

## ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* DE EXTRATOS E FRAÇÕES POLARES DE FOLHAS E CAULES DE *Glischrothamnus ulei* PILG. (MOLLUGINACEAE)

**Monick Oliveira Ribeiro<sup>1</sup>; Carla Cardeal Mendes<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Graduanda em Ciências Farmacêuticas, Bolsista FAPESB, e-mail: [monick\\_ribeiro@hotmail.com](mailto:monick_ribeiro@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Exatas, e-mail: [ccardealmendes@gmail.com](mailto:ccardealmendes@gmail.com)

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

### INTRODUÇÃO

A ampla biodiversidade da região do semi-árido tem estimulado estudos de bioprospecção de espécies vegetais de importância etnofarmacológica, ou mesmo desconhecidas, visando novos compostos bioativos. A Caatinga, região pouco explorada quanto ao seu potencial biotecnológico, é rica em espécies vegetais, muitas delas endêmicas, como *Glischrothamnus ulei* (*G. ulei*), da família Molluginaceae<sup>1</sup>.

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais com propriedades farmacológicas mais eficazes que as drogas usuais ou equivalente aos fármacos comercializados. Neste contexto, plantas com potencial antioxidante têm despertado grande interesse, visto que a presença de radicais livres está associada à diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento de câncer, diabetes, aterosclerose, além de processos inflamatórios<sup>2</sup>.

Até o momento não existem artigos na literatura científica publicados sobre a composição química e a atividade biológica de espécies vegetais do gênero *Glischrothamnus*. No entanto, o primeiro estudo realizado sobre o perfil químico e a avaliação qualitativa da atividade antioxidante das folhas de *G. ulei* revelou a presença de terpenos, esteroides, saponinas e flavonoides, bem como a capacidade de inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), a qual pode ser atribuída, em parte, à presença destes constituintes<sup>3</sup>.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar quantitativamente a atividade antioxidante de extratos e frações polares de folhas e de caules de *G. ulei* de ocorrência na região do semiárido baiano e o fracionamento cromatográfico do extrato mais ativo.

### METODOLOGIA

Para a avaliação quantitativa da atividade antioxidante dos extratos metanólicos, frações acetato de etila, butanólica e aquosa, obtidos de folhas e de caules de *G. ulei*, foi utilizado o ensaio espectrofotométrico baseado na medição da capacidade de sequestro do radical livre DPPH. Quando é reduzido por um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R•), forma o composto 2,2-difenil-1-picril-hidrazina que apresenta coloração amarela, com consequente decréscimo da absorvância<sup>4</sup>.

A atividade antioxidante das amostras baseou-se na variação da absorvância obtida em decorrência da perda da coloração da solução do radical na presença de substâncias antioxidantes presentes nas amostras, após 30 minutos de reação<sup>5</sup>. As medidas de absorvância (Abs.) foram realizadas em espectrofotômetro a 517 nm. Preparou-se uma solução de DPPH a 0,004% e utilizou-se como branco 3 mL de metanol P.A. Foram empregados como controle da amostra 2 mL de metanol e 1 mL da amostra e como controle do DPPH 2 mL de DPPH e 1 mL de metanol. Para análise da atividade antioxidante das amostras, 2 mL da solução de DPPH foram adicionados a 1 mL das soluções dos extratos preparadas a diferentes concentrações das soluções dos extratos na faixa de 50 µg/mL a 2250 µg/mL. As análises foram realizadas em triplicata. Com a média das absorvâncias foram calculadas as

porcentagens de inibição do radical DPPH, correspondentes à quantidade de DPPH sequestrado para as diferentes concentrações das amostras, utilizando-se a equação a seguir.

$$\% \text{inibição} = \frac{[\text{Abs. do DPPH} - (\text{Abs. amostra após reação} - \text{Abs. controle da amostra})]}{\text{Abs. DPPH}} \times 100$$

Foram traçados gráficos da percentagem de DPPH sequestrado *versus* as concentrações testadas de cada extrato. Após a determinação da equação por regressão logarítmica utilizando-se o programa Microsoft Office Excel 2007, foi possível calcular a concentração capaz de inibir 50% dos radicais livres (EC<sub>50</sub>) para cada amostra, conhecida como concentração eficiente. As frações acetato de etila de caules e de folhas foram selecionadas para separação por cromatografia de adsorção em coluna aberta. Foram utilizados uma coluna filtrante tipo flash acoplada à uma bomba de vácuo, gel de sílica 60 (43-60 μm) como fase estacionária e misturas de solventes como eluentes (Tabela 1).

**Tabela 1-** Sistemas de solventes utilizados como fases móveis para a separação cromatográfica dos extratos acetato de etila de folhas e de caules de *G. ulmi*.

