

## ANÁLISE CROMATOGRÁFICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA *Schinopsis brasiliensis*

Aldenir Feitosa dos Santos (1); Simone Paes Bastos Franco (2); Karulyne Silva Dias (3); Mayara Andrade Souza (4).

(1) Centro Universitário Cesmac – aldenirfeitosa@gmail.com;

(2) Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia de Alagoas – simone\_paes7@hotmail.com;

(3) Centro Universitário Cesmac – karulyne.dias@hotmail.com;

(4) Centro Universitário Cesmac – mayarandrade@hotmail.com.

**Resumo: Introdução:** Desde a antiguidade, as plantas eram utilizadas para a inibição ou para o tratamento das enfermidades. Ao longo do tempo, essa cultura foi sendo aprimorada e os vegetais cada vez mais estudados para a descoberta do porquê desses vegetais possuem tais atividades. Sabe-se que as propriedades farmacológicas atribuídas às plantas, dentre elas, a atividade antioxidante, são devido à presença de diversos compostos bioativos (AZEVEDO, 2015). A *Schinopsis brasiliensis*, conhecida popularmente por braúna, é uma planta da família Anacardiaceae e tem características da caatinga. Na medicina popular o caule, casca do caule, folhas, frutos e a resina da Braúna são usados no tratamento fraturas, inflamações em geral, impotência sexual, inflamação na garganta, tosse, gripe e diarreia (ALBUQUERQUE et al. 2007; CHAVES et al., 2011). **Objetivo:** Determinar a composição de compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante da *Schinopsis brasiliensis*. **Metodologia:** Foi realizado uma extração por maceração das folhas de *S. brasiliensis* tendo como solvente extrator o metanol. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada segundo metodologia descrita por Mensor et al (2001). A partir de 0,0025 g do extrato vegetal em 25 mL de etanol foi preparada as soluções para a leitura, que para cada concentração analisada foi retirado uma alíquota de 2,5 mL (em triplicata) e posteriormente a adição de 1,0 mL da solução etanólica de DPPH a 0,3 mM. Para o preparo do branco (em triplicata – para cada concentração), foi adicionado em cada vidro âmbar 2,5 mL da solução teste e 1,0 mL de ETOH 99%. O negativo foi realizado em triplicata e em cada vidro âmbar foi adicionado uma alíquota de 2,5 mL de ETOH 99 % e 1,0 mL da solução etanólica de DPPH. A determinação e quantificação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando-se da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O equipamento utilizado foi um HPLC Shimadzu. **Resultados:** Na análise cromatográfica, a amostra analisada apresentou diversos compostos fenólicos. Dentre eles, o catecol (3,92mg/L), o ácido clorogênico (1,18mg/L), o ácido cafeico (2,54mg/L), a vanilina (0,78mg/L), o ácido cumárico (0,59mg/L), a cumarina (0,49mg/L), o ácido salicílico (2,52mg/L), a rutina (14,88mg/L), a quercetina (1,55mg/L) e o kaempferol (1,38mg/L). Um estudo realizado por Santos et al (2016) com a mesma espécie através de testes fitoquímicos, encontrou taninos hidrolisáveis e flavonoides. Na avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH, a espécie analisada apresentou um percentual de 99% em uma concentração de 180µg/mL e através da determinação da equação da reta e do R<sup>2</sup>, o CE<sub>50</sub> foi quantificado em 22,02µg/mL. Esse resultado foi superior ao encontrado por Moreira (2009) que avaliou a mesma espécie e obteve um percentual de atividade antioxidante de 93% na concentração de 200µg/mL<sup>-1</sup>. **Considerações finais:** Diante dos resultados encontrados é possível afirmar que a espécie apresenta potencial antioxidante, atividade que pode ser relacionada a presença de compostos fenólicos identificados e quantificados. Acredita-se que a mesma pode apresentar potencial para o combate a várias enfermidades relacionadas aos radicais livres.

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

[www.conadis.com.br](http://www.conadis.com.br)

**Palavras-chave:** plantas medicinais, atividade antioxidante, *Schinopsis brasiliensis*, cromatografia, braúna.

## INTRODUÇÃO

Atualmente, a prática de utilizar plantas medicinais e fitoterápicos com o objetivo de prevenir, atenuar ou tratar um estado patológico é um procedimento mundialmente disseminado, sendo encorajado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), principalmente em países em desenvolvimento. Confirmando esse fato, o Ministério da Saúde lançou no Brasil, em 2006, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), apresentando usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), a Fitoterapia (MATTOS, et al, 2018).

