

## DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH E PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DA ESPÉCIE *Cróton argyrophylloides* Muell Arg.

Saskya Araújo Fonseca<sup>1</sup>

Sâmea Keise de Oliveira Silva<sup>2</sup>

Aldenir Feitosa Dos Santos<sup>3</sup>

Thiago José Matos Rocha<sup>4</sup>

Daniela Calumby de Souza Gomes<sup>5</sup>

### Recursos Naturais

### Resumo

A *Cróton Argryrophylloides* conhecida popularmente como Sacatinga é um vegetal do Bioma Caatinga. Possui valor medicinal para o homem sendo utilizada como: antitumoral, anti-inflamatória, antipirética, anti-hipertensiva, anti-diarréica e anti-ulcerogênica, antioxidante e agente larvicida, além de apresentar atividade antimicrobiana. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante da espécie *Cróton Argryrophylloides*. Trata-se de um estudo analítico experimental. A avaliação da atividade antioxidante foi feita pelo método DPPH nas concentrações 200, 150, 75, 50, 25, 12 e 6  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e pela Prospeção fitoquímica do extrato das folhas da planta. O extrato etanólico das folhas espécie vegetal apresentou ação antioxidante no teste DPPH quantitativo com uma significativa bioatividade de 85 AAO% em 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , apresentando um CE 50 de 236,7962. A prospeção dos constituintes químicos das folhas de *C. argyrophylloides* revelou a presença de fenóis sendo estes do tipo flavonóis, flavononas e xantonas como também a presença de saponinas e alcalóides. Os Resultados encontrados na avaliação fitoquímica demonstram um resultado significativo de propriedades antioxidantes e foi possível comprovar pelo método de DPPH na amostra analisada, o que corrobora com a atividade antioxidante da amostra vegetal.

Palavras-chave: Recursos naturais; Espécie vegetal, Composição química; Atividade biológica.

<sup>1</sup>Prof. Me. Saskya Araújo Fonseca, Centro Universitário Cesmac – Campus I, saskyya\_mczl@hotmail.com.

<sup>2</sup>Samea Keise de Oliveira Silva do Curso de Mestrado em Sistema de Análises Ambientais, Cento Universitário Cesmac, samea-keise@hotmail.com.

<sup>3</sup>Prof. Dr. Aldenir Santos Feitosa, Cento Universitário Cesmac – Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, aldenirfeitosa@gmail.com.

<sup>4</sup>Prof. Dr. Thiago José Matos Rocha, Cento Universitário Cesmac – Programa de Pós-graduação em Análise de Sistemas Ambientais, thy\_rocha@hotmail.com.

<sup>5</sup>Daniela Calumby de Souza Gomes do Curso de Mestrado em Sistema de Análises Ambientais, Cento Universitário Cesmac, calumby\_biomed@hotmail.com.

## INTRODUÇÃO

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo estes serem enzimáticos ou não enzimáticos, tais como que  $\alpha$ -tocoferol -vitamina E),  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico -vitamina C) e os compostos fenólicos (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). A síntese de radicais livres no ser humano pode ser controlada por antioxidantes, que podem ser de origem endógena ou provenientes da dieta alimentar, entre outras fontes (SOUSA et al., 2007).

Silva e colaboradores (2012) relatam que o grande interesse no estudo dos antioxidantes que se relaciona aos efeitos dos radicais livres está na significância de ocorrer aumento das espécies reativas (ER) e/ou decréscimo da atividade antioxidante celular, causando o estresse oxidativo e podendo causar a lesão de diferentes moléculas. O stress oxidativo induzido por radicais livres é responsável por várias doenças crônicas, entre elas: diabetes, doença de Parkinson e de Alzheimer, esclerose múltipla, distrofia muscular, catarata e retinopatias, aterosclerose, infarto do miocárdio, cirrose hepática e vários tipos de câncer (SOUSA et al., 2007).

Os fitoquímicos presentes em vegetais assumem cada vez mais uma grande relevância. Já foram identificados mais de 5000 fitoquímicos, no entanto, uma grande percentagem destes compostos é ainda desconhecida, sendo importante a sua identificação para melhor compreender a sua contribuição para a saúde ao serem incluídos na nossa dieta (FERREIRA; ABREU, 2007).