Sistemas de Solventes (Folhas) / Proporção	Sistemas de Solventes (Caules) / Proporção
Hexano 100%	Diclorometano 100%
Hexano : Diclorometano 50%	Diclorometano : Acetona 10%
Diclorometano 100%	Diclorometano : Acetona 30%
Diclorometano : Acetona 5%	Diclorometano : Acetona 50%
Diclorometano : Acetona 10%	Acetona 100%
Diclorometano : Acetona 25%	Acetona : Metanol 30%
Diclorometano : Acetona 50%	Acetona : Metanol 50%
Diclorometano : Acetona 80%	Metanol puro
Acetona 100%	
Acetona : Metanol 10%	
Acetona : Metanol 30%	
Acetona : Metanol 50%	
Metanol 100%	

Após a obtenção das sub-frações, foi feita a triagem fitoquímica das amostras, as quais foram aplicadas e eluídas em placas cromatográficas e posteriormente reveladas com reagentes químicos específicos para detecção de algumas classes de produtos naturais, a saber: anisaldeído-ácido sulfúrico (AS), para detecção de terpenos e/ou esteroides; Dragendorff com ácido clorídrico (DRG), para detecção de alcaloides e compostos nitrogenados heterocíclicos; Liebermann-Burchard (LB), para detecção de esteroides e triterpenos; hidróxido de potássio (KOH), para detecção de cumarinas e Produtos Naturais-Polietilenoglicol (NP/PEG), para a detecção de flavonoides<sup>6</sup>.

## ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os dados obtidos na análise quantitativa de atividade antioxidante dos extratos metanólicos e das frações butanólica, acetato de etila e aquosa de folhas e caules de *G. ulmi* mostraram que, após completar o tempo de 30 minutos de reação, houve um decréscimo da absorbância em relação às do controle de DPPH, decorrente do consumo do radical por compostos antioxidantes presentes nas amostras. Esses dados possibilitaram o cálculo dos percentuais de inibição do DPPH para a construção dos gráficos que indicaram as concentrações dos extratos capazes de inibir 50% do radical livre em cada amostra (Tabela 2).

**Tabela 2-** Valores de EC<sub>50</sub> obtidos no teste de atividade antioxidante de extratos e frações de folhas e caules de *G. ulmi*.

Valores de EC <sub>50</sub> (μg/mL) – (Média ± Desvio Padrão)
---

Extrato/Fração	Folhas	Caules
Metanólico	(267,33 ± 20,41)	(373,80 ± 15,69)
Acetato de Etila	(202,32 ± 2,02)	(237,76 ± 14,70)
Butanólica	(928,53 ± 11,04)	(839,89 ± 17,40)
Aquosa	(820,00 ± 8,00)	(1977,92 ± 19,78)

Os resultados obtidos indicam que todas as amostras apresentam reatividade frente ao radical DPPH, sugerindo a presença de compostos antioxidantes nas folhas e caules de *G. ulei* e confirmando a atividade antioxidante anteriormente detectada nos ensaios qualitativos<sup>3</sup>. No entanto, as frações acetato de etila de folhas e caules apresentaram maior reatividade frente ao radical DPPH, quando comparados aos demais extratos, tendo em vista o maior consumo de DPPH a menores concentrações, resultando numa menor concentração eficiente (EC<sub>50</sub>). A concentração eficiente do flavonóide rutina é de 6,06 µg/mL<sup>5</sup>, no entanto não foi possível determinar o valor de EC<sub>50</sub> do padrão nas concentrações testadas no experimento. A diferença significativa entre os valores de EC<sub>50</sub> das amostras e o EC<sub>50</sub> da rutina pode ser explicada pelo fato da rutina se tratar de uma substância pura com atividade antioxidante, enquanto que os extratos são misturas extremamente complexas de compostos com grande variabilidade estrutural.

Considerando-se o potencial antimicrobiano promissor dos extratos brutos de folhas e caules de *G. ulei*<sup>7</sup> e os resultados de atividade antioxidante dos ensaios quantitativos, as frações acetato de etila de folhas e de caules foram selecionadas para separação cromatográfica preliminar visando a possibilidade de obtenção de sub-frações mais ativas. As amostras foram submetidas ao fracionamento por cromatografia em coluna utilizando-se diferentes sistemas de solventes para a sua eluição (Tabela 1). Foram obtidas 14 sub-frações da fração acetato de etila de folhas e 9 sub-frações da fração acetato de etila de caules, as quais foram pesadas e codificadas com o código GUFA (*Glischrothamnus ulei*-Folha-Acetato) e GUCA (*Glischrothamnus ulei*-Caule-Acetato), respectivamente (Tabela 3)

**Tabela 3-** Massa (em gramas) das sub-frações obtidas após separação cromatográfica das frações acetato de etila de folhas e de caules de *G. ulei*.

