

PERFIL ANTIOXIDANTE IN VITRO DE INDIGOFERA SUFFRUTICOSA

INDIGOFERA SUFFRUTICOSA ANTIOXIDANT PROFILE IN VITRO

Pedro Vinícius Silva Novis¹

Juliana Pinto de Medeiros²

Bruno Mendes Tenorio³

Carina Scanoni Maia⁴

Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenório⁵

RESUMO

Objetivo: Determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato de folhas de *Indigofera suffruticosa* através do método de varredura do radical livre DPPH. **Métodos:** Inicialmente realizou-se a coleta do material vegetal e posteriormente a obtenção do extrato. O teste antioxidante foi realizado através do método de DPPH (2,2-difenil-1 picrilhidrazil) em placa de 96 poços. Foram preparadas soluções do extrato metanólico de *I. suffruticosa* nas concentrações de 1000, 500, 250 e 125 µg/mL, e DPPH com absorbância entre 0,6 e 0,7 em 517 nm. **Resultados:** O efeito antioxidante do extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* na concentração 1000µg/mL apresentou 73,79% de atividade antioxidante e desvio padrão 1,5915; na concentração 500 µg/mL, 79,58% e desvio padrão 1,0231; na concentração 250 µg/mL, 67,25% e desvio padrão de 2,6531 e na concentração 125 µg/mL 57,12% e o desvio padrão de 0,4641. Os resultados sugerem que o extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* nas concentrações 1000 e 500 µg/mL têm grande potencial antioxidante, podendo conter substâncias capazes de doar elétrons e assim reduzir radicais livres. **Conclusões:** o extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* têm grande potencial antioxidante diretamente relacionado com o aumento da dose.

PALAVRAS-CHAVE: *Indigofera suffruticosa*, Antioxidante, DPPH.

ABSTRACT

Objective: To determine the *in vitro* antioxidant activity of leaf extract of *Indigofera suffruticosa* by free radical scanning method DPPH. **Methods:** Initially, the plant material was collected and the extract extracted. The antioxidant test was performed by the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) in a 96-well plate. Solutions of the methanolic extract of *I. suffruticosa* at concentrations of 1000, 500, 250 and 125 µg / mL, and DPPH with absorbance between 0.6 and 0.7 at 517 nm were prepared. **Results:** The antioxidant effect of the methanolic extract of leaves of *I. suffruticosa* in the concentration 1000µg / mL presented 73.79% of antioxidant activity and standard deviation 1,5915; in the concentration 500 µg / mL, 79.58% and standard deviation 1.0231; in the concentration 250 µg / mL, 67.25% and standard deviation of 2.6531 and in the concentration 125 µg / mL 57.12% and the standard deviation of 0.4641. The results suggest that the methanolic extract of

¹ Graduando do Curso de Biomedicina da Universidade Federal - UFPE, pedro.novissp@gmail.com;

² Prof^o Dr. Do departamento de Histologia e Embriologia da Universidade federal de pernambuco, jupinto2@bol.com;

³ Prof^o Dr. Do Departamento de Morfologia da Universidade federal da paraíba - UFPE, brunoufrpe@hotmail.com;

⁴ Prof^o Dr. Do departamento de Histologia e Embriologia da Universidade federal de pernambuco - UFPE, leticyasimone@gmail.com;

⁵ Professor orientador: Prof^o Dr. Do departamento de Histologia e Embriologia da Universidade federal de pernambuco - UFPE, fcas14@hotmail.com;

leaves of *I. suffruticosa* in the concentrations 1000 and 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$ have great antioxidant potential and may contain substances capable of donating electrons and thus reduce free radicals. **Conclusions:** the methanolic extract of *I. suffruticosa* leaves have great antioxidant potential directly related to the increase of the dose.

KEYWORDS: *Indigofera suffruticosa*, Antioxidant, DHPP.

INTRODUÇÃO

O Brasil é possui uma ampla biodiversidade vegetal, fornecendo uma rica fonte de substâncias cujas propriedades químicas são importantes à vida humana, oferecendo alimentos, corantes e produtos com aplicação biotecnológica, que visam a utilização como fonte de recursos terapêuticos e também como ingredientes para formulação de cosméticos e agroquímicos, assim como a produção de fitofármacos. Em seus biomas exibem uma grande diversidade de espécies medicinais que consiste em uma das principais fontes de princípios ativos (1). Esses princípios ativos são os componentes químicos produzidos pelas plantas através do seu metabolismo que oferecem essa atividade terapêutica as plantas medicinais.