A flora da caatinga possui uma diversidade de plantas com alto potencial farmacológico e econômico (SILVA; FREIRE, 2010). Dentre as espécies utilizadas na medicina popular destaca-se *C. argyrophyloides* da família Euphorbiaceae, conhecido popularmente no Nordeste como marmeleiro prateado ou sacatinga, este possui várias

ações biológicas, como antimicrobiano, antiedematogênico, antinociceptivo, antioxidante (PORTO, 2010).

Objetiva-se com esse trabalho avaliar a atividade antioxidante da espécie *C. argyrophyloides*, pelo Método DPPH e prospecção fitoquímica do extrato da planta.

## METODOLOGIA

Trata-se de um estudo analítico experimental (pesquisa laboratorial *in vitro*) realizada no laboratório multidisciplinar de pesquisa do Centro Universitário Cesmac e no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da Universidade Federal de Alagoas-UFAL (LPqRN). As folhas da espécie *C. argyrophyloides* foram coletadas no município de Delmiro Gouveia em 2017. As exsiccatas foram depositadas no Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas. As folhas foram secas em estufa à 37°C e posteriormente trituradas. O pó da planta foi armazenado em recipiente escuro e hermeticamente fechado.

O extrato etanólico das folhas das espécie *C. argyrophyloides* foi preparado através do método de maceração, juntamente com etanol absoluto por 72 horas, após esse período, o extrato foi filtrado (RAHMAT et al., 2003). Esse procedimento foi repetido até extração exaustiva do material vegetal. A amostra líquida obtida foi então submetida à concentração em evaporador rotatório sob pressão reduzida até a obtenção do extrato etanólico bruto, baseado no estudo de Sousa et.al.(2007).

### Prospecção fitoquímica

Os testes qualitativos da prospecção fitoquímica foram baseados nas metodologias descritas por Matos (1997), realizados para verificar a presença de fenóis, taninos pirogálicos, taninos flobafênicos, antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, esteróides, triterpenoides, saponinas, heterosídeos antociânicos e alcaloides.

## Avaliação Antioxidante Quantitativa pelo Método DPPH

A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi feita seguindo metodologia descrita na literatura, com adaptações para realização do teste em microplacas, monitorando-se o consumo do radical livre DPPH pela amostra do vegetal, através da medida do decréscimo da absorvância de soluções de diferentes concentrações (NEVES, L.C.; ALENCAR, S.M.; CARPES, S.T., 2009). Para a leitura das medidas de absorvância na amostra vegetal, essa foi diluída, em quadruplicata, com concentrações finais de 200, 150, 75, 50, 25, 12 e 6  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  em etanol, partindo-se da solução a 1,0  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Foi adicionado 1,0 mL de DPPH 0,3 mM em etanol a 2,5 mL da amostra vegetal. As reações transcorreram à temperatura ambiente (em torno de 26°C) por 30 minutos. A seguir foram feitas as leituras das absorvâncias, a 518 nm. O poder antioxidante da bebida foi calculado pela absorvância da solução com amostra e DPPH,  $A_{\text{branco}}$ : a absorvância da solução com amostra sem adição de DPPH e  $A_{\text{controle}}$ : absorvância da solução referência - DPPH e etanol (RUFINO et al., 2007). O mecanismo de ação dessa reação baseia-se na capacidade do antioxidante de doar hidrogênio provocando a varredura deste radical livre e modificando a coloração da solução 1,1 difenil 2 picrilhidrazil DPPH. (TIEPPO, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Prospecção fitoquímica

A análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *C. argyrophyloides* demonstrou a presença de fenóis sendo estes do tipo flavonas, flavonóis, e xantonas. Além destes encontrou-se também a presença de saponinas e alcaloides. Esses dados podem ser visualizados no **Quadro 1**, onde a presença ou ausência de cada metabólito analisado foi indicada por P ou N, respectivamente.

O perfil fitoquímico das folhas de *C. argyrophyloides* apresentou um resultado semelhante ao estudo fitoquímico da espécie em que foram constatadas a presença de alcaloides e 12 polifenóis em *Croton. heliotropiifolius* Kunth (Randau, 2004); e

alcaloides, esteroides, flavonóis, flavanonas, taninos, triterpenóide e xantonas em *Croton linearifolius*. Mull. arg. (Oliveira et al., 2014). Conforme Morais et al. (2006), foi constatado a presença de flavonas, flavonóis e xantonas nas folhas desta espécie da caatinga.

