



## APLICAÇÕES DE SOLVENTES VERDES NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE ESPÉCIES DO CERRADO

Verônica C. Reis<sup>1</sup>; Yonah F. Gérios<sup>2</sup>; Bianca F. Gonçalves<sup>3</sup>; Karla S. Malaquias<sup>4</sup>; Claudinei A. Silva<sup>5</sup>; Liliane Nebo<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Discente, Curso de Química, Universidade Federal de Jataí/UFJ, e-mail: veronicacosta@dicente.ufj.edu.br

<sup>2</sup>Discente, PPGQ/ICET, Universidade Federal de Jataí, e-mail: yonah.favero@hotmail.com

<sup>3</sup>Discente, PPGQ/ICET, Universidade Federal de Jataí, e-mail: biancafeconcalves@gmail.com

<sup>4</sup>Docente Colaborador, Curso de Química/ICET, Universidade Federal de Jataí, e-mail: ksmalaquias@ufj.edu.br

<sup>5</sup>Docente Colaborador, Curso de Química/PPGQ/ICET, Universidade Federal de Jataí, e-mail: clalvess@ufj.edu.br

<sup>6</sup>Orientadora, Curso de Química/PPGQ/ICET, Universidade Federal de Jataí, e-mail: liliane\_nebo@ufj.edu.br

**Palavras-Chave:** Solventes eutéticos naturais profundos (NADES); fotoproteção; Química Verde

### Introdução

As plantas medicinais têm sido utilizadas por milênios em todo o mundo para a prevenção e tratamento de diversas doenças, sendo uma rica fonte de metabólitos com potencial terapêutico (ZIMILA, *et al.*, 2020; ROSSI, *et al.*, 2021).

O Brasil, com sua vasta biodiversidade, é um dos países mais ricos em espécies de plantas medicinais. A vegetação brasileira, que abrange biomas como Cerrado e Caatinga, oferece um potencial imenso para a extração de substâncias bioativas, utilizadas no tratamento de diversas enfermidades e na fabricação de medicamentos e cosméticos (FERNANDES; SCAPIN, 2020; SÁ-FILHO, *et al.*, 2021)

As plantas formam um rico arsenal de produtos químicos, orgânicos e inorgânicos, com diferentes potenciais para exploração pelo homem (PEDROSO; ANDRADE; PIRES, 2021). Em suas estruturas, encontram-se elementos bioativos, como alcaloides, flavonoides, terpenoides, glicosídeos e saponinas, entre outros (MIRANDA, *et al.*, 2019).

A extração dessas substâncias é essencial não apenas para a obtenção de antioxidantes naturais, mas também para diversas outras aplicações terapêuticas e industriais. Tradicionalmente, esses componentes, como os fenólicos, são extraídos por métodos convencionais de extração sólido-líquido utilizando solventes orgânicos. No entanto, os solventes orgânicos apresentam várias desvantagens, como toxicidade, alta volatilidade, inflamabilidade e a necessidade de grandes volumes, o que tem motivado a busca por alternativas mais seguras e sustentáveis, em consonância com os princípios da Química Verde (AYRES, *et al.*, 2024; CABRERA, *et al.*, 2024).

Dentro desse contexto, os Solventes Eutéticos Naturais Profundos (NADES) surgem como uma alternativa inovadora. Os NADES são formados pela combinação de compostos naturais, como açúcares, ureia ou derivados de colina, aminoácidos, ácidos orgânicos, resultando em uma mistura com ponto de fusão inferior ao dos compostos originais (CABRERA, *et al.*, 2024; SANTANA, *et al.*, 2021). Essa característica, juntamente com outras vantagens, como baixa volatilidade, biodegradabilidade, estabilidade térmica, não inflamabilidade, baixa toxicidade, viscosidade ajustável e facilidade de preparo, torna os NADES ideais para a extração de bioativos, alinhando-se perfeitamente aos princípios da Química Verde (AYRES, *et al.*, 2024; GRISALES-MEJÍA, *et al.*, 2024).

Dessa forma, essas propriedades fazem dos NADES uma opção atraente para substituir os solventes orgânicos convencionais na extração de compostos bioativos de fontes naturais, promovendo processos mais sustentáveis e eficientes na indústria de produtos farmacêuticos e

biotecnológicos, contribuindo assim não só para a preservação do meio ambiente, mas também para o uso sustentável dos recursos vegetais do país.