A utilização de plantas medicinais atualmente ainda é um hábito comum entre a população, e tem aumentado o interesse pela utilização e comercialização de plantas medicinais e produtos fitoterápicos no Brasil. Segundo a Organização Mundial da Saúde, milhões de pessoas ainda se utilizam da medicina tradicional como indispensável e às vezes única fonte para cuidar da saúde (2).

Através do seu metabolismo secundário as plantas sintetizam produtos, os quais têm sido constantemente utilizados no estudo de novos fármacos por possuírem excelentes atividades biológicas. Estima-se que 25% dos medicamentos utilizados em todo o mundo são oriundos de plantas medicinais (3).

Estudos realizados com plantas medicinais associam aspectos relacionados ao uso popular; isolamento, identificação dos princípios ativos (fitoquímica); atividades biológicas de extratos e de frações, estudo estrutural e de sua atividade, e mecanismos de ação dos princípios ativos (química medicinal e farmacologia). Essas observações são necessárias para garantir uso seguro das mesmas e distinguir espécies parecidas (4).

O gênero pantropical *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae, Indigoferae) possui cerca de 700 espécies, constituído por plantas herbáceas e arbustivas. Dentre as diversas espécies de *Indigofera*, destacam-se: *I. suffruticosa* Mill. e *I. truxillensis* Kunth. por sua distribuição ampla e propriedades medicinais (5).

A *I. suffruticosa* conhecida popularmente como anil, é uma planta arbustiva, medindo de 1-2 m de altura, com ramos pubescentes, propagando-se por sementes, folhas pinadas, com 7-15 folíolos oblongos ou ovais, glabros na face e no verso. Apresenta flores miúdas, numerosas, albo-rósea ou amarelada, e possui pequena vagem falciforme com 6-10 sementes com aparência de feijão (6). Esse vegetal vem sendo estudado, desde a década de 80, esse gênero se destaca por sua elevada representatividade territorial e apresenta várias de substâncias de interesses medicinais (7).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato de folhas de *Indigofera suffruticosa* através do método de varredura do radical livre DPPH.

METODOLOGIA

Obtenção do extrato

O material vegetal utilizado neste trabalho, folhas de *I. suffruticosa* (Figura 1), foi coletado na cidade de Nova Cruz no Estado de Pernambuco, cerca de 200 gramas de folhas foram trituradas e submetidas a extração metanólica a temperatura ambiente, durante 48 horas. Em seguida o extrato foi filtrado e evaporado com o auxílio do rotaevaporador sob temperatura de 40 °C (Figuras 1 à 4).

Figura 1. *Indigofera suffruticosa*



Fonte: O autor (2017).

Figura 2. Folhas trituradas de *I. suffruticosa*, submetidas a extração metanólica.



Fonte: O autor (2017).

Figura 3. Filtração do extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa*.



Fonte: O autor (2017).

Figura 4. Rotaevaporação do solvente.



Fonte: O autor (2017).

Atividade antioxidante: Método de varredura do radical livre DPPH

O teste antioxidante foi realizado através do método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em placa de 96 poços. Foram preparadas soluções do extrato metanólico de *I. suffruticosa* nas concentrações de 1000, 500, 250 e 125 µg/mL, e DPPH com absorvância entre 0,6 e 0,7 em 517 nm. As amostras foram incubadas com 1:1(V/V) de DPPH por 40 minutos a 25° C, analisadas em leitor de microplacas a 517 nm e relacionadas ao controle negativo (DPPH e etanol) e o controle positivo foi o Ácido Ascórbico. A capacidade de eliminar o DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a seguinte equação: $\text{Eliminação [DPPH] (\%)} = x \cdot 100$

DESENVOLVIMENTO

A *Indigofera suffruticosa* é uma planta pertencente a uma das maiores famílias botânicas, as Fabaceae que podem ser comumente conhecidas como Leguminosae (leguminosas). A apresentação de um fruto do tipo legume é uma característica típica dessa família. Comumente encontradas em zonas tropical e subtropical, por conta disso pode ser encontrada em praticamente todo o Brasil. Sendo plantas pouco exigentes e que podem crescer em solos com baixa fertilidade, muitas delas são bem adaptadas às regiões semi-áridas. Apresentam folhas elípticas compridas em formato de arbusto e flores roseás pequenas com frutos sementosos em formato de vagem.

As plantas da família Fabaceae são comumente empregadas para uso medicinal, mas a *Indigofera suffruticosa* em especial é utilizada para diversos procedimentos medicinais. Já foram registrados em destaque os usos de somente suas folhas para antiespasmódico, sedativo, estomático, diurético e purgativo. Estudos sobre sua composição bioquímica deram-se início em 1973 pelos pesquisadores Miller e Smith, foi descoberta sua capacidade como grande fonte de aminoácidos.

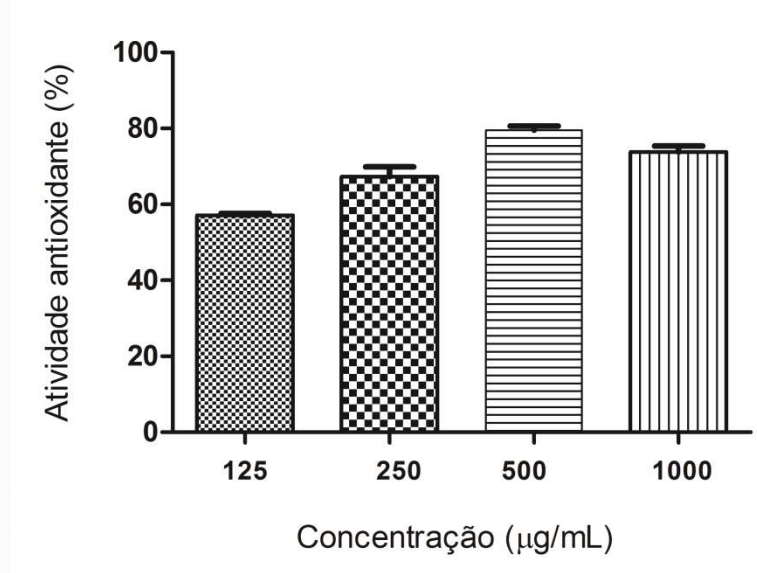
Logo, a escolha da *Indigofera suffruticosa* como tema dessa pesquisa foi uma opção de alta vigência, pois foi vista como frutífera para a área da saúde a noção de suas capacidades antioxidantes. Com fonte rica em aminoácidos e procedimentos medicinais, o descobrimento da sua capacidade de antioxidação será um complemento para a utilização mais abrangente dessa planta no combate a doenças e infecções tais como tumores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os percentuais referentes ao efeito antioxidante dos grupos submetidos ao tratamento por EMIS (50 mg/kg; v.o) ou silimarina (25 mg/kg; v.o.) e controle salina (10 ml/kg; v.o) em camundongos albinos Swiss com lesão hepática induzida por paracetamol estão expressos na Figura 1. Nos resultados do efeito antioxidante do extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* na concentração 1000µg/mL apresentou 73,79% de atividade antioxidante e desvio padrão 1,5915; na concentração 500 µg/mL, 79,58% e desvio padrão 1,0231; na concentração 250 µg/mL, 67,25% e desvio padrão de 2,6531 e na concentração 125 µg/mL 57,12% e o desvio padrão de 0,4641. Os resultados sugerem que o extrato

metanólico de folhas de *I. suffruticosa* nas concentrações 1000 e 500 $\mu\text{g/mL}$ têm grande potencial antioxidante, podendo conter substâncias capazes de doar elétrons e assim reduzir radicais livres.

Figura 1. Percentual da atividade antioxidante do extrato metanólico de *I. suffruticosa* em diferentes concentrações. Os dados estão expressos em análise de variância usando o teste de Tukey ($P < 0,001$). N - 18



Fonte: O autor.

Quanto à atividade antioxidante, esta proporciona benefícios à saúde por inibir a peroxidação lipídica (8). A porcentagem de atividade antioxidante é proporcional à quantidade de DPPH consumida pela amostra (9). Desta forma, quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua absorvância e maior a sua atividade antioxidante. O nosso estudo do efeito antioxidante do extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* na concentração 1000 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$ mostrou a possibilidade de presença de substâncias capazes de doar elétrons e assim reduzir radicais livres. Esses resultados são semelhantes aos encontrados (10) e (11) referentes aos extratos metanólicos de *Indigofera hirsuta* e *Indigofera tinctoria* respectivamente, que mostraram atividade antioxidante significativa nas concentrações testadas.