Os fitoquímicos são classificados como compostos bioativos provenientes de diferentes partes das plantas, tais como, sementes, cereais, vegetais, frutos, folhas, raízes, especiarias e ervas e estão relacionados com a redução do risco de ocorrência de várias doenças crônicas, nomeadamente vários tipos de câncer. (FERREIRA; ABREU, 2007)

**Quadro 1** – Prospecção dos constituintes químicos das folhas de *C. argyrophylloides*.

<b>METABÓLITOS SECUNDÁRIOS</b>	<b>RESULTADOS</b>
FENÓIS	P
TANINOS PIROGÁLICOS	N
TANINOS FLOBAFÊNICOS	P
ANTOCIANINA E ANTOCIANIDINA	N
FLAVONAS, FLAVONÓIS E XANTONAS	P
CHALCONAS E AURONAS	N
FLAVONONÓIS	N
LEUCOANTOCIANIDINAS	N
CATEQUINAS	P
FLAVONONAS	N
ESTERÓIDES	P
TRITERPENÓIDES	N
SAPONINAS	P
ALCALÓIDES	P

(P)=Positivo; (N)=Negativo.

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

### **Potencial antioxidante do extrato**

## Avaliação Antioxidante Quantitativa pelo Método DPPH

Com relação à avaliação quantitativa da atividade antioxidante (AAO%) pelo método – DPPH foi possível observar uma significativa bioatividade de 85 AAO% em 500  $\mu\text{g/mL}$  (**Gráfico 1**). A amostra vegetal teve seu comportamento antioxidante representado pelo modelo de equação de reta linear, com o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superior a 0,9 o que possibilitou a determinação de sua concentração efetiva a 50% (CE50). O CE50 do extrato etanólico de *C. argyrophyloides* foi de 236,7962  $\mu\text{g/mL}$ .

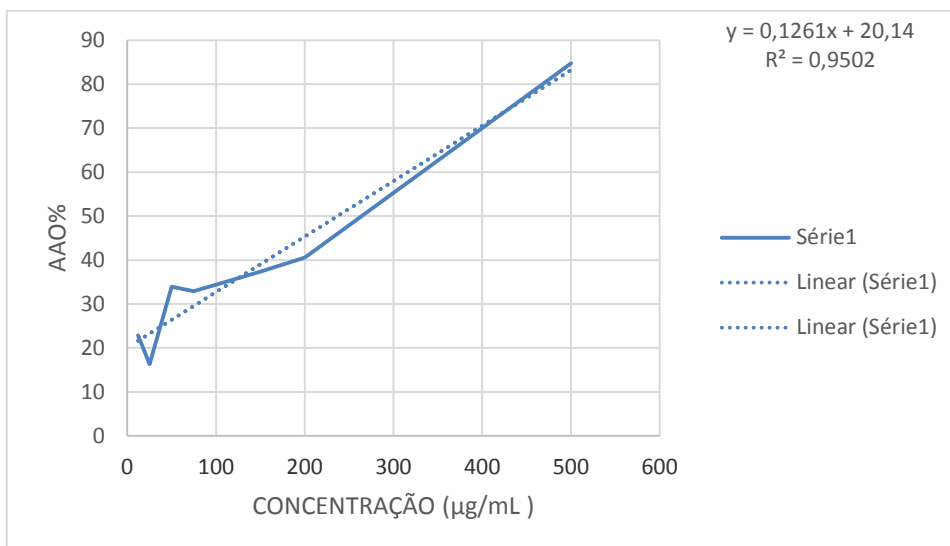
Observa-se que esse resultado pode ser relacionado aos metabólitos secundários detectados nesta amostra vegetal através da triagem fitoquímica (taninos flobafênicos, flavonóis xantonas, flavonas, catequinas, saponinas e alcalóides).

A pesquisa de Rath (2011) apresentou uma atividade de DPPH presente no extrato aquoso de folhas de *Croton roxyburgii* Balaki. de 50, 75  $\mu\text{g/mL}$ .

Melo et al.(2011), analisaram outras espécies de Euphorbiaceae, como *Croton blanchetianus* Baill e *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill, encontrando IC50 de 94,0 e 55,0  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, sendo este resultados inferiores a este estudo. Os valores de  $R^2$  de padrão, folhas e cascas foram de 0,935, 0,841 e 0,979, respectivamente, indicando a existência de uma relação forte, linear e positiva entre a concentração e a atividade de DPPH em folhas e extrato e extrato de casca respectivamente.

