00±1,15 Cb	34,68±3,71 Dbc
OEf	56,62±1,76 Abc	44,30±2,67 Bb	41,61±2,91 Bb	39,30±2,67 Bb
OEBf	50,85±5,46 Ac	42,38±8,72 ABC	28,14±9,33 Bc	20,82±9,26 Bc
OEc	67,40±10,35 Aab	65,09±1,76 Aab	63,16±2,31 Aa	44,69±3,46 Bab

Fonte: o autor. EBf=Extrato Bruto da folha. EBbf=Extrato Bruto dos botões florais. EBc=Extrato Bruto do caule. O Trolox (0,2 mg mL<sup>-1</sup>) foi utilizado como controle positivo. Os valores são a média e o desvio padrão(±) do experimento realizado em triplicata. Foi empregado a análise de variância (ANOVA), e comparações múltiplas de Tukey com significância de (p≤0,05) para a análise estatística. Valores com letra maiúscula para análise em linha, e letra minúscula para análise em coluna.

Os resultados numéricos evidenciam que todas as amostras em 1 mg/mL apresentaram atividade inibitório superior a 50%. A amostra que apresentou maior atividade contra o radical foi o extrato bruto das folhas, seguido pelo extrato bruto do caule e óleo essencial do caule, extrato bruto do botão floral e por fim o óleo essencial do botão floral.

A atividade fotoprotetora e a razão UVA/UVB dos OEs e EBs encontram-se discriminadas nas Tabelas 7 e 8 e Figuras 7 e 8.

### 3.5. Fator de proteção solar.



**Figura 7:** Fator de proteção solar dos óleos essenciais e extratos brutos de *T. riparia*.

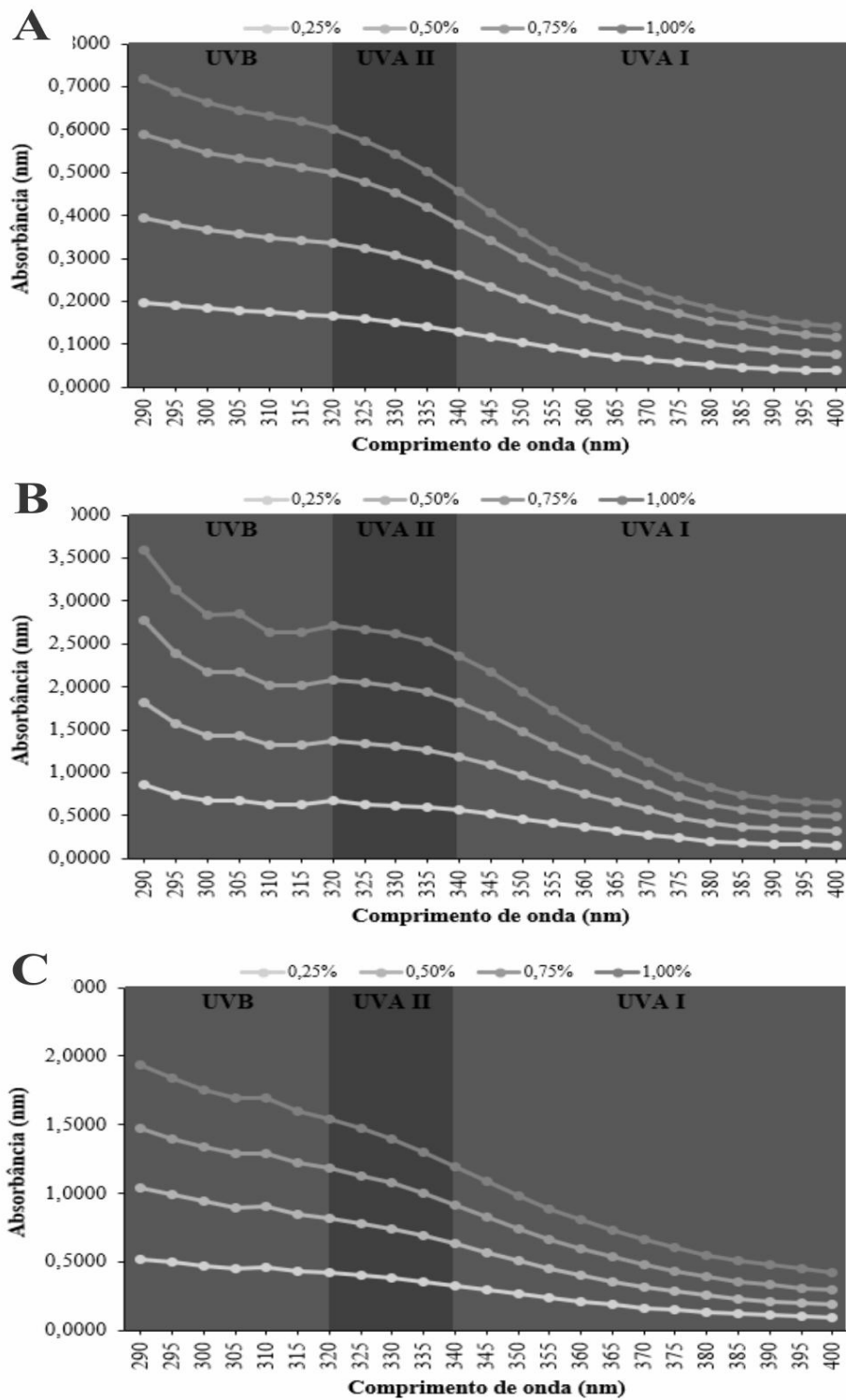
**Tabela 7:** Determinação do fator de proteção solar dos óleos essenciais e extratos brutos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia*.