Desde a antiguidade, as plantas eram utilizadas para a inibição ou para o tratamento das enfermidades. Ao longo do tempo, essa cultura foi sendo aprimorada e os vegetais cada vez mais estudados para a descoberta do porquê desses vegetais possuírem tais atividades. Sabe-se que as propriedades farmacológicas atribuídas às plantas, dentre elas, a atividade antioxidante, são devido à presença de diversos compostos bioativos (AZEVEDO, 2015).

Os produtos derivados de espécies vegetais, como fontes de agentes bioativos multifuncionais são relativamente considerados mais seguros tanto para os seres humanos, bem como para o ambiente. Estima-se que cerca de 70-80% da população mundial, especialmente nos países em desenvolvimento, depende da fitoterapia para prevenir e curar doenças. Além disso, foi relatado que cerca de 25% das drogas sintetizadas estão sendo derivados de plantas medicinais (OMS, 2002; SAHIB et al, 2013).

Os compostos antirradicais são substâncias empregadas para prevenir a oxidação lipídica. Possuem origem sintética ou natural, e são amplamente utilizados, industrialmente. Os sintéticos apresentam alta volatilidade e instabilidade em altas temperaturas. Diversos países possuem legislação rigorosa sobre o uso de aditivos alimentares sintéticos, devido a natureza cancerígena de alguns deles. Diante do exposto, as preferências dos consumidores mudaram e a busca por antioxidantes de fontes naturais é cada vez maior (JORGE, et al, 2018).

A *Schinopsis brasiliensis*, conhecida popularmente por braúna, é uma planta da família Anacardiaceae e tem características da caatinga. Na medicina popular o caule, casca do caule, folhas, frutos e a resina da Braúna são usados no tratamento fraturas, inflamações em geral, impotência sexual, inflamação na garganta, tosse, gripe e diarreia (ALBUQUERQUE et al. 2007; CHAVES et al., 2011).

Como a atividade antioxidante das plantas medicinais tem sido principalmente atribuída a presença e concentração de compostos fenólicos (GULL et al., 2015) é de primordial importância a quantificação e identificação dos mesmos na espécie analisada. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma análise cromatográfica e avaliação do potencial antioxidante do extrato vegetal bruto das folhas da *Schinopsis brasiliensis*.

## **METODOLOGIA**

### **Obtenção da amostra**

As folhas da espécie *Schinopsis brasiliensis* foram coletada na Estação Experimental da EMATER (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural), localizada no município de Santana do Ipanema, Estado de Alagoas, nas coordenadas geográficas 09°22'42''S e 37°14'43''W, na altitude de 250 m. As coordenadas e altitudes foram obtidas por meio do *Google Maps* e *Google Earth*.

Através do método de maceração, foi possível obter o extrato vegetal bruto das folhas de *S. brasiliensis* tendo como solvente extrator o metanol. A princípio, o material vegetal foi triturado e em seguida posto em percolador com etanol absoluto por 72 horas. Após esse período o extrato foi filtrado. Esse procedimento repetiu-se até extração exaustiva do material vegetal. O filtrado foi então submetido à concentração em evaporador rotatório sob pressão reduzida até a obtenção do extrato bruto (SONAGLIO et al., 2004). O extrato vegetal da folha foi armazenado em frasco hermeticamente fechado, num local fresco e ao abrigo da luz. Em seguida, foi submetido às análises de HPLC e antioxidante.

### **Quantificação de compostos fenólicos por CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)**

Para os padrões (ácido gálico, catecol, ácido vanílico, ácido salicílico, vanilina, seringaldeído, ácido cumárico, ácido clorogênico, cumarina, rutina, quercetina, kaempferol, ácido cafeico) foram preparadas soluções-estoque com concentração de 40 mg L<sup>-1</sup> em água/álcool a 30%/70%. O método utilizado para a quantificação foi o da padronização externa. Para a construção das curvas analíticas, foram realizadas diluições de uma solução intermediária, contendo uma mistura de todos os padrões, sendo que esta foi obtida por meio

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

[www.conadis.com.br](http://www.conadis.com.br)

da diluição das soluções-estoque previamente preparadas. Nesta solução intermediária, todos os padrões encontraram-se na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>. Foram utilizados como fase móvel para a eluição dos compostos analisados a solução de ácido fórmico a 1% em água milli-Q (Solvente A) e metanol (Solvente B). As amostras e os padrões foram eluídos de acordo com um gradiente que inicia em 7% de metanol e vai aumentando até chegar em 85%, totalizando uma corrida de 80 minutos. O comprimento de onda utilizado foi de 290 nm, numa temperatura de 33°C, fluxo de 0,6 mL min<sup>-1</sup> e volume de injeção de 20 µL. As amostras e os padrões foram filtrados em membrana de polietileno de 0,45 µm (Milipore) e injetados diretamente no sistema cromatográfico. Cada injeção foi realizada três vezes no sistema CLAE, com a finalidade de se obter a média das concentrações e dos tempos de retenção. Sendo assim, a identidade dos analitos confirmada pelo tempo de retenção, e o perfil dos picos da amostra, comparados aos dos padrões.