No estudo de Basto (2014) a atividade de eliminação foi aumentada com concentrações crescentes de óleo de *Croton nummularius* Baill, atingindo atingindo 76,16% a 5 mg / ml e apresentando um valor de IC50 calculado de 62,52 mg / mL, sendo este maior que o estudo presente. A atividade de eliminação de radicais peróxidos de óleo essencial *C. nummularius* aumentou de forma dependente da dose.

O óleo essencial extraído da espécie de *Croton tetradenius* Baillon exibiu valor de EC50 correspondente a 2,49 mg.mL<sup>-1</sup>, encontrando  $R^2$  0,9991). O controle positivo BHT apresentou um valor de EC50 correspondente a 0,61 mg.mL<sup>-1</sup>, encontrando  $R^2$  0,9776 (FERNANDES,2016).



**Gráfico 1** - AAO% da fração da folha de *Croton argyrophylloides* Muell. Arg. Fonte: Dados da Pesquisa, 2017.

## CONCLUSÕES

As análises realizadas através desta pesquisa são capazes de revelar diversos metabólitos secundários presentes na espécie. Esses grupos de compostos podem ser os responsáveis pela propriedade antioxidante atribuída à planta.

O extrato etanólico das folhas de *C. argyrophylloides* apresenta uma eficiente atividade antioxidante mediante os testes de DPPH, e além de demonstrar um resultado significativo de constituintes químicos através da prospecção fitoquímica.

A significativa atividade antioxidante exibida pelas espécie *C. argyrophylloides* pode ser justificada pela maior concentração de substâncias fenólicas, entre estas os flavonoides, conhecidos por sua eficiente ação sequestradora de radicais livres. Isto a torna uma espécie promissora no desenvolvimento de pesquisas visando à prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

## REFERÊNCIAS

- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, P. Estresse oxidativo : Relação Entre Geração de Espécies reativas e Defesa do Organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BASTO, S. R. M. ***Croton nummularius baill.* (euphorbiaceae): composição química, atividade biológica, antioxidante e toxicidade preliminar dos óleos essenciais.** 2014. 46f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade federal de Pernambuco, 2014.
- FERNANDES, D.N.M. **Composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de *Croton tetradenius Baill* (Euphorbiaceae).** UESB, 2016. 74f. (Dissertação) Mestrado em Ciências Ambientais – Área de Concentração em Meio Ambiente e Desenvolvimento). Itapetinga, 2016.
- FERREIRA, I. C. R. F.; ABREU, M. V. R. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Bioanálise**, v, n.2, p.32-39, 2007.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.p.141.
- MELO, J.G. et al. Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: An ethnobotanical approach. **Evidence Based Complementary e Alternative medicine**, [s.l v.2011, 2011.
- MORAIS, S.M.et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 315-320, 2006.
- NEVES,L.C.; ALENCAR,S.M.; CARPES,S.T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellífera* Braz. **Journal Food Technol**, VII BMCFB, [S.I], p.107-110, 2009.
- OLIVEIRA, G.P. et al. Atividade larvicida do extrato etanólico da raiz de *Croton linearifolius* sobre *Aedes Aegypti*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.10, n.18; p.442, 2014.
- PORTO, R.S. **Ação do óleo essencial de *Croton argyrophyloides muell. arg.* e de um dos seus constituintes o  $\beta$ -cariofileno em músculo liso fásico de rato.** Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade federal do Ceará, Fortaleza. 2010.
- RAHMAT, A. et al. Determination of total antioxidant activity in three types of local vegetables shoots and the cytotoxic effect of their ethanolic extracts against different cancer cell lines. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Malásia, v.12, n.3, p.308-311, 2003.
- RANDAU, K. P. et al. Estudo Farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides pax & hoffm.* (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, n.2, p.89-96, 2004.
- RATH, et al., 2011. **In vitro antibacterial and antioxidant studies of *croton roxburghii. L.*, from similipal Biophere reserve.** v.51. n.3. Indian Journal of microbiology.India.2011.
- RUFINO, M. S. M. et al. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, Fortaleza, v. 127, n.1, p. 1-4, 2007.
- SILVA, M. J. D. et al. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 33, n. 2, p. 267-274, 2012.
- SILVA, T.S.; FREIRE, E.M.X. Abordagem etnobotânica sobre plantas medicinais citadas por populações do entorno de uma unidade de conservação da caatinga do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.12, n.4, p.427-435, 2010.
- SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.



**Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TIEPPO, M. **Croton cajucara Benth. (sacaca) uma planta da Amazônia – avaliação de seu potencial antioxidante**. 2007. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.