	Fator de proteção solar (FPS)			
	1 mg/mL	0,75 mg/mL	0,50 mg/mL	0,25 mg/mL
EBf	27,46±0,13 Ab	20,63±0,31 Bb	13,68±0,22 Cb	7,16±0,09 Db
EBbf	36,31±0,35 Aa	25,80±0,36 Ba	16,69±0,19 Ca	8,59±0,04 Da
EBc	12,18±0,19 Ac	9,23±0,15 Bc	6,29±0,14 Cc	3,26±0,2 Dc
OEf	3,55±0,08 Ae	2,72±0,06 Be	1,79±0,04 Ce	0,90±0,03 De
OEbf	7,45±0,10 Ad	5,77±0,06 Bd	3,87±0,02 Cd	1,91±0,05 Dd
OEc	2,97±0,05 Af	2,28±0,06 Be	1,57±0,04 Ce	0,80±0,05 De

Fonte: o autor. EBf=Extrato Bruto da folha. EBbf=Extrato Bruto dos botões florais. EBc=Extrato Bruto do caule. Os valores são a média e o desvio padrão(±) do experimento realizado em triplicata. Foi empregado a análise de variância (ANOVA), e comparações múltiplas de Tukey com significância de ( $p \leq 0,05$ ) para a análise estatística. Valores com letra maiúscula para análise em linha, e letra minúscula para análise em coluna.

Os resultados do fator de proteção solar tiveram diminuição conforme a concentração do extrato é reduzida, a média da regressão linear é  $R^2 = 0,9990$ . Entre as amostras na concentração de 1 mg/mL, o maior FPS foi do EBbf (36,31), EBf (27,46) e EBc (12,18), enquanto as amostras de óleo essencial OEbf (7,45), OEf (3,55) e OEc (2,97). Devido à ausência de grande variedade compostos fenólicos, e principalmente flavonoides na composição química dos óleos essenciais, era esperado que não houvesse

altos valores de proteção solar, ainda assim, o óleo do botão floral a 1 mg/mL apresentou FPS similar ao extrato da folha a 0,25 mg/mL. Na **Figura 8** é possível observar a proporção de absorção UVA/UVB das amostras. Na **Tabela 8** estão apresentados os valores resultantes da **Figura 8**.



**FIGURA 8.** Razão UVA/UVB dos extratos das folhas (A), botões florais (B) e caule (C) de *T. riparia*.

**TABELA 8:** Razão UVA/UVB, proteção anti-UVA e comprimento de onda crítico do extrato bruto de *T. riparia*.

Razão UVA/UVB, Proteção Anti-UVA, e Comprimento de Onda Crítico ( $\lambda_c$ )						
	1,00 mg/mL	0,75 mg/mL	0,50 mg/mL	0,25 mg/mL	Proteção Anti-UVA	CC
EBf	1,32±0,01 Bc	1,34±0,02 Bb	1,34±0,02 Bb	1,35±0,01 Aa	Ultra	365
EBbf	1,48±0,01 Aa	1,48±0,00 Aa	1,48±0,00 Aa	1,49±0,03 Ab	Ultra	365
EBc	1,37±0,00 Ab	1,34±0,01 Ab	1,30±0,01 Bc	1,34±0,02 Ac	Ultra	365*

Fonte: o autor. CC=Comprimento de Onda Crítico. EBf=Extrato Bruto da folha. EBbf=Extrato Bruto dos botões florais. EBc=Extrato Bruto do caule. Os valores são a média e o desvio padrão ( $\pm$ ) do experimento realizado em triplicata. Foi empregado a análise de variância (ANOVA), e comparações múltiplas de Tukey com significância de ( $p \leq 0,05$ ) para a análise estatística. Valores com letra maiúscula para análise em linha, e letra minúscula para análise em coluna.

A relação UVA e UVB variou entre 1,30 a 1,49, resultando para todas as amostras em proteção anti-UVA ‘ultra’, de acordo com a escala de Boots. O comprimento de onda crítico foi de 370 nm para o extrato bruto do caule a 1 mg/mL, o restante, todas as amostras nas diferentes concentrações obtiveram um comprimento de onda crítico de 365.

#### 4. DISCUSSÃO

As atividades biológicas são diretamente afetadas pelos compostos majoritários, e os compostos majoritários identificados neste experimento encontram-se em conformidade com os estudos de Gazim *et al.*, 2010; Demarchi *et al.*, 2015; Fernandez *et al.*, 2017; Zardeto-Sabec *et al.*, 2020; Scanavacca *et al.*, 2022; Sena *et al.*, 2024.

Reforçando a presença dos sesquiterpenos oxigenados, destacando  $\alpha$ -cadinol, e 14-hidroxi-9-epi-cariofileno e os diterpenos  $9\beta$ - $13\beta$ -epoxi-7-abietadiene e 6,7-deidroroileanona nas folhas, botões florais e caule. Entretanto neste estudo destaca-se a presença do (-)-Spathulenol (7,41%), Ledeno óxido-(II) (5,16%) e  $\alpha$ -Muuroleno (8,32%) (Tabela 2) em maior quantidade no caule quando comparado às folhas e botões florais. A presença destes compostos pode estar relacionada com o potencial antioxidante superior do EBc pelos métodos DPPH ( $EC_{50} = 0,54$  mg/mL), FRAP (0,84  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub> mg/mL) e ABTS (1,32  $\mu$ g de ácido gálico mg/mL) quando comparado com o EBf e o EBbf (Tabela 5). Oliveira *et al.* (2019) atribuíram o alto potencial antioxidante encontrado quando analisaram o OE de *Baccharis oreophila*, devido à presença de Spathulenol (16,12%). Yu *et al.* (2024) relaciona o alto teor de terpenoides, principalmente Copaeno (33,97) um sesquiterpeno hidrocarboneto à atividade antioxidante.

Devido a natureza apolar dos óleos essenciais, os ensaios DPPH, FRAP e ABTS não foram realizados por serem protocolos voltados para compostos semi-polares (DPPH) e polares (FRAP e ABTS) (Huang, Ou, Prior 2005).

Quanto à composição dos EBs, 19 compostos foram identificados no EBf, 21 no EBbf e EBc (**Tabela 3**). Os compostos majoritários ( $>200 \mu\text{g/g}$ ) foram os ácidos vanílico (EBbf), protocatecuico (EBf e EBc), cafeico (EBf, EBbf e EBc), fumárico (EBc), além da luteolina e kaempferol (EBbf). Mesmo que a folha não tenha apresentado resultado superior ao botão floral, pode haver outros flavonoides que não foram investigados na identificação química quando observada a concentração de fenóis totais ( $110,26 \pm 2,48$ ) junto à flavonoides ( $896,99 \pm 2,38$ ), isso se torna aparente. Apesar disso, o caule apresenta uma baixa quantidade de flavonoides quando comparado às outras amostras (**Tabela 4**).

No estudo de Sena *et al.* (2024) foi realizada uma análise qualitativa em bancos de dados, e foram identificados outros compostos não identificados nesse estudo, como o grupo de antocianinas, outros flavonoides, ácidos fenólicos, taninos e terpenos.

Diferentemente do presente estudo que realizou uma metodologia quantitativa sobre uma curva de calibração de compostos fenólicos, Sena identificou ácido protocatecuico apenas na amostra do EBf, enquanto nas amostras do presente estudo foram quantificadas as áreas  $>200 \mu\text{g/g}$  para EBf e EBc, e  $149,13 \pm 5,06 \mu\text{g/g}$  para EBbf. Esse composto está relacionado à atividade antioxidante, podendo ter ação superior ao controle Trolox® (DPPH:  $\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL})$  5,28 Trolox / 1,88 Ác. Protocatecuico) (Li *et al.*, 2011). Os autores também correlacionam os resultados altos de fenóis totais com a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, porém, este padrão não é observado nesse estudo, sugerindo que esses dois métodos podem sofrer interferência de outras classes de compostos. Por exemplo a classe dos aldeídos fenólicos, foi encontrado exclusivamente no EBc o composto coniferil aldeído, e os compostos hidroxibenzaldeído e isovanilina foram encontrados com maiores concentrações no EBc quando comparados ao EBbf e EBf.