### **Avaliação quantitativa da atividade antioxidante pelo método do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila - DPPH**

O método para captura do radical livre DPPH baseia-se na transferência de elétrons de uma substância antioxidante ou de uma espécie radicalar. A transferência de elétrons é perceptível pela mudança de coloração, em que o DPPH de coloração púrpura é reduzido a difenil-picril-hidrazina de coloração amarelada, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo ser monitorado pelo decréscimo da absorbância (NASCIMENTO et al., 2011).

Através das absorbâncias adquiridas é possível determinar o percentual de atividade antioxidante (AAO%), que consiste basicamente na quantidade de DPPH consumido por uma determinada substância com ação antioxidante na captura do radical e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional. Desta forma, também pode ser avaliada concentração eficiente (CE<sub>50</sub>), também chamada de concentração inibitória (CI<sub>50</sub>), onde quanto maior for o consumo de DPPH por uma amostra, menor será o resultado do CE<sub>50</sub> e maior o seu potencial antioxidante (RODRIGUES et al., 2013).

O teste quantitativo foi realizado segundo metodologia descrita por Mensor et al (2001). A partir de 0,0025 g do extrato vegetal em 25 mL de etanol. Em seguida foi preparada as soluções para a leitura, que para cada concentração analisada foi retirado uma alíquota de 2,5 mL (em triplicata) e posteriormente a adição de 1,0 mL da solução etanólica de DPPH a

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

[www.conadis.com.br](http://www.conadis.com.br)

0,3 mM. Para o preparo do branco (em triplicata – para cada concentração), foi adicionado em cada vidro âmbar 2,5 mL da solução teste e 1,0 mL de ETOH 99%. O negativo foi realizado em triplicata e em cada vidro âmbar foi adicionado uma alíquota de 2,5 mL de ETOH 99 % e 1,0 mL da solução etanólica de DPPH.

O teste foi realizado com um auxílio de um espectrofotômetro UV-VIS com um comprimento de onda de 518 nm, no qual foi realizado a leitura das soluções e assim a obtenção das absorvâncias, que foram convertidas em potencial antioxidante através da equação 1.

Equação 1:

$$AAO\% = \frac{100 - (ABSA - ABSB \times 100)}{ABSC}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Quantificação de compostos fenólicos por HPLC

Para quantificar e identificar os compostos fenólicos, as amostras foram injetadas no HPLC e a partir da comparação de retenção dos padrões de polifenóis, foi possível realizar tal procedimento. Conforme resultados dispostos na tabela 1.

**Tabela 1-** Identificação e quantificação de compostos fenólicos por HPLC em *Schinopsis brasiliensis*

Compostos Fenólicos	Concentração
Catecol	3,92 mg/L
Ácido clorogênico	1,18 mg/L
Ácido cafeico	2,54 mg/L
Vanilina	0,78 mg/L
Ácido cumárico	0,59 mg/L
Cumarina	0,49 mg/L
Ácido salicílico	2,52 mg/L
Rutina	14,88 mg/L
Quercetina	1,55 mg/L

Kaempferol	1,38 mg/L
------------	-----------

Fonte: Dados do autor.

De acordo com os resultados obtidos, é notório que a espécie em questão, apresenta vários compostos fenólicos em sua composição. Merecendo destaque o composto fenólico Rutina, atingindo 14,88 mg/L. Um estudo realizado por Santos et al (2016) com a mesma espécie através de testes fitoquímicos, encontrou taninos hidrolisáveis e flavonoides.

As espécies reativas de oxigênio são neutralizadas pelos antioxidantes e compreendem compostos radicalares como o anion superóxido ( $O_2^{\bullet -}$ ), os radicais hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), alcóxila ( $RH^{\bullet}$ ) e peróxila ( $ROO^{\bullet}$ ) e também espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o oxigênio singlete ( $1 O_2$ ). O sistema antioxidante, por sua vez, pode ser endógeno ou exógeno. Enquanto que as enzimas superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase e glutatona redutase compõem o quadro dos antioxidantes endógenos, os exógenos são provenientes dos alimentos, destacando-se as vitaminas, os carotenoides e os compostos fenólicos (SANCHO, 2015).

