Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.02, 2024
ISSN 2178-6925

AVALIAÇÃO DO FATOR DE FOTOPROTEÇÃO SOLAR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia*: UM ESTUDO *IN VITRO* E *IN SILICO*

EVALUATION OF THE SOLAR PHOTOPROTECTION FACTOR OF *Melaleuca alternifolia* ESSENTIAL OIL: AN *IN VITRO* E *IN SILICO* STUDY

Piettra de Sá Calixto da Cruz
Graduanda em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – Brasil.

Abrahão Alves de Oliveira Filho
Professor da curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – Brasil.

Maria das Graças Veloso Marinho de Almeira
Professora do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande – Brasil.

Ana Caroline Rodrigues
Graduada em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – Brasil.

Lara Mayanne Moreira de Oliveira Nóbrega
Graduanda em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – Brasil.

Aleson Pereira de Sousa
Graduado em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – Brasil.

Resumo: O sol, fonte de luz para o planeta Terra, possui extrema importância para a manutenção da vida humana, animal e vegetal, e se divide em luz visível, radiação infravermelha e ultravioleta. Os raios UV correspondem a cerca de 3-5% da emissão solar que alcança o planeta e, apesar de sua grande importância, a exposição excessiva a essa radiação, sem proteção adequada, pode acarretar diversas consequências negativas pro ser humano. Os filtros solares surgiram quando se percebeu que algumas substâncias possuem propriedades fotoprotetoras e são capazes de prevenir tais consequências. Essas substâncias podem ter origem de plantas medicinais, como a *Melaleuca alternifolia,* cujo óleo essencial tem propriedades anti-inflamatória, antioxidante e analgésica. Esse trabalho tem o objetivo de avaliar o fator de fotoproteção solar *in silico* e *in vitro* do óleo essencial da *Melaleuca alternifolia.* O estudo foi realizado a partir da espectofotometria da substância teste feita a partir do óleo e da avaliação das atividades biológicas de seu principal componente. Os resultados mostraram valores de FPS positivos ao determinado pela ANVISA e probabilidade de atividade radioprotetora e antioxidante. Concluiu-se que óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresenta bom potencial fotoprotetor.

Palavras-chave: Câncer oral**,** Fitoterapia, Óleo essencial, Fator de proteção solar.

Abstract: The sun, a source of light for the planet, is extremely important for the maintenance of human's, animal's and plant's lives, and it is classified in visible light, infrared and ultraviolet radiation. UV rays are around 3 to 5% of the solar emission that reaches Earth and, despite their great importance, excessive exposure to this radiation, without adequate protection, can lead to several negative consequences for humans. Sunscreens emerged when it society realized that some substances have photoprotective properties and are capable of preventing such consequences. These substances may originate from medicinal plants, such as *Melaleuca alternifolia*, whose essential oil has anti-inflammatory, antioxidant and analgesic properties. This work aims to evaluate the *in silico* and *in vitro* solar photoprotection factor of *Melaleuca alternifólia*'s essential oil. This study was made trough a spectrophotometry test of the oil, evaluating the biological activities of its main component. The results showed positive FPS values, as determined by ANVISA, and probability of radioprotective and antioxidant activity. It was concluded that *Melaleuca alternifolia*'s essential oil has good photoprotective potential.

Keywords: Oral cancer, Phytotherapy, Essential oil, Sun protection factor.

1. INTRODUÇÃO

Radiação é uma forma de energia que, após ser emitida por uma fonte, pode ser transmitida através do vácuo, do ar ou de meios materiais, sendo dividida em: corpuscular e eletromagnética. A classificação das radiações ainda pode ir mais além, se dividindo em: ionizantes – quando são capazes de remover elétrons de valência de um átomo – e não ionizantes, quando são capazes de excitar átomos, mas não de mudar sua estrutura (OKUNO; YOSHIMURA, 2010).