Na literatura revisada, não foram encontrados na espécie *T. riparia* os seguintes compostos: ácidos sinápico, quínico, siríngico, vanílico, nicotínico, fumárico, málico, naringenina, kaempferol, vanilina, isovanilina, coniferil aldeído, seringaldeído, hidroxibenzaldeído e cafeína. Sendo este, provavelmente o primeiro relato da presença de tais compostos na espécie.

No estudo de Karamác *et al.* (2017) testaram o ácido ferulico e o coniferil aldeído para avaliar sua atividade antioxidante e constataram que o ácido ferúlico obteve um

resultado de 4,73  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$  no método FRAP, enquanto o coníferil aldeído resultou em 4,60  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$ , indicando que ambos os compostos podem ter atividade direta nessa metodologia. Por outro lado, a isovanilina foi pesquisada por Rana *et al.* (2024) e constatou-se que o composto tem sua atividade antioxidante resultante de muitos grupos fenólicos, tornando a molécula capaz de doar prótons. Tal qual Abbas *et al.* (2022) realizaram testes em modelos animais e constataram que a molécula foi capaz de reduzir danos inflamatórios, agir como antioxidante e recapilarizar áreas comprometidas. Além de Zhang *et al.* (2023) que observaram a presença de hidroxibenzaldeído nas amostras, aumentaram significativamente a eficácia nos ensaios ABTS e FRAP. Fortalecendo a hipótese de que os aldeídos fenólicos presentes em maior quantidade nos extratos do EBc possuem atividade antioxidante.

Os resultados evidenciam que a atividade antioxidante da *T. riparia* varia significativamente de acordo com o método empregado, o que está de acordo com o princípio de que não existe um ensaio universal capaz de refletir o potencial antioxidante total de um extrato vegetal (Huang; Ou; Prior, 2005).

O ensaio DPPH mostrou diferenças entre as amostras, com EBc apresentando a maior atividade ( $0,54 \pm 0,02$ ), seguida por EBbf ( $1,04 \pm 0,14$ ) e EBf ( $3,83 \pm 1,76$ ). Neste teste, quanto menor o resultado, maior é a capacidade redutora da amostra, logo, EBc aparenta ter maior afinidade por esse radical lipofílico. Apesar do resultado obtido, as amostras ainda estão distantes do controle positivo (quercetina  $0,01 \pm 0,01$ ), sugerindo a presença de compostos doadores de elétrons com concentração relativa ou menos eficientes.

A natureza seletiva do método DPPH favorece compostos aromáticos com alta conjugação (Brand-Williams *et al.*, 1995). A diferença entre as amostras pode ocorrer devido a diferença dos compostos e sua quantidade, se tratando de compostos fenólicos e terpenoides, tais constituintes conhecidos da espécie (Fernandez *et al.*, 2017; Scanavacca *et al.*, 2022; Sena *et al.*, 2024).

A interpretação do método de FRAP é invertida, o maior resultado equivale a maior capacidade redutora da amostra. O EBc teve o maior resultado ( $0,84 \pm 0,04$ ) enquanto EBf exibiu o menor ( $0,46 \pm 0,01$ ), e EBbf teve valor ( $0,50 \pm 0,01$ ) sem diferença estatística de EBf. Ainda assim, todos os valores são inferiores ao controle positivo do Trolox ( $9,17 \pm 0,01$ ), reforçando Huang; Ou; Prior (2005), que aponta que o método FRAP subestima antioxidantes que não atuam exclusivamente por redução do ferro.

A amplitude dos valores entre o desempenho do EBc em FRAP e seu valor em DPPH indica presença de moléculas com capacidade redox com baixa interação com radicais estáveis, sugerindo compostos hidrossolúveis ou quelantes metálicos (Huang; Ou; Prior, 2005).

No teste ABTS, EBc novamente apresenta maior atividade ( $1,32\pm 0,09$ ), seguido por EBbf ( $1,37\pm 0,07$ ) e Ebf ( $3,74\pm 0,41$ ). A diferença entre EBc e EBbf foi menor que nos outros métodos, evidenciando a maior amplitude química do ABTS, permitindo detectar tanto em fase aquosa quanto lipofílica (Re *et al.*, 1999).

Da mesma forma aos demais ensaios, nenhuma amostra atingiu proximidade do controle positivo Trolox ( $0,25\pm 0,01$ ), mas é possível observar um padrão onde EBc > EBbf > Ebf indicando maior atividade antioxidante dos compostos ou concentração dos mesmos.

