



**Universidade do Estado do Pará
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Centro de Ciências Naturais e Tecnologia
Pós-Graduação em Tecnologia, Recursos Naturais e
Sustentabilidade na Amazônia
PPGTEC – Mestrado**

Tatiana Fabíola da Silva Lima

**Avaliação do potencial clareador do extrato
hidroalcólico da casca de *Calycophyllum
Spruceanum* (Benth.) K. Schum em manchas
hiperpigmentadas**

Belém- PA
2023

Tatiana Fabíola da Silva Lima

Avaliação do potencial clareador do extrato hidroalcólico da casca de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth.) K. Schum em manchas hiperpigmentadas

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de mestre em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia do Centro de Ciências Naturais e Tecnologia da Universidade do Estado do Pará.
Orientador: Prof. Dr. Seidel Ferreira dos Santos
Coorientador: Prof. Dr. Alberdan Silva Santos.

Belém-PA
2023

Tatiana Fabíola da Silva Lima

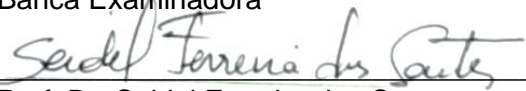
Avaliação do potencial clareador do extrato hidroalcolólico da casca de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth.) K. Schum em manchas hiperpigmentadas

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de mestre em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia do Centro de Ciências Naturais e Tecnologia da Universidade do Estado do Pará.

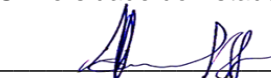
Orientador: Prof. Dr. Seidel Ferreira dos Santos
Coorientador: Prof. Dr. Alberdan Silva Santos.

Data da aprovação:

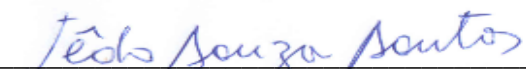
Banca Examinadora



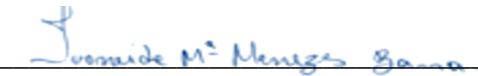
Prof. Dr. Seidel Ferreira dos Santos – Orientador
Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia (UFPA)
Universidade do Estado do Pará



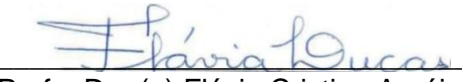
Prof. Dr. Alberdan Silva Santos – Coorientador
Doutor em Bioquímica (UFRJ)
Universidade Federal do Pará



Prof. Dr. Iedo Sousa Santos – 1º Examinador
Doutor em Engenharia de Produção (UFSCar)
Universidade do Estado do Pará



Profa. Dra. Ivoneide Maria Menezes Barra – 2º Examinadora
Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia (UFPA)
Universidade Federal do Pará



Profa. Dra.(a) Flávia Cristina Araújo Lucas – 3º Examinadora
Doutora em Ciências Biológicas (Botânica - INPA)
Universidade do Estado do Pará

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP),
Biblioteca do Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, UEPA, Belém - PA.

L732a Lima, Tatiana Fabíola da Silva

Avaliação do potencial clareador do extrato hidroalcoólico da casca de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth.) K. Schum em manchas hiperpigmentadas. / Tatiana Fabíola da Silva Lima; Orientador Seidel Ferreira dos Santos; Coorientador Alberdan Silva Santos. -- Belém, 2023.
59 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia) - Universidade do Estado do Pará, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, Belém, 2023.

1. Plantas medicinais. 2. Matéria médica vegetal. 3. Etnobotânica. 4. Pele. 5. Sustentabilidade. I. Santos, Seidel Ferreira dos. II. Santos, Alberdan Silva. III. Título.

CDD 581.634

DEDICATÓRIA

aos meus avós Antônia Borges e Cícero Raimundo, aos meus tios Edivaldo Borges e Selma Borges e a minha mãe Telma Borges, os cinco pilares desta conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Deus da minha vida, que me confortou nos momentos mais difíceis e que me deu a honra desta conquista.

Agradeço a minha família, razão do meu viver, motivo pelo qual luto todos os dias para tentar ser um ser humano melhor.

Agradeço meu orientador Dr. Seidel Ferreira Santos e meu coorientador Dr. Alberdan Silva Santos, pelos seus ensinamentos, pela confiança, disponibilidade e pela contribuição técnica, sem eles esta pesquisa não seria possível.

Agradeço a Dra. Ivoneide Maria Menezes Barra, pelos seus ensinamentos, paciência e disponibilidade.

Agradeço ao Dr. Iedo Sousa Santos, pela oportunidade do estágio docência, pelos ensinamentos, pela paciência e os bons conselhos.

Agradeço a uma grande amiga, Enf^a Susiane Martins, pelos abraços, os conselhos, os ouvidos atentos e a sua imensa generosidade.

Agradeço aos amigos que fiz neste programa, por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis e por acreditarem em justiça; Em especial, aos amigos José Cícero, Alana Silva, Eli Franco, Thiago Martins, Danilo Melo, Ana Luiza Costa, Nathalia de Almeida e Antônio Bentes.

Agradeço a Fundação Amazônia de Amparo a Estudos Pesquisas pelo consentimento da bolsa (Termo de Cooperação Técnica e Financeira Nº 008/2020).

Agradeço a Universidade do Estado do Pará pela oportunidade de cursar a pós-graduação.

Agradeço a Universidade Federal por fornecer os insumos necessários ao desenvolvimento da pesquisa.

EPÍGRAFE

“A mente que se abre para uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

RESUMO

O estudo trata da *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum, conhecida como pau-mulato, espécie da família Rubiaceae. Essa família é extensa, abrange milhares de espécies e gêneros no mundo, com cerca de 130 gêneros e 1.500 espécies apenas no Brasil, sendo 258 na Amazônia, 174 delas exclusivas da região. Os compostos ativos dessa família incluem iridóides, alcalóides e antraquinonas. A árvore é prevalente na região amazônica, especialmente em áreas de várzea, pastagens e degradação ambiental. Sua dispersão ocorre ao longo do rio Amazonas, com plântulas fixando-se em solos argilosos e inundáveis. Na literatura científica, há menções das propriedades medicinais da planta, como ação anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana, porém, há poucos estudos sobre seus aspectos farmacêuticos. A casca do caule é amplamente utilizada na forma de chás ou infusões tópicas para tratar inflamações, infecções cutâneas e hiperpigmentação, uma condição comum causada pela produção excessiva de melanina, levando a problemas estéticos. Devido à procura por seus produtos, há preocupações com a exploração predatória da árvore. Um estudo realizado na Universidade Federal do Pará buscou avaliar o potencial clareador da casca de *C. spruceanum* em manchas hiperpigmentadas. Foram realizados testes para identificar compostos presentes na planta, como taninos condensados e hidrolisáveis, açúcares redutores e perfil químico por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. Os resultados indicaram a presença de compostos como ácidos graxos, derivados terpênicos e fenólicos, sugerindo ações antioxidantes e clareadoras. O ácido palmítico presente tem potencial inibidor de acilcarnitina, sendo antioxidante e neuroprotetor. Outros compostos como o fitol mostraram ação de inibir o retinol, usado na renovação celular, e os fenóis se destacaram pela inibição da tirosinase, enzima chave na produção de melanina. Em conclusão, a pesquisa aponta que a *C. spruceanum* tem potencial clareador para manchas hiperpigmentadas, mostrando uma variedade de compostos com propriedades que podem influenciar na regulação da pigmentação da pele.

Palavras-chave: *Calycophyllum spruceanum*; Etnofarmacologia; Manchas; Hiperpigmentação; Pele

ABSTRACT

The study focuses on *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum, known as "pau-mulato," a species belonging to the Rubiaceae family. This family is vast, encompassing thousands of species and genera worldwide, with around 130 genera and 1,500 species just in Brazil, 258 of which are found in the Amazon, including 174 exclusive to the region. Active compounds within this family include iridoids, alkaloids, and anthraquinones. The tree is prevalent in the Amazon region, particularly in floodplain areas, pastures, and areas affected by environmental degradation. Its dispersal occurs along the Amazon River, with seedlings taking root in clayey and flood-prone soils. Scientific literature mentions the plant's medicinal properties, such as anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial actions, yet there are limited studies on its pharmaceutical aspects. The bark of the stem is widely used in the form of teas or topical infusions to treat inflammations, skin infections, and hyperpigmentation—a common condition caused by excessive melanin production, leading to aesthetic problems. Due to the demand for its products, concerns arise regarding the tree's predatory exploitation. A study conducted at the Federal University of Pará aimed to assess the skin lightening potential of *C. spruceanum* bark on hyperpigmented spots. Tests were conducted to identify compounds present in the plant, such as condensed and hydrolysable tannins, reducing sugars, and chemical profiling via gas chromatography coupled with mass spectrometry. The results indicated the presence of compounds like fatty acids, terpenic derivatives, and phenolics, suggesting antioxidant and lightening actions. The presence of palmitic acid showed potential as an acylcarnitine inhibitor, acting as an antioxidant and neuroprotective agent. Other compounds like phytol exhibited inhibition of retinol, used in cell renewal, while phenols stood out for their inhibition of tyrosinase, an enzyme pivotal in melanin production. In conclusion, the research suggests that *C. spruceanum* holds skin-lightening potential for hyperpigmented spots, showcasing a variety of compounds with properties that could influence skin pigmentation regulation.

Keywords: *Calycophyllum spruceanum*; Ethnopharmacology; Spots; Hyperchromia; Skin.

LISTA DE TABELAS

Artigo 2

Tabela 1 Identificação dos constituintes presentes na fração lipídica da casca do caule de <i>Calycophyllum Spruceanum</i> após derivatização	49
Tabela 2. Distribuição e classificação dos compostos identificados por CG-MS.....	50
Tabela 3: análise teórica das propriedades físico-químicas do Ácido palmítico, Fitol e Sitosterol.	50
Tabela 4. Predições das atividades biológicas.....	51

LISTA DE FIGURAS

Artigo 2

- Figura 1. A - Amostra da casca do caule triturada. B – Filtragem do extrato após banho ultrassom. C – Secagem do extrato hidroalcolico por rotaevaporação 45
- Figura 2. Extrato solubilizado em solução metanol e clorofórmio. B – Extrato solubilizado em solução metanol e clorofórmio após centrifugação, expressando a separação em 3 fases: aquosa, proteica e lipídica..... 45
- Figura 3. A – Extrato hidroalcolico bruto e amostra de controle (água); B – Extrato e amostra de controle com adição do cloreto férrico em ambas, apresentando mudança de coloração característica do teste. 47
- Figura 4. Resultado do ensaio para açúcares redutores, realizado com a amostra seca da fase aquosa e com amostras de controle (sacarose e água) 48
- Figura 5. Perfil cromatográfico em CG/EM apresentando a fração lipídica da casca do caule de *Calycophyllum spruceanum*..... 48
- Figura 6. Ácido palmítico 51
- Figura 7. Fitol 51
- Figura 8. Sitosterol 51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	14
ARTIGO 1	15
Propriedades e atividades dos compostos fenólicos derivados de plantas sobre a pele	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
3.1 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA	22
3.2 Atividades e propriedades biológicas dos compostos fenólicos	31
3.2.1 Efeito antioxidante	31
3.2.2 Efeito cicatrizante	33
3.2.3 Efeito fotoprotetor e antienvelhecimento	34
3.2.4 Outros efeitos	35
3.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS COMPOSTOS DE MAIOR OCORRÊNCIA NO ESTUDO	37
3.2.1 Quercetina	37
3.2.2 Kaempferol	37
3.2.3 Epicatequina	37
4 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	38
ARTIGO 2	42
Avaliação do potencial clareador da casca do caule de <i>Callycophyllum Spruceanum</i> (Benth.). K. Schum sobre manchas hiperpigmentadas	43
1 INTRODUÇÃO	43
2 MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1 Obtenção do material vegetal, preparação e obtenção dos extratos	44
2.2 Teste para taninos condensados e hidrolisáveis	45
2.3 MPLEx (Metabolite, Protein and Lipid extraction)	45

2.4 Testes para açúcares redutores.....	46
2.5 Obtenção do perfil químico, transesterificação e Derivatização do extrato hidroalcolico de <i>Calycophyllum Spruceanum</i>	46
2.6 Análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CC-GM)	46
2.7 Estudos <i>in silico</i>	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47
3.1 Teor de rendimento	47
3.1.1 Teste para taninos condensados e hidrolisáveis.....	47
3.1.2 Teste para açúcares redutores.....	48
3.1.3 Perfil químico da fração lipídica da casca do caule de <i>Calycophyllum Spruceanum</i> por CG-MS	48
3.1.4 Estudos <i>in silico</i>	50
4 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53
CONCLUSÕES GERAIS	56

1 INTRODUÇÃO GERAL

Calycophyllum spruceanum (Benth.) K. Schum é uma espécie arbórea, pertencente à família Rubiaceae, também é conhecida como pau-mulato, mulateiro, escorrega-macaco e pau-marfim. Tem ocorrência em toda região amazônica que compreende Brasil, Colômbia, Bolívia, Peru e Equador (SANTOS; OLIVEIRA; CARVALHO, 2016). Sua notabilidade é decorrente das diversas formas de utilização de seu lenho que, por se tratar de uma madeira de elevada densidade, torna-se muito utilizada na fabricação de cabos de ferramentas, compensados e pisos (UGARTE-GUERRA; DOMINGUEZ-TORREJON, 2010). Também possui potencial ornamental, em sistemas agroflorestais e de recuperação de áreas ciliares degradadas (SALDANHA et al., 2021). Apresenta forte ligação cultural com os povos amazônicos, principalmente nos aspectos medicinais, uma vez que existem registros de seu uso para diversas doenças dermatológicas e uso cosmético (ZULETA et al., 2003).

Na literatura científica, apresenta registros de suas propriedades medicinais, como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiparasitária, antimanchas entre outras, porém é evidente a insuficiência de estudos que abordam os aspectos fármaco-químicos da espécie. Ainda há lacunas referentes a comprovação destas atividades apontadas pelo conhecimento tradicional, justificando a necessidade da investigação científica sobre o seu uso (PERIN et al., 2020).

Embora a espécie não esteja incluída na lista de espécies em extinção o extrativismo predatório, corte e queimas não devem ser descartados, uma vez que as indústrias madeireira e cosmética possuem interesses em suas propriedades. A casca proveniente do seu caule tem grande capacidade de regeneração, que ocorre anualmente, diante disto pode-se inferir que há possibilidade de uma exploração sustentável, a partir de estudos que apontem a melhor forma de aproveitamento de sua matéria-prima, visto a importância econômica da espécie (ARAÚJO et al., 2016; PEIXOTO et al., 2018).

O presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial clareador da casca do caule de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum, em manchas hiperpigmentadas, com vistas à identificação de metabólitos secundários que apresentem potencial fitoterapêutico, a partir da execução de análises e testes com tecnologias avançadas de metabolômica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial clareador da casca do caule de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum, sobre manchas hiperpigmentadas a partir da identificação de moléculas majoritárias provenientes do metabolismo secundário, que apresentem atividades medicinais.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Obter o extrato hidroalcoólico da casca do caule de *C. spruceanum* e suas frações
- Traçar o perfil químico através da identificação dos metabólitos secundários majoritários da fração lipídica
- Realizar a predição de alvos moleculares e atividades biológicas das moléculas majoritárias



DOI: XXX | | TEMPLATE Nº **CLM23DEZ**

ARTIGO 1

Propriedades e atividades dos compostos fenólicos derivados de plantas sobre a pele.

*Artigo submetido a revista *Concilium*

DOI: XXX | | TEMPLATE Nº **CLM23DEZ**

Propriedades e atividades dos compostos fenólicos derivados de plantas sobre a pele

Properties and activities of phenolic compounds derived from plant on the skin

Received: 2023-00-00 | Accepted: 2023-00-00 | Published: 2023-00-00

Tatiana Fabíola da Silva LimaORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5966-9727>

Universidade do Estado do Pará, Brasil

E-mail: tatiana.fdslima@aluno.uepa.br**Seidel Ferreira dos Santos**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6049-1188>

Universidade do Estado do Pará, Brasil

E-mail: seidelsantos@uepa.br**Alberdan Silva Santos**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1863-176X>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: alberdan.ufpa@gmail.com

ABSTRACT

The secondary metabolites produced by plants are primarily responsible for their medicinal activities. Among this group are phenolic compounds, which possess various dermatological properties. Therefore, this study aims to conduct a literature review on the biological potential of plant-derived phenolic compounds on human skin. Searches were performed in the PUBMED, Springer, and SCOPUS databases, selecting articles published in the last five years. Twelve scientific articles were chosen. It was observed that phenolics have healing, antioxidant, melanin synthesis, leishmanicidal, and photoprotective properties. Most articles aimed to analyze phytochemical composition, quantify compounds, conduct free radical detection assays, and perform *in vivo* or *in vitro* tests. By analyzing the prioritized and most common phenolics, as well as their medicinal properties, this study indicates pathways that may assist research in developing topical phytopharmaceuticals with fewer side effects than conventional topical formulations.

Keywords: Secondary metabolism; Phenolic compounds; Skin.

RESUMO

Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas são principais responsáveis pelas suas atividades medicinais. Dentro deste grupo, estão os compostos fenólicos, que possuem diversas propriedades dermatológicas. A partir do exposto, este estudo tem como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre qual o potencial biológico dos compostos fenólicos provenientes de plantas sobre a pele humana. As buscas foram realizadas nas bases de dados PUBMED, Springer e SCOPUS, sendo selecionados artigos publicados nos últimos cinco anos. Foram selecionados 12 artigos científicos. Observou-se que os fenólicos possuem propriedades cicatrizantes, antioxidantes, de síntese de melanina, atividade leishmanicida e fotoprotetora, e a maioria dos artigos tinham como objetivo analisar a composição

DOI: XXX | | TEMPLATE Nº **CLM23DEZ**

fitoquímica, quantificar os compostos, realizar ensaios de detecção de radicais livres e testes *in vivo* ou *in vitro*. Ao analisar os fenólicos prioritários e de maior ocorrência, bem como as suas propriedades medicinais, este estudo aponta caminhos que podem auxiliar nas pesquisas para o desenvolvimento de fitofármacos tópicos de menos efeitos colaterais que as formulações tópicas convencionais.

Palavras-chave: Metabolismo secundário; Compostos fenólicos; Pele

1 INTRODUÇÃO

A pele desempenha um papel essencial à vida, atuando como ferramenta de barreira física, química, antimicrobiana e de proteção a outros estímulos nocivos. Danos a sua integridade como exposição solar, ferimentos, queimaduras, infecções, inflamações, a própria pré-disposição genética e outras patologias comprometem o funcionamento do órgão, tornando-o mais vulnerável (LIN; ZHONG; SANTIAGO, 2017; NGUYEN; SOULIKA, 2019). De acordo com vários levantamentos etnofarmacológicos, os distúrbios dermatológicos são uma das principais procuras por tratamento pelas práticas tradicionais. Vários extratos de plantas são conhecidos como uma fonte promissora para o cuidado da pele em diferentes (PIAZZA et al., 2020).

As plantas são uma rica fonte de compostos químicos estruturalmente diversos, e atualmente esses compostos são de grande interesse para as mais distintas áreas da ciência. Vários benefícios terapêuticos têm sido atribuídos à materiais de origem natural, que são baseados no metabolismo secundário das plantas, o qual têm sido aplicados no tratamento de muitas patologias. Há um grande quantitativo de espécies eficazes no tratamento de problemas dermatológicos e a indústria cosmética atentou-se para a grande demanda por este tipo de produto, voltando a considerar a importância de retornar suas fórmulas à base de plantas (MEREZ-SADOWSKA et al., 2021).

Dentro deste grande grupo de metabólitos estão os compostos fenólicos, que tem como característica anéis aromáticos contendo pelo menos um grupo hidroxila. Estima-se que existam mais de 8.000 compostos fenólicos. Metade desses compostos são flavonoides, apresentando-se como agliconas, glicosídeos e derivados metilados. As pesquisas com foco em flavonoides e outros compostos fenólicos provenientes de

plantas medicinais aumentaram consideravelmente devido aos seus benefícios versáteis para a saúde humana, como a potencial ação antioxidante, anticancerígena, antibacteriana, anti-inflamatória e de proteção da pele contra a radiação ultravioleta (UV) (TUNGMUNNITHUM et al., 2018).

Produtos fenólicos e polifenólicos, sozinhos ou em combinação com algumas vitaminas, atuam como grandes agentes antioxidantes que protegem os tecidos do corpo humano dos efeitos nocivos do estresse oxidativo (MICHALAK, M. et al., 2021). Existem estudos que sugerem que os polifenóis têm a capacidade de ativar células com efeito citotóxico sobre células cancerígenas da pele. Pesquisas mais recentes já demonstraram que os polifenóis contidos no chá verde aumentam o número de células T que combatem tumores, indicando um caminho fundamental para inibição do crescimento tumoral. Desta forma, os compostos fenólicos têm se mostrado uma ferramenta promissora para cuidados dermatológicos (POP, T. D.; DIACONEASA, Z., 2021).

A partir do exposto, este estudo tem como objetivo revisar qual o potencial biológico dos compostos fenólicos provenientes de plantas sobre a pele humana, apontando os compostos majoritários responsáveis por sua propriedade medicinal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para discutir a produção acadêmica acerca da temática em estudo, foi realizado revisão da literatura, no intuito identificar as principais propriedades e atividades que os compostos fenólicos provenientes de plantas exercem sobre a pele.

Na construção deste estudo se pré-definiu um protocolo baseado nas recomendações de TORRACO (2016), que se constituiu de seis etapas (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008): 1 - Identificação da temática e da questão de pesquisa; 2 - Eleição dos critérios para inclusão e exclusão de estudos; 3 - Definição dos dados para extração; 4 - Análise dos estudos selecionados; 5 - Interpretação dos desfechos; 6 - Apresentação da síntese do estudo.

A questão de pesquisa “Quais as principais propriedades medicinais apresentadas pelos compostos fenólicos e quais atividades estes compostos provenientes

de plantas exercem sobre a pele? Quais estudos científicos de comprovação foram realizados nos últimos 5 anos?”

A revisão ocorreu no período compreendido entre novembro (2022) e janeiro (2023). As buscas foram realizadas nas bases de dados National Library of Medicine (PUBMED), Springer e SCOPUS

As palavras-chave e seus respectivos operadores booleanos utilizados na busca foram: Skin AND “Phenolic compounds” AND “Secondary metabolites” OR “Biological action”. Foram incluídos artigos originais, experimentais, que focassem principalmente em estudos *in vitro*, *in vivo* ou ensaio clínico randomizado, nos idiomas português, inglês ou espanhol, no período de 2017 a 2022 (5 anos). Excluiu-se dos estudos os livros, capítulos de livro, revisões, cartas abertas, texto incompleto, monografias, dissertações e teses; estudos com foco no metabolismo secundário de bactérias e compostos fenólicos provenientes de algas marinhas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Desta forma foram selecionados 12 artigos de estudos científicos, demonstrado na tabela 1, com fenólicos e suas propriedades e atividades medicinais sobre a pele

Tabela 1: Resultados encontrados em cada uma das bases de dados utilizadas.

Bases de dados	Total de artigos	Excluídos após leitura de títulos e resumos	Lidos na íntegra	Selecionados
PubMed	192	176	16	2
SCOPUS	75	46	29	6
Springer	66	46	20	4
Total	333	268	65	12

Fonte: Lima; Santos; Santos, (2023)

A seguir, no quadro 1, apresentaram-se os estudos realizados nos últimos 5 anos, e que tiveram por objetivo testar e comprovar a eficácia dos compostos fenólicos. No quadro, os artigos científicos foram analisados e distribuídos conforme seus conteúdos e foram classificados em categorias.

Quadro 1: artigos incluídos no estudo

Referência	Nome do artigo	Tipo de estudo	Ensaio	Propriedades
ÁLVAREZ-SANTOS, N. et al., 2022.	<i>Asterohyptis stellulata</i> : Phytochemistry and wound healing activity	Experimental	<i>In vivo</i> Camundongos	Cicatrizante e antioxidante
HASSAN; KADHIM, 2022.	Comparative effects of phenolic extract as an ointment dosage form in inducing wound healing in mice and β -sitosterol in experimentally induced acute wound healing in mice	Experimental	<i>In vivo</i> Camundongos	Cicatrizante
PIĄTCZAK et al., 2020	Identification and accumulation of phenolic compounds in the leaves and bark of <i>Salix alba</i> (L.) and their biological potential	Experimental	<i>In vitro</i> (linhagens celulares de pele humana: fibroblastos e queratinócitos epidérmicos)	Antioxidante
SALEEM, U. et al., 2020	Phytochemical analysis and wound healing studies on ethnomedicinally important plant <i>Malva neglecta</i> Wallr	Experimental	<i>In vivo</i> Ratos albinos	Cicatrizante
NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z. et al., 2020.	Comparison of the antiaging and protective properties of plants from the <i>Apiaceae</i> Family	Experimental	<i>In vitro</i> (linhagens celulares de pele humana: fibroblastos e queratinócitos)	Antioxidante e antienvelhecimento
AL-RIFAI, A. 2018	A identification and evaluation of in-vitro antioxidant phenolic compounds from the <i>Calendula tripterocarpa</i> Rupr	Experimental	<i>In vitro</i> (ensaio do radical DPPH)	Antioxidante
SARIKURKCU, C. et al. 2020.	Enzyme and biological activities of the water extracts from the plants <i>Aesculus hippocastanum</i> , <i>Olea europaea</i> and <i>Hypericum perforatum</i> that are used as folk	Experimental	<i>In vitro</i> (atividade antioxidante e inibitória)	Antioxidante e Inibidora da tirosinase

	remedies in Turkey.		enzimática contra AChE, BChE e tirosinase)	
CARMONA- HERNANDE Z et al., 2021	Flavonoid/Polyphenol ratio in <i>Mauritia flexuosa</i> and <i>Theobroma grandiflorum</i> as an indicator of effective antioxidant action	Experimental	<i>In vitro</i> (atividade antioxidante baseada em ensaios de eliminação de radicais – DPPH).	Antioxidante
SILVA, A. R. S. T. et al., 2017	Leishmanicidal activity and structure-activity relationships of essential oil constituents	Experimental	<i>In vitro e In vivo</i> (Fibroblastos de camundongos L929 e Promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>)	Antileishmania
SHYN, S. Y. et al. 2021.	Morin induces melanogenesis via activation of MAPK signaling pathways in B16F10 mouse melanoma cells.	Experimental	<i>In vitro</i> (células de melanoma de camundongo B16F10)	Melhora dos distúrbios da hipopigmentação
TOMASELL O, B. et al., 2022.	Phytocomplex of a standardized extract from red orange (<i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck) against photoaging.	Experimental	<i>In vitro</i> (Fibroblastos de prepúcio humano e Queratinócitos humanos isolados da epiderme	Fotoprotetor
SALEEM, H. et al., 2020.	HPLC–PDA polyphenolic quantification, UHPLC–MS secondary metabolite composition, and <i>in vitro</i> enzyme inhibition potential of <i>Bougainvillea glabra</i> .	Experimental	<i>In vitro</i> (inibição de α -amilase; Inibição da Tirosinase; Inibição da Lipoxigenase)	Inibição de enzimas envolvidas no diabetes (α -amilase), problemas de pele (tirosinase) e distúrbios inflamatórios (lipoxigenase)

Fonte: Lima; Santos; Santos, (2023)

Observou-se nos estudos incluídos neste trabalho que, apesar das diferentes formas de manipulação dos compostos ou de obtenção dos extratos, foi demonstrado que os fenólicos possuem propriedades cicatrizantes, antioxidantes, síntese de melanina, atividade leishmanicida e fotoprotetora. Também foi possível perceber que a maioria dos artigos tinha como objetivo analisar sua composição fitoquímica, quantificar os compostos, realizar ensaios de detecção de radicais livres e testes *in vivo* ou *in vitro* para observação, análise e/ou comprovação do potencial medicinal que se pretendia investigar.

3. 1 Caracterização fitoquímica

Compostos fenólicos são um dos grupos mais abundantes no organismo vegetal, tendo mais de 8.000 estruturas descritas. Estes compostos possuem diferentes funções, entre elas a função de proteção da planta contra agressores externos, pigmentação de diversos órgãos, constituição de tecidos, além de atuar no controle de crescimento, desenvolvimento e reprodução. Sua concentração no interior do vegetal dependerá da espécie da planta, do período climático, solo, manejo e armazenamento pós colheita, entre outras condições (TANASE; COSARCĂ; MUNTEAN, 2019).

Os fenólicos são constituídos por pelo menos um anel aromático, acompanhado de um ou mais grupos hidroxila. Dividem-se em 2 classes: ácidos derivados do ácido benzóico (ácido gálico) e os derivados do ácido cinâmico (ácido cumárico e ferúlico). Estes se diferenciam em fenólicos simples e complexos, onde são classificados como lignanas, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos e flavonoides. Os flavonóides mais comuns apresentam-se como quercetina, catequina, naringenina, cianidina-glicosídeo e daidzeína (ALARA; ABDURAHMAN; UKAEGBU, 2021).

Os taninos são ésteres galofílicos ou proantocianidina, categorizados como condensados e hidrolisáveis e são os principais polifenólicos encontrados nas plantas, distribuídos amplamente na faixa de 5 a 10%. São encontrados principalmente em cascas, caules, sementes, raízes e folhas (DAS et al., 2020).

