I Congresso Internacional
em Saúde e Desenvolvimento Socioambiental
Garanhuns, Brasil
2024

EFEITO DO SOLVENTE NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* DE *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K. Schum PELO MÉTODO DE DPPH

Émily Rosane de Melo Almeida[1]
emily.rosane@upe.br
Juliana de Souza Henrique[1]
juliana.henrique@upe.br
Helder Lucas da Silva Santos[1]
helder.santos@upe.br
Givaldo Gabriel Alves da Silva[1]
givaldo.gabriel@upe.br
Ana Carolina de Carvalho Correia[1]
ana.correia@upe.br

[1] Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento Socioambiental, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, Brasil.

INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo consiste no acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) devido ao seu excesso de produção ou da insuficiente disponibilidade de antioxidantes pelo organismo (Ballester *et al*., 2022). O excesso de radicais livres pode resultar em danos teciduais (Jin *et al*., 2023), mutação do DNA, além de contribuir para o desenvolvimento de alguns problemas de saúde como câncer, diabetes e processos inflamatórios (Fabri *et al*., 2011). Assim, torna-se importante buscar por produtos vegetais que apresentem potencial antioxidante e minimizem os efeitos das EROs no organismo. Atualmente, estudos que abordam propriedades provenientes de plantas têm associado tais benefícios a presença de metabólitos secundários em sua constituição (Soares *et al*., 2016). Entre os principais metabólitos secundários encontrados nas plantas, estão os compostos fenólicos, extensivamente descritos na literatura devido a sua relação com as atividades antioxidante, antialérgica, anti-inflamatória, antitumoral, antibacteriana e fotoprotetora (Coelho; Agra; Barbosa, 2006; Hubner *et al*., 2019; Bortoluzzi; Bender, 2023). Nesse contexto, a *Tocoyena formosa*, popularmente conhecida como Jenipapo-bravo, tem sua utilização baseada no conhecimento popular para o tratamento de inflamações, entorses, inchaços e lesões, propriedades que podem ser indicativos da presença de compostos fenólicos (Azevedo; Neto; Dantas, 2016). Ademais, apesar do uso popular da *T. formosa* ser baseado na utilização da água como solvente, estudos mostram que diferentes solventes e métodos de extração podem obter concentrações diferentes de metabólitos secundários de uma mesma planta (Hubner *et al*., 2019; Bohn; Mibielli; Teleken, 2022; Oliveira; Gris; Martins, 2023). Diante disso, decidiu-se investigar a influência da utilização de diferentes solventes na obtenção de extratos das folhas de *T. formosa* frente a sua atividade antioxidante.

MATERIAIS E MÉTODOS

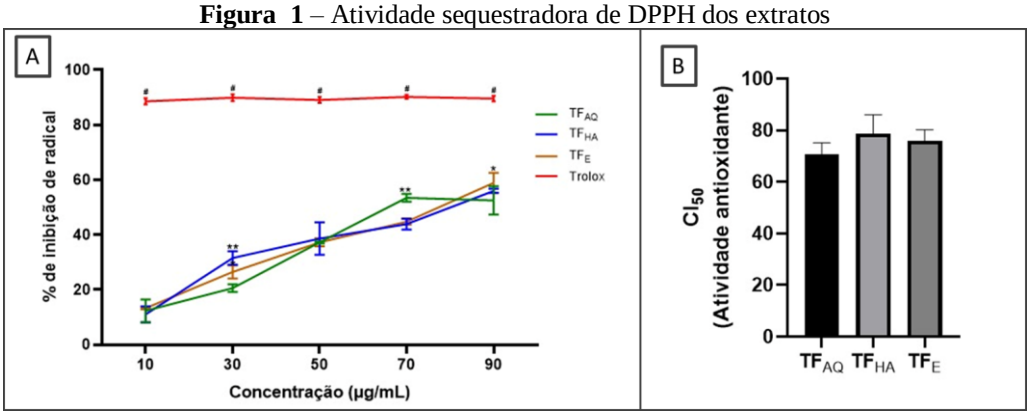
O uso da planta foi autorizado pelo SISGEN - nº A93223E. O material botânico foi coletado por meio da técnica de turnê-guiada (Albuquerque, 2014). As folhas foram desidratadas em estufa (37ºC) e trituradas em moinho. Os extratos foram obtidos a 1mg/mL em banho ultrassônico (40 min) através de diluição em diferentes concentrações de água e etanol: 1 (aquoso) – 1/1 água ($TF_{(AQ)}$); 2 (hidroalcóolico) – ½ água e ½ etanol ($TF_{(HA)}$); 3 (etanólico) – 1/1 etanol ($TF_{(E)}$). A capacidade antioxidante foi determinada utilizando o método de redução do radical livre DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazil) proposto por Mezza *et al*., (2018). Em microtubos, foram adicionadas as quantidades apropriadas das amostras de *T. formosa* (10, 30, 50, 70 e 90 µg/mL), do etanol (padrão) e da solução de DPPH (60 µM). Posteriormente um volume de 300,0 µL de cada uma das amostras foi transferido para microplacas com 96 poços ficando em repouso por 30 min sob o abrigo de luz. Em seguida, a leitura foi realizada no espectrofotômetro UV-Vis (517 nm). O experimento teve como controle uma

solução de 50µL de etanol em 450µL de solução DPPH e o etanol como branco. A capacidade antioxidante foi determinada conforme equação: % de proteção = (Abs do controle – Abs da amostra) x 100 / Abs do controle. A concentração de inibição (CI_{50}) foi determinada em µL/mL. Foram realizados três experimentos independentes, em triplicata. Todos os resultados foram expressos como média ± desvio padrão da média e analisados por regressão não linear. Os resultados foram considerados significantes quando $p < 0,05$. Todos os dados foram analisados pelo programa GraphPad Prism versão 8.0.3 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para calcular a porcentagem de inibição do radical DPPH (%) dos extratos, foi utilizada uma curva linear baseada nos valores das concentrações empregadas e na capacidade de cada uma delas de reduzir a atividade do DPPH. As porcentagens de sequestro de radicais livres pelos extratos nas concentrações testadas estão expressas na Figura 1. As concentrações de inibição da atividade do DPPH em 50% (IC_{50}) dos extratos $TF_{(AQ)}$, $TF_{(HA)}$ e $TF_{(E)}$ são respectivamente 70,73 ± 4,42 µg/mL, 78,59 ± 7,44 µg/mL e 75,90 ± 4,31 µg/mL, não havendo diferenças significativas entre si.

Figura 1 – Atividade sequestradora de DPPH dos extratos



Legenda: (A) Comparação da porcentagem de inibição do DPPH dos extratos nas concentrações testadas (B) Atividade inibitória de 50% do DPPH dos extratos $TF_{(AQ)}$, $TF_{(HA)}$ e $TF_{(E)}$. *As diferenças foram significativas considerando $p < 0,05$ comparando os extratos entre si. **As diferenças foram significativas considerando $p < 0,001$ comparando os extratos entre si. #As diferenças foram significativas comparando os extratos com o controle. ANOVA two way, seguida de pós teste de Dunnet.

Os dados encontrados na literatura acerca da *T. formosa* são escassos levando a dificuldade na comparação de resultados. Todavia, em um estudo desenvolvido por Cesário *et al.* (2018) a atividade antioxidante do extrato hidroalcóolico de folhas de *T. formosa* foi avaliado também pelo método DPPH, apresentando uma CI_{50} de aproximadamente 180 µg/mL.

Em algumas espécies da família Rubiaceae foram identificadas a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante, como por exemplo Ferreira *et al*. (2021) obtiveram valores de CI_{50} entre 6,90 e 250 µg/mL dos extratos obtidos de *Mitracarpus frigidus* (Willd. ex Reem Schult.) K. Schum. por partições com diferentes solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila e hidroalcóolico) nas concentrações de 250 a 0,49 µg/mL. De forma semelhante Oliveira *et al.* (2023) ao avaliar o extrato etanólico de *Hamelia patens* Jacq. (2,5 mg/mL) encontraram a CI_{50} no valor de 45,20 mg/mL ± 0,996. Ademais, Crispim (2022) analisou as atividades biológicas do extrato metanólico (500 µg/mL) das brácteas, dos ramos e das folhas de *Warszewiczia coccínea*, dentre as quais para a capacidade antioxidante foi medida por valores médios de absorbâncias obtendo 0,105 ±0,011, 0,028 ±0,003 e 0,069 ±0,014, respectivamente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados obtidos nessa pesquisa, pode-se observar que os diferentes solventes utilizados para o preparo dos extratos das folhas de *Tocoyena formosa* não demonstraram diferença