Dessa forma, a análise dos três métodos, não fornece um resultado absoluto, mas apresentam um padrão consistente de desempenhos entre as amostras analisadas, fortalecendo a verossimilidade dos resultados. A superioridade consistente de EBc indica uma composição química rica em substâncias antioxidantes, ainda que não claramente indicada pela composição química (**Tabela 3**).

As diferenças entre os resultados entre os métodos reforçam o posicionamento de Huang, Ou e Prior (2005), na qual os ensaios de transferência de elétrons (DPPH, ABTS e FRAP) respondem de maneira distinta a classes específicas de moléculas, portanto, análises isoladas podem resultar em conclusões equivocadas.

Esse padrão é observado no estudo de Sena *et al.* (2024), que realizou os testes de DPPH e FRAP, com amostras dos mesmos órgãos da planta. Assim como nesse estudo, a ordem dos extratos que mais se aproximam do padrão do DPPH é caule ( $0,51\pm 0,03$ ), seguido por botão floral ( $0,91\pm 0,05$ ) e folha ( $1,91\pm 0,01$ ). Quanto ao teste do método FRAP, a ordem de proximidade do padrão alterou para botão floral ( $0,81\pm 0,01$ ), caule ( $0,50\pm 0,01$ ) e folha ( $0,35\pm 0,03$ ).

Os resultados do ensaio BCAL indicaram maior atividade antioxidante nas amostras de Ebf (71,63%), EBc (67,01%) e OEc (67,40%), EBbf (63,93%), OEf (56,62%) e por fim OEbf (50,85%). A análise estatística indica que apesar de não serem as amostras mais reativas, as amostras do EBbf e OEc foram as mais estáveis entre as concentrações, apresentando diferença significativa apenas na amostra de 0,25 mg/mL. Seguintes a estas amostras, o Ebf, OEf e OEbf também apresentaram pouca queda

significativa entre as concentrações, e conseqüentemente, apontando o EBc como a amostra menos estável (**Tabela 6**).

Fernandez *et al.* (2017) investigou a atividade antioxidante do extrato bruto de *T. riparia* e frações pelo método BCAL, observando os seguintes resultados, extrato bruto (51,52%), frações I (80,15%), II (39,57%), III (15,76%) e IV (55,61%) sendo a fração I composta por abieta-7,9(11)-dien-13- $\beta$ -ol e a fração IV por astragalina, boronolide e luteolina. Gazim *et al.* (2014) observou a atividade antioxidante pelos métodos BCAL, o óleo essencial da folha de *T. riparia* obteve IC<sub>50</sub> de 130  $\mu\text{g mL}^{-1}$  enquanto o composto isolado 6,7- deidrooileanona apresentou IC<sub>50</sub> 109,6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Sena *et al.* (2024) testou os óleos e extratos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia* frente a sua atividade antioxidante, e os resultados para o ensaio do BCAL indicaram que as amostras com concentração de 1  $\text{mg mL}^{-1}$  apresentaram valores acima de 65%, sendo estas o EBf (102,25%), OEbf (80,28%), OEf (78,99%), OEc (76,13%), EBbf (69,46%) e EBc (65,94%). Os autores associaram a atividade do EBf à presença do tanino procianidina, que haviam sido identificadas exclusivamente neste extrato. Porém outros compostos também identificados exclusivamente nas folhas foram o aldeído de betulino e ácido protocatecuico, o qual, no presente estudo, foi quantificado nas amostras e observado concentração >200  $\mu\text{g/g}$  nas amostras de EBf e EBc (**Tabela 3**).

Isso sugere que a presença destes compostos pode influenciar positivamente a oxidação do radical  $\beta$ -caroteno. Apesar de apenas a luteolina ter sido identificada na composição química deste estudo, sabe-se que os demais compostos são encontrados na espécie *T. riparia*. Por outro lado, pode haver ainda outros compostos que sejam capazes de desempenhar atividade antioxidante no método e que ainda não foram testados isoladamente.