Para que se tenha sucesso na identificação e/ou quantificação desses compostos

fenólicos, é necessário que se faça uma boa escolha do método e do solvente para extração dos metabólitos de interesse, assim garantindo a obtenção da concentração ideal, do bom desempenho e da estabilidade dos compostos extraídos (IGNAT; VOLF; POPA, 2011). Nos extratos dos estudos avaliados, foram utilizados os métodos descritos no quadro 2, de acordo com sua respectiva espécie, partes do vegetal e solventes utilizados na sua extração (onde: NE: Não especificado; NU: Não utilizado; **: Obtido por meio de outras instituições):

Quadro 2: Métodos de identificação e/ou quantificação dos compostos fenólicos

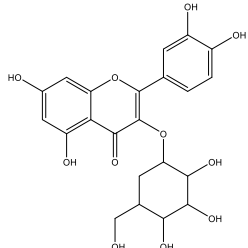
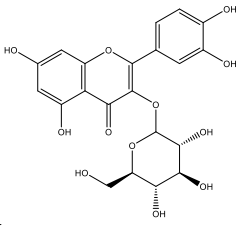
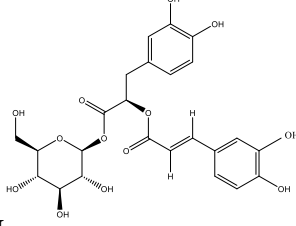
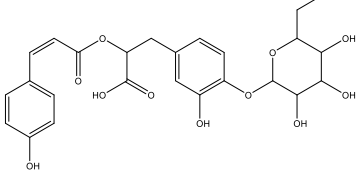
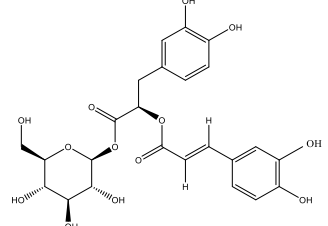
Referência	Espécie (nome científico)	Partes da planta	Solvente	Método de identificação e/ou quantificação
ÁLVAREZ-SANTOS, N. et al., 2022	<i>Asterohyptis stellulata</i>	Partes aéreas	Metanol	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas
HASSAN; KADHIM, 2022.	<i>Petroselinum crispum</i>	NE	Etanol, Metanol e Acetato de etila	NU
PIĄTCZAK et al., 2020	<i>Salix alba</i> (L.)	Folhas e cascas	Clorofórmio Água + Metanol	Cromatografia líquida ultra-performance fotodiodo detector-quadrupolo/espectrometria de massa <i>time-of-flight</i>
SALEEM, U. et al., 2020	<i>Malva neglecta</i> Wallr	NE	<i>Metanol</i>	Cromatografia líquida de alta eficiência equipado com método de detecção de matriz de fotodiodos e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z. et al., 2020.	<i>Meum athamanticum</i> L., <i>Centella asiatica</i> L. E <i>Aegopodium podagraria</i> L.	Folhas	Água e Glicerina	Espectrofotometria pelo método de <i>Folin-Ciocalteu</i>
AL-RIFAI, A. 2018	<i>Calendula tripterocarpa</i>	Partes aéreas	Metanol, éter dietílico, clorofórmio, acetato de etila e <i>n</i> - butanol	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

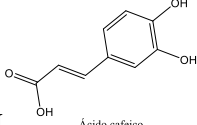
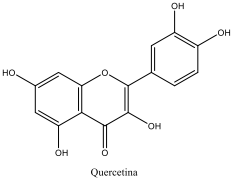
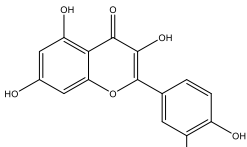
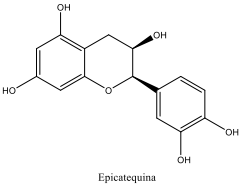
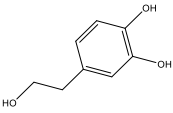
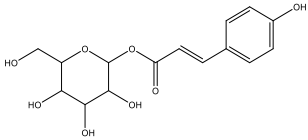
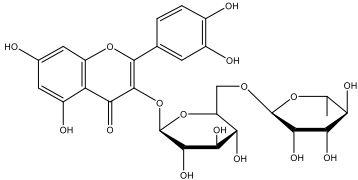
SARIKURKCU, C. et al. 2020.	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.; <i>Olea europaea</i> L. e <i>Hypericum perforatum</i> L.	Frutos Folhas Partes aéreas	Água deionizada	Espectrometria de massa em tandem de cromatografia líquida-eletrospray
CARMONA-HERNANDEZ et al., 2021	<i>Mauritia flexuosa</i> e <i>Theobroma grandiflorum</i>	Polpa	Etanol, Metanol e Acetona	Cromatografia líquida de alta eficiência
SILVA, A. R. S. T. et al., 2017	**	Dez compostos presentes em óleos essenciais	NU	NU
SHYN, S. Y. et al. 2021.	**	NE	NU	NU
TOMASELLO, B. et al., 2022.	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck: Moro, Sanguinello e Tarocco	Extrato do suco	Extrato padronizado (Red Orange Complex H (ROCH [®]))	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos
SALEEM, H. et al., 2020.	<i>Bougainvillea glabra</i>	Partes aéreas e flores	Metanol e Diclorometano	Cromatografia líquida de alto desempenho com detector de matriz de fotodiodos e Cromatografia líquida de ultra eficiência

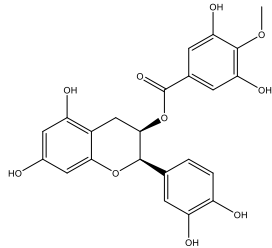
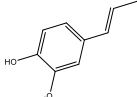
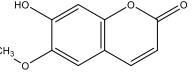
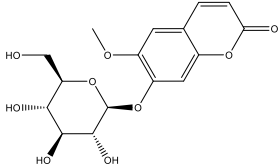
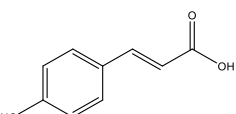
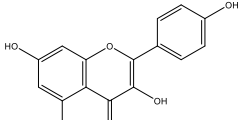
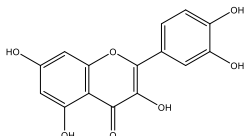
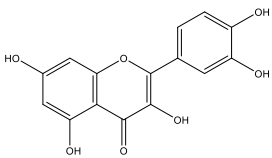
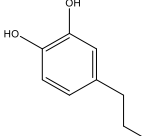
Fonte: Lima; Santos; Santos (2023)

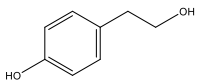
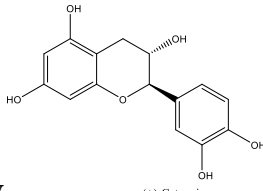
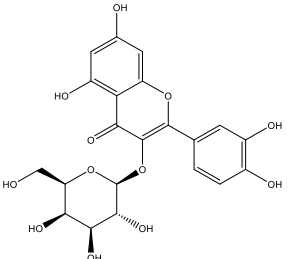
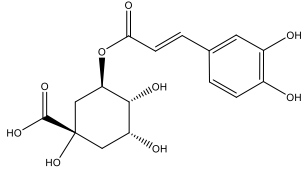
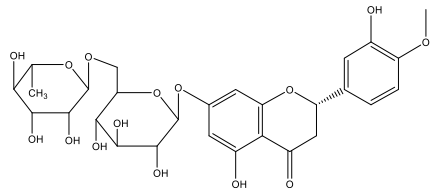
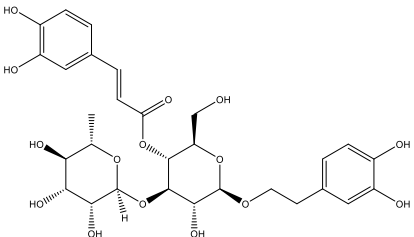
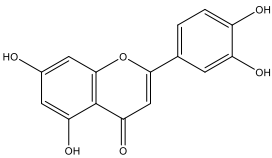
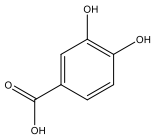
Com a aplicação dos métodos de identificação dos metabólitos secundários listados acima, foram detectados mais 100 compostos fenólicos, tendo sido apontados pelos estudos em evidência apenas os compostos majoritários do vegetal, sendo testado os que já possuíam eficácia comprovada ou que já possuíam ensaios realizados anteriormente, mas não haviam sido conclusivos ou que nunca haviam sido testados, porém já obtinham apontamentos na literatura científica de seus possíveis efeitos medicinais. Estas substâncias foram destacadas no quadro 3, junto às suas respectivas estruturas químicas.

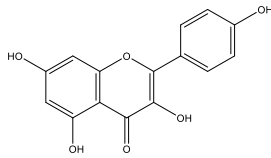
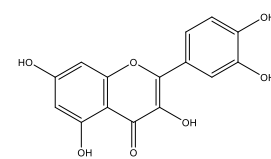
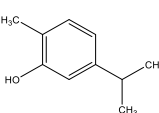
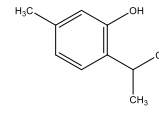
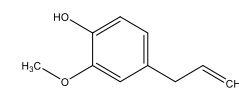
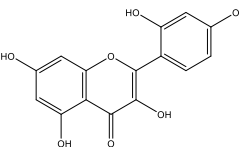
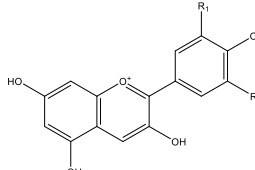
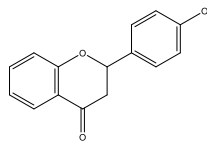
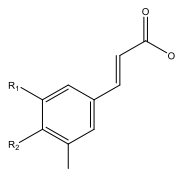
Quadro 3: Compostos fenólicos majoritários identificados na caracterização fitoquímica

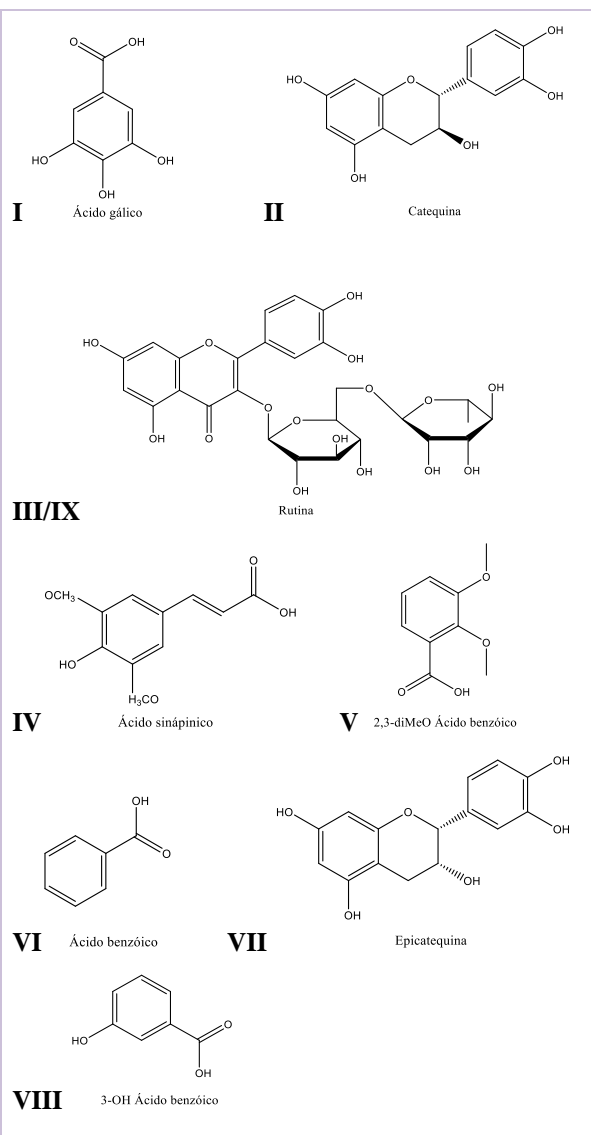
Referência	Compostos majoritários	Estrutura química
<p>ÁLVAREZ-SANTOS, N. et al., 2022</p>	<p>I. 2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-3-[2,3,4-trihidroxi-5-(hidroximetil) ciclohexoxi] cromen-4-ona</p> <p>II. Quercetina-3-O-glicosídeo</p> <p>III. Ácido rosmarínico glicosídeo</p> <p>IV. 2-O-(4-hidroxi-cinamoil) 4'-O-D- glicopiranosídeo</p>	 <p>I 2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-3-[2,3,4-trihidroxi- 5-(hidroximetil) ciclohexoxi] cromen-4-ona</p>  <p>II Quercetina-3-O-glicosídeo</p>  <p>III Ácido rosmarínico glicosídeo</p>  <p>IV 2-O-(4-hidroxi-cinamoil) 4'-O-D- glicopiranosídeo</p>  <p>IV Ácido rosmarínico glicosídeo</p>
<p>HASSAN; KADHIM, 2022</p>	<p>NE</p>	<p>-</p>

<p>PIĄTCZAK et al., 2020</p>	<p>Folhas:</p> <p>I Derivados do Ácido cafeico</p> <p>II Derivados da Quercetina</p> <p>III Derivados da Isorhamnetina</p> <p>Casca</p> <p>IV Derivados de Epicatequina</p>	 <p>I Ácido cafeico II</p>  <p>Quercetina</p>  <p>III Isorhamnetina IV</p>  <p>Epicatequina</p>
<p>SALEEM, U. et al., 2020</p>	<p>HPLC-DAD:</p> <p>I Hidrotirosol</p> <p>II Cumaroil-hexósido</p> <p>III Quercetina- 3 -O- rutinósido</p> <p>IV Epicatequina-3-O-(4 -O -metil)-galato.</p> <p>GC-MS:</p> <p>V Isoeugenol</p>	 <p>I Hidrotirosol</p>  <p>II Cumaroil-hexósido</p>  <p>III Quercetina- 3 -O-rutinósido</p>

		 <p>IV Epicatequina-3-O-(4-O-metil)-galato</p>  <p>V Isoeugenol</p>
NIZIOŁ- ŁUKASZEWSK A, Z. et al., 2020.	NE	-
AL-RIFAI, A. 2018	<p>I Escopoletina</p> <p>II Escopolina</p> <p>III Ácido <i>p</i>-cumárico</p> <p>IV Kaempferol</p> <p>V Quercetina</p>	 <p>I Escopoletina</p>  <p>II Escopolina</p>  <p>III Ácido <i>p</i>-cumárico</p>  <p>IV Kaempferol</p>  <p>V Quercetina</p>
SARIKURKCU, C. et al. 2020	<p><i>O. europea:</i></p> <p>I Quercetina</p> <p>II Hidroxitirosol</p> <p>III Tirosol</p> <p>IV (+)-catequina</p> <p><i>H. perforatum:</i></p>	 <p>I/VII Quercetina</p>  <p>II Hidroxitirosol</p>