O sol, fonte de luz para o planeta Terra, possui extrema importância para a manutenção da vida humana, animal e vegetal, sendo um elemento fundamental para a fotossíntese e para alguns processos fisiológicos, como a produção de vitamina D. A radiação emitida por essa estrela é classificada como eletromagnética e não ionizante, apresentando um espectro formado pelas radiações ultravioleta (UV), visível (λ entre 400 a 800 nm) e infravermelha (λ acima de 800 nm) (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012). Os raios UV correspondem a cerca de 3-5% da emissão solar que alcança o planeta e são ondas invisíveis aos olhos, pois possuem pequenos comprimentos de onda (LOPES; SOUSA; LIBERA, 2017).

E apesar de sua grande importância, a exposição às radiações UV sem proteção adequada pode acarretar diversas consequências negativas. Os danos podem variar de leves a severos e incluem mudanças degenerativas na elastina e no

colágeno da pele, queimaduras, inflamações e mutações genéticas. À medida que a melanina da derme e da epiderme absorve a radiação, reações nas moléculas de DNA e RNA são causadas de forma desordena, podem alterar sua estrutura e função. O acúmulo e replicação desses erros genéticos é o que leva o desenvolvimento de algumas lesões benignas, exemplo: queilite actínica, que se não tratadas podem progredir para câncer (LOPES; SOUSA; LIBERA, 2017).

Os filtros solares surgiram quando se percebeu que algumas substâncias possuem propriedades fotoprotetoras e capazes de prevenir o eritema causado pela exposição excessiva, esses produtos foram criados com a intenção de reduzir a quantidade de radiação UV absorvida pela pele (ARAÚJO; SOUZA, 2008). Baseado no mecanismo de ação, esses protetores são divididos em agentes orgânicos ou inorgânicos. Também conhecidos como bloqueadores físicos, os filtros inorgânicos são compostos de elementos metálicos e agem refletindo e dispersando os raios UV, enquanto os químicos são compostos por moléculas orgânicas, produzidas por plantas medicinais, capazes de transformar a radiação de alta energia para uma inofensiva e de baixa energia (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012).

Dentre as diversas famílias do reino vegetal destaca-se a família Myrtaceae, onde encontramos o gênero Melaleuca que contém cerca de 230 espécies, sendo uma delas a *Melaleuca alternifolia*. Seu óleo essencial é extraído por arraste em vapor das folhas e dos ramos terminais desta planta, conhecido como *Tea tree oil* (TTO), pode ser usado como princípio ativo de diversos produtos terapêuticos. O óleo essencial da *Melaleuca alternifolia*, segundo estudos clínicos já realizados, apresenta alguns atributos interessantes, dentre eles as propriedades anti-inflamatória, antioxidante e analgésica (SILVA *et al.,* 2019). Com base no exposto a respeito do potencial biológico da *Melaleuca alternifolia* em evitar o eritema, o ardor, o edema e o estresse oxidativo causados pela exposição à radiação ultravioleta, torna-se relevante a investigação desse composto como agente orgânico para a futura criação de protetores solares químicos. Esse trabalho tem por objetivo avaliar o fator de fotoproteção solar in silico e in vitro do óleo essencial da Melaleuca alternifolia.

2. METODOLOGIA

2.1 Substância teste

O óleo essencial de *Malaleuca alternifolia* foi adquirido na Quinarí, Ponta Grossa - PR. Para a realização dos ensaios farmacológicos, a substância foi solubilizada em DMSO e diluída em água destilada. A concentração de DMSO (dimetilsulfóxido) utilizada foi inferior a 0,1% v/v. O projeto seguiu as normas do CGEN - Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, cadastrado na plataforma SISGEN sob o número de protocolo A333035.

2.2 Ensaios *in silico*

O estudo do potencial radioprotetor dos componentes majoritários do óleo essencial foi feito utilizando o software *PASS Online*. A Previsão do espectro de atividade para substâncias (PASS) online é um software destinado para avaliar o potencial biológico geral de uma molécula orgânica sobre o organismo humano, em especial, o potencial radioprotetor. Este programa fornece previsões simultâneas de muitos tipos de atividades biológicas com base na estrutura dos compostos orgânicos. O espectro de atividade biológica de um composto químico é o conjunto de diferentes tipos de atividade biológica, que refletem os resultados de interação do composto com várias entidades biológicas. O *PASS Online* dá várias facetas da ação biológica de um composto, obtendo os índices Pa (probabilidade "de ser ativo") e Pi (probabilidade "de ser inativo") estimando a categorização de um composto potencial em ser pertencente à subclasse de compostos ativos ou inativos, respectivamente (SRINIVAS *et al.,* 2014).