O fator de proteção solar está intimamente relacionado à composição química da amostra, devido à presença de compostos fenólicos que possuem anel aromático. Anteriormente, investigaram o fator de proteção solar dos flavonoides isolados, e apontou-se que o kaempferol apresenta FPS de 24,9 e o ácido cafeico com FPS de 28,0 (Stevanato; Bertelle; Fabris, 2014). Mesmo as amostras do extrato bruto das folhas e botões florais não apresentarem os melhores resultados nos testes antioxidantes, no fator de proteção solar elas atingiram resultados importantes. A amostra que proporcionou melhor proteção solar foi o extrato bruto dos botões florais (36,31 $\pm$ 0,35), seguido pela folha (27,46 $\pm$ 0,13) seguido do caule (12,18 $\pm$ 0,19). Ao analisar a composição química, existem 3 compostos que se destacaram no EBbf, EBf e EBc, sendo luteolina, (>200;

149,29±0,09; 88,24±0,92) e kaempferol (>200; 156,98±1,60; 65,86±2,20) e por fim o ácido cafeico (>200), respectivamente. Anbualakan *et al.* (2022) indica que os flavonoides oferecem fator de proteção solar por diversos mecanismos, incluindo vias inflamatórias. Esse resultado sugere que estes compostos podem ter relação direta com o fator de proteção solar, visto que, Stevanato; Bertelle e Fabris (2014) testaram 15 compostos isolados de três classes (estilbenos, flavonoides, ácido hidroxidocinamico), dentre eles 7 apresentaram um FPS acima de 15, dentre estes ácido cafeico (28,0), kaempferol (24,9). Isto é, portanto, uma forte evidência de que os compostos fenólicos possuem fator de proteção solar.

Apesar dos resultados promissores no extrato bruto, os óleos tendem a não apresentar FPS considerável como apresentado por Couteau; Papis; Coiffard (2022), que investigaram 15 óleos anunciados como fotoprotetores, porém que nos testes *in vitro* apresentaram FPS em torno de 1. Os autores ainda indicam que óleos não são bons candidatos a apresentarem um FPS que atenda sua legislação (europeia), também se aplicando a brasileira que classifica como baixa proteção o FPS entre 6,0 e 14,9.

De acordo com a BRASIL (2022), um fator de proteção solar entre 15,0 e 29,9 oferece média proteção, e 30,0 a 50,0 oferece alta proteção. A UCI Health (2022) aponta que um FPS 15 é capaz de inibir 93% da radiação ultravioleta, enquanto o FPS 30 protege contra 97%, e FPS 50 contra 98%, sendo uma diferença muito pequena entre o FPS 30 e 50. Desta maneira, podemos considerar que os extratos das folhas e caule se enquadram em protetores médios, enquanto os botões florais são protetores altos de acordo com a ANVISA, e conforme a UCI Health o extrato dos botões florais protege cerca de 97% da radiação ultravioleta.

A **Figura 5** nos mostra a proporção de radiação protegida pelo extrato, sendo (A) folhas, (B) botões florais e (C) caule. Pode-se observar que a amostra a 1% em (A) teve absorvância inicial de  $\approx 7,000$ , enquanto o mesmo ponto em (B) apresentou absorvância de  $\approx 3,500$ . Apesar disso, a amostra (B) possui um FPS maior que a amostra (A), isso pode ocorrer devido à distribuição UVA/UVB, como observado no gráfico, em (B) os pontos de leitura da absorvância se mantêm mais próximos, enquanto em (A) há uma queda clara, como observado na **Tabela 8** em que as amostras (A) e (C) apresentaram uma proporção média de 1,34, enquanto (B) apresentou proporção média de 1,48.

Desta forma, dos três extratos analisados, o EBbf obteve maior fator de proteção solar bem como maior proporção UVA/UVB, sugerindo o desenvolvimento de uma formulação com FPS a partir do EBbf.

## 5. CONCLUSÕES

A presença de ácidos fenólicos, ácidos orgânicos e flavonoides em altas concentrações nos extratos brutos das folhas, botões florais e caule de *T. riparia* amplia o conhecimento sobre a composição química uma compreensão maior da composição química dos metabólitos secundários da espécie. Compostos abundantes no extrato (>100 µg/g) como kaempferol, luteolina e os ácidos fumárico, cafeico, protocatecuico, vanílico, nicotínico, málico, p-cumárico e p-hidroxibenzoico explicam a atividade antioxidante e fotoprotetora. O extrato do caule apresentou atividade antioxidante pelos métodos DPPH, FRAP e ABTS. O extrato do botão floral e folhas apresentaram maior teor de fenóis totais e flavonoides totais, contribuindo para maior fotoproteção com FPS= 36,31±0,35 e 27,46±0,13 para EBbf e Ebf, respectivamente e razão UVA/UVB equilibrada (1,30-1,49). Quanto aos resultados do BCAL, as amostras Ebf (71,63%), EBc (67,01%), OEc (67,40%) e EBbf (63,93%) apresentaram resultados superiores na concentração de 1 mg/mL comparado as outras amostras com estabilidade entre as concentrações. Os resultados encontrados sugerem o desenvolvimento de produtos antioxidantes e fotoprotetores a partir do extrato bruto dos botões florais e folhas. A composição química do óleo essencial das folhas, botões florais e caule indicou α-cadinol, 14-hidroxi- 9- epicariofileno, 9β, 13β- epóxi- 7-abietadieno e 6,7- deidrooileanona como compostos majoritários das amostras respectivamente, destacando os compostos α-muuroleno (8,32%), (-) -spathulenol (7,41%) e ledeno óxido-(II) (5,16%) presentes no óleo essencial do caule. O óleo essencial não apresentou fator de proteção solar expressivo, podendo apresentar seu mecanismo fotoprotetor por outras vias como antioxidante e antiinflamatório. Dessa forma este estudo permitiu uma compreensão mais profunda da composição química da espécie *T. riparia*, e que os extratos brutos apresentaram fator de proteção solar adequado, e atividade antioxidante pelos ensaios de DPPH, FRAP, ABTS e BCAL.