Sub-frações (Folhas) / Massa (g)		Sub-frações (Caules) / Massa (g)	
GUFA 1	0,0115	GUCA 1	0,0571
GUFA 2	1,4509	GUCA 2	0,2231
GUFA 3	0,8709	GUCA 3	0,1767
GUFA 4	0,3464	GUCA 4	0,6888
GUFA 5	1,8780	GUCA 5	1,3494
GUFA 6	0,1764	GUCA 6	1,1340
GUFA 7	1,2477	GUCA 7	0,6336
GUFA 8	4,7165	GUCA 8	1,5380
GUFA 9	2,0434	GUCA 9	1,1386
GUFA 10	0,9336		
GUFA 11	0,7553		
GUFA 12	0,3712		
GUFA 13	0,1039		
GUFA 14	0,0996		

A triagem fitoquímica caracteriza-se pela detecção de compostos químicos presentes na matéria-prima vegetal. Neste estudo foram observadas reações indicativas da presença de determinadas classes de metabólitos secundários a partir da revelação das sub-frações com reagentes químicos específicos (Tabela 4). Os resultados sugerem a predominância significativa de terpenos e esteroides nas sub-frações do extrato acetato de etila de caules e folhas de *G. ulei*.

**Tabela 4-** Perfil químico das sub-frações obtidas da separação cromatográfica das frações acetato de etila de folhas e caules de *G.ulei*.

AMOSTRAS	AS	LB	KOH	NP/PEG	DRG
GUFA 1	+	+	-	-	-
GUFA 2	+	+	-	+	-
GUFA 3	+	+	-	+	-
GUFA 4	+	+	-	+	-
GUFA 5	+	+	-	+	-
GUFA 6	+	+	-	+	-
GUFA 7	+	+	-	+	-
GUFA 8	+	+	+	-	-
GUFA 9	+	+	+	-	-
GUFA 10	+	+	+	+	-
GUFA 11	+	+	+	+	-
GUFA 12	+	+	+	-	-
GUFA 13	+	+	+	-	-
GUFA 14	+	+	+	-	-
GUCA 1	+	+	-	-	-
GUCA 2	+	+	-	-	-
GUCA 3	+	+	-	+	-
GUCA 4	+	+	+	+	-
GUCA 5	+	+	+	+	-
GUCA 6	+	+	-	+	-
GUCA 7	+	+	-	+	-
GUCA 8	+	+	-	+	-
GUCA 9	+	+	-	-	-

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

As folhas e os caules de *G. ulei* possuem atividade antioxidante constatada pelo método espectrofotométrico do DPPH. Todas as amostras testadas apresentaram atividade antioxidante, sendo a fração acetato de etila de folhas a que apresentou maior poder de inibição do radical livre DPPH. Os resultados da triagem fitoquímica das sub-frações obtidas da separação cromatográfica das frações acetato de etila de folhas e caules sugerem a presença de terpenos, esteroides, flavonoides e cumarinas. Dessa forma, a atividade antioxidante apresentada pelos extratos metanólicos, frações acetato de etila, butanólica e aquosa de folhas e caules de *G. ulei*, pode ser atribuída à presença destes constituintes ou ainda a presença de outros compostos polares contendo grupos hidroxila na sua estrutura capazes de reduzir o radical DPPH. A continuidade do estudo químico e biológico de *G. ulei* poderá contribuir futuramente para a obtenção de novos compostos bioativos que possam servir como protótipos para a síntese de novos fármacos e/ou para a elaboração de um novo medicamento fitoterápico.

### REFERÊNCIAS

1. FERNANDES, A. **Fitogeografia do semiárido**. In: Reunião Especial da SBPC, 4a, 1996, Feira de Santana. Anais da 4a Reunião Especial da SBPC, Feira de Santana: UEFS, 1996. p. 215-219.
2. FABRI, R.L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.13, n.2. Botucatu, 2011.
3. RIBEIRO, M. O. **Atividade antioxidante e triagem fitoquímica de extratos de folhas de *Glischrothamnus ulei* PILG. (Molluginaceae)**. XV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana. 2011.
4. SOUSA, Cleyton Marcos de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. v. 30, n. 2. Terezina: Piauí, 2007.

5. PINTO, F. P. **Atividade antimicrobiana, antioxidante e composição química de espécies do gênero *Blechnum* da Mata Atlântica baiana.** 2011. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
6. WAGNER, Hilderbert; BLADT, Sabine. **Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas.** 2. ed. New York: Springer Verlag, 1995.
7. 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.