

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DE *COMMIPHORA LEPTOPHLOEOS*

Luciclaudio Cassimiro de Amorim¹; Graziela Claudia da Silva¹; João victor de Oliveira Alves¹; Lúcio wagner Santos Demésio¹; Maria Tereza dos Santos Correia¹

(Universidade Federal de Pernambuco (luciclaudioamorim@hotmail.com))

Introdução

As plantas medicinais são usadas desde da antiguidade pela civilização humana, no qual tem sido fonte constante de substâncias biologicamente ativas, promovendo o tratamento de uma gama de doenças. A população faz uso dessas plantas como um dos poucos recursos terapêuticos para tratar suas doenças mais frequentes. Embora o sistema de saúde chegue à zona rural, não é suficiente para suprir a necessidade das populações. Além disso, o uso das plantas medicinais estar ligado ao fato dos alto preço dos medicamentos sintéticos as pessoas se rendem à facilidade de se obter as plantas medicinais, que geralmente são cultivadas nos quintais de suas casas (PILA, 2006).

Nesse sentido temos a Caatinga, é uma formação vegetacional exclusivamente brasileiro e situado na região Nordeste e de Minas Gerais, possui grande diversidade de espécies vegetais, sendo muitas delas endêmicas e com adaptações para às condições de estresse ambiental característicos da região semiárida onde estão inseridas (baixa pluviosidade, temperaturas elevadas e altas taxas de evapotranspiração. As espécies da caatinga, apresentam adaptações morfológicas e/ou fisiológicas que dão a elas a capacidade de sobreviver em condições de seca. Pode-se dizer que essas espécies possuem como estratégia de sobrevivência, mecanismo de fechamento estomático e redução da área folia.

Ainda segundo DA SILVA, *et al.*(2004), a vegetação da caatinga apresenta ainda senescência, a caducifolia e o ajustamento osmótico como táticas para sobrevivência. Diversas espécies vegetais da Caatinga têm sido largamente utilizadas pela população que habita esta região, por conta de suas propriedades medicinais, através de chás e infusões preparados utilizando-se as plantas, sendo empregados no tratamento contra diversas doenças, como câncer, anemia, diabetes, dores, infecções em geral, problemas cardiovasculares, entre outras.

Dentro desse contexto, encontramos facilmente a *Commiphora leptophloeos* que pertence à família Burseraceae, que é uma família de plantas angiospérmicas e pertence a ordem Sapindales (DALY, 2012), apresenta 21 gênero e mais de 600 espécies (KHALID, 1983). Entre os gêneros encontrados no Brasil temos a *Commiphora leptophloeos* e que pode ser chamado pela população por diversos nomes dependendo da região, como imburana, imburana de cambão, umburana, falsa-imburana, imburana de cheiro, imburana-brava e etc. É uma planta de porte arbóreo de comportamento decíduo, podendo chegar até 12 m de altura. Ainda segundo Carvalho 2009, essa espécie é muito usada pela comunidade para os mais diversos fins terapêuticos com por exemplo a casca assim com a semente são usadas como garrafadas e xaropes no combate de doenças do estômago, enjoo e tosse. Além disso, o caule serve com tônico e cicatrizante no tratamento de feridas, gastrite e úlcera. Também é indicado contra tosses, bronquites e inflamações do trato urinário.

Agra 2007, em seus estudos relata que essa planta serve como tratamento contra inflamações e infecções, dor reumática, picada de cobra, transtornos do sistema digestivo e respiratório, para construção de casas em comunidade carentes, além de ser um excelente antioxidante.

O uso medicinal popular somado à riqueza metabólica que as espécies vegetais da Caatinga apresentam são indicativos de que as mesmas podem ser fontes promissoras de biomoléculas de interesse, com diversificadas aplicações biotecnológicas. Por isso, se faz necessário o desenvolvimento de mais estudos relacionados às propriedades terapêuticas desta planta.

Os processos de oxidação desempenham um papel essencial na produção de energia nas células para as atividades biológicas. No entanto, como resultado deste processo, são produzidos radicais livres que, quando em excesso, pode causar danos oxidativos aos principais compostos celulares: DNA, proteínas e lipídios. O desequilíbrio entre esses radicais livres e os antioxidantes (substâncias que estabilizam e/ou eliminam estes radicais) produzidos em nosso organismo causa o chamado estresse oxidativo.

