

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE/UV DE SEIS ESPÉCIES DE PLANTAS

Antioxidant activity and identification of phenolic compounds by hplc/uv of six species of plants

Edjane Vieira Pires^{1*}; Iara Barros Valentim²; Johnnatan Duarte de Freitas²; Erika Matias da Silva¹; Cenira Monteiro de Carvalho³

¹Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL)- Palmeira dos Índios, AL

²Instituto Federal de Alagoas (IFAL)- Maceió, AL

³Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Satuba, AL

*E-mail: edjane.pires@uneal.edu.br

Data do recebimento: 15/01/2023 - Data do aceite: 31/07/2023

RESUMO: Estudos voltados para a busca por antioxidantes naturais têm sido crescente, isto porque esta propriedade é associada à prevenção de doenças crônicas resultantes do estresse oxidativo. Os compostos fenólicos são uma classe de metabólitos secundários bastante relatados como responsáveis pela ação antioxidante de algumas plantas. O presente estudo teve como objetivo realizar a identificação e a quantificação por CLAE/UV de compostos fenólicos e avaliar o potencial antioxidante dos extratos etanólicos de seis espécies de plantas. Para tanto, realizou-se a coleta, secagem e trituração da casca do caule das seis espécies para extrações sucessivas em etanol. Os extratos, brutos, foram então obtidos após remoção do solvente em rotaevaporador e procederam-se as análises em CLAE. Além disso, o potencial antioxidante dos extratos foi determinado por meio do método com o radical livre DPPH. Foi possível identificar e quantificar nove compostos fenólicos, dos doze investigados nas espécies em geral. As seis espécies estudadas apresentaram potencial antioxidante. Uma maior ação inibitória do radical DPPH foi detectada com os extratos etanólicos das espécies *Cedrela odorata*, *Amburana cearensis* e *Delonix regia*, com 98,66, 85,68 e 70,97% de inibição quando suas concentrações eram de 400 µg/mL, respectivamente. O IC₅₀ de apenas 42,9 mg/L foi obtido para a espécie *Cedrela odorata*.

Palavras-chave: CLAE/UV, bioantioxidantes, DPPH.

ABSTRACT: Studies focused on the search for natural antioxidants have been increasing, because this property is associated with the prevention of chronic diseases resulting from oxidative stress. Phenolic compounds are a class of secondary metabolites widely reported to be responsible for the antioxidant action of some plants. The present study aimed to identify and quantify phenolic compounds by HPLC/UV and evaluate the antioxidant potential of ethanolic extracts from six species of plants. For that, the stem bark of the six species was collected, dried and crushed for successive extractions in ethanol. The crude extracts were obtained after removing the solvent in a rotary evaporator and the analyzes were carried out in HPLC. In addition, the antioxidant potential of the extracts was determined using the DPPH free radical method. It was possible to identify and quantify nine phenolic compounds out of the twelve compounds investigated in species in general. The six species studied showed antioxidant potential. A greater inhibitory action of the DPPH radical was detected with the ethanolic extracts of the species *Cedrela odorata*, *Amburana cearensis* and *Delonix regia* with 98.66, 85.68 and 70.97% inhibition when their concentrations were 400 µg / mL respectively. The IC₅₀ of only 42.9 mg/L was obtained for the species *Cedrela odorata*.

Keywords: HPLC/UV, bioantioxidants, DPPH.

Introdução

A oxidação é um processo biológico essencial central para o funcionamento do organismo vivo, para a produção de energia. Contudo, também leva à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), o que pode resultar na oxidação de lipídios, danos às proteínas e até morte celular (CHEN et al., 2020). Na prática, isto significa que o estresse oxidativo pode acarretar doenças preocupantes, como a diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, doenças intestinais e até câncer (STAGOS, 2019). O uso de antioxidantes sintéticos nas indústrias farmacêuticas, alimentícia e cosmética é comumente feito para driblar os malefícios mencionados acima. No entanto, esse tipo de produto precisa ter seu uso limitado, devido ao seu potencial de carcinogenicidade (SILVA; PAIVA, 2012).

A busca por novos antioxidantes naturais é uma área crescente de pesquisa devido ao amplo espectro de suas propriedades biológicas, que estão associadas à prevenção das doenças crônicas que se originam no estresse oxidativo (CARDOSO; FAZIO, 2020). Em trabalho publicado por Yadav et al. (2020), relata-se que os extratos foliares obtidos em diferentes solventes orgânicos demonstram atividade de eliminação do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) significativa, variando de 76 a 88%.