<p>V Hiperosídeo</p> <p>VI Ácido clorogênico</p> <p>VII Quercetina</p> <p>VIII. Hesperidina</p> <p>A. <i>hippocastanum</i>:</p> <p>IX Verbascosídeo</p> <p>X Luteolina</p> <p>XI Ácido protocatecuico.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>III Tyrosol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>IV (+)-Catequina</p> </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <p>V Hiperosídeo VI</p> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <p>Ácido clorogênico</p> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <p>VIII Hesperidina</p> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <p>IX Verbascosídeo</p> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>X Luteolina</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>XI Ácido protocatecuico</p> </div> </div>
---	--

<p>CARMONA-HERNANDEZ et al., 2021</p>	<p><i>Mauritia flexuosa</i></p> <p>I Kaempferol</p> <p>II Quercetina</p> <p><i>Theobroma grandiflorum</i></p> <p>I Kaempferol</p> <p>II Quercetina</p>	 <p>I Kaempferol</p>  <p>II Quercetina</p>
<p>SILVA, A. R. S. T. et al., 2017</p>	<p>I Carvacrol</p> <p>II Timol</p> <p>III Eugenol</p>	 <p>I Carvacrol</p>  <p>II Timol</p>  <p>III Eugenol</p>
<p>SHYN, S. Y. et al. 2021.</p>	<p>I Morina (2',3,4',5,7-pentahydroxyflavone)</p>	 <p>I Morina (2',3,4',5,7-pentahidroxi flavona)</p>
<p>TOMASELLO, B. et al., 2022</p>	<p>I Antocianinas</p> <p>II Flavanonas</p> <p>III Ácidos hidroxicinâmicos</p>	 <p>I Antocianinas</p>  <p>II Flavanonas</p>  <p>III</p> <p>R₂ = OH: <i>p</i>-Ácido cumárico R₂ = R₃ = OH: Ácido cafeico R₃ = OCH₃, R₂ = OH: Ácido felúrico R₁ = OCH₃, R₂ = OH, R₃ = OCH₃: Ácido sináptico Ácidos hidroxicinâmicos</p>

<p>SALEEM, H. et al., 2020.</p>	<p>Partes aéreas:</p> <p>I Ácido gálico</p> <p>II Catequina</p> <p>III Rutina</p> <p>IV Ácido sinapínico</p> <p>V Ácido 2,3-diMeO benzóico</p> <p>VI Ácido benzóico.</p> <p>Flor:</p> <p>VII Epicatequina</p> <p>VIII Ácido 3-OH benzóico</p> <p>IX Rutina.</p>	 <p>I Ácido gálico</p> <p>II Catequina</p> <p>III/IX Rutina</p> <p>IV Ácido sinápínico</p> <p>V 2,3-diMeO Ácido benzóico</p> <p>VI Ácido benzóico</p> <p>VII Epicatequina</p> <p>VIII 3-OH Ácido benzóico</p>
	<p>Fonte: Lima; Santos; Santos (2023)</p>	

3.2 Atividades e propriedades biológicas dos compostos fenólicos

3.2.1 Efeito antioxidante

O caráter antioxidante dos compostos fenólicos está atrelado à sua estrutura química, sua capacidade de doar átomos de hidrogênio e de elétrons e capacidade de capturar radicais livres, que dependerá simbolicamente do quantitativo de grupos hidroxila presentes na estrutura (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Assim, o extrato metanólico de *Asterohyptis stellulata* apresentou atividade antioxidante

e os principais compostos fenólicos responsáveis pelo feito foram dois derivados da quercetina e um ácido rosmarínico glicosídeo (ÁLVAREZ-SANTOS, N. et al., 2022).

Nos estudos de Piątczak et al.(2020), os compostos fenólicos identificados nas folhas e casca de *Salix alba* (L.) foram os derivados de ácidos fenólicos, flavonóides e procianidinas e flavonóis. Os extratos da casca (EC_{50} = 13,5 μ g/mL em DPPH e 21,5 μ g/mL em ABTS) e folha (EC_{50} = 28,2 μ g/mL em DPPH e 65,4 μ g/mL em ABTS) apresentaram grande potencial antioxidante, que foi constatado pela sua atividade capturadora de radicais livres contra 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS). Também foi avaliada a citotoxicidade dos extratos em fibroblastos e queranócitos de pele humana, onde ambos os extratos não foram tóxicos a linha celular de queranócinos, porém o extrato da folha demonstrou menor potencial citotóxico nos fibroblastos.

Al-Rifai (2018) isolou cinco compostos de *Calendula tripterocarpa*, através de fracionamento guiado por bioensaio, testando seu potencial antioxidante por meio de ensaio do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Os resultados mostraram que a fração acetato de etila apresentou o melhor potencial antioxidante ($IC = 14,32 \mu$ g/mL) devido ao seu alto teor de fenólicos e flavonoides (137,24 e 119,32 mg/g, respectivamente). Entre os compostos isolados, a escopoletina e a quercetina tiveram melhor atividade antioxidante quando comparadas ao grupo de controle (Antioxidante padrão: Vitamina C).

Neste estudo, Sarikurkcu et al. (2020) realizaram a comparação do conteúdo fitoquímico e atividades biológicas do extrato aquoso de *Aesculus hippocastanum*, *Olea europaea* e *Hypericum perforatum*. O ensaio para a atividade antioxidante foi efetuado através dos testes branqueamento de β -caroteno, quelante de íons ferrosos, capacidade antioxidante redutora de íons cúpricos (CUPRAC), antioxidante redutor férrico (FRAP), ensaio ABTS, DPPH, óxido nítrico (ON), ânion superóxido (O_2^-) e hidroxila (OH). Todos os extratos apresentaram resultado positivo para atividade antioxidante, porém o extrato de *O. europaea* apresentou maior capacidade antioxidativa. Todos os extratos apresentaram fenólicos, flavonoides e saponinas em sua composição.

Neste estudo, o teor total de polifenóis e flavonoides (testados em três tempos distintos) de extratos de etanol, metanol e acetona de *Mauritia flexuosa* e *Theobroma grandiflorum* foram avaliados, com o intuito de comparar o teor de polifenol/flavonoide ao seu potencial antioxidante. Os resultados estatísticos, apontaram que uma extração com 70% de acetona proporciona melhor extração destes compostos fenólicos para *M. Flexuosa* e para *T. Grandiflorum*, a extração em etanol 80% gerou que melhor atividade antioxidante por extrair melhor os polifenóis e flavonoides. Desta forma, ambos os extratos apresentaram boa atividade antioxidante. Kaempferol e Quercetina foram os principais responsáveis pela atividade antioxidante das plantas analisadas (CARMONA-HERNANDEZ, 2021).

A pele sofre constantes agressões do meio externo, principalmente àqueles induzidos por espécies reativas de oxigênio, que pode ter como causa tantos os fatores intrínsecos como a ação de enzimas e de neutrófilos, ou por fatores extrínsecos estimuladores da oxidação, como a radiação ultravioleta (UV). O estresse oxidativo ocasionado por espécies reativas de oxigênio envolve um arsenal de moléculas, pois é responsável por provocar alterações no DNA, oxidar lipídios e secretar mediadores pró-inflamatórios. Os mecanismos antioxidantes atuam como uma forma de defesa, por prevenir danos oxidativos de lipídeos e proteínas, auxiliando na manutenção da integridade da barreira cutânea (BRIGANTI; PICARDO, 2003).

3.2.2 Efeito cicatrizante

A exposição constante e exacerbada ao estresse oxidativo pode prejudicar a fisiologia normotípica da cicatrização, que depende da ausência ou presença, em baixos níveis, das espécies reativas de oxigênio. Os antioxidantes naturais emergem como uma alternativa na prevenção da oxidação celular e aos radicais livres, em especial, os compostos fenólicos que são potentes agentes antioxidantes e cicatrizantes, devido às suas propriedades adstringentes e antimicrobianas²⁸. Em feridas agudas e crônicas, os fenólicos podem contribuir para o processo de proliferação de células saudáveis, prevenir ou diminuir os danos oxidativos provocados a estas, ocasionados pelo processo inflamatório, viabilizando a restauração tecidual (DZIAŁO et al., 2016).

Nos estudos de Álvarez-Santos (2022), foi demonstrado que a *Asterohyptis stellulata* também possui atividade cicatrizante através de aplicação tópica. Seu extrato foi testado em feridas incisionais de camundongos, com testes de resistência a tensão, tempo para o início da reepitelização, velocidade de cicatrização e análise histológica. A emulsão de *A. stellulata* não provocou irritação cutânea, apresentou boa velocidade no fechamento da ferida ($1,479 \pm 0,043$ mm/dia), aumentou a resistência à tração ($980 \pm 89,44$ g). Em sua análise histológica, mostrou boa regeneração do tecido cutâneo nos camundongos, pois reduziu o potencial infeccioso devido à sua atividade bacteriostática, regulando a inflamação por meio da atividade antioxidante.

Hassan e Kadhim (2022) elaboraram uma pomada à base de extrato fenólico de *Petroselinum crispum* em determinadas concentrações e realizaram ensaios em camundongos. A pomada de extrato fenólico, na concentração de 22% p/p, produziu uma redução altamente significativa no tamanho da ferida insisional, promoveu o aumento da reepitelização, angiogênese e nos escores de colágeno em comparação ao grupo de controle e às outras concentrações. No resultado da citocina no final do experimento, *P. crispum* também proporcionou uma diminuição significativa na necrose tumoral de fator-alfa.

Saleem et al. (2019) também formularam uma pomada, porém foi à base do extrato bruto metanólico de *Malva neglecta* Wallr, que foi aplicada (doses: 1g, 1,5g, 2g, por 10g de pomada base) nas feridas excisivas na pele de ratos albinos, uma vez ao dia, durante 14 dias. A pomada apresentou potencial de cicatrização das feridas em todas as doses, sendo o período de epitelização reduzido conforme a dose aplicada. A cicatrização total ocorreu com aplicação da dose de 2g. Além disso, a pomada ainda exibiu considerável capacidade antioxidante em todos os ensaios de detecção de radicais livres. O efeito combinado dos metabólitos encontrados em sua estrutura, como Hidrotirosol, Quercetina- 3 -*O*-rutinosídeo, Epicatequina, Ácido oleico, Taurina e mais 7 compostos, podem ser os responsáveis pela atividade de cicatrização.

3.2.3 Efeito fotoprotetor e antienvhecimento

Os compostos fenólicos também possuem atividade fotoprotetora, pois conseguem atuar na proteção contra um amplo espectro radiações UV, absorvendo e neutralizando os radicais livres, diminuindo a absorção e penetração desses raios na pele, assim reduzindo prejuízos como estresse oxidativo, danos ao DNA, câncer de pele e diminuindo os faores envolvidos no processo de envelhecimento prematuro cutâneo e celular (EL AANACHI et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2021).

Tomasello et al. (2022) realizaram um estudo com três variedades de laranja vermelha (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), onde avaliaram o seu potencial fotoprotetor utilizado um modelo *in vitro* de fotoenvelhecimento cutâneo de células humanas, para análise da resposta obtida a partir do dano induzido por UVA-B. Os resultados apontaram fortes propriedades antioxidantes e fotoprotetoras advindas de Ácidos hidroxicinâmicos, Flavanonas e Antocianinas. O extrato se mostrou capaz de inibir a oxidação celular ao mesmo tempo em que reduz os danos causados ao DNA. Também foi capaz de neutralizar os efeitos insalubres provocados à célula, através da redução de marcadores pró-inflamatórios e da reorganização do meio extracelular, demonstrado através da expressão de colágeno e elastina.

Em outro contexto, foram analisadas *in vitro* as propriedades antioxidantes, antienvelhecimento e citotóxicas do extrato da erva de *Aegopodium podagraria* L. Os resultados demonstraram que a proliferação celular, tanto para queranócitos quanto para fibroblastos, obteve resultado positivo na concentração de 5%, que denota um papel significativo na manutenção do bom estado da pele e de sua função. O extrato também inibiu as enzimas colagenase e elastase, que se configuram como atividades de metaloproteinases de matriz, em mais de 70%. A inibição dessas enzimas podem ter um impacto significativo no retardo dos processos de envelhecimento precoce da pele (NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z. et al., 2020).

3.2.4 Outros efeitos

A tirosinase é uma enzima glicoproteica envolvida na biossíntese de melanina, localizada na membrana do melossoma. O melanossoma é responsável por sintetizar eumelanina e fenomelanina e armazenar a tirosinase. A produção de melanina

(melanogênese) se inicia a partir da oxidação da L-tirosina em dopaquinona. A dopaquinona dará origem ao leucodopacromo e, juntos, se diferenciarão em dopacromo e L-3,4-diidroxifenilalanina (L-dopa). Este último sofrerá um rearranjo em sua estrutura e se diferenciará em diidroxiindol (DHI) e ácido 5,6-diidroxiindol-2-carboxílico (DHICA). Ambos serão catalisados e oxidados a pigmentos de melanina (MIOT et al., 2009; PANZELLA; NAPOLITANO, 2019).

Entre a grande classe dos compostos fenólicos, os flavonóides são os compostos que mais se destacam na atividade inibitória da tirosinase. A maior atividade inibitória está presente nas chalconas, galangina, quercetina, isoliquiritigenina, kaempferol, dihidromorina, entre outros compostos (PANZELLA; NAPOLITANO, 2019).

Correlacionando com parágrafo anterior, Sarikurkcü et al.(2020), realizaram ensaios de inibição da tirosinase. Todos os extratos apresentaram atividade inibitória contra a tirosinase, sendo comparados a equivalentes de ácido kójico (mg equivalentes de ácido kójico (KAEs)/g extrato). O extrato com melhor performance foi *H. Perforatum* (28,89 mg KAEs/g). Comparando com o resultado dos demais extratos, *O. europaea* apresentou 24,28 mg KAEs/g extrato e *A. hippocastanum* apresentou 19,59 mg KAEs/g extrato. Os autores atrelaram este resultado à grande quantidade do composto fenólico quercetina.

Neste outro estudo envolvendo a tirosinase, Shyn et al., (2021) examinaram os efeitos da morina sobre a melanina e a enzima tirosinase, nos níveis de expressão de proteínas das enzimas melanogênicas e em células melanomas de camundongos. Neste ensaio *in vivo*, os resultados apontaram que a morina aumenta a produção de melanina através das vias de sinalização MAPK em células de melanoma. Além de induzir a atividade da tirosinase acelerando as vias de sinalização ERK e p38 em células de melanoma dos camundongos testados. Os ensaios sugerem que a morina possui uma ação promissora de melhora de distúrbios de hipopigmentação cutânea, como o vitiligo.

Saleem et al., (2020) estudaram o potencial *in vitro* de inibição de enzimas envolvidas no diabetes (α -amilase), distúrbios cutâneos (tirosinase) e distúrbios inflamatórios (lipoxigenase - LOX), com extrato diclorometânico e metanólico das partes aéreas e florais de *Bougainvillea glabra*. A quantificação por HPLC-PDA

identificou 9 polifenóis, em maior quantidade nos extratos das flores. No extrato metanólico da flor era mais abundante a catequina (6,31 µg/g), ácido gálico (2,39 µg/g) e rutina (1,26 µg/g). No ensaio para inibição enzimática, todos os extratos apresentaram atividade moderada contra tirosinase e α -amilases. Para a lipoxigenase, ambos os extratos metanólicos apresentaram maior porcentagem de inibição em relação aos extratos diclorometanico.

Outra atividade dos fenólicos foi apresentada nos estudos de Silva (2017), que realizou ensaios *in vitro* com dez compostos presentes em óleos essenciais e testaram seu potencial contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Também realizaram ensaios de citotoxicidade destes compostos em células fibroblásticas. Com exceção de apenas um composto (*p*-cimeno), todos apresentaram atividade leishmanicida, com IC₅₀ entre 25,4 e 568,1 µg mL⁻¹. A maioria dos compostos apresentou baixa citotoxicidade em células fibroblásticas L929. Os compostos com a fração fenólica carvacrol, timol e eugenol foram os que apresentaram melhor desfecho contra promastigotas de *L. amazonensis*.

Contextualizando, a *L. amazonensis* pertence ao grupo *Leishmania* spp, que são responsáveis por um amplo espectro de doenças. É a causadora da leishmaniose tegumentar, que é caracterizada por lesões inflamatórias e densos infiltrados dérmicos. Se utiliza de enzimas, como as proteases, para garantir a sua perpetuação dentro do hospedeiro. Possui atividade inibidora da produção de interferon, aumento da produção de interleucina-10, que leva a uma ativação deficiente de macrófagos, culminando para uma resposta insatisfatória ao seu tratamento (SILVA-LOPEZ et al., 2007; SILVA et al., 2020).

3.3 Mecanismo de ação dos compostos de maior ocorrência no estudo

3.3.1 Quercetina

A quercetina foi o composto de maior ocorrência nos estudos selecionados. Apresentou grande potencial antioxidante, cicatrizante e inibidor da tirosinase (ALVAREZ-SANTOS et al., 2022; AL-RIFAI, 2018; SARIKURKCU et al., 2020).

Estudos anteriores foram realizados com a quercetina e confirmam a sua eficácia nas referidas atividades, isto se deve a sua propriedade inibidora da síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e bloqueadoras de NF- κ B. As Citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , têm uma atuação fundamental na inflamação mediada por radiação UV e danos cutâneos, desta forma a quercetina foi capaz de bloquear os efeitos inflamatórios sobre a pele, mediados pela radiação UV, inibindo a ativação do complexo proteico NF- κ B e as citocinas. NF- κ B possui ação na regulação da resposta imunitária e também está envolvida no processo de desenvolvimento do câncer de pele (LIM et al., 2021; VICENTINI et al., 2011).

3.3.2 Kaempferol

Kaempferol foi caracterizado como um potente agente antioxidante (CARMONA-HERNANDEZ, 2021). Em outras pesquisas realizadas *in vivo* em pele fibrótica de camundongos, o composto foi capaz de reduzir o estresse oxidativo e a quantidade de citocinas inflamatórias e pró-fibróticas. Reduziu as células apoptóticas assim como o acúmulo intracelular das espécies reativas de oxigênio mediado por oxidante e mediado pelo estresse oxidativo (SEKIGUCHI et al., 2019).

3.3.3 Epicatequina

Saleem et al., (2019) apontaram a epicatequina como um composto auxiliador no processo de cicatrização. Huang et al., (2005), apontaram a epicatequina como eficaz na proteção dos queranócitos à exposição de raios ultravioletas, atuando como eliminador de radicais livres, inibindo a oxidação celular induzida por UVA e inibindo a síntese de peróxido de hidrogênio, também induzido por UVA.

4 CONCLUSÕES

Em suma, os estudos apontaram que os compostos fenólicos têm potencial para tratar diversas dermatopatologias, demonstrados através de sua atividade biológica,

especialmente em culturas de células cutâneas. Os fenólicos tiveram maior protagonismo na inibição da oxidação celular, cicatrização por redução do processo inflamatório e potencial significativo na inibição dos sinais do envelhecimento precoce. Ao analisar os fenólicos prioritários e de maior ocorrência, bem como as suas propriedades medicinais, este estudo aponta caminhos que podem auxiliar nas pesquisas para o desenvolvimento de fitofármacos tópicos de menos efeitos colaterais que as formulações tópicas convencionais.

REFERÊNCIAS.

AGAR, O. T. et al. Comparative Studies on Phenolic Composition, Antioxidant, Wound Healing and Cytotoxic Activities of Selected. *Achillea L. Species Growing in Turkey*. **Molecules**, n. 20, p. 17976-1800, 2015.

ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current Research in Food Science**, v. 4, p. 200-214, 2021.

AL-RIFAI, A. identification and evaluation of in-vitro antioxidant phenolic compounds from the *Calendula tripterocarpa* Rupr. **South African Journal of Botany**, v. 116, p. 238–244, 2018.

ALVAREZ-SANTOS et al. *Asterohyptis stellulata*: Phytochemistry and wound healing activity. **Food Bioscience**, v. 50, 2022.

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

BRIGANTI, S; PICARDO, M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. European Academy of Dermatology and Venereology **JEADV**, n. 17, p. 663– 669, 2003.

DAS, A. K. et al. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. **South African Journal of Botany**, v. 135, p. 58-70, 2020.

DZIAŁO, M. et al. The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 160, 2016.

EL AANACHI, S. et al. Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 101819, 2020.

LIM H-J. et al. Inhibitory Effect of Quercetin on Propionibacterium acnes-induced Skin Inflammation. **International Immunopharmacology**, n. 96, p. 107557, 2021.

HUANG, C. C. et al. Protective effects of (-)-epicatechin-3-gallate on UVA-induced damage in HaCaT keratinocytes. **Arch Dermatol Res**, n. 296, p. 473-481, 2005.

CARMONA-HERNANDEZ, J. C. Flavonoid/Polyphenol ratio in *Mauritia flexuosa* and *Theobroma grandiflorum* as an indicator of effective antioxidant action. **Molecules**, v. 26, n. 21, 6431, 2021. 1. <https://doi.org/10.3390/molecules26216431>.

HASSAN, R. F.; KADHIM, H. M. Exploring the role of phenolic extract as an ointment dosage form in inducing wound healing in mice, **J. Pharm Negative Results**, v. 13, p. 186-193, 2022.

IGNAT I, VOLF I, POPA VI. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chem**, n. 126, p. 1821–1835, 2011.

LIN, T. K.; ZHONG, L.; SANTIAGO, J. Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, 2017. <https://doi.org/10.3390/ijms19010070>.

MICHALAK, M. et al. Bioactive Compounds for Skin Health: A Review. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 203, 2021.

MIOT, L. D. B. Fisiopatologia do melasma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, n. 84, p. 623-635, 2009.

MENDES, K. D. S; SILVEIRA, R. C. C. P. GALVÃO, C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto Contexto Enferm**. v. 17, n. 4, p. 758-64, 2008.

MERECZ-SADOWSKA, A. et al. Antioxidant properties of plant-derived phenolic compounds and their effect on skin fibroblast cells. **Antioxidants**, v. 10, n. 5, p. 726, 2021.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. A. The dynamics of the skin's immune system. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1811, 2019.

NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z. et al. Comparison of the Antiaging and Protective Properties of Plants from the *Apiaceae* Family. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5307614>

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 & Products**, v. 162, 113246, 2021.

PANZELLA, L.; NAPOLITANO, A. Natural and Bioinspired Phenolic Compounds as 32 Tyrosinase Inhibitors for the Treatment of Skin Hyperpigmentation: Recent Advances. **Cosmetics**, v. 6, n. 57, 2019.

PIAZZA, S. et al. A review of the potential benefits of plants producing berries in skin disorders. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, 2020. <https://doi.org/10.3390/antiox9060542>.

PIĄTCZAK, E. et al. Identification and Accumulation of Phenolic Compounds in the Leaves and Bark of *Salix alba* (L.) and Their Biological Potential. **Biomolecules**, v. 10, n. 10, p. 1-17, 2020.

POP, T. D.; DIACONEASA, Z. Recent advances in phenolic metabolites and skin cancer. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 22, n. 18, p. 9707, 2021.

SALEEM, U. et al. Phytochemical analysis and wound healing studies on ethnomedicinally important plant *Malva neglecta* Wallr. **Journal of Ethnopharmacology**, 112408, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112401>

SALEEM, H, et al. HPLC-PDA Polyphenolic quantification, UHPLC-MS secondary metabolite composition, and *in vitro* enzyme inhibition potential of *Bougainvillea glabra*. **Plants (Basel)**, v. 9, n. 3, 388, 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9030388>.

SARIKURKCU, C. et al. Enzyme and biological activities of the water extracts from the plants *Aesculus hippocastanum*, *Olea europaea* and *Hypericum perforatum* that are used as folk remedies in Turkey. **Molecules**, v. 25, n. 5, 1202, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25051202>.

SEKIGUCHI, A. et al. Inhibitory effect of kaempferol on skin fibrosis in systemic sclerosis by the suppression of oxidative stress. **Journal of Dermatological Science**, n. 96, p. 8-17, 2019.

SHYN, S. Y. et al. Morin induces melanogenesis via activation of MAPK signaling pathways in b16f10 mouse melanoma cells. **Molecules**, v. 26, n. 8, 2150, 2021 <https://doi.org/10.3390/molecules26082150>.

SILVA, A. R.S. T. et al. Leishmanicidal activity and structure-activity relationships of essential oil constituents. **Molecules**, v. 22, n. 5, 815, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22050815>.

SILVA-LOPEZ R. E. et al. Effects of serine protease inhibitors on viability and morphology of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* promastigotes. **Parasitol Res**, n. 101, p. 1627–1635, 2007.



DOI: XXX | | TEMPLATE Nº **CLM23DEZ**

SILVA, C. E. de L. et al. Effect of essential oils on *Leishmania amazonensis*: A systematic review. **Parasitology**, n. 147, p. 1392-1407, 2020.

TANASE, C.; COSARCĂ, S.; MUNTEAN, D. L. A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. **Molecules**, v. 24, n. 6, 1182, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24061182>.

TOMASELLO, B. et al. Phytocomplex of a standardized extract from red orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) against photoaging. **Cells**, v. 11, n. 9, 1447, 2022. <https://doi.org/10.3390/cells11091447>

TORRACO, R. J. Writing integrative literature reviews: using the past and present to explore the future. **Hum Resour Dev Int.** v. 15, n. 4, p. 404-428, 2016.

TUNGMUNNITHUM, D. et al. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 93, 2018.

VICENTINI, F. T. M. C. et al. Quercetin inhibits UV irradiation-induced inflammatory cytokine production in primary human keratinocytes by suppressing NF- κ B pathway. **Journal of Dermatological Science**, n. 61, p. 162–168, 2011.

ARTIGO 2

Avaliação do potencial clareador da casca do caule de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth.) K. Schum sobre manchas hiperpigmentadas

Avaliação do potencial clareador da casca do caule de *Calycophyllum Spruceanum* (Benth.) K. Schum sobre manchas hiperpigmentadas

Evaluation of the whitening potential of the stem bark of *Calycophyllum Spruceanum* (Benth.) K. Schum on hyperpigmented spots

T. F. da S. Lima^{1*}; S. F dos Santos²; A. S. Santos³; I. M. M. Barra³; I. S. Santos².

¹Programa de Pós-graduação em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia, Universidade do Estado do Pará, 66095-015, Belém-Pará, Brasil

²Programa de Pós-graduação em Tecnologia, Recursos Naturais e Sustentabilidade na Amazônia, Universidade do Estado do Pará, 66095-015, Belém-Pará, Brasil

³Laboratório de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular, Universidade Federal do Pará, 66075-110, Belém-Pará, Brasil

*tatiana.fdslima@aluno.uepa.br

Calycophyllum spruceanum (Benth.) K. Schum apresenta registros sobre seu potencial medicinal, como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiparasitária e anti-hiperpigmentante, porém existem poucos de estudos que abordam os aspectos fármaco-químicos da espécie. O estudo tem como objetivo avaliar o potencial clareador da casca do caule, em manchas hiperpigmentadas, através da identificação e seleção dos compostos majoritários provenientes do metabolismo secundário da planta. Foram realizados testes para detecção de taninos e açúcares redutores, MPLEx e análise por cromatografia gasosa (CG-MS) acoplada à espectrometria de massas. As análises dos alvos moleculares foram realizadas no programa SWISS TARGET, e as atividades biológicas foram realizadas por comparação no programa PASS online. O teste para taninos condensados e açúcares redutores foram. Na análise por CG-MS foram identificadas 18 substâncias pertencentes as classes dos ácidos graxos (50%), fenólicos (5,6%), e derivados terpênicos (44,4%). Os fenólicos são capazes de capturar os radicais livres. Polifenóis, ácidos graxos e terpenos são inibidores da tirosinase. Os taninos possuem ação antienvhecimento e despigmentante. Conclui-se que a espécie pode ter grande potencial clareador, já que em seus resultados apresentou os principais metabólitos secundários de atuação inibitória da hiperpigmentação cutânea.

Palavras-chave: *Calycophyllum spruceanum*, Etnofarmacologia, Hiperpigmentação.

Calycophyllum spruceanum (Benth.) K. Schum has records about its medicinal potential, such as anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, antiparasitic and anti-hyperpigmentant activity, but there are few studies that address the pharmacochemical aspects of the species. The study aims to evaluate the bleaching potential of the stem bark, in hyperpigmented spots, through the identification and selection of major compounds from the secondary metabolism of the plant. Tests were carried out for the detection of tannins and reducing sugars, MPLEx and analysis by gas chromatography (GC-MS) coupled with mass spectrometry. Molecular target analyzes were performed using the SWISS TARGET program and biological activity were performed by comparison using PASS online program. The test for condensed tannins and reducing sugars was. In the GC-MS analysis, 18 substances belonging to the classes of fatty acids (50%), phenolics (5.6%) and terpene derivatives (44.4%) were identified. Phenolics are able to capture free radicals. Polyphenols, fatty acids and terpenes are tyrosinase inhibitors. The tannins have an anti-aging and depigmenting action. It is concluded that the species may have a great whitening potential, since in its results it presented the main secondary metabolites of inhibitory action on cutaneous hyperpigmentation.

Keywords: *Calycophyllum spruceanum*, Ethnopharmacology, Hyperpigmentation.

