

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PERFIL FITOQUÍMICO DE ESPÉCIMES DE *Glischrothamnus ulei* PILG. (MOLLUGINACEAE)
Monick Oliveira Ribeiro¹; Carla Cardeal Mendes²

¹Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Graduanda em Ciências Farmacêuticas, Bolsista FAPESB, e-mail: monick_ribeiro@hotmail.com

²Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Exatas, Laboratório de Química de Produtos Naturais (LAPRON), e-mail: ccardelamendes@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: *Glischrothamnus ulei*, triagem fitoquímica, atividade antioxidante.

INTRODUÇÃO

Na busca por novos fármacos, os produtos naturais se destacam pela diversidade estrutural. Assim, as plantas são candidatas importantes para a triagem de novos compostos bioativos (Oliveira et al., 2009). A Caatinga ainda é uma área pouco explorada quanto ao seu potencial biotecnológico, sendo um bioma promissor para a prospecção de novas moléculas com atividade biológica. A maioria das espécies da família Molluginaceae que ocorre nas regiões semi-áridas tropicais tem sido pouco estudada (Musa et al., 2006). *Glischrothamnus ulei* Pilg. (*G. ulei*) foi encontrada em ambientes de dunas da Caatinga e acredita-se na possibilidade de endemismo devido a sua distribuição geográfica restrita (Gadéa, 2008).

Até o momento, não foram encontrados relatos sobre a composição química e a atividade biológica de *G. ulei*. Entretanto, um estudo recente realizado pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON) em colaboração com o Laboratório de Pesquisa em Microbiologia (LAPEM) da Universidade Estadual de Feira de Santana, revelou que extratos brutos e o óleo essencial de *G. ulei* foram ativos contra micro-organismos patogênicos, caracterizando a planta como uma possível fonte promissora de antimicrobianos (Gadéa, 2008). Este estudo motivou a avaliação do potencial de *G. ulei* para novas atividades biológicas, bem como o conhecimento do seu perfil químico.

Nos últimos anos, evidências têm indicado os radicais livres como grandes responsáveis pelo envelhecimento e várias doenças degenerativas. Antioxidantes naturais são de interesse para a conservação de alimentos e para a farmacologia, pois bloqueiam ou minimizam o dano provocado por radicais livres. Assim, estudos do potencial antioxidante de compostos puros e extratos de plantas têm se tornado cada vez mais importantes devido aos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos (Sousa et al., 2007; Oliveira et al., 2009).

O objetivo do presente trabalho foi a avaliar a atividade antioxidante e o determinar o perfil fitoquímico de espécimes de *G. ulei* de ocorrência na região do semi-árido baiano.

METODOLOGIA

Espécimes de *G. ulei* foram coletados nas dunas do São Francisco, na região de Pilão Arcado, Bahia. Os caules foram separados de outras partes botânicas (folhas e raízes), secos à temperatura ambiente sob abrigo da luz e moídos em moinho de facas. Em seguida, foram realizadas extrações sucessivas por maceração utilizando-se metanol. Após filtração do sobrenadante, os extratos foram concentrados em evaporador rotatório a 40°C e secos em estufa de circulação de ar a 40°C. O extrato metanólico obtido foi submetido à partição líquido-líquido com hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. O extrato metanólico bruto e as frações obtidas após partição foram submetidos ao estudo em cromatografia em camada delgada (CCD) para a seleção das fases móveis para a triagem fitoquímica (detecção de classes de metabólitos secundários) e ensaios *in vitro* de atividade antioxidante.

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

Amostras do extrato bruto e frações foram aplicadas em placas cromatográficas de gel de sílica GF-254 e eluídas em fases móveis pré-selecionadas. As placas foram secas em capela de exaustão, irradiadas com luz UV 365 nm e reveladas com os seguintes reagentes: anisaldeído-ácido sulfúrico (AS); Dragendorff (DRG); Liebermann-Burchard (LB); hidróxido de potássio (KOH) e Produtos Naturais-Polietilenoglicol (NP/PEG), conforme metodologia descrita por Wagner e Bladt (1995). Foram realizados controles negativos. Pesou-se 5 mg das frações butanólica e aquosa em tubos de ensaio e foram adicionados 2 ml de água destilada. Os tubos foram agitados em agitador Vortex para a detecção de espuma persistente e abundante (colarinho). Aos tubos foi adicionado 1mL de ácido clorídrico concentrado e as soluções foram aquecidas por 1 hora em banho-maria para a verificação de precipitação e não formação de espuma após neutralização com hidróxido de sódio. Após extração com diclorometano, as fases orgânicas foram submetidas ao teste com LB (Matos, 1997).