O presente trabalho tem como objetivo preparar os extratos das folhas da espécie botânica *Caryocar brasiliense* bem como estudar novas formas de extração com solventes naturais eutéticos profundos (NADES) e realizar a avaliação da atividade fotoprotetora dos extratos obtidos.

### Material e Métodos

Na preparação dos NADES, foram utilizados os materiais e instrumentos: béquer, bastão de vidro, algodão, micropipetador, ponteiros, eppendorfs, Erlenmeyer, peixinho, pipeta de vidro, termômetro, agitador magnético, tubo Falcon, balança analítica, espectrofotômetro UV-VIS ultrassom, centrífuga refrigerada, Vortex, triturador e refrigerador.

Foram utilizadas as folhas secas e trituradas (material vegetal) da espécie *C. brasiliense* e os reagentes usados nas preparações dos NADES e nas extrações foram: acetato de amônio, acetato de sódio, cloreto de colina, ácido oxálico, ácido tartárico, etilenoglicol, glicerina, ácido etílico e água destilada.

### Coleta das folhas do *C. brasiliense* e preparação dos NADES

O material botânico de *C. brasiliense* foi coletado, depositado na exsicata do Herbário Jataiense. Em seguida foram secas, trituradas e armazenadas em ambiente refrigerado. Foram preparados 10 NADES, cada um composto por um doador (HBD) e um acceptor de ligação de hidrogênio (HBA), conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Combinações de HBD e HBA para as preparações dos NADES.

NADES	HBD	HBA	Proporções
1	Etilenoglicol	Acetato de amônio	1:1
2	Ácido tartárico		3:1
3	Ácido oxálico		3:1
4	Etilenoglicol	Acetato de sódio	3:1
5	Ácido tartárico		3:1
6	Ácido oxálico		3:1
7	Ácido tartárico	Cloreto de Colina	3:1
8	Ácido oxálico		3:1
9	Ácido oxálico		1:1
10	Glicerina		1:1 (20 % de água)

Os NADES foram preparados misturando-se dois componentes e aquecendo-os no ultrassom a 60°C por 20 minutos, até obter uma solução homogênea. Armazenaram-se em Tubos Falcon envoltos em papel alumínio e foram guardados em refrigerador sem iluminação. O procedimento foi realizado em triplicata para cada NADES.

### Extração dos metabólitos secundários das folhas de *C. brasiliense*

Foram pesados 200 mg de material vegetal e colocados em um tubo Falcon com 3,2 mL do NADES 10 e 0,8 mL de água destilada. O tubo Falcon foi agitado no Vortex por 1 minuto e levado ao ultrassom por 90 minutos a 40°C. Para comparação, foi realizada a extração usando 80% de álcool etílico/água, seguindo a metodologia descrita anteriormente. Após os 90 minutos, os tubos foram centrifugados por 40 minutos a 6000 rpm. Por fim, os extratos foram filtrados e armazenados em eppendorfs, em local refrigerado.

### Análise Fotoprotetora

Os testes de fotoproteção in vitro seguiram a metodologia de Mansur et al. (1986), usando espectrofotômetro na faixa de 290-320 nm. Preparou-se uma solução de 1 mg/mL a

partir do extrato (50 mg/mL de material vegetal seco) e avaliou-se amostras nas concentrações de 100 e 50 µg/mL. Como branco, utilizou-se o solvente extrator NADES 10 e etanol. A análise foi feita em triplicata, e o FPS foi calculado conforme a Equação 1.

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

(Equação 1)

Onde: EE ( $\lambda$ ) – espectro de efeito eritemal; I ( $\lambda$ ) – espectro de intensidade solar; Abs ( $\lambda$ ) – absorvância do produto protetor solar; FC – fator de correção (=10) (MANSUR *et al.*, 1986). Os valores de EE x I são constantes e são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Função de produto normalizado utilizada no cálculo de FPS (SAYRE *et al.*, 1979).

Comprimento de onda ( $\lambda$ /nm)	EE x I (normalizado)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

EE – espectro de efeito eritematoso; I – espectro de intensidade solar

## Resultados e Discussão

Foram testados 10 diferentes NADES e entre essas formulações, apenas uma resultou em uma mistura eutética estável. Com esse NADES bem-sucedido, foi realizada a extração utilizando o material vegetal *C. brasiliense*, e a análise fotoprotetora foi conduzida exclusivamente com esse NADES.