estatística em relação a atividade antioxidante *in vitro* pelo método DPPH. Contudo, todos demonstraram uma atividade antioxidante promissora, obtendo valores de CI_{50} 70,73 ± 4,42 µg/mL, 78,59 ± 7,44 µg/mL e 75,90 ± 4,31 µg/mL, para os $TF_{(AQ)}$, $TF_{(HA)}$ e $TF_{(E)}$, respectivamente. No entanto, pesquisas adicionais e outras análises são necessárias para validar o potencial antioxidante da espécie e sua influência quanto aos diferentes métodos de extração.

PALAVRAS-CHAVE Plantas medicinais. Capacidade antioxidante. Métodos de extração.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FACEPE, à UPE, ao PPGSDS, e à CAPES pelo financiamento e apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Referências

ALBUQUERQUE, U. P. *et al*. **Methods and techniques in Ethnobiology and Ethnoecology**. New York: Springer, 2014. 480 p.

BALLESTER, P. *et al*. Effect of ginger on inflammatory diseases. **Molecules**, v. 27, n. 21, p. 7223, 2022.

BOHN, L.; MIBIELLI, G.; TELEKEN, J. Otimização da extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos do resíduo da produção de vinho. **Open Sci Res VIII**, v. 8, p. 1082-1095, 2022.

BORTOLUZZI, A.; BENDER, S. Presença de compostos fenólicos em extrato glicólico de própolis e sua eficácia na proteção frente a radiação UV. **Braz J Health Rev**, v. 6, n. 5, p. 25310-25322, 2023.

CESÁRIO, F. R. A. S. *et al*. Evaluation of the antioxidant and gastroprotective activity and HPLC analysis of the hydroalcoholic extract of *Tocoyena formosa* leaves (Cham. & Schlecht) K. Schum. **Food Chem Toxicol**, v. 112, p. 355-362, 2018.

COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K. Schum. (Rubiaceae). **Rev Bras Farmacogn,** v. 16, p. 170-177, 2006.

CRISPIM, G. S. **Estudo químico e biológico de *Warszewiczia coccinea* (Vahl) Klotzch (Rubiaceae)**. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-graduação em Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2022. Disponível em: https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/38577

FABRI, R. L. *et al*. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Rev Bras Plantas Med**, v. 13, p. 183-189, 2011.

FERREIRA, K. C. *et al*. Avaliação das atividades antioxidante e fotoprotetora *in vitro* de partições do extrato metanólico de *Mitracarpus frigidus* (Rubiaceae). **HU Revista**, v. 47, p. 1-10, 2021.

HUBNER, A. F., *et al*. The synergistic behavior of antioxidant phenolic compounds obtained fromwinemaking waste's valorization, increased the efficacy of a sunscreen system, Antioxidants (Basel). **Antioxidants,** v.8, n. 11, p. 530, 2019.

JIN, *et al*. Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy: role of polyphenols. **Front Immunol**, v. 14, p. 1185317, 2023.

MEZZA, G. N. *et al*. Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food Chem**, v. 242, p. 9-15, 2018.

OLIVEIRA, F. M. E.; GRIS, E. F.; MARTINS, P. M. Caracterização química e físico-química de extratos aquosos e hidroetanólicos de entrecascas e cerne de ipê-roxo (*Handroanthus impetiginosus* Mart. Ex DC. Mattos–Bignoniaceae). **Revista Fitos**, v. 17, n. 3, p. 346-356, 2023.

OLIVEIRA, G. R. *et al*. Avaliação da ação antioxidante e citotoxicológica do extrato etanólico de *Hamelia patens* Jacq. em células NIH 3T3. **Braz J Implantol Health Sci**, v. 5, n. 5, p. 1407-1422, 2023.

SOARES, N. *et al*. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, 2016.