Para a avaliação da atividade antioxidante, utilizou-se o método qualitativo de seqüestro do radical livre 2,2-difenilpicrilhidrazila (DPPH), segundo metodologia descrita por Silva (2005), com adaptações. Inicialmente, foram realizados testes para verificação da variação da resposta das amostras ao DPPH em função das massas aplicadas nas placas cromatográficas (*spots*) por comparação com o flavonóide rutina. Após aplicação das amostras e do padrão, as placas foram pulverizadas com solução metanólica de DPPH a 0,004%. O surgimento de coloração amarela semelhante a da rutina nos *spots*, em até 45 minutos, contados a partir do início da pulverização das placas, foram considerados resultados positivos para atividade antioxidante. No caso de amostras de coloração intensa ou com matizes próximos ao amarelo, foram realizados controles negativos. Posteriormente, as amostras foram solubilizadas em metanol a uma concentração de 5mg/mL e aplicados volumes de 10 µL, 20 µL e 30 µL das soluções sobre placas cromatográficas 5x20 cm contendo gel de sílica GF₂₅₄, utilizando-se 0,7 µL de solução do rutina (na mesma concentração das amostras) como padrão positivo. Após eluição cromatográfica, as placas foram secas em capela de exaustão e reveladas com solução metanólica de DPPH a 0,004%. O grau de resposta das amostras ao DPPH foi avaliado em função do tempo de reação classificado da seguinte forma: início da reação < 5 min (rápido), início da reação entre 5-30 min (intermediário) e > 30 min (lento) (Sánchez-Moreno et al. apud Huang et al., 2005).

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Foram obtidos 1776,67g de caules de *G. ulei* e 125,11g do extrato metanólico bruto, correspondendo a um rendimento de 7,04%. As massas obtidas das frações após partição líquido-líquido do extrato bruto são apresentados na Tabela 1. A Tabela 2 mostra os resultados da triagem fitoquímica do extrato bruto e frações.

Tabela 1. Massas das frações de caules de *G.ulei* obtidas por partição líquido-líquido

Fração Hexânica	Fração Diclorometano	Fração Acetato de Etila	Fração Butanólica	Fração Aquosa
6,02 g (4,81%)	49,97 g (39,94%)	6,20 g (4,95%)	5,54 g (4,43%)	22,11g (17,67%)

Os resultados obtidos da triagem fitoquímica para AS e LB sugerem a presença de terpenos e esteróides em todas as amostras. Os resultados para NP/PEG indicam a presença de flavonóides em todas as amostras, a exceção das frações hexânica e diclorometano. Apenas o extrato bruto e a fração aquosa reagiram com KOH, sugerindo a presença de cumarinas glicosiladas nessas amostras. Nenhuma amostra reagiu com DRG nas condições do

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

experimento, indicando a provável ausência de alcalóides e compostos nitrogenados heterocíclicos (Wagner; Bladt, 1995). Por possuírem na sua estrutura uma aglicona esteroidal ou triterpênica, as saponinas podem dar resposta positiva para o teste com AS e LB. Por esta razão, foram realizados testes para detecção de saponinas nas frações butanólica e aquosa. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 2. Triagem fitoquímica do extrato bruto e frações dos caules de *G.ulei*

Amostra	Reagente				
	AS	LB	NP/PEG	KOH	DRG
Extrato Bruto	+	+	+	+	-
Fração Hexânica	+	+	-	-	-
Fração Diclorometano	+	+	-	-	-
Fração Acetato de Etila	+	+	+	-	-
Fração Butanólica	+	+	+	-	-
Fração Aquosa	+	+	+	+	-

Resultados: Positivo (+); Negativo (-)

Tabela 3. Presença de saponinas em frações mais polares dos caules de *G. ulei*.

Amostras	Resultado
Fração Butanólica	+
Fração Aquosa	+

Resultados: Positivo (+); Negativo (-)

A presença de saponinas foi confirmada nas frações butanólica e aquosa. Nestas frações, houve a formação de espuma abundante (colarinho) com agitação. Foi observada a precipitação das agliconas após hidrólise ácida. As agliconas extraídas com diclorometano deram teste positivo com LB, confirmando assim a presença de heterosídeos saponínicos. Existem relatos na literatura da presença de triterpenos, flavonóides e saponinas na família Molluginaceae (Hamburger et al., 1989; Musa et al., 2006).