## Preparação dos NADES

Os NADES vem se destacando por ser um novo tipo de solvente verde, mais sustentável que os solventes orgânicos convencionais. As principais utilizações dos NADES como solventes extratores derivam de sua alta seletividade, permitindo a extração de compostos polares e apolares, fazendo dos NADES uma opção superior a outros solventes convencionais (MANUELA, *et al.*, 2020).

Na síntese dos NADES, não há necessidade de solventes extras ou produção de subprodutos, o que resulta em um material altamente biodegradável (SANTANA, *et al.*, 2021). Ademais, os NADES apresentam vantagens como preparo simples, estabilização de solutos, baixa toxicidade, sustentabilidade, além de permitir ajustes na viscosidade e densidade. (SRIVASTAVA, *et al.*, 2021).

Foram combinados em diferentes proporções um HBD e HBA para a preparação de 10 tipos de NADES. Dentre as formulações, 9 deles não funcionaram, enquanto apenas um funcionou como uma mistura eutética (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resultados obtidos das formulações dos NADES.

NADES	Mistura Eutética	Características	Resultados
1	Sim	Presença de amônia	Descartado
2,3,4,5,6,7,8	Não	Não houve interação entre os componentes	Não funcionaram
9	Sim	Não estável	Não funcionou
10	Sim	Estável	Funcionou

Conforme apresentado na Tabela 4, entre as 10 formulações, apenas uma atingiu o resultado desejado, destacando-se como um solvente estético profundo natural, formando uma mistura eutética estável em temperatura ambiente.

Solventes Eutéticos Profundos Naturais (NADES) são constituídos por combinações de sais e/ou substâncias que se tornam líquidos mesmo a baixas temperaturas e com pontos de fusão reduzidos (CHOI *et al.*, 2011). Esses solventes são caracterizados por terem um ponto de fusão inferior ao dos componentes individuais que os formam, configurando-se como uma mistura eutética. Assim, a mistura passa do estado sólido para o líquido a temperatura ambiente (NYSTEDT, GRØNLIEN, TØNNESE, 2021).

A não formação de um NADES pode ser atribuída a vários fatores, como proporções dos componentes, a estabilidade, o ponto de fusão e a viscosidade. A quantidade de água usada é importante, pois seu excesso pode interferir nas interações entre moléculas e alterar a estabilidade da mistura (CHOI, VERPOORTE, 2019). NADES com baixa viscosidade aumentam a difusividade das moléculas, melhorando a eficiência do processo de extração (SANTANA *et al.*, 2021).

A viscosidade também desempenha um papel significativo na eficiência da extração com solventes eutéticos profundos naturais. NADES com alta viscosidade podem dificultar a transferência de solventes e de massa durante a extração (USMANI *et al.*, 2023). Por outro lado, NADES com baixa viscosidade aumentam a difusividade das moléculas, permitindo um movimento mais livre e, conseqüentemente, melhorando a eficiência do processo de extração (SANTANA *et al.*, 2021).

#### **Extração dos metabólitos secundários das folhas de *C. brasiliense***

O NADES 10, que apresentou uma mistura eutética, foi selecionado para a extração de metabólitos secundários da espécie *C. brasiliense*. A extração com 80% etanol/água também foi realizada como comparativa. Ambas extrações foram feitas em triplicata, utilizando as massas de material vegetal (Tabela 4).

Os extratos foram preparados a partir dessas massas, com concentração de 50 mg de material vegetal por mL. O volume médio obtido foi de cerca de 2,0 mL e os extratos foram armazenados em ambiente refrigerado.

**Tabela 4.** Massas das folhas do *C. brasiliense* utilizadas para extração dos metabólitos secundários utilizando NADES 10 e solvente extrator etanol.

Solventes	Folhas <i>C. brasiliense</i> - Material vegetal (g)		
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
NADES 10	0,20	0,20	0,20
80% etanol em água	0,20	0,20	0,20

#### **Análise Fotoprotetora**

As amostras foram analisadas nas concentrações de 100 e 50 µg/mL, conforme apresentado na Tabela 5. Durante a varredura, foram obtidos os valores de absorvância das amostras para essas concentrações em comprimentos de onda que variam de 290 a 320 nm. Posteriormente, os fatores de proteção solar (FPS) foram calculados para cada amostra analisada, utilizando a Equação 1. Os resultados estão detalhados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Dados dos fatores de proteção solar (FPS) para a amostra do *C. brasiliense*.

Concentrações (µg/mL)	Fator de Proteção Solar (FPS)									
	NADES			Média	Desvio Padrão	80% etanol em água			Média	Desvio Padrão
100	7,53	7,81	8,08	7,81 ±	0,224	5,58	6,91	6,50	6,33 ±	0,556
50	4,61	4,41	4,62	4,51 ±	0,097	3,37	3,97	3,73	3,69 ±	0,247

Os efeitos nocivos da radiação solar, predominantemente nas regiões UVB e UVA, incluem queimaduras solares e envelhecimento precoce da pele, além de serem implicados no câncer de pele. O uso de protetores solares é essencial para reduzir esses riscos (DUTRA, *et al.*, 2004).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 5, os valores de FPS variaram entre 4 e 8. Com base na RESOLUÇÃO - RDC Nº 30, de 1º de junho de 2012, que regulamenta protetores solares em cosméticos, o fator mínimo de proteção solar estabelecido é 6. A Tabela 6 indica que as extrações utilizando NADES apresentaram valores dentro do intervalo aceitável de 7,0 – 8,5 para a concentração de 100 µg/mL, demonstrando uma eficiência adequada do solvente verde. Em contraste, as extrações realizadas com 80% etanol/água resultaram em valores abaixo do recomendado, variando entre 5,0 – 7,0, o que sugere uma menor eficácia deste sistema de solvente na extração dos compostos de interesse. Para as concentrações de 50 µg/mL, os NADES também obtiveram valores de FPS maiores que o etanol.

Um estudo conduzido por Srivastava *et al.*, (2024) desenvolveu dois tipos de NADES: (A) formulado a partir de ácido acético e ácido n-decanóico na proporção de 1:2; e (B) ácido acético e timol na proporção de 1:3. Os resultados revelaram que esses NADES foram mais eficientes do que o etanol na extração de fitoquímicos específicos das folhas de *Aegle marmelos*.

Conforme a rotulagem estabelecida na resolução mencionada, valores de FPS entre 6,0 e 14,9 indicam uma proteção baixa, sendo recomendados para pele pouco sensível a queimaduras solares. Comparando esses valores com dados da literatura, observamos que estão relativamente próximos. Por exemplo, um estudo realizado por Santos *et al.*, (2021) sobre a atividade fotoprotetora do extrato aquoso de *Tamarindus indica* L. encontrou valores de FPS de 6,19 e 12,77 para concentrações de 50 e 500 µg/mL, respectivamente.

Embora os valores de FPS obtidos para as concentrações analisadas sejam baixos, os resultados sugerem a presença de substâncias bioativas na espécie *C. brasiliense*, indicando que esta planta possui propriedades fotoprotetoras.

A espécie *C. brasiliense* vem sendo estudada e reconhecida por seu elevado potencial antioxidante. Em um estudo recente, foi realizada uma caracterização dos metabólitos secundários presentes no extrato foliar desta planta, onde foram identificados 25 compostos, incluindo taninos, triterpenos, saponinas, lipídios e flavonoides. Esses compostos estão fortemente associados à atividade antioxidante, sendo que 11 deles foram identificados como flavonoides. Os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, são notoriamente conhecidos por suas potentes propriedades antioxidantes, atribuídas à sua capacidade de neutralizar radicais livres (TEIXEIRA, *et al.*, 2022).

Novos estudos apontam que os extratos de espécies vegetais são comumente utilizados como adjuvantes farmacêuticos, pois contribuem como componente auxiliares, que podem

atuar tanto no aumento da fotoproteção quanto na ação antioxidante, atuando diretamente no desenvolvimento de um cosmético.

## Conclusões

O uso de um Solvente Eutéctico Profundo Natural (NADES) demonstra um potencial significativo na extração de metabólitos secundários das folhas de *C. brasiliense*, apontando ser mais eficiente que a extração convencional. Isso evidencia a importância de utilizar solventes verdes na extração de compostos bioativos, alinhando-se às práticas de química verde. Embora os valores de Fator de Proteção Solar (FPS) obtidos sejam entre 4 a 8, os resultados indicam a presença de substâncias bioativas com propriedades fotoprotetoras em *C. brasiliense*, sugerindo o potencial dessa planta para aplicações futuras em produtos de proteção solar e antioxidante. Portanto, o uso de NADES representa uma abordagem sustentável na obtenção de compostos bioativos a partir de espécies vegetais.

## Agradecimentos

Ao Programa de Iniciação Científica PIBIC/CNPQ/UFJ e CAPES.

## Referências

- Ayres, B. L., et al. Predicting the formation of NADES using a transformer-based model. *Scientific Reports*, v. 14, n. 2715, 2024. DOI:| <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27106-w>].
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 30, de 1º de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 jun. 2012. Seção 1, p. 66-68.
- Cabrera, L.; Xavier, L.; Zecchi, B. Extraction of phenolic compounds with antioxidant activity from olive pomace using natural deep eutectic solvents: modelling and optimization by response surface methodology. *Discover Food*, v. 4, n. 29, 2024. DOI: | <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00100-z>].
- Choi, Y. H. *et al.* Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *American Society of Plant Biologists*, v. 156, p. 1701–1705, 2011.
- Choi, Y. H.; Verpoorte, R. Solventes verdes para a extração de compostos bioativos de produtos naturais usando líquidos iônicos e solventes eutécticos profundo. *Food Science Opinião Atual em Ciência Alimentar*, v. 26, p.87-93, 2019.
- Dutra, A. E. *et al.* Determinação do fator de proteção solar (FPS) de protetores solares por radiação ultravioleta espectrofotometria. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 40, n. 3, jul./set., 2004.
- Fernandes, N. M. R.; SCAPIN, E. Plantas típicas do Cerrado brasileiro usada como inibidores da acetilcolinesterase: uma revisão sistemática. *Revista Desafios*, v. 7, n.3, 2020.
- Grisales-mejía, F. J. et al. Advanced NADES-based extraction processes for the recovery of phenolic compounds from Hass avocado residues: A sustainable valorization strategy. *Separation and Purification Technology*, v. 351, 2024, 128104.
- Mansur, J. S.; Breder, M. N. R.; Mansur, M. C. A.; Azulay, R. D. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, v. 61, p. 121-124, 1986.
- Miranda, O. P. H. *et al.* Perfil químico e atividades biológicas do gênero *Caryocar*: Uma revisão de literatura. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, v.7, n., 2019.
- Nystedt, L. H.; Grønlien, K. G.; Tønnesen, H. H. Interactions of natural deep eutectic solvents (NADES) with artificial and natural membranes. *Journal of Molecular Liquids*, v. 328, p. 115452, 2020.
- Manuela, P. et al. Biological activity and sensory evaluation of cocoa by- products NADES extracts used in food fortification. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 66, 2020.



Pedroso, S. R.; Andrade, G.; Pires, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, e310218, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310218>].

Rossi, S. P. H. *et al.* Biodiversidade das Plantas Medicinais: benefícios e riscos. **Revista Pubsáude**, v.5, p.139, 2021. DOI: <https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude5.a139>.

Sá- filho, F. G. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, e140101321096, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21096>].

Santana, R. P. A. *et al.* Solventes eutéticos naturais profundos (NADES) no preparo de amostras de rocha fosfática e suplemento mineral para determinação elementar por técnicas de plasma. **Quim. Nova**, v. 44, n. 6, p. 689-695, 2021.

Santos, B. Análise fitoquímica e avaliação da atividade fotoprotetora do extrato aquoso de *Tamarindus indica* L. (Tamarindo). **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 9, p. e25810917985, 2021. DOI: [10.33448/rsd-v10i9.17985](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17985)].

Sayre, R. M.; Agin, P. P.; Levee, G. J.; Marlowe, E. A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. **Photochemistry and Photobiology**, v. 29, n. 3, p. 559-566, 1979.

Srivastava, R. *et al.* Desvendando o potencial de solventes eutéticos profundos naturais hidrofóbicos à base de ácido acético para extração fitoquímica. **Jornal de Líquidos Moleculares**, v. 408, p.125314, 2024.

Teixeira, C. E. *et al.* Rapid characterization of secondary metabolites in *Caryocar brasiliense* leaf extract and antiradical activity. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, vol. 34, n. 6, p. 473-479, 2022. DOI: [10.9755/ejfa.2022.v34.i6.2874](https://doi.org/10.9755/ejfa.2022.v34.i6.2874)].

USMANI, Z. Biobased natural deep eutectic system as versatile solvents: Structure, interaction and advanced applications. **Science of the Total Environment**, v. 881, p. 163002, 2023.

Zimila, E. H. *et al.* Phytochemical analysis and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of hydroalcoholic extracts of the leaves of *Salacia kraussii*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 30, 2020, 101862.