

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Sideroxylum Obtusifolium*

Luis Ricardo Monteiro Melo¹; Lúcio Wagner Santos Demésio¹; Luciclaudio Cassimiro de Amorim²;
João Victor de Oliveira Alves³; Márcia Vanusa da Silva¹.

(Faculdade Integrada de Pernambuco – FACIPE; Luizricardo9999@hotmail.com¹)

(Faculdade Integrada de Pernambuco – FACIPE; Luciwagner2017@hotmail.com¹)

(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE; luciclaudioamorim@hotmail.com²)

(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE; jv-bio@hotmail.com³)

(Universidade Federal de Pernambuco - UFPE; marciavanusa@yahoo.com.br¹)

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, um país de dimensões continentais (aproximadamente 8.500.000 km²) com notória diversidade de clima, vegetação, solo, fauna e microbiota, possui uma posição de vanguarda na bioprospecção de substâncias bioativas, sendo o detentor do maior potencial em biodiversidade do planeta. Além disso, a sua marcante diversidade cultural, resultante de seu processo de povoamento, permitiu a exploração de seus recursos naturais, em especial as plantas, de formas bem variadas para diversos fins medicinais (GIULIETTI et al. 2005);(ALBUQUERQUE et al. 2007).

A caatinga, único bioma exclusivamente brasileiro, compreende uma área de aproximadamente 900.000 km², que abrange os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais, chegando a ocupar 54% da região Nordeste e 11% das terras brasileiras (ANDRADE et al. 2005). A caatinga tem como característica o potencial hídrico reduzido no solo com acentuado período de estação seca, entre sete e dez meses, sua flora nativa apresenta então caracteres anatômicos, morfológicos e funcionais especializados para a sobrevivência destas plantas às condições adversas de clima e solo (DRUMOND et al. 2000).

Uma das estratégias de sobrevivência de plantas em ambientes adversos é o aumento na síntese de produtos do metabolismo secundário. Os metabólitos secundários não estão envolvidos em funções vitais das plantas, mas atuam nos mecanismos de defesa dos vegetais. A literatura tem comprovado que esses compostos estão envolvidos nos efeitos biológicos das plantas medicinais. Dentre esses compostos podemos focalizar nos antioxidantes e quantificar os mesmos através de testes como os de: Fenóis totais, ABTS e DPPH.

Em meio a tanta diversidade e dentro desse contexto, destaca-se facilmente a *Sideroxylum Obtusifolium*, que também pode ser reconhecida pela população como: Quixabeira, quixaba-preta, sapotiaba, espinheiro, caronilha, maçaranduba-da-praia, rompe-gibão e etc. É uma árvore de até 15m de altura que pertence a família Sapotaceae, oriunda do Brasil, mais precisamente dos estados do Piauí e de Minas Gerais. Ainda segundo Aquino et al. sua casca é utilizada na medicina empírica como um potente anti-inflamatório, sendo utilizada como cicatrizante por meio de chás ou infusões hidroalcoólicas (MORAIS et al., 2009).

As ações de oxidação desempenham um papel extremamente importante na produção de energia celular para as atividades biológicas. Contudo, como resultado desta ação são produzidos radicais livres que, quando em demasia, pode acarretar em danos oxidativos nas principais substâncias celulares, como: DNA, proteínas e lipídios. A desproporção entre esses radicais livres e

os antioxidantes (substâncias que equilibram e/ou eliminam estes radicais) sintetizados em nosso organismo acarreta o chamado estresse oxidativo.

Estudos indicam que o estresse oxidativo possa estar diretamente correlacionado ao desenvolvimento de vários problemas degenerativos, tais como aterosclerose, câncer, diabetes, úlceras gástricas, doenças cardiovasculares, envelhecimento, entre outras. O interesse em encontrar antioxidantes naturais para que seja utilizado em alimentos ou materiais medicinais em comutação aos antioxidantes sintéticos tem crescido significativamente, pois os mesmos podem estar relacionados a efeitos antagônicos, como propriedades carcinogênicas. (A.L.A. FERREIRA, L.S. MATSUBARA, 1997).

Souza et al. em seus estudos denomina antioxidantes as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato. Desta forma, a busca por alimentos ou plantas medicinais que tenham estas propriedades tem aumentado paulatinamente, uma vez que estes compostos podem promover proteção ao organismo.

Dessa forma, as plantas da caatinga possuem características singulares, sendo assim excelentes alvos para a busca de novas substâncias ativas. Adicionalmente, diante da velocidade do fenômeno de devastação da caatinga, há o risco que muito das propriedades medicinais dessas plantas não sejam reconhecidas, o que torna mais urgente intensificar os investimentos nessa área. Tendo em vista as distintas aplicações empíricas e considerando a necessidade e a relevância da avaliação de plantas e o seu potencial antioxidante, este trabalho objetivou avaliar o extrato aquoso da *Sideroxylum Obtusifolium* quanto à sua atividade antioxidante.