Além disso, estudos realizados para investigar o efeito antioxidante do extrato e de proteína de folhas de *I. suffruticosa* (12) demonstraram que a proteína isolada possui massas molecular aparente de 31,7 KDa e ponto isoelétrico 8,13. A triagem fitoquímica da proteína demonstrou ausência em metabolitos secundários e do extrato revelou a presença de flavanóides e ácido gálico. Tanto o extrato quanto a proteína exibiram a presença de conteúdo

fenólico, o qual foi considerado moderado. Extrato e proteína (1 mg/mL) exibiram potencial antioxidante. A proteína mostrou maior atividade (52,52 %) que o extrato (35,21 %) e foi moderada em relação ao padrão antioxidante (71,48 %). A atividade antioxidante contra o DPPH pela proteína obtida de extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa* é de interesse, pois se trata de um produto de origem vegetal com promissora aplicação biotecnológica (NASCIMENTO, 2014).

De acordo com Jeymesson (13), O extrato aquoso de *Indigofera* não exibiu citotoxicidade contra células HEP-2 (Human Larynx Epidermoid Carcinoma Cells) pelo método MTT. A atividade antitumoral dos extratos aquosos por infusão (64,53%) e maceração (62,62%) frente ao Sarcoma 180 em camundongos na dose de 50 mg/kg i.p., baseada na baixa ordem de toxicidade, foi comparada com o grupo controle que mostrou desenvolvimento tumoral de 100%. Os referidos extratos produziram reações comportamentais nos sistemas nervosos central e periférico sem apresentar alteração de massa muscular. Considerando a baixa ordem de toxicidade e a alta efetividade na inibição do crescimento de tumor sólido, o extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa* pode ser usado como agente terapêutico alternativo anticâncer.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo sugerem que o extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* têm grande potencial antioxidante diretamente relacionado com o aumento da dose.

REFERÊNCIAS

1. ALVES, C. Q., Brandão, H. N., David, J. M., David, J. P., Lima, L. D. S. **Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides**. *Diálogos & Ciência*, v.12, p.1-8. 2007.
2. BARROS, G.M.C.C.; Teixeira, S.P. **Estudo farmacobotânico de duas espécies de Anileira (*Indigofera suffruticosa* e *Indigofera truxillensis*, Leguminosae) com propriedades farmacológicas**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.1, p.278-294, abr/jun. 2008
3. BRAGA, R. **Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará**. 3ª edição. Mossoró, Escola Superior de Agricultura. 1976.

4. COSTA, E.V.M. **Estudo etnobotânico sobre plantas utilizadas como antimaláricas no Estado do Amapá, avaliação da atividade antimalárica e toxicidade aguda por via oral de *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke.** Tese (Doutorado em Biodiversidade Tropical). Macapá: Universidade Federal do Amapá, 2013.
5. MARQUES, L. C., Souza, C. M. **Research and development of phytomedicines: Report of experience on a Brazilian pharmaceutical company.** Revista Fitos, v. 7, p. 50-5. 2012.
6. MOREIRA, J. L. D. A., Azevedo-Tozzi, A. M. G. D. **Indigofera L. (Leguminosae, Papilionoideae) no estado de São Paulo, Brasil, Brazilian Journal of Botany, v.20, n.1, p.97-117. 1997.**
7. MOURA, A. C. S. **Uso sustentável da biodiversidade brasileira: avaliação químico-farmacológica de plantas superiores: *Indigofera hirsuta* (Fabaceae).** 2010. Dissertação de mestrado (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
8. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS, **Traditional Medicine Strategy 2014-2023.** Genebra:WHO. 76 p. 2013.
9. RENUKADEVI, K. P., Sultana, S. S. **Determination of antibacterial, antioxidant and cytotoxicity effect of *Indigofera tinctoria* on lung cancer cell line NCI-h69.** International Journal of Pharmacology, v. 7, p. 356-362, 2011.
10. SAHOO, N.; Manchikanti, P.; Dey, S. **Herbal drugs: standards and regulation.** Fitoterapia, v. 81, n. 6, p. 462-471, 2010.
11. SHOBANA, S., Naidu, K. A. **Antioxidant activity of selected Indian spices. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA), v.62, n.2, p.107-110. 2010.**
12. NASCIMENTO, W. M. **Potencial antioxidante de extrato e proteína de folhas de *Indigofera suffruticosa*.** 2014. Dissertações de Mestrado - Bioquímica e Fisiologia – Universidade Federal de Pernambuco.
13. VIEIRA, J. R. C. ***Indigofera suffruticosa* Mill: um meio terapêutico alternativo anti-câncer.** 2007. Dissertação de mestrado (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal de Pernambuco.