#### **Avaliação quantitativa da atividade antioxidante pelo método do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila – DPPH**

Por meio do método de captura do radical livre DPPH e após a obtenção das absorvâncias em espectrofotômetro seguida da conversão destas em potencial antioxidante, foi possível observar que a espécie *Schinopsis brasiliensis* apresentou um percentual de 99% em uma concentração de 180 $\mu$ g/mL e através da determinação da equação da reta e do  $R^2$ , o  $CE_{50}$  foi quantificado em 22,02 $\mu$ g/mL, conforme tabela 2.

**Tabela 2-** Percentual antioxidante de *Schinopsis brasiliensis*

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO	PERCENTUAL
<i>Schinopsis brasiliensis</i>	180 $\mu$ g/mL	99 %

Fonte: Dados do autor.

Esse resultado foi superior ao encontrado por Moreira (2009) que avaliou a mesma espécie e obteve um percentual de atividade antioxidante de 93% na concentração de 200 $\mu$ g/mL<sup>-1</sup>. Ainda de acordo com a tabela 2, é possível observar que espécie analisada apresenta quase 100% de atividade antioxidante em uma concentração baixa. Os compostos fenólicos, representam o principal grupo de antioxidantes naturais. Esses antioxidantes absorvem radicais livres, resultando na inibição da cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais livres.

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

[www.conadis.com.br](http://www.conadis.com.br)

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados é possível afirmar que a espécie apresenta potencial antioxidante, atividade que pode ser relacionada a presença de compostos fenólicos identificados e quantificados. Acredita-se que a mesma pode apresentar potencial para o combate a várias enfermidades relacionadas aos radicais livres.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 114, n.3, p. 325–354, 2007.
- AZEVEDO, M. B. **Avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas da espécie *Drimys brasiliensis* Miers (WINTERACEAE)**. Pato Branco, 2015. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharelado em Química/Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- CHAVES, T. P.; DANTAS, I. C.; FELISMINO, D. C.; VIEIRA, K. V. M.; CLEMENTINO, E. L. C.; COSTA, L. S. Atividade antimicrobiana das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. **BioFar**, Campina Grande, vol. 5, n. 2, p. 11-17, 2011.
- GULL, T., ANWAR, F., SULTANAA, B., ALCAYDE, M. A. C., NOUMANE, W. **Capparis species: A potential source of bioactives and high-value components: A review**. *Industrial Crops and Products* 67 (2015) 81–96.
- JORGE, N.; PIETRO, T. A.; LUZIA, D. M. M.; VERONEZI, C. M. Caracterização fitoquímica do óleo de soja adicionado de extrato de *Portulaca oleracea* L. **Rev. Ceres**, vol.65, n.1, p.1-6. 2018.
- MATTOS, G.; CAMARGO, A.; SOUSA, C. A.; ZENI, A. L. B. Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: percepção dos profissionais. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 23, n. 11, p.3735-3744, 2018.
- MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, n. 2, p. 127-130. 2001.
- MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, London, v. 15, n. 2, p. 127-130. 2001.
- MOREIRA, B. O.; DAVID, J. M. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante dos extratos hexânico e diclometânico das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (ANACARDIACEAE)**. Salvador, 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Programa de pós-graduação em química da UFBA/Universidade Federal da Bahia.
- NASCIMENTO, J. C., et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, Belo Horizonte, v. 92, n. 4, p. 327-332, Set./Nov. 2011.
- RODRIGUES, A. C. F., et al. Atividade antibacteriana, antioxidante e toxicidade do extrato etanólico de *Senna obtusifolia*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Maceió, v. 10, n. 3, p. 43 – 53. 2013.

SAHIB, N.G., ANWAR, F., GILANI, A.H., HAMID, A.A., SAARI, N., ALKHARFY, K.M. Coriander (*Coriandrum sativum*L.): a potential source of high-value components for functional foods and nutraceuticals – a review. **Phytother. Res.** 27, 1439–1456, 2013.

SANTOS, D. C. V., et al. Estudo químico e antitermítico da madeira de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (BRAÚNA). I Congresso Internacional de Diversidade do Semiárido. **Anais...** Paraíba: Editora Realize, 2016. Disponível em: <  
[https://editorarealize.com.br/revistas/conidis/trabalhos/TRABALHO\\_EV064\\_MD4\\_SA2\\_ID151\\_21102016113502.pdf](https://editorarealize.com.br/revistas/conidis/trabalhos/TRABALHO_EV064_MD4_SA2_ID151_21102016113502.pdf)>. Acesso em: 21 Nov 2018.

SONAGLIO D.; ORTEGA G. G.; PETROVICK P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: Simões CMO, Schenke IEP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2004. p. 289-326.

SANCHO, R. A. S. et al. **Avaliação das propriedades antioxidantes e antidiabéticas dos compostos bioativos de casca de feijão (*Phaseolus vulgaris*)**. 2015. 175 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.