Estudos apontam que o estresse oxidativo possa estar diretamente relacionado ao desenvolvimento de várias doenças degenerativas, tais como câncer, aterosclerose, diabetes, úlceras gástricas, envelhecimento, doenças cardiovasculares, entre outras. O interesse em se encontrar antioxidantes naturais para o uso em alimentos ou materiais medicinais em substituição aos antioxidantes sintéticos tem crescido consideravelmente, pois os sintéticos podem estar relacionados a efeitos adversos, como propriedades carcinogênicas.

Segundo Sousa e colaboradores denominam-se 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 significativamente, uma vez que compostos fenólicos podem promover proteção ao organismo e frequentemente apresentam atividade antioxidante.

Vale ressaltar que os compostos fenólicos são compostos secundários produzidos por plantas que apresenta pelo menos um grupo fenol e entre as inúmeras atividades atribuídas a este grupo de compostos destaca-se a atividade de proteção contra estresse oxidativo por meio da capacidade de atuar como sequestrador de radicais livres e na quelação de metais de transição.

Vários estudos têm relatado o alto potencial de plantas para produção de compostos que apresentam diversas propriedades antioxidantes.

Tendo em vista as diferentes aplicações populares e considerando a necessidade e a importância da avaliação de plantas e o seu potencial com poder antioxidante, este trabalho teve como objetivo avaliar o extrato aquoso de *Commiphora leptophloeos* quanto à atividade antioxidante.

Diante da realidade, justifica-se o fato de que plantas que ainda nem foram estudadas quanto a suas atividades biológicas sejam extintas, e que a busca por novos compostos de origem naturais com poder antioxidantes sejam introduzidos na medicina moderna.

Objetivo:

Avaliação da atividade antioxidante da *Commiphora leptophloeos*

Metodologia:

Material vegetal

Folhas de *Commiphora leptophloeos* 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).

Obtenção dos extratos

As folhas de *Commiphora leptophloeos* foram submetidas à secagem em temperatura ambiente por 7 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.

Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com o método Folin-Ciocalteu. 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 absorbância 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.

Sequestro do radical DPPH

O potencial antioxidante dos compostos também foi avaliado através capacidade de sequestro do radical livre 2,2-difenil – 1 – picrilhidrazil (DPPH). Uma solução de 0.2 mM de DPPH foi preparada em metanol. Para 250 µL de DPPH, foram utilizados 10 µL de cada amostra (concentrações de 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 µg/mL, utilizando DMSO como solvente) e foram adicionados em uma placa 96 poços. A placa foi incubada no escuro por 30 min, à temperatura ambiente. Após a incubação, foi medida a absorbância a 517 nm. A porcentagem de atividade de captura do radical DPPH foi calculada através da fórmula: % Redução DPPH = $[(A_c - A_s) / A_c] \times 100$, onde A_c representa a absorbância do controle (DPPH + DMSO) e A_s a absorbância das amostras.

Sequestro do radical ABTS

A atividade de captura do radical ABTS foi determinada de acordo com Re et al. [20] de $ABTS^+$ 14mmol.L⁻¹ e uma solução de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) a 4.9 mmol. L⁻¹, mantida à temperatura ambiente O cátion radical $ABTS^+$ foi produzido pela reação entre uma solução e protegida da luz por 16 h. Antes de ser usada, esta solução foi diluída com etanol para se obter uma absorbância de $0,700 \pm 0,020$, à 734 nm. Para a reação, foram misturados 3 mL da solução de $ABTS^+$ e 30 µL do extrato vegetal (concentração 1 mg/mL). A mistura foi homogeneizada e incubada à temperatura ambiente por 6 min. Após a incubação, foram mensuradas as absorbâncias das amostras a 734 nm e o trolox foi utilizado como padrão, do qual foi feita uma curva de calibração. A partir das leituras, foi calculada a porcentagem de inibição do ABTS, através da fórmula: % Redução de ABTS = $[(A_c - A_s) / A_c] \times 100$. Onde A_c representa a absorbância do controle e A_s a absorbância das amostras.

Resultados e discussão

O estilo de vida aeróbica está intrinsecamente ligado a produção de radicais livres, incluindo as espécies reativas de oxigênio (ROS), portanto, é fundamental para a função e desenvolvimento de células num ambiente contendo oxigênio a presença de sistemas de proteção envolvendo enzimas especializadas e antioxidantes de baixo peso molecular.