2.3 Ensaios *in vitro*

2.3.1 Espectrofotometria na região do ultravioleta

A espectrofotometria de absorção do óleo de *Melaleuca alternifolia* aconteceu no espectro da radiação ultravioleta, assim realizando varreduras de 290 a 320nm (em intervalos de 5 nm) com duração de 5 minutos, sendo que ao término desse tempo foi efetuado a mensuração da absorbância, como também, a leitura da água destilada (solvente) para regular 0% de absorbância a cada varredura. Dessa forma, utilizou-se o espectrofotômetro com cubeta de quartzo de 1cm e todo o experimento ocorreu a uma temperatura de 23°C.

2.3.2 Cálculo do FPS

Após a mensuração das absorbâncias, os dados foram submetidos à equação de Mansur e colaboradores (1986) para aferir o FPS *in vitro*. Esse método coloca em lista o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação (EE X I) que foram medidos por Sayre e colaboradores (1979). Esses são demostrados na tabela 01, logo abaixo:

Tabela 01 – Relação efeito eritemogênico (EE) versus intensidade da radiação (I) conforme o comprimento de onda (ƛ):

λ/nm	EE x I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Fonte: Sayre *et al.* (1979).

Sendo que a equação de Mansur et al., 1986, é também composta pela leitura espectrofotométrica da absorbância da solução e fator de correção (= 10). Essa fórmula pode ser observada, a seguir:

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

Na qual: FPS = fator de proteção solar; FC = fator de correção, calculado de acordo com dois filtros solares de FPS conhecidos e testados em seres humanos de tal forma que um creme contendo 8% de homossalato resultasse no FPS 4; EE(ƛ) = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda; I (ƛ) = a intensidade da luz solar no comprimento de onda e Abs (ƛ) = a absorbância da formulação no comprimento de onda.

2.3.3 Análise estatística

Todas as análises e testes foram realizados em duplicata, onde os dados foram tratados por regressão linear simples através do método *one-way ANOVA*, bem como por meio da utilização do *teste t de Student*. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando apresentarem $p<0,05$. A análise estatística foi feita utilizando o software *GraphPad Prism 5.0®.*

3. RESULTADOS

Os resultados da análise *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS) do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* podem ser observados na Tabela 02.

Tabela 02 – Valores de FPS do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* em diferentes concentrações:

Melaleuca	50µg/ mL	100µg/mL	500µg/ mL	1000µg/ mL
FPS	6,02	6,39	6,65	9,06

Fonte: dados da pesquisa.

Para todas as concentrações, o FPS do óleo foi maior que 6. O melhor efeito foi observado quando a substância teste se encontrava em sua maior concentração: 1000µg/mL.

A análise *in silico* do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* através do *PASS Online* considerou seu componente de maior concentração, o terpinen-4-ol, que demonstrou resultados positivos, como pode ser observado na Tabela 03.

Tabela 03 – Atividades farmacológicas *in silico* do monoterpeno terpinen-4-ol, de acordo com o programa *PASS online:*

TERPINEN-4-OL	Pa	Pi
Potencial Radioprotetor	0,264	0,103
Potencial Antioxidante	0,151	0,102

Fonte: dados da pesquisa.

O potencial radioprotetor do terpinen-4-ol apresentou probabilidade de "ser ativo" maior que a probabilidade de "ser inativo", assim como seu potencial antioxidante. Esses dois fatores sendo de suma importância na avaliação da atividade fotoprotetora.

4. DISCUSSÃO

Na Resolução da Diretoria Colegiada nº 30 de 2012, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária definiu Fator de Proteção Solar (FPS) como valor obtido pela razão entre a dose mínima eritematosa em uma pele protegida por um protetor solar e a dose mínima eritematosa na mesma pele quando desprotegida. Nessa mesma resolução, a ANVISA determinou que o valor de 6 como fator de proteção solar mínimo para um produto. Segundo os resultados obtidos no estudo *in vitro*, o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresenta fator de proteção solar.