Na Tabela 4, são apresentados os resultados dos ensaios de atividade antioxidante dos extratos e frações dos caules, após eluição das amostras no sistema cromatográfico.

Tabela 4. Atividade antioxidante dos extratos e frações de *G. ulei* pelo método DPPH

Extrato/Frações	Atividade	Início da reação	Nº de bandas reativas
Metanólico (bruto)	+	Rápido	1
Hexânica	+	Rápido	6
Diclorometano	+	Intermediário	5
Acetato de Etila	+	Intermediário	1

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

Butanólica	+	Rápido	1
Aquosa	+	Rápido	1

Início da reação: Rápido: <5 min, Intermediário: entre 5-30 min e Lento: > 30 min lento.

O radical livre DPPH simula as espécies reativas de oxigênio. A atividade antioxidante é avaliada pela capacidade de sequestro do DPPH por compostos antioxidantes presentes na amostra testada. Após redução do DPPH pelos compostos antioxidantes, observa-se a mudança na coloração púrpura (DPPH) para amarela (DPPH reduzido) (Huang et al., 2005). No ensaio antioxidante qualitativo, é possível verificar se há ocorrência de bandas cromatográficas reativas (amarelas) ao DPPH pela análise dos respectivos cromatogramas.

Todas as amostras testadas apresentaram atividade antioxidante, destacando-se as frações hexânica e diclorometano por apresentarem um maior número de bandas reativas quando comparadas com as demais amostras. Houve variação dos tempos de início de reação para cada amostra que pode estar relacionada a especificidade estrutural e a concentração relativa dos compostos. A atividade antioxidante apresentada pelos extratos pode ser atribuída à presença de terpenos e/ou esteróides com grupos doadores de hidrogênio e elétrons na sua estrutura, ou ainda a presença de flavonóides, que são compostos polifenólicos, considerados estruturas ideais para o sequestro de radicais (Pietta, 2000; Alves, et al., 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos, pode-se afirmar que o perfil químico de espécimes de *Glischrothamnus ulei* do semi-árido baiano apresenta predominância de compostos terpênicos e/ou esteróides, além de flavonóides, cumarinas e saponinas. Foi possível constatar que a planta elabora compostos com potencial antioxidante. Assim, a continuidade do estudo fitoquímico e estudos de avaliação quantitativa da atividade antioxidante de *G. ulei* poderão levar futuramente ao isolamento de novos antioxidantes naturais que possam substituir antioxidantes sintéticos ou serem associados aos mesmos. Dessa forma, torna-se evidente a necessidade de se explorar os produtos naturais oriundos da Caatinga, especialmente espécies endêmicas de potencial terapêutico e composição química desconhecidos.

REFERÊNCIAS

- ALVES et al. 2007. Diálogos e Ciência – **Revista da rede de ensino FTC**. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. Ano V, n. 12.
- GADÉA, S. F. 2008. **Determinação da atividade antimicrobiana de óleo essencial e extrato bruto de *Glischrothamnus ulei* (Molluginaceae) do semi-árido baiano**. Univ. Estadual de Feira de Santana. MSc. diss.
- HAMBURGER, M. et al. 1989. An antifungal triterpenoid from *Mollugo pentaphylla*. **Phytochemistry**, v.28, n.6, 1167-1768.
- HUANG, D. et al. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 53, p.1841-1856.
- MATOS, F. J. Abreu. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed Fortaleza: EUFC, 1997.
- MUSA, K. Y. et al. 2006. Pharmacognostic investigation of the leaves of *Gisekia pharnacioides*. **African Journal of Biotechnology**. v. 5(10), pp. 956-957.
- OLIVEIRA, R. et al. 2009. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**. v.32, n.3, p. 689-702.
- PIETTA, P. -G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**. v. 63. n. 7.

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

SILVA, A. F. S. 2005. *Hippeastrum vittatum* (L'Hér) Herbert e *Hippeastrum striatum* (Lam.) Moore: análise química e avaliação biológica dos alcalóides isolados. 2005. 207 f. Tese de Doutorado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.

SOUSA, C. M. de M. et al. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, v. 30, n. 2, 351-355.

WAGNER, H.; BLADT, S. 1995. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2. ed. New York: Springer Verlag.