Diante desta realidade, justifica-se o interesse por investigar a ação de novos agentes antioxidantes, estudar as plantas endêmicas da caatinga e quantificar a sua atividade antioxidante para que por fim possam-se desenvolver produtos naturais provenientes das mesmas.

2. METODOLOGIA

2.1. Coleta do Material Vegetal

Cascas de *Sideroxylum Obtusifolium* foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau (PARNA do Catimbau), Pernambuco-Brasil. Após a coleta, foram identificadas e depositadas no Herbário do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco (IPA-PE).

2.2. Obtenção dos extratos

As cascas de *Sideroxylum Obtusifolium* foram submetidas à secagem em temperatura ambiente por sete dias, sendo então trituradas. O extrato aquoso foi obtido por infusão, em água deionizada, a 90°C, utilizando 100 g de folhas moídas em 1,5 L do solvente. Após 30 minutos de repouso, o material foi filtrado e o solvente foi totalmente removido a 40°C, a pressão reduzida, em rota evaporador.

2.3. Atividade Antioxidante Utilizando o ABTS

O Método descrito foi escrito Re et al. (1999) e modificado por Kuskoski et al. (2004), segundo os mesmos o ensaio de ABTS baseia-se na geração de cromóforo radical catiônico, obtido a partir da oxidação de ABTS por persulfato de potássio. A reação de oxidação foi preparado com 7mM solução de ABTS juntamente ao persulfato de potássio 140 mM (concentração final) e a mistura foi deixada no escuro à temperatura ambiente durante 16 h antes da sua utilização. O ABTS + solução foi diluído em etanol até uma absorbância de 0,7 (\pm 0,02) unidades em 734nm. 2mg do extrato foi diluído em 2ml de etanol, dessa solução foi retirada 20ul e posta em tubos de ensaio em 3 triplicata e adicionando 2 ml da solução ABTS+, deixada em repouso no escuro por 6 minutos.

As leituras de absorvância a 730nm foram realizadas após da reação de 6 a 7 minutos. O resultado é expresso em porcentagem de inibição pela formula abaixo:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{\text{ABS CONTROLE} - \text{ABS AMOSTRAS}}{\text{ABS CONTROLE}} \times 100$$

Onde: ABS controle é o radical com etanol e ABS amostras é o Radical com o extrato.

2.4. Atividade Antioxidante Utilizando o DPPH

A atividade eliminatória do radical livre de DPPH dos extratos, foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Marca-Williams et al. com pequenas modificações. Uma solução de estoque de DPPH em metanol ($200 \mu\text{M}$) foi diluída adicionalmente em metanol para obter-se a UV-VIS absorvância entre 0,6-0,7 a 517nm, obtendo-se a solução de trabalho de DPPH. Concentrações diferentes (500; 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,6 $\mu\text{g/ml}$) dos extratos (40 μl) foram misturados com solução de DPPH (250 μL) e após 30 minutos de incubação no escuro as absorvâncias foram lidas ao mesmo comprimento de onda acima mencionado. Para validação do teste foram utilizados dois controles (negativo e positivo) com metanol e ácido gálico. O resultado é expresso em porcentagem de inibição pela formula abaixo:

$$\text{SRL (\%)} = \frac{\text{ABS CONTROLE} - \text{ABS AMOSTRAS}}{\text{ABS CONTROLE}} \times 100$$

Onde: ABS controle é o radical com metanol e ABS amostras é o Radical com o extrato.

2.5. Atividade Antioxidante Utilizando Fenois Totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Folin-Ciocalteu (KÄHKÖNEN et al. 1999). 200 μL extratos vegetais (na concentração de 1 mg/mL) foram adicionados em tubos, juntamente com 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (1:1/v:v) e 2.5 mL de carbonato de sódio (20%). A mistura foi incubada por 30 min em temperatura ambiente. A absorvância foi medida à 765 nm e a estimativa de compostos fenólicos totais foi calculada utilizando uma equação obtida a partir da curva de calibração do ácido gálico, sendo realizada em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estilo de vida aeróbica está profundamente ligado à produção de radicais livres, incluindo as espécies reativas de oxigênio (ROS), portanto, é indispensável para o desenvolvimento e função das células, um ambiente contendo oxigênio, para que haja a presença de sistemas de proteção envolvendo enzimas especializadas e antioxidantes de baixo peso molecular.

Os compostos fenólicos exercem funções protetoras não enzimáticas extremamente eficazes contra o estresse oxidativo. Os mesmos podem agir como antioxidantes de diversas formas, inibindo a oxidação de íons metálicos de transição, eliminando intermediários de oxidação (incluindo ROS), e coibindo várias enzimas pró-oxidantes. Os fenóis também são capazes de doar os átomos de hidrogênio dos grupos fenólicos OH aos radicais livres, parando, assim, a cadeia de propagação durante o processo de oxidação.