## 6. AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Universidade Paranaense - UNIPAR, Centro Universitário de Maringá - UNICESumar, ao Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária por fomentar o desenvolvimento científico.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. *et al.* Evaluation of the wound healing, anti-inflammatory, and antimicrobial activity of isovanillin by using an animal model. **Research Square**, 2022.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 ed. online. Gruver, TX USA: **Texensis Publishing**, 2017.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H., Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, 2013.

ANBUALAKAN *et al.* A scoping review on the effects of carotenoids and flavonoids on skin damage due to ultraviolet radiation. **Nutrients**, v. 15, n. 92, 2022.

BALDIN, V. P. *et al.* Anti-Mycobacterium tuberculosis activity of essential oil and 6, 7-dehydroroyleanone isolated from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae). **Phytomedicine**, v. 47, p. 34-39, 2018.

BOOTS THE CHEMIST. Measurement of UVA: UVB Ratio according to the Boots star rating system (2008 Revision). The Boots Co: Nottingham, UK, 2008.

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

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 629, de 10 de março de 2022. Dispõe sobre protetores solares e produtos multifuncionais em cosméticos e internaliza a Resolução GMC MERCOSUL nº 08/2011. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 16 mar. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-629-de-10-de-marco-de-2022-388083342>. Acesso em: 19 nov. 2025.

CAVINATO, M. *et al.* Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. **Biogerontology**, v. 18, n. 4, p. 499-516, 2017.

COUTEAU, C. A. C.; PAPARIS, E.; COIFFARD, L. J. M. An in vitro study of fixed and essential oils claimed to have photoprotective properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 426, p. 113743, 2022.

DEMARCHI, I. G. *et al.* Immunomodulatory activity of essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd in murine macrophages. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 30, n. 6, p. 428-438, 2015. doi: 10.1002/ffj.3284

FERARRESE, L. *et al.* POTENTIAL OF *Tetradenia riparia* LEAF ESSENTIAL OIL AND ITS FRACTIONS IN CONTROLLING *Aedes aegypti* AND *Rhipicephalus microplus* LARVAE. **Bioscience Journal**, v. 39, 2023.

FERNANDEZ, A. C. A. M. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of the extract and fractions of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) leaves from Brazil. **Current Microbiology**, v. 74, p. 1453-1460, 2017. doi: 10.1007/s00284-017-1340-9

- FUENTES, J. L. *et al.* Flower extracts from ornamental plants as sources of sunscreen ingredients: Determination by *in vitro* methods of photoprotective efficacy, antigenotoxicity and safety. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5525, 2022.
- GAZIM, Z. C. *et al.* Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. **Molecules**, v. 15, n. 8, p. 5509-5524, 2010.
- GAZIM, Z. C. *et al.* New natural diterpene-type abietane from *Tetradenia riparia* essential oil with cytotoxic and antioxidant activities. **Molecules**, v. 19, n. 1, p. 514-524, 2014. doi: 10.3390/molecules19010514
- GHUMAN, S. *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory and wound healing properties of medicinal plant extracts used to treat wounds and dermatological disorders. **South African Journal of Botany**, v. 126, p. 232-240, 2019. doi: 10.1016/j.sajb.2019.07.013
- HE, H. *et al.* Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF). **Biomedicine & Pharmacotherapy= Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 134, p. 111161-111161, 2020.
- HILLIS, W. E.; SWAIN, T. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. II.—The analysis of tissues of the *Victoria plum* tree. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 2, p. 135-144, 1959. doi: 10.1002/jsfa.2740100211
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.
- KARAMAĆ, M. *et al.* The structure–antioxidant activity relationship of ferulates. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 527, 2017.
- LI, X. *et al.* Antioxidant activity and mechanism of protocatechuic acid *in vitro*. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 1, n. 7, p. 232-244, 2011.
- MANSUR, J. S. *et al.* Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. v. 61, e. 3, p. 121-4, 1986.
- MATTOS, L. M., MORETTI, C. L., MUNIZ, L. B., SILVA, R. Y, Y., 2009. Protocolo de análise para determinação da atividade antioxidante total em hortaliças no Sistema Beta-Caroteno/Ácido Linoléico. **Brasília: EMBRAPA**, 4 p.
- MILUTINOV, J. *et al.* The potential of natural compounds in UV protection products. **Molecules**, v. 29, n. 22, p. 5409, 2024.
- MOUFFOUK, C. *et al.* *In vitro* photoprotective, hemostatic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the species *Linaria scariosa* Desf. **South African Journal of Botany**, v. 130, p. 383-388, 2020.
- NUNES, A. R. *et al.* Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 189, p. 119-123, 2018.