Os compostos fenólicos desempenham funções protetoras não enzimáticas eficientes contra o estresse oxidativo. Eles podem atuar como antioxidantes de várias formas, impedindo a oxidação de íons metálicos de transição, eliminação de intermediários de oxidação (incluindo ROS), e inibição de 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 de 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 das folhas de *Commiphora leptophloeos* foi de 143,8mg EAG/g extrato.

Estudos prévios têm reportado que atividade antioxidante de muitas plantas estão relacionadas aos conteúdos de compostos fenólicos.

O DPPH caracteriza-se como um radical livre com nitrogênio ao centro estável, devido à deslocalização de elétrons ao longo de toda a molécula, que resulta numa cor violeta forte a 520 nm. O DPPH tem sido largamente utilizado para avaliação da atividade antioxidante. Os compostos fenólicos possuem a capacidade de transferir o hidrogênio para DPPH ocasionando a mudança de cor da solução de púrpura para amarelo após a formação de difenilpicrilhidrazina (DPPH-H) [22]. Foi calculado o IC₅₀ da amostra, que corresponde a quantidade de extrato necessária para eliminar até 50% do DPPH e utilizados BHT e ácido gálico como padrões a fim de comparações. Foi observado que a eliminação do DPPH foi dose dependente. Além disso, a atividade de eliminação de DPPH do extrato utilizado (IC₅₀ 8,894 µg/mL) foi mais baixa que os padrões BHT (IC₅₀ 35,04 µg/mL) e ácido gálico (IC₅₀ 8,65 µg/mL).

O ensaio de captura do radical ABTS foi realizado de acordo com Re et al., 2008 que estima o potencial de redução da absorbância do reagente ABTS, em porcentagem. Ao entrar em contato com uma substância antioxidante, o ABTS sofre descoloração, o que reflete a capacidade da amostra teste para doar elétrons ou átomos de hidrogênio, inativando o radical KUMAR, 2014. A atividade de eliminação do radical ABTS foi de 99,86%, o que leva a crer a eficiência do extrato como antioxidante.

O método da capacidade antioxidante total (TAC) procura aferir a capacidade de eliminação (“sequestro”) de radicais livres contidos na amostra teste, pelos antioxidantes). A Capacidade antioxidante total é equivalente ao trolox “Troloxequivalent antioxidant capacity” (TEAC), sendo usado como composto de referência e a capacidade total é expressa como equivalente a trolox, porém alguns autores também utilizam o ácido ascórbico, quercetina e BHT.

A principal vantagem deste teste é medir a capacidade antioxidante de virtualmente todos os componentes de uma amostra biológica (sangue, urina, fezes), extrato vegetal ou alimento e não de somente um ou outro composto (FERRARI, 2010).

Na atividade antioxidante, a amostra foi submetida a análise pelo método do fosfomolibdênio. O método de complexação pelo fosfomolibdênio, descrito por Prieto et al. (1999), é uma maneira simples e barata de avaliar a capacidade antioxidante total de uma mistura complexa de compostos, como é o caso de extratos obtidos de plantas. A solução teste inicial possui coloração amarela, tornando-se verde a medida que a solução de fosfato de molibdênio se reduz. Este método possui a vantagem de avaliar a capacidade antioxidante tanto de componentes lipofílicos quanto de hidrofílicos (Prieto et al., 1999).

Os resultados mostraram que existe uma relação direta entre o a concentração de compostos fenólicos e o potencial antioxidante do extrato. Se sabe que quanto menor a quantidade de fenóis, menos intenso o potencial antioxidante. Pela coloração desenvolvida nas análises, observa-se que a amostra contendo EA foi capaz de reduzir o complexo fosfomolibdênio, e quando comparada com o padrão quercetina (44,1%), a atividade mostrou ser relativamente alta, alcançando 64,8% da atividade antioxidante da amostra. Também em comparação com a amostra com BHT apresentou-se mais eficiente onde o BHT foi de 1,7% a amostra com EA quanto a atividade antioxidante. Entretanto, quando comparadas às amostras com Quercetina e BHT, observa-se que o potencial antioxidante do extrato foi superior aos dois padrões, que são substância amplamente utilizada como padrões antioxidantes em produtos farmacêuticos e cosméticos para esta finalidade.