Outros pesquisas *in vitro* analisaram diferentes plantas da família Myrtaceae e demonstraram uma associação desse grupo com o potencial fotoprotetor. O estudo de Gomes *et al.* (2022) avaliou o extrato etanólico das folhas de *Psidium guajava* e revelou que a substância possui FPS 29,79 na concentração de 500 µg/mL. Enquanto a pesquisa de Morais *et al.* (2021) avaliou a atividade fotoprotetora do extrato hexânico de *Psidium guineense sw.* a substância-teste apresentou valores de FPS acima de 20 para as concentrações de 500 e 1000 µg/mL.

Os óleos essenciais são constituídos principalmente por terpenos, compostos que são formados pela condensação de unidades de isopreno e denominados terpenoides quando contém oxigênio, e classificados pela quantidade de carbonos que contêm (TOSCAN, 2010). Segundo os estudos de CASTELO *et al.* (2013) e MOREIRA (2010), o terpinen-4-ol ($C_{10}H_{18}O$) é o monoterpeno principal constituinte do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e o principal responsável por suas propriedades terapêuticas. No estudo *in silico* foram analisadas as possíveis atividades farmacológicas que esse terpeno apresenta e as suas possíveis aplicações.

O estudo de Anthony *et al.* em 2012 revelou que a família Myrtaceae está entre as oito famílias botânicas que apresentaram óleos essenciais com maior atividade antioxidante, sendo essa a família a qual a *Melaleuca alternifolia* pertence. O potencial antioxidante de um óleo diz respeito a sua capacidade de proteger as

células de danos radicais, servindo como agentes quimiopreventivos, inibindo a geração de radicais livres e desempenhando um papel importante na neutralização dos danos oxidativos causados por esses radicais (ANTHONY *et al.*, 2012). O estresse oxidativo contribui para o enfraquecimento do sistema imunológico e desenvolvimento de alguns problemas sistêmicos, por exemplo: câncer, inflamações, catarata e envelhecimento precoce (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Outros monoterpenos também já demonstraram possuir boa probabilidade de atividade antioxidante, como por exemplo o 7-Hidroxicitronelal, que no estudo *in silico* de Silva *et al.* em 2017 apresentou Pa = 0,239. O Timol, o Linalol e o 1,8-Cineol são alguns monoterpenos que também demonstram potencial antioxidante, como evindeciou a pesquisa de Stashenko *et al*. (2014) que comparou a atividade química e antioxidante dos óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia*.

5. CONCLUSÃO

Considerando os estudos realizados e a literatura pré-existente, pode-se concluir que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresenta boa propensão para atividade fotoprotetora. Portanto, é valido continuar a estudar essa substância e realizar outros estudos, como o *in vivo*, para a sua aplicação em fórmulas já conhecidas, no intuito de potencializa-las e melhorar o efeito que apresentam.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Plantas medicinais e fitoterápicos: Uma resposta nacional**, Curitiba, Brasil, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 13 abr. 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 30**, de 1 de Junho de 2012. Disponívelem: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0030_01_06_2012.html. Acesso em: 29 jan. 2023.

ANTHONY, Kevin; DEOLU-SOBOGUN, Suziat; SALEH, Mahmoud. Comprehensive assessment of antioxidant activity of essential oils. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 77, n. 8, ago. 2012. DOI https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02795.x. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22809068/. Acesso em: 27 maio

2023.

ARAÚJO, T.S.; SOUZA, S.O. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia Plena**, [s. l.], v. 4, n. 11, nov. 2008. Disponível em: https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/721. Acesso em: 11 abr. 2022.

CASTELO, A. V. M. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, na região do Distrito Federal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 143-147, 2013. DOI 10.5039/agraria.v8i1a2397. Disponível em: http://www.agraria.pro.br/ojs32/index.php/RBCA/article/view/v8i1a2397/892. Acesso em: 10 abr. 2023.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 61-68, 1 mar. 1997. DOI https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014. Disponível em: https://www.scielo.br/j/ramb/a/FBtqwzvhJhcCgRbYZtp4yTQ/. Acesso em: 31 maio 2023.