1 INTRODUÇÃO

Calycophyllum spruceanum (Benth.) K. Schum., também conhecida popularmente como pau-mulato, mulateiro, escorrega-macaco e pau-marfim, é uma espécie arbórea, pertencente à família Rubiaceae e subfamília Cinchonoideae. A família Rubiaceae é a quarta em número de

espécies no mundo e abrange cerca de 13.000 espécies e 650 gêneros. No Brasil, foram registrados cerca de 130 gêneros e 1.500 espécies, na região amazônica, foram contabilizadas 258 espécies, sendo 174 endêmicas nos registros sobre a distribuição geográfica desta família [1,2]. A família Rubiaceae está atrelado os possíveis compostos responsáveis pela sua atividade biológica: iridóides, alcalóides, antraquinonas, derivados terpênicos e metabólitos provenientes dos compostos fenólicos, tendo destaque a produção de alcalóides bioativos [3,4].

Tem ocorrência em toda região amazônica, tendo incluso os países: Bolívia, Colômbia, Equador e Peru. No Brasil, tem prevalência principalmente em áreas de várzea, de pastagens ou áreas degradadas [5]. A espécie se dispersa amplamente ao longo de todo rio Amazonas e suas plântulas se fixam principalmente sobre solos argilosos e inundáveis. É caracterizada como perenifólia, heliófita ou esciófita e higrófito e, acredita-se que sua reprodução ocorre por meio de polinização cruzada, com sementes espalhadas pelo vento e pela água [6].

Na literatura científica, apresenta registros de suas propriedades medicinais, como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiparasitária, antimanchas entre outras, porém é evidente a insuficiência de estudos que abordam os aspectos fármaco-químicos da espécie. Ainda há lacunas referentes a comprovação destas atividades apontadas pelo conhecimento tradicional, justificando a necessidade da investigação científica sobre o seu uso [7]. Dentre as diversas formas de manipulação de sua casca, a principal é a utilização de chás ou infusões de aplicação tópica, que são indicados ao tratamento de processos inflamatórios, infecções cutâneas, proteção solar, preventor do envelhecimento precoce e tratamento manchas [8,9].

A hiperpigmentação é uma discromia comum caracterizada pela produção exacerbada de melanina, causada pela pré-disposição genética, exposição à radiação solar, gestação, dentre outros, que representa um problema estético levando ao aumento da procura por dermocosméticos. Desta forma, os fitofármacos surgem como uma das principais alternativas para o tratamento destas demandas dermatológicas, uma vez que oferecem menos efeitos colaterais, em relação a alguns aos fármacos presentes no mercado [10].

Embora não esteja incluída na lista de espécies em extinção, existe uma alta procura por seus produtos, seja para fins de uso na construção civil, uso ornamental, confecção de objetos e móveis ou mesmo o medicinal que pode ser de grande interesse para a indústria cosmética, o extrativismo predatório e a agricultura de corte e queima não devem ser descartados [11, 12].

Visando a possibilidade de um apontamento para a exploração sustentável da espécie, visto a sua importância econômica, o presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial clareador da casca do caule de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum, em manchas hiperpigmentadas, a partir da identificação de compostos provenientes do metabolismo secundário da planta., que possuam propriedades medicinais clareadoras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do material vegetal, preparação e obtenção dos extratos

Os testes e análises foram realizados no Laboratório de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular – LABSISBIO, da Universidade Federal do Pará – UFPA, localizado na porção sul da península de Belém, entre as coordenadas geográficas 1°28'18'' S de latitude e 48°27'09'' W de longitude. A matéria prima utilizada no experimento foram as cascas do caule de *C. spruceanum*. A amostra foi adquirida em setembro de 2022 e está depositada no herbário do IAN (Instituto Agrônomo do Norte), sob o número de acesso IAN195980.

O extrato hidroalcoólico foi preparado utilizando 400 ml da solução de etanol e água (8:2 v/v) adicionados em 240g do pó da casca com auxílio de Banho de Ultrassom em temperatura de 40 °C, durante 30 minutos, seguindo metodologias utilizadas no Laboratório de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular/Labsisbio da UFPA. Posteriormente, o material foi filtrado e novamente extraído, porém utilizando-se 300 ml da mesma solução. Este procedimento foi repetido mais duas vezes, totalizando 3 extrações. Em seguida a amostra foi seca por rotaevaporação (39°C/54mbar/-1°C), como demonstra a figura 1:



Figura 1. A - Amostra da casca do caule triturada. B – Filtragem do extrato após banho ultrassom. C – Secagem do extrato hidroalcolólico por rotaevaporação. Fonte: os autores

2.2 Teste para taninos condensados e hidrolisáveis

Para identificação de taninos condensados e hidrolisáveis utilizou-se 1 ml do extrato vegetal, aos quais foram adicionados 2 ml de água e 2 gotas de cloreto férrico (3%). Para a amostra de controle, foi adicionado 2 gotas de cloreto férrico (3%) a 2 ml de água destilada. Posteriormente Seguiu-se para repouso em temperatura ambiente. A presença de fenóis e taninos foi determinada pela mudança de coloração.

2.3 MPLEx (Metabolite, Protein, and Lipid extraction)

Em um tubo tipo *falcon* (15 ml) foi adicionado 350 mg da amostra seca e 4 ml da solução metanol e clorofórmio (1:2 v/v), que foi agitada em vórtex por 1 minuto, para solubilizar a amostra. Esta foi centrifugada três vezes, durante 5 minutos a 4.000 RPM, totalizando 15 minutos de centrifugação. A amostra diferenciou-se em três fases: aquosa, proteica e lipídica, as quais foram separadas e acondicionadas em outros três tubos distintos, apresentado na figura 2:

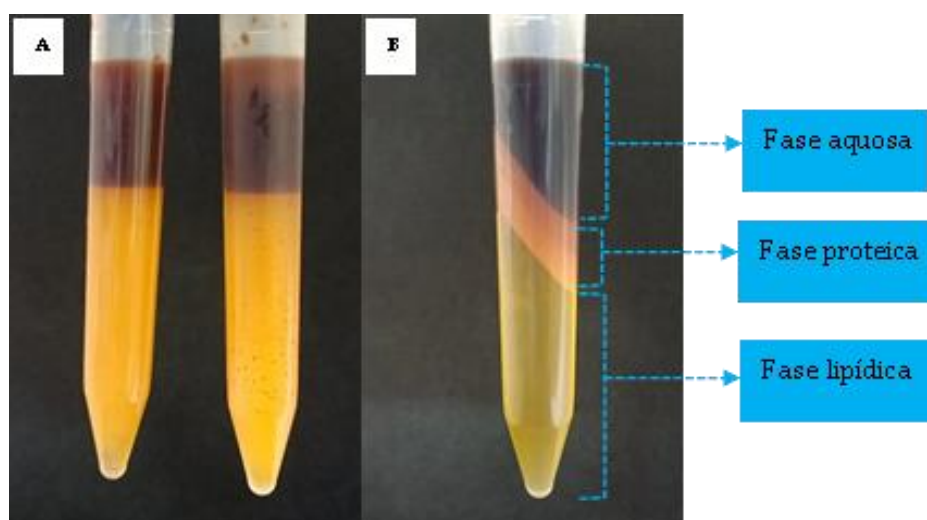


Figura 2: Extrato solubilizado em solução metanol e clorofórmio. B – Extrato solubilizado em solução metanol e clorofórmio após centrifugação, expressando a separação em 3 fases: aquosa, proteica e lipídica. Fonte: os autores

2.4 Teste para açúcares redutores

Em três tubos de ensaio distintos (Tb I, Tb II e Tb III) foram adicionados respectivamente: 15 mg da amostra seca da fase aquosa, 15 mg de sacarose e 2 ml de água (amostra de controle “branco”). Nos Tb I e Tb II foram adicionados 2 ml de água e 1 ml de ácido clorídrico, no Tb III, 1 ml de ácido clorídrico. Os três materiais foram postos em banho-maria, à 70 °C, por 30 minutos. Finalizado este processo, estas amostras foram alcalinizadas com 18 gotas de hidróxido de sódio, atingindo o pH 12. Às três amostras foram adicionadas 16 gotas do reagente de Benedict e levados novamente ao banho-maria por 5 minutos, à 70 °C. A presença açúcares redutores foi determinada pela mudança de coloração.

2.5 Obtenção do perfil químico, transesterificação e derivatização do extrato hidroalcolólico de *C. spruceanum*

Após aplicação do MPLEx, foram pesados 20 mg da amostra da fase lipídica e transferidas para tubos cônicos tipo *ependorff* (Tbx1) de volume 2 mL e submetidas aos processos transesterificação e derivatização.

Foi adicionado a amostra 100 µL de metóxido de potássio 2N e 1 gota de hexano para auxiliar no processo de solubilização e homogeneização, e agitou-se em vórtex durante 3 minutos. Em seguida, o material foi submetido a agitação assistida em banho ultrassom à temperatura de 60 °C, durante 15 minutos. Após o fim deste processo, a amostra foi resfriada por 30 segundos, antes de ser aberta e a ela foi adicionado 400 µL de n-Hexano, foi levada ao vórtex e agitada por mais 1 minuto, seguida de centrifugação à 10.000 RPM durante 2 minutos. O material orgânico (fração superior) resultante foi separado e transferido para um segundo tubo (Tbx2). Ao Tbx1, foi adicionado 110 µL de ácido clorídrico 2N e foi agitado no vórtex por 30 segundos. Posteriormente foi adicionado 400 µL de uma solução de Hexano e Clorofórmio (1:1 v/v), foi agitado no vórtex por 30 segundos e levado à centrifugação à 10.000 RPM durante 2 minutos.

A fração inferior da amostra (Tbx1) foi levada ao concentrador de amostras por 20 minutos e em seguida, iniciou-se a derivatização. Nesta, foram adicionados 50 µL do agente de silição N, O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) 99%, foi agitada no vórtex por 1 minuto, submetido a agitação assistida por ultrassom durante 10 minutos à temperatura de 60 °C e centrifugado à 10.000 RPM durante 2 minutos. A fração resultante foi acondicionada em frasco de vidro vial volume 2 ml e seguiu para análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM).

2.6 Análise por cromatografia gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM)

As análises em cromatografia gasosa foram realizadas através do uso de um Cromatógrafo Gasoso (CG) ThermoScientific Trace 1300 acoplado a um espectrômetro de massa (EM) ThermoScientific MS-ISQ Single Quadrupolo com auto-amostrador AI 1310, equipado com coluna capilar ZB-5HT (30m x 0,25mm x 0,1µm. As identificações das substâncias foram realizadas através da comparação dos espectros de massas com os das bibliotecas comerciais NIST2011, WILEY2009, FAMES2011.

2.7 Estudos *In silico*

O conceito *in silico* engloba investigações e simulações computacionais realizadas por meio de ferramentas acessíveis, muitas das quais são de livre utilização. Como resultado, a quimioinformática desempenha um papel significativo, facilitando a condução de etapas como o planejamento, a pesquisa e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Essas análises

demandam um período de tempo inferior em comparação aos procedimentos convencionais empregados na fabricação e aprimoramento de medicamentos. Além disso, elas acarretam em despesas significativamente menores, uma vez que as simulações computacionais realizam a seleção prévia dos compostos antes da síntese ser efetuada [13, 14].

Para o estudo *in silico* foram utilizados os programas SwissADME para predições alvos moleculares e o programa *PASS online* Prediction of activity spectra for substances (way2drug.com© 2011 versão 2.0 - 2021; Pass online, 2021) para predições das atividades biológicas. Utilizando essa ferramenta online de acesso aberto, foi possível antecipar os potenciais alvos farmacológicos dos compostos em análise. Essa ferramenta emprega uma abordagem que combina similaridade 2D e 3D com ligantes conhecidos, permitindo prever alvos moleculares de substâncias bioativas. Essas previsões abrangem uma variedade de cinco organismos distintos: *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Bos taurus* e *Equus caballus*. No conjunto, essa ferramenta oferece mais de 12 mil alvos possíveis, com aproximadamente 2,5 mil provenientes exclusivamente da espécie *Homo sapiens* [15].

Foram conduzidas análises físico-químicas por meio da comparação com substâncias, seguindo os critérios da regra de Lipinski, também conhecida como 'Regra dos Cinco'. Esses critérios estabelecem que uma molécula deve exibir cinco características específicas: a) Massa Molecular inferior a 500g/mol; b) máximo de 10 grupos *acceptores* de ligação de hidrogênio; c) máximo de 5 grupos doadores de ligação de hidrogênio; d) logP igual ou inferior a 5; além disso, um aspecto adicional relevante a ser considerado é a área de superfície polar menor ou igual a 140 Å [13]. Neste estudo também considerou-se uma molécula com boa permeabilidade cutânea, aquela que possui valor log K_p maior que - 2,5 cm/s [16].

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teor de rendimento

O rendimento do extrato hidroalcoólico, partindo de 240g iniciais, foram de 7,8g equivalente a 3,25%.

3.2 Testes para taninos condensados e hidrolisáveis

O teste para taninos hidrolisáveis gerou resultado negativo, comprovado pela ausência de precipitado de tonalidade azul, um indicativo da presença deste componente. O teste para taninos do tipo condensados gerou resultado positivo, apresentando a coloração marrom ou verde característica, como pode ser observado na figura 3 B:

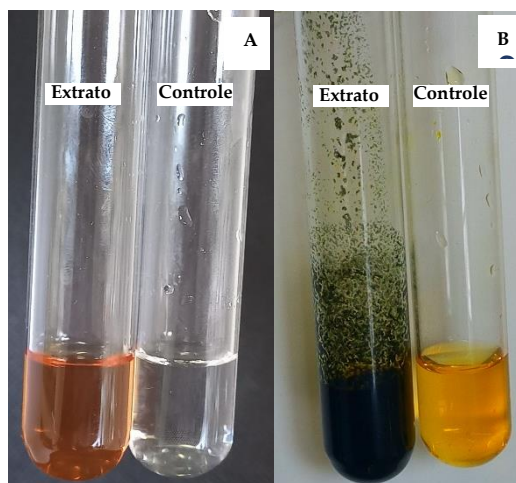


Figura 3. A – Extrato hidroalcoólico bruto e amostra de controle (água); B – Extrato e amostra de controle com adição do cloreto férrico em ambas, apresentando mudança de coloração característica do teste. Fonte: os autores

3.3 Testes para açúcares redutores

Os testes para açúcares redutores apresentaram resultado positivo para o extrato hidroalcoólico, demonstrado a partir da coloração verde e sobrenadante de coloração vermelha, que pode ser observado na figura 4 (amostra). O teste se torna positivo quando há mudança na coloração do reagente (azul), para um precipitado que vai do tom amarelo ao vermelho. Um precipitado de cor verde indica uma concentração em torno de 500 mg/dL de açúcar; amarelo concentração de 1.000 mg/dL de açúcar; laranja 1.500 mg/dL e vermelho indicam 2.000mg/dL ou mais [17, 18, 19].