Conclusão

Em meio a corrida por novos medicamentos, os antioxidante naturais, se torna uma ferramenta indispensável para o avanço da medicina, e um maior interesse por parte dos pesquisadores para se descobrir novos compostos bioativos que possa ser utilizado na cura de várias enfermidades.

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o extrato aquoso da casca da *Commiphora leptophloeos* possui uma concentração significativa de compostos fenólicos mostrando ser eficiente no sequestro de radicais livres ao mesmo tempo atuando como um atioxidante natural. Desse modo, estudos mais específicos e métodos *in vivo* devem ser realizados com os extratos desta espécie, para incentivar seu interesse biotecnológico.

Entretanto, mais estudos relacionado a etapas de isolamento, e caracterização dos compostos fenólicos responsáveis pela sua atividade antioxidante se faz necessário.

Referencias:

ARCOVERDE, J. H. V. et al. Screening of Caatinga plants as sources of lectins and trypsin inhibitors. **Natural Product Research**, v. 28, n. 16, p. 1297–1301, 2014.

ALMEIDA, J. R. G. DA S. et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichia virgilioides* Kunt. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 638–641, 2006.

ALBUQUERQUE, U. P. DE; OLIVEIRA, R. F. DE. Is the use-impact on native Caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 1, p. 156–170, 2007.

Albuquerque UP, Hanazaki N 2006. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. *Rev Bras Farmacogn* 16 (Supl.): 678-689.

Alves, Ruy José Válka, Leonora Cardin, and Marcela Stuker Kropf. "Angiosperm disjunction" Campos rupestres-restingas": a re-evaluation." *Acta Botanica Brasílica* 21.3 (2007): 675-685.

Agra, Maria de Fátima, Patrícia França de Freitas, and José Maria Barbosa-Filho. "Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil." *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17.1 (2007): 114-140.

CAMPOS, JULIANA SILVA, and ANA PAULA ZANINI FRASSON. "Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de *Lafoesia pacari* A. ST-HIL. em emulsão não-iônica." *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* 32.3 (2012): 363-368.

Carvalho, P. E. R. "Imburana-de-Espinho-*Commiphora leptophloeos*." *Embrapa Florestas. Comunicado técnico* (2009).

CARTAXO, S. L.; DE ALMEIDA SOUZA, M. M.; DE ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326–342, 2010.

Clementino, Elaine Laíse Cavalcanti. "Avaliação de atividades biológicas e estudo fitoquímico de *Spondias mombin* L. e *Commiphora leptophloeos* (Mart.) JB Gillett." (2014).

FÉLIX-SILVA, J. et al. In vitro anticoagulant and antioxidant activities of *Jatropha gossypifolia* L.(Euphorbiaceae) leaves aiming therapeutical applications. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 405, 2014.

DA SILVA, E. C. et al. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. *Iheringia - Serie Botanica*, v. 59, n. 2, p. 201–205, 2004.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, S. M. M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 672–676, 2011.

LEBA, L.-J. et al. Optimization of a DNA Nicking Assay to Evaluate *Oenocarpus bataua* and *Camellia sinensis* Antioxidant Capacity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 18023–18039, 2014.

LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. *Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (Coffea arabica L.)*. *Ciência e Agrotecnologia*. [S.l.: s.n.], 2010.

SOUSA, C. M. D. M. et al. Artigo. v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

KUMAR, S.; SANDHIR, R.; OJHA, S. Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves. **BMC research notes**, v. 7, n. 1, p. 560, 2014.

STASIUK, M.; KOZUBEK, A. Biological activity of phenolic lipids. **Cell. Mol. Life Sci.** 67, 841–860, 2010.

SILVA, M. J. D. et al. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae). *Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada*, v. 33, n. 2, p. 267–274, 2012.

NOBRE, G. A.; AZEVEDO, B. M. D. E.; LIMA, A. D. *Agropecuária Técnica* –. p. 75–82, 2010.

PAWLACZYK, I. et al. Anticoagulant and anti-platelet activity of polyphenolic-polysaccharide preparation isolated from the medicinal plant *Erigeron canadensis* L. **Thrombosis Research**, v. 127, n. 4, p. 328–340, 2011.

Pilla, Milena Andrea Curitiba, MC de M. Amorozo, and Antonio Furlan. "Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP, Brasil." *Acta Botanica Brasilica* 20.4 (2006): 789-802.