GOMES, Edilene de Souza Santos *et al.* Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* do Extrato Etanólico das Folhas de *Psidium guajava* (Myrtaceae). **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 1-8, 6 jul. 2022. DOI https://doi.org/10.51161/rems/3390. Disponível em: https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rems/article/view/3390. Acesso em: 30 maio 2023.

LOPES, F. M.; CRUZ, R. O.; BATISTA, K.A.. Radiação ultravioleta e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 183-199, 2012. DOI https://doi.org/1 0 . 1 7 9 2 1 / 1 4 1 5 - 6 9 3 8 . 2 0 1 2 v 1 6 n 4 p % 2 5 p . D i s p o n í v e l e m : h t t p s : / /ensaioseciencia.pgsskroton.com.br/article/view/2780. Acesso em: 11 abr. 2022.

LOPES, L. G.; SOUSA, C. F.; LIBERA, L.S.D. Efeitos biológicos da radiação ultravioleta e seu papel na carcinogênese de pele: uma revisão. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 117-146, 11 jul. 2018. DOI https://doi.org/10.36607/refacer.v7i1.3327. Disponível em: http://periodicos.unievangelica.edu.br/index.php/refacer/article/view/3327. Acesso em: 11 abr. 2022.

MORAIS, Sheyliane Rego *et al*. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora do extrato hexânico de Psidium araçá (*Psidium guineense sw*.). **Archives of Health Investigation**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 1028-1031, 1 jul. 2021. DOI https://doi.org/1 0 . 2 1 2 7 0 / a r c h i . v 1 0 i 7 . 5 3 0 9 . D i s p o n í v e l e m : h t t p s : / /www.archhealthinvestigation.com.br/ArcHI/article/view/5309. Acesso em: 29 maio

2023.

MOREIRA, Tatiana Maria de Souza. **ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CITOTOXICIDADE E ALVOS DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Melaleuca alternifolia Cheel* (MYRTACEAE) E DE *Plinia cauliflora (Mart.) Kausel* (MYRTACEAE).** Orientador: Profa. Dra. Rosemeire C. L. R. Pietro. 2010. 158 p. Tese (PósGraduação em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2010. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/handle/11449/104770?show=full. Acesso em: 10 abr. 2023.

OKUNO, E.; YOSHIMURA, E. M. **Física das Radiações**. 1. ed. [S. l.]: Oficina de Textos, jan. 2010. 296 p. ISBN 8579750059. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=TSaPDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=radia%C3%A7%C3%A3o+o+que+%C3%A9&ots=MiDPUeLjfa&sig=Fq3bOSPZx7P5SDpUWuXI3qY948E#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 11 abr. 2022.

SILVA, L. L. *et al.* Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*): Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 2, n. 6, p. 6011-6021, nov/dez. 2019. DOI https://doi.org/10.34119/bjhrv2n6-094. Disponível em: https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/5488. Acesso em: 12 abr. 2022.

SILVA, Marcus Antônio Bezerra *et al*. Bioprospecção dos potenciais farmacológicos do monoterpeno 7- hidroxicitronelal: Ensaios *in silico*. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, Pombal, v. 7, n. 2, p. 72-76, abr-jun. 2017. DOI http://dx.doi.org/10.18378/rebes.v7i2.4898. Disponível em: https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/REBES/article/view/4898/4513. Acesso em: 4 jun. 2023.

STASHENKO, Elena E. Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género Lippia (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. **Rev. Acad. Colomb. Cienc.**, [S. l.], v. 38, p. 89-105, 28 nov. 2014. DOI https://doi.org/10.18257/raccefyn.156. Disponível em: https://repositorio.accefyn.org.co/handle/001/829. Acesso em: 4 jun. 2023.

TOSCAN, Cristiane Menegotto. **Atividade Antimicrobiana e Antioxidante de Terpenoides.** Orientador: Profa. Dra. Ana Paula Longaray Delamare. 2010. 84 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010. Disponível em: https://repositorio.ucs.br/xmlui/handle/11338/564. Acesso em: 4 jun. 2023