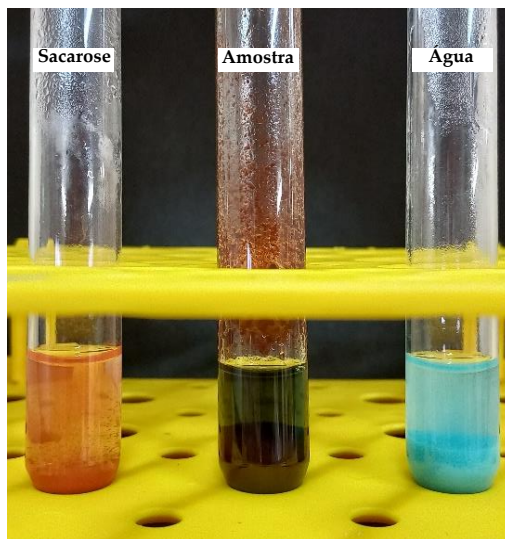


Figura 4. Resultado do ensaio para açúcares redutores, realizado com a amostra seca da fase aquosa e com amostras de controle (sacarose e água). Fonte: os autores

3.4. Perfil químico da fração lipídica da casca do caule de *Calycophyllum Spruceanum* por (CG-EM).

O perfil químico de *Calycophyllum spruceanum* permitiu identificar os principais compostos presentes, o que pode possibilitou efetuar comparações com as substâncias já descritas na literatura científica como potenciais agentes antioxidantes e clareadores

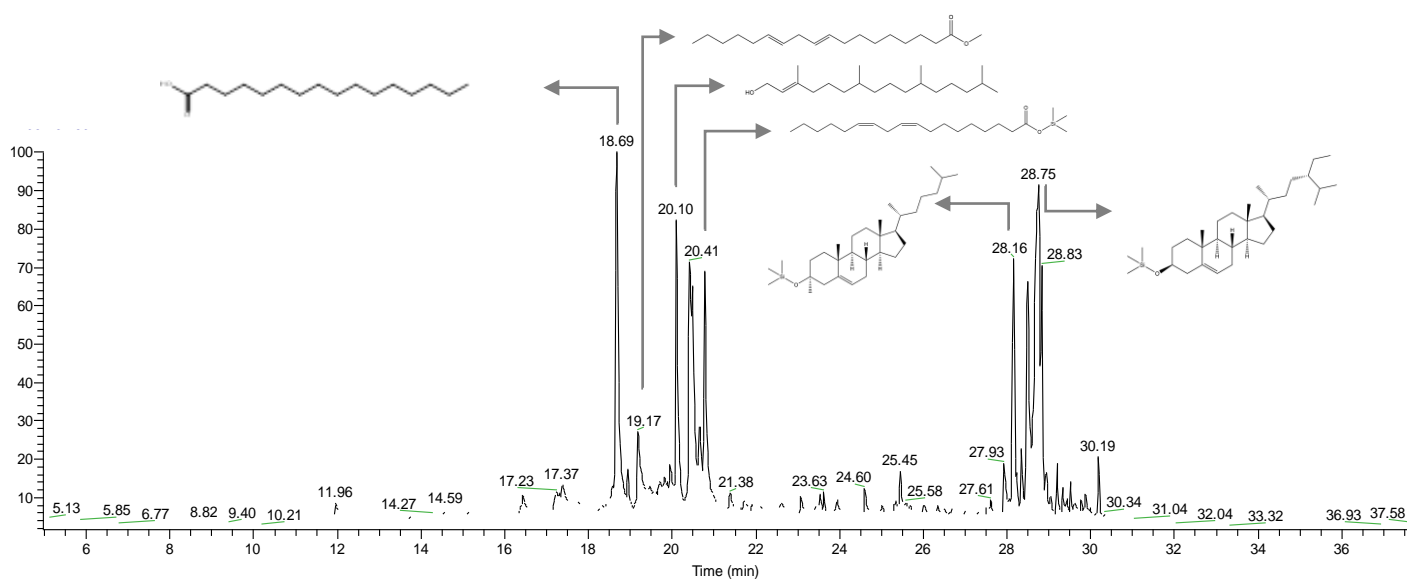


Figura 5. Perfil cromatográfico em CG/EM apresentando a fração lipídica da casca. Fonte: os autores

No cromatograma correspondente a figura 5, estão identificados os picos e as respectivas estruturas moleculares dos compostos majoritários referentes ao ácido hexadecanóico ou ácido palmítico (TR: 18,69), seguido do 9,12 metil octadecadienoico (TR: 19,17), fitol (TR: 20,10), ácido linoleico (TR: 20,41), metil colesterol trimetilsilil éter (TR: 28,16), sistosterol trimetilsilil éter (TR: 28,75) e mono trimetilsilil delta 16-pregnenolona (TR: 28,83).

No presente cromatograma, cada pico identificado corresponde a uma substância, que varia de acordo com o tempo de retenção (em minutos) e área relativa (em porcentagem). A análise permitiu a identificação de 18 substâncias, definidas através da correlação realizada entre a espectrometria de massas e os espectros presentes na biblioteca espectral (NIST Mass Spectral Library) acoplada ao software do equipamento, expressos na Tabela 1:

Tabela 1. Identificação dos constituintes presentes na fração lipídica da casca do caule de Calycophyllum Spruceanum após derivatização, detectados por CG-MS

PICOS	TR	CONSTITUINTES	ÁREA%
1	11,96	2,4-di terc butilfenol	1,98
2	16,43	Ácido tetradecanóico TMS Éster	1,06
3	17,37	Ácido hexadecanóico, Metil Éster	2,46
4	17,72	Ácido eicosanóico Metil Éster	0,89
5	18,69	Ácido hexadecanóico TMS Éster	13,06
6	19,17	9,12 metil octadecadienoico	4,33
7	20,10	Fitol TMS	8,13
8	20,41	Ácido linoleico TMS Éster	5,72
9	20,48	Ácido oleico TMS Éster	7,30
10	20,78	Ácido octadecanóico TMS Éster	5,70
11	23,94	Éster 2,3-bis[(trimetilsilil) oxi] propílico de ácido hexadecanóico	0,93
12	25,45	Esqualeno	1,98
13	27,93	Ergost-5-en-3-ol	1,39
14	28,16	Metil colesterol trimetilsilil Éter	5,86
15	28,50	Estigmast-5-en-3-ol	7,18
16	28,75	Sitosterol trimetilsilil Éter	15,75
17	28,83	Mono trimetilsilil delta 16-pregnenolona	4,38
18	29,52	Sitosterol trimetilsilil Éter	0,95

TR – Tempo de retenção

Os compostos identificados apresentam grande variabilidade de grupos e classes de metabólitos secundários. Nos compostos majoritários foram observados ácidos graxos saturados e insaturados (50%), derivados terpênicos (44,4%) e fenólicos (5,6%), como demonstra a Tabela 2:

Tabela 2. Distribuição e classificação dos compostos identificados por CG-MS

Compostos	Classificação	Sub classificação
Ácido tetradecanóico TMS Éster	Ácidos graxos	Saturado
Ácido hexadecanóico, Metil Éster		Insaturado
Ácido eicosanóico Metil Éster		Saturado
Ácido hexadecanóico TMS Éster		Saturado
9,12 Éster metílico octadecadienóico		Insaturado
Ácido linoleico TMS Éster		Poliinsaturado
Ácido oleico TMS Éster		Monoinsaturado
Ácido octadecanóico TMS Éster		Insaturado
Éster 2,3-bis[(trimetilsilil) oxi] propílico de ácido hexadecanóico		-
Fitol TMS	Derivados terpênicos	Diterpenóide
Esqualeno		Triterpenóide
Ergost-5-en-3-ol		Esteróide
Metil colesterol trimetilsilil Éter		-
Estigmast-5-en-3-ol		Esteróide
Sitosterol trimetilsilil Éter		Esteróide
Mono trimetilsilil delta 16-pregnenolona		Triterpenóide
2,4-di terc butifenol	Fenolicos	-

3.5 Análises *in silico*

A tabela 3 demonstra que os compostos possuem resultados que estão dentro do ponto de corte determinada pela regra dos cinco de Lipinsk [20], exceto pelo coeficiente de partição octanol-água do sitosterol, que está acima do preconizado, porém, pela avaliação conjunta dos resultados, é possível inferir que o composto teoricamente é apto para ser utilizado como fármaco.

Tabela 3: análise teórica das propriedades físico-químicas do Ácido palmítico, Fitol e Sitosterol

Compostos	Aceptores de ligação de hidrogênio (nALH)	Doadores de ligação de hidrogênio (nDLH)	Massa molecular (MM)	Coefficiente de partição octanol-água (log P)	Área de superfície polar (PSA)	Absorção cutânea
Ácido palmítico	2	1	256.42 g/mol	3.85	37.30 Å ²	Moderada
Fitol	1	1	296.53 g/mol	4.85	20.23 Å ²	Alta
Sitosterol	1	1	426.72 g/mol	5.24	20.23 Å ²	Alta

Fitol e Sitosterol apresentaram alta permeabilidade cutânea (>2,5 cm/s), com log k_p de -2,2 cm/s e -2,4 cm/s respectivamente. Sitosterol apresentou-se com log k_p de 2,7 cm/s, considerada uma absorção baixa/moderada, que pode ser relacionada ao seu coeficiente de partição octano-água, que possui valor superior em relação às demais substâncias, inferindo-se também que este possua características mais hidrofílicas.

A fim de que um medicamento seja adequadamente absorvido pela pele, é fundamental que ele tenha propriedades lipofílicas, o que possibilita sua difusão passiva através das diversas camadas cutâneas. A avaliação dos parâmetros de permeabilidade cutânea é de grande relevância, pois envolve a análise da taxa de penetração de moléculas no estrato córneo, com o propósito de estabelecer o potencial para desenvolver uma forma de administração transdérmica de fármacos [21, 22].

Os compostos analisados apresentam uma variedade de atividades biológicas demonstrando diferenças entre si, apontados na tabela 4:

Tabela 4: *predições das atividades biológicas*

Composto	Nome da atividade
Ácido palmítico	Inibidor da acilcarnitina
Fitol	Inibidor do retinol
Sitosterol	Anti-hipercolesterolêmico Hipolipidêmico Hepatoprotetor

A seguir, as figuras 6, 7 e 8 apresentam o radar de biodisponibilidade do Ácido palmítico, fitol e sitosterol usando o preditor SwissADME.

Figura 6: *Ácido palmítico*

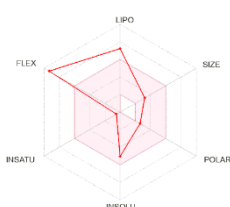


Figura 7: *Fitol*

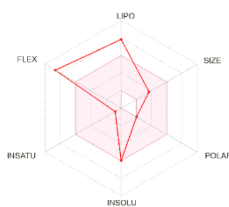
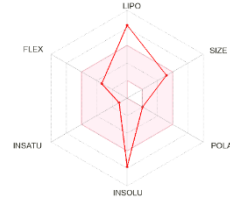


Figura 8: *Sitosterol*



As Figuras 6, 7 e 8 demonstram que o radar de biodisponibilidade predita para os compostos majoritários, revelado pela zona colorida, é o melhor indicador de espaço físico-químico para biodisponibilidade quando são considerados lipofilicidade, saturação, tamanho, flexibilidade, polaridade e solubilidade. LogP pode ter lipofilicidade de -0,7 a +5,0. O peso molecular pode estar entre 150 e 500 (g/mol). Entre 20 e 130 Å está o TPSA. A insolubilidade logS varia de 0 a 6. O número de ligações rotativas deve variar de 0 a 9 e a fração de insaturação varia de 0,25 a 1,0, indicando que a fração de átomos de carbono na hibridização sp³ não pode ser inferior a 0,25.

Entre as três substâncias se destaca o Fitol, cujos parâmetros indicam que é moderadamente solúvel em água com logP (4,85), logS (-5,98), e com uma permeabilidade cutânea igual a -2,29 cm/s. Esses atributos mostram que esse composto pode ser usado como princípio ativo em formulações de uso tópico.

A predição das atividades biológicas do ácido palmítico demonstrou que o composto tem ação de inibir a acilcarnitina, substância que está envolvida no controle da oxidação dos ácidos graxos, é antioxidante e neuroprotetora [23]. Tem sido demonstrado que o ácido palmítico também é capaz de recrutar citocinas pró-inflamatórias, nos casos em que a pele já está lesionada. Inibir a acilcarnitina pode ser uma alternativa para garantir a homeostasia da pele [24].

Outra atividade apresentada foi a inibição do retinol pelo fitol. Apesar do retinol promover a renovação celular da pele e ampliar a produção de colágeno, ele também apresenta alguns eventos adversos durante seu uso, como o risco de despigmentação, principalmente em pessoas de pele negra [25].

Os fenóis compreendem taninos, flavonóides e polifenóis. Os compostos fenólicos são capazes de capturar os radicais livres que podem levar ao estresse oxidativo celular, que está associado ao envelhecimento celular. Os polifenóis apresentam-se como a maior classe de substâncias inibidoras da tirosinase. Diferenças nos anéis oxigenados heterocíclicos determinam o potencial de inibição da tirosinase. Os taninos também possuem ação antienvhecimento e possuem grande potencial despigmentante e rejuvenescedor, devido aos seus feitos antioxidantes [26].

A solubilidade desempenha um papel crucial na eficácia dos fármacos no organismo, determinando a quantidade necessária para alcançar a resposta farmacológica desejada. Essa medida se expressa numericamente pela concentração do soluto em uma solução saturada, a uma temperatura específica, e de forma qualitativa pela interação espontânea entre substâncias, resultando em uma dispersão molecular análoga. Quando o soluto atinge equilíbrio com o solvente, forma-se uma solução saturada. A solubilidade de um fármaco representa a concentração máxima alcançada em um solvente, considerando fatores como temperatura, pH e pressão. Embora a solubilidade em uma solução saturada seja uma propriedade estática, a taxa de dissolução do fármaco é dinâmica e diretamente relacionada à sua biodisponibilidade [27].

Os açúcares redutores têm ação nas vias metabólicas do organismo vegetal, indicando o estado da fotossíntese ou capacidade de migração destes compostos para outros tecidos. Em estado de altas taxas metabólicas, o vegetal aumenta seu potencial antioxidante, uma vez que estes conseguem agregar os principais carboidratos para o organismo [28].

Os ácidos graxos são considerados componentes primordiais da epiderme, sendo responsáveis por regular a síntese de melanina a partir de vias biossintéticas, déficits destes ácidos podem levar à perda da barreira de proteção da pele. Alguns ácidos graxos insaturados como palmítico e esteárico têm a função de estimular a melanogênese, em via oposta, os ácidos graxos insaturados como ácido oleico (ômega 9), linoleico (ácido 9-12-octadecadienoico ou ômega 6) e ácido α -linolênico (ômega 3) promovem a inibição da tirosinase por meio deterioração das proteases. Os ácidos linoleico e α -linolênico atuam inibindo a melanina dos melanócitos ativos e posteriormente aceleram a renovação celular resultando na descamação epidérmica e, conseqüentemente, da melanina hiperdepositada in loco [29 30].

Os compostos esteroidais (derivados terpênicos) são muito comuns e abundantes em espécies vegetais e tem papel fundamental no metabolismo das plantas [31]. São substâncias de baixo peso molecular, derivadas do colesterol, com atividades de inibição de melanócitos, antioxidante, anti-inflamatória, inibição de quimiocinas, inibidor da 5-lipoxigenase que leva ao aumento da permeabilidade vascular, diminuindo a migração de agentes pró-inflamatórios, contribuindo para uma cicatrização mais rápida [32, 33].

A hiperpigmentação é ocasionada por vários fatores, dentre eles pode ocorrer após um processo inflamatório mediado por quimiocinas, como uma resposta reativa decorrente da produção anormal de melanina ou a partir da exposição à radiação ultravioleta, que induz os queranócitos a secretarem α -MSH (Hormônio Estimulante de alfa-Melanócitos) levando à melanogênese [34, 35]. Portanto, associa-se a atividade anti-inflamatória dos esteróides à inibição da hiperpigmentação por intervir diretamente nas quimiocinas e conseqüentemente na síntese de melanina.

Os fenólicos são os agentes de clareamento de manchas mais amplamente difundidos, fato atribuído a sua atividade inibidora de tirosinase (enzima chave na biossíntese de melanina) e são caracterizados por apresentar ao menos um grupo hidroxila ligado a um anel aromático onde a quantidade e a localização dos grupos hidroxila interferem diretamente na atividade inibitória da enzima. Atuam como agentes quelantes, inativando íons metálicos ou outros compostos residuais, estimulam a renovação celular promovida pela perda de melanina, acelerando o processo de epidermopoiese ou reduzindo o estresse oxidativo pela inibição de espécies reativas de oxigênio [36].

CONCLUSÃO

Nos resultados qualitativos, *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum apresentou os principais compostos que possuem atuação inibitória na hiperpigmentação cutânea, como fenólicos, tanininos, polifenóis, entre outros que tem ação antioxidante e fotoprotetora. Os resultados das análises por CG-MS demonstraram que a maioria de seus constituintes são de ácidos graxos, seguido de derivados terpênicos e um composto fenólico. Todos são apontados na literatura científica como substâncias importantes no tratamento de manchas hiperpigmentadas, atuando através do mecanismo de inibição de melanócitos ou da enzima tirosinase. Alguns ácidos graxos insaturados presentes nesta análise, como o hexadecanóico (ácido palmítico) e octadecanóico

(ácido esteárico) possuem ação estimuladora da melanogênese, isto pode sugerir que a espécie também tem potencial de manter o equilíbrio na produção de melanina, uma vez que o estímulo contínuo de inibição do pigmento pode ocasionar o efeito reverso, resultando na despigmentação da pele. Assim posto, conclui-se que a espécie *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum pode ter potencial clareador sobre manchas hiperpigmentadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Robbrecht, E. Tropical woody Rubiaceae characteristic features and progressions. Contributions to a new subfamilial classification. Opera Botanica Belgica 1988, 1,1-271.
- 2 Margalho, L.F.; Rocha, A.E.S. da; Secco, R de S. Rubiaceae Juss. da restinga da APA de Algodual/Maiandeuá, Maracanã, Pará, Brasil. Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais 2009, Belém, 4, 4303-339.
- 3 Zuleta, L.M.C; Cavalheiro, A.J. Silva, D.H.S.; Furlan, M; Jovem, M.C.M.; Albuquerque; Castro-Gramboa, I.; Bolzani, V.S. Seco-iridoids from *Calycophyllum spruceanum* (Rubiaceae). Phytochemistry 2003, 64, 549-553.
- 4 Martins, D.; Nunez, C.V. Secondary metabolites from Rubiaceae species. Molecules 2015, 20, 13422-13495.
- 5 Revila, J. *Plantas da Amazônia: oportunidades econômicas e sustentáveis*. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000, 405.
- 6 Russell, J.R.; Weber, J.C; Booth, A.; Powell, W.; Sotelo-Montes, C.; Dawson, I.K. Genetic variation of *Calycophyllum spruceanum* in the Peruvian Amazon Basin, revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. Molecular Ecology 1999, 8, 199-204.
- 7 Perin, E.C.; Fontoura, B.H.; Lima, V.; Carpes, S. RGB pattern of images allows rapid and efficient prediction of antioxidant potential in *Calycophyllum spruceanum* barks. Arabian Journal of Chemistry 2020, 13, 7104-7114
- 8 Silva, A.P.Z.B.; Amorim, R.M.F.; Lopes, R.F.; Mota, M.R.L.; Silva, F.M.A.; Koolen, H.H.F.; Lima, E.S. Assreuy, A.M.S. Cunha, R.M. *Calycophyllum spruceanum* BENTH ameliorates acute inflammation in mice. Journal of ethnopharmacology, 2018, 219, 103-109.
- 9 Duke, J.A.; Godwin, M.; Ottesen, A. Duke's handbook of medicinal plants of latin america. *Imprensa CRQ*; Boca Raton-FL, EUA: 2009.
- 10 Medeiros, J.K.G.; Neves, W.W.; Moura, N.M.de; Medina, W.S.G. Combinação Terapêutica no Tratamento do Melasma. *Guidarte Enfermagem*, 2016, 10, 180-187.
- 11 Araújo, B. H. P.; Sousa, M.A.R. de; Nascimento, H.E.M.; Zanuncio, A.J.V.; Rodrigues, D.M. de S. Guedes, M.C. Propriedades físicas da madeira de *Calycophyllum spruceanum* Benth. em função do diâmetro e da posição (base e topo) no fuste. *Scientia Forestalis* 2016, 44, 759-768.
- 12 Peixoto, H.; Roxo, M.; Koolen, H.; Silva, F. da.; Silva, E.; Braun, M.S. Wang, X. Wink. *Calycophyllum spruceanum* (Benth.), the Amazonian "Tree of Youth" prolongs longevity and enhances stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. Molecules 2018, 23.
- 13 Moda, T. L. Desenvolvimento de modelos *in silico* de propriedades ADME para tiragem de novos candidatos a fármacos. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Física Biomolecular) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.
- 14 Ekins, S.; Mestres, J.; Testa, B. In silico pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. *British Journal of Pharmacology*, 2007, 152, 1, 21-37.
- 15 Gfeller, D.; Grosdidier, A.; Wirth, M.; Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. Swiss Target Prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42, 32-38.

- 16 Awadelkareem, A. M., Al-Shammari, E., Elkhalfa, A. E. O., Adnan, M., Siddiqui, A. J., Snoussi, M., Ashraf, S. A. Phytochemical and *In Silico* ADME/Tox Analysis of *Eruca sativa* Extract with Antioxidant, Antibacterial and Anticancer Potential against Caco-2 and HCT-116 Colorectal Carcinoma Cell Lines. *Molécules*, 2022, 27, 4, 1409.
- 17 Carvalho, W. L. Determinação de açúcares redutores na urina utilizando o reagente Benedict. 54^a Congresso Brasileiro de Química. Rio Grande do Norte. 2014.
- 18 Oliveira, R.O.; Santa Maria, L.C.; Merçón, F.; Aguiar, M.R.M.P. Preparo e emprego do reagente de Benedict na análise de açúcares: uma proposta para o ensino de química orgânica. *Quím. Nova Escola*. 2006, 23, 41-42.
- 19 Figueira, A.C.M.; Rocha, J.B.T. Açúcares redutores no ensino superior: atividades baseadas na resolução de problemas. *Exper Ensino Ciênc*. 2012, 7, 79-85.
- 20 Lipinsk, C. A., Lombardo, F, Dominy, B. W., Feeney, P. J. Experimental and computacional approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23, 1, 3-25.
- 21 Awadelkareem, A. M., Al-Shammari, E., Elkhalfa, A. E. O., Adnan, M., Siddiqui, A. J., Snoussi, M., Ashraf, S. A. Phytochemical and *In Silico* ADME/Tox Analysis of *Eruca sativa* Extract with Antioxidant, Antibacterial and Anticancer Potential against Caco-2 and HCT-116 Colorectal Carcinoma Cell Lines. *Molécules*, 2022, 27, 4, 1409.
- 22 Silva Chagas, C. K.; Rolim, C. E. L.; Martins, H. P. Dos S.; Dolabela, M. F. In silico study of phenolic compounds isolated from *Inga laurina*. *Research, Society and Development*, 2022, 11, 2, e24511225592
- 23 Yamashita AS, Lira FS, Lima WP, Carnevali Jr. LC, Gonçalves DC, Tavares FL, et al. Influência do treinamento físico aeróbio no transporte mitocondrial de ácidos graxos de cadeia longa no músculo esquelético: papel do complexo carnitina palmitoil transferase. *Rev Bras Med Esporte [Internet]*. 2008, 14, 2, 150–4. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1517-86922008000200013>
- 24 Tabri F, Anwar A. I, Massi N, Patellongi I. J, Anwar R. Perfil de ingestão de gorduras livres em pacientes com acne vulgar. *Dermatologia Cirúrgica e Cosmética [Internet]*. 2018, 10, 2, 108-112. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=265557850003>
- 25 Michalak, M., Pierzak, M., Kręcisz, B., Suliga, E. Bioactive Compounds for Skin Health: A Review. *Nutrients*, 2021, 13, 1, 203.
- 26 Silva, D. B. Avaliação da atividade do extrato hidroetanólico das cascas de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. F. ex. Schum sobre enzimas de aplicação cosmética. 2012, 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Amazonas - Manaus: UFAM, 2012.
- 27 Jain, P., Goel A., Sharma, S., Parmar M. Solubility enhancement techniques with special emphasis on hydrotrophy. *International Journal of Pharma Professional's Research*, 2010, 1, 1, 34-45.
- 28 Marzzoco, A.; Torres, B. *Bioquímica básica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- 29 Kose, A. Chemical composition and tyrosinase inhibitory activities of fatty acids obtained from heterotrophic microalgae *S. limacinum* and *C. cohnii*. *Appl Biochem Biotechnol.*, 2023, 195, 369–385.
- 30 Ando, H.; Ryu, A.; Hashimoto, A.; Oka, M.; Ichihashi, M. Linoleic acid and α linolenic acid lightens ultraviolet-induced hyperpigmentation of the skin. *Arch Dermatol Res*, 1998, 290, 375–381.
- 31 Heftmann, E. Functions of steroids in plants. *Phytochemistry*, 1975, 14, 891-901, 1975.

- 32 Patel, S.S.; Savjani, J.K. Systematic review of plant steroids as potential antiinflammatory agents: Current status and future perspectives. *The Journal of Phytopharmacology* 2015, 4, 121-125
- 33 Sultan, A.; Raza, A.R. Steroids: A Diverse Class of Secondary Metabolites. *Medicinal chemistry* 2015, 5, 310-317.
- 34 Shenoy, A.; Madan, R. Post-Inflammatory Hyperpigmentation: A Review of Treatment Strategies. *J Drugs Dermatol.*, 2020, 9, 763-768.
- 35 Kanlayavattanakul, M.; Lourith, N. Plants and Natural Products for the Treatment of Skin Hyperpigmentation-A Review. *Planta Med.*, 2018, 84, 988-1006
- 36 Panzella, L.; Napolitano, A. Natural and bioinspired phenolic compounds as tyrosinase inhibitors for the treatment of skin hyperpigmentation: Recent Advances. *Cosmetics* 2019, 6, 57. <https://doi.org/10.3390/cosmetics6040057>.
- .

CONCLUSÃO GERAL

A investigação sobre *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) K. Schum revelou uma gama significativa de compostos presentes na planta com potencial impacto na hiperpigmentação cutânea. Esta espécie, conhecida por suas propriedades medicinais, especialmente em tratamentos dermatológicos, foi alvo de análises que visou entender melhor suas capacidades clareadoras. Os resultados obtidos revelaram a presença predominante de compostos como ácidos graxos, derivados terpênicos e fenólicos na casca do caule de *C. spruceanum*. Esses componentes possuem reconhecido potencial antioxidante, fotoprotetor e inibitório da hiperpigmentação. Os ácidos graxos insaturados, como o ácido palmítico e esteárico, mostraram propriedades estimuladoras da melanogênese, sugerindo um equilíbrio na regulação da produção de melanina pela planta. A identificação desses compostos, alinhada às análises físico-químicas e *in silico*, destacou o potencial dessas substâncias como agentes clareadores eficazes para manchas hiperpigmentadas. O estudo demonstrou que os compostos presentes na planta possuem características que favorecem a permeabilidade cutânea, indicando sua viabilidade para uso tópico em formulações dermatológicas. Os fenólicos, como os taninos, flavonoides e polifenóis, além dos ácidos graxos e esteroidais, desempenham papéis cruciais na inibição da tirosinase, enzima-chave na produção de melanina. Sua ação antioxidante, anti-inflamatória e de renovação celular foi identificada como um mecanismo potencial para o clareamento da pele. A análise *in silico* permitiu antecipar potenciais alvos moleculares dos compostos identificados, reforçando suas atividades biológicas relacionadas à inibição da hiperpigmentação cutânea. Isso oferece uma perspectiva promissora para o desenvolvimento de tratamentos dermatológicos mais eficazes, baseados em compostos naturais, com menor propensão a efeitos colaterais indesejados. Contudo, apesar dos avanços e das promissoras descobertas, é crucial ressaltar a necessidade contínua de mais estudos e ensaios clínicos para validar o potencial terapêutico da *C. spruceanum* no tratamento de manchas hiperpigmentadas. A confirmação da eficácia desses compostos demanda uma investigação mais aprofundada, considerando diferentes concentrações, formulações e condições de aplicação. Além disso, a preservação sustentável dessa espécie é fundamental, especialmente devido à alta demanda por seus produtos. Estratégias de manejo ecológico e políticas de conservação são

necessárias para evitar práticas extrativistas prejudiciais que possam impactar negativamente sua existência. Em síntese, os resultados obtidos até o momento proporcionam uma visão promissora do potencial clareador da *C. spruceanum* em manchas hiperpigmentadas. No entanto, há uma necessidade urgente de mais pesquisas, validações clínicas e medidas de conservação para garantir a utilização responsável e eficaz desses recursos naturais.



Universidade do Estado do Pará
Centro de Ciências Naturais e Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, Recursos Naturais e
Sustentabilidade na Amazônia PPGTEC – Mestrado
Tv. Enéas Pinheiro, 2626, Marco, Belém-PA, CEP: 66095-100
<http://ccnt.uepa.br/ppgtec/>