Assim, a determinação de compostos fenólicos é fundamental para compreender melhor as atividades biológicas dos extratos de origem vegetal. No presente estudo, os compostos fenólicos presentes nos extratos foram determinados utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e expressos

como equivalentes a ácido gálico (EAG) por grama de extrato. A determinação de compostos fenólicos em extrato aquoso da casca de *Sideroxylum Obtusifolium* foi de 119,5mg EAG/g extrato.

Os radicais livres de DPPH apresentam inicialmente a coloração roxa por terem elétron livre, e sua mudança de cor é dada quando um radical hidrogênio é doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com a molécula de DPPH, tendo uma cor amarelada, diminuindo-se, assim, a absorvância. A baixa absorvância indica atividade sequestrante de radicais livres (SANTOS et al., 2007). Em nosso trabalho a casca do *Sideroxylum Obtusifolium* obteve o melhor resultado na nossa quarta menor, com um sequestro de 79,81% na concentração de 62,5 ug/ml mostrando um resultado satisfatório. As concentrações superiores a 62,5ug/ml tiveram uma taxa de sequestro inferior, com uma distância de 1,51 % do auge da atividade.

Assim podemos dizer que a dosagem mínima para garantir uma boa atividade é de 62,5ug/ml. Na atividade do radical ABTS+ o resultado do teste se dá pela mudança da coloração, indicando positivo para atividade antioxidante quando perde toda cor. O quanto dessa mudança é quantificada e expressa em porcentagem, o extrato aquoso da casca do *Sideroxylum Obtusifolium* teve uma inibição de 85,83% na concentração de 1 mg/ul.

4. CONCLUSÕES

Em meio à corrida por novos medicamentos, os antioxidantes naturais tornam-se uma ferramenta substancial para o avanço da medicina, tornando maior o interesse por parte dos pesquisadores para que se descubram novos compostos bioativos que possam ser utilizados na cura de diversas enfermidades.

Em conformidade com os resultados obtidos, pode-se concluir que o extrato aquoso da casca da *Sideroxylum Obtusifolium* apresentou uma concentração significativa de compostos fenólicos, mostrando-se eficaz no sequestro de radicais livres, ao mesmo tempo em que atua como um antioxidante natural. Desta maneira, estudos mais específicos e métodos *in vivo* precisam ser realizados com os extratos desta espécie, para incentivar seu interesse biotecnológico. Entretanto, são necessários mais estudos relacionados às etapas de isolamento e caracterização dos compostos fenólicos responsáveis pela sua atividade antioxidante.

5. REFERÊNCIAS

1. A.L.A. FERREIRA, L.S. MATSUBARA. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil** 1997; 43(1): 61-8
2. 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.
3. ANDRADE, L. A. de; PEREIRA, I. M.; LEITE, U. T.; BARBOSA, M. R. V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. **Cerne**, v. 11, n. 3, p. 253-262, 2005.
4. AQUINO, Pedro et al . Evaluación de la actividad antiedematogénica tópica y antibacteriana del extracto metanólico de hojas de *Sideroxylon obtusifolium*. **Acta biol.Colomb.**, Bogotá , v. 21, n. 1, p. 131-140, Jan. 2016 .
5. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Brazilian Apples. Food and Nutrition Sciences*, 6, 727-735.

6. DRUMOND, M.A.; KIILL, L.H.P.; LIMA, P.C.F.; OLIVEIRA, M.C.; OLIVEIRA, V.R.; ALBUQUERQUE, S.G.; NASCIMENTO, C.E.S.; 30. 11. CAVALCANTE, J. 2000. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. *In* Seminário para avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga. Embrapa/Cpatsa, UFPE e Conservation International do Brasil, Petrolina.
7. GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L. P.; WANDERLEY, M. G.; VAN DEN BERG, C. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 52-61, 2005.
8. KÄHKÖNEN M.P.; HOPIA A.I.; VUORELA H.J.; RAUHA J.P.; PIHLAJA K.; KUJALA T.S.; HEINONEN M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.
9. KUSKOSKI, E. M. **Caracterización de pigmentos em frutos de baguaçu (E. umbelliflora Berg)**. Sevilla, 2003. 230p. Tesis - (Doctorado Estudios Avanzados en Analisis Químico), Departamento de Alimetnos, Nutrición y Bromatologia, Universidad de Sevilla.
10. MORAIS, Selene M. de et al . Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa , v. 19, n. 1b, p. 315-320, Mar. 2009 .
11. RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.
12. Souza, S.A.; Camara, C.A.; Silva, E.M.S.; Silva, T.M.S. 2013. Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013: ID 801383.