- OLIVEIRA, C. T. *et al.* Chemical characterization, antioxidant capacity and antimicrobial potential of essential oil from the leaves of *Baccharis oreophila* Malme. **Chemistry & Biodiversity**, v. 16, n. 2, p. e1800372, 2019.
- OLIVEIRA, M. B. S. *et al.* Photoprotective and antiglycation activities of non-toxic *Cocos nucifera* Linn.(Arecaceae) husk fiber ethanol extract and its phenol chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 162, p. 113246, 2021.
- PERES, D. D.'A. *et al.* Ferulic acid photoprotective properties in association with UV filters: Multifunctional sunscreen with improved SPF and UVA-PF. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 185, p. 46-49, 2018.
- RAJESWARI, N. R; RAMALAKSHMI, S.; MUTHUCHELIAN, K. GC-MS analysis of bioactive components from the ethanolic leaf extract of *Canthium dicoccum* (Gaertn.) Teijsm & Binn. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.3, n.3, p.792-798, 2011.
- RANA, Md S. *et al.* Antioxidant activity of Schiff base ligands using the DPPH scavenging assay: an updated review. **RSC advances**, v. 14, n. 45, p. 33094-33123, 2024.
- RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- RESENDE, D. I. S. P. *et al.* Up-to-date overview of the use of natural ingredients in sunscreens. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 3, p. 372, 2022.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**. n. 125, p. 1-4, 2006.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**. n. 127, p. 1-4, 2007a.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>o+</sup>. **Comunicado Técnico Embrapa**. n. 128, p. 1-4, 2007b
- SCANAVACCA, J. *et al.* Chemical analysis, antifungal and antimycotoxigenic activity of *Tetradenia riparia* essential oil and crude extract. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 39, n. 7, p. 1296-1310, 2022.
- SENA, J. S. *et al.* Antioxidant Activity, Antiproliferative Activity, Antiviral Activity, NO Production Inhibition, and Chemical Composition of Essential Oils and Crude Extracts of Leaves, Flower Buds, and Stems of *Tetradenia riparia*. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 7, p. 888, 2024. doi: 10.3390/ph17070888
- STEVANATO, R.; BERTELLE, M.; FABRIS, S. Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 69, n. 1, p. 71-77, 2014.

UCI Health. The ABCs of sunscreen. 20 maio 2022. Disponível em: <https://www.ucihealth.org/blog/2022/05/the-abcs-of-sunscreen-spf>. Acesso em: 19 nov. 2025.

WANG, Steven Q.; STANFIELD, Joseph W.; OSTERWALDER, Uli. *In vitro* assessments of UVA protection by popular sunscreens available in the United States. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 59, n. 6, p. 934-942, 2008.

WU *et al.* Light Color Dihydroxybenzophenone Grafted Lignin with High UVA/UVB Absorbance Ratio for Efficient and Safe Natural Sunscreen. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v. 59, e. 39, p. 17057-17068, 2020. doi: 10.1021/acs.iecr.9b06970

Yu L. C. W, *et al.* Antioxidant Activity and Volatile Oil Analysis of Ethanol Extract of *Phoebe zhennan* S. Lee *et F. N. Wei* Leaves. **Forests**, v.15, e.2, p.236. 2024 <https://doi.org/10.3390/f15020236>

ZARDETO-SABEC, G. *et al.* *Tetradenia riparia* ('Lamiaceae') essential oil: An alternative to *Rhipicephalus sanguineus*'. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 10, p. 1608-1615, 2020. doi: 10.21475/ajcs.20.14.10.p2389

ZHANG, J. *et al.* Enhancement of polyphenols and antioxidant activity in germinated black highland barley by ultrasonication. **Molecules**, v. 28, n. 9, p. 3679, 2023.