Os metabólicos secundários, presentes nas plantas, apresentam ampla diversidade química, e os compostos fenólicos estão incluídos neste contexto. Estudos recentes relataram que muitas atividades biológicas estão ligadas à presença de compostos fenólicos, que agem como captadores de radicais livres e/ou quelantes de metal (KABTNI et al., 2020). Em estudo realizado com diversas

espécies do gênero *Crataegus*, percebeu-se que a espécie *Crataegus pentagyna* foi a que apresentou maior atividade antioxidante e maior conteúdo de compostos fenólicos comparativamente (ALIREZALU et al., 2020).

O método mais amplamente utilizado para determinação de compostos fenólicos é a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC). Pode ser acoplado com detecção ultravioleta UV, ultravioleta/arranjo diodo (UV/DAD), fluorescência e detecção por espectrometria de massas EM (ALONSO; GARCIA-ROMEROA; HERMOSIN-GUTIERREZ, 2007; FANG et al., 2008). Dentre estes, a primeira opção é a mais aplicada na prática por ser menos cara e com bons resultados de análise (WANG et al., 2020).

O DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) é geralmente usado como substrato para avaliar atividade antioxidante. O Ensaio DPPH baseia-se na medição da capacidade de eliminação do radical estável DPPH quando exposto à amostra antioxidante (extratos e/ou frações de plantas), de maneira que um decréscimo da absorbância reflete a maior atividade de eliminação de radicais livres. Todas as espécies aqui pesquisadas já possuem relatos acerca de alguma ação farmacológica. *Cedrela odorata* e *Delonix regia* possuem atividades microbiana e antioxidante, enquanto a espécie *Bathysa cuspidata* foi divulgada cientificamente por sua atividade hepatoprotetora (GONÇALVES et al., 2012; IDU et al., 2015; SHARMA; ARORA 2015). Os ipês *Tabebuia avellanadae* e *Tabebuia serratifolia* apresentam em sua composição fitoquímica a presença do lapachol com reconhecida ação antiinflamatória, analgésica, antibiótica e anti-neoplásica (ARAÚJO; ALENCAR; NETO, 2002)

Geralmente, a capacidade antioxidante dos fenóis em extratos vegetais é eficaz em baixas concentrações, e em humanos, está associada à prevenção de doenças cardiovasculares e câncer (NICIFOROVIC et al.,

2010). Diante disso, as pesquisas que almejam a determinação da atividade antioxidante de extratos vegetais podem contribuir para o surgimento de plantas, como uma fonte de biocompostos antioxidantes. O presente trabalho teve como objetivo identificar e quantificar por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência doze compostos fenólicos, bem como avaliar o potencial antioxidante de seis espécies vegetais. Por intermédio dos resultados obtidos é possível nortear novos e/ou prosseguimentos de estudos envolvendo análises e identificações dos constituintes químicos destas espécies, que podem ser candidatas a bioantioxidantes. Neste trabalho, vale ressaltar que se faz o primeiro relato que demonstra a ação antioxidante do extrato etanólico da casca do caule da *A. cerarenses* e que a espécie *Cedrela odorata* demonstrou excelente potencial de inibição de 50% da concentração de radical DPPH (IC_{50}), (42,9 mg/L).

Material e métodos

Coleta do material vegetal e preparação dos extratos

As seis espécies de plantas, nomeadamente *Cedrela odorata* (Meliaceae) - Cedro, *Amburana cearenses* (Fabaceae) - Umburana, *Delonix regia* (Fabaceae) - Flamboyant, *Tabebuia avellanadae* (Bignoniaceae) - Ipê roxo, *Tabebuia serratifolia* (Bignoniaceae) - Ipê amarelo, *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae) - Quina, foram coletados nos municípios de Estrela de Alagoas e Palmeira dos Índios, região Nordeste do estado de Alagoas, Brasil. O material vegetal, representado pela casca do caule de cada espécie, foi seco à temperatura ambiente, depois triturado e pesado. Posteriormente, cada material (espécie) foi imerso em etanol na proporção 1:5 e mantido em repouso por um período de 72 horas.

Este extrato inicial foi filtrado e armazenado e seguiu-se as extrações, sucessivamente, envolvendo a casca do caule com etanol (totalizando 3 períodos) pelo mesmo intervalo de tempo (72h) e temperatura ambiente. Os extratos etanólicos foram concentrados em evaporador rotativo, a uma temperatura média de 50 °C.

Identificação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE

Padrões e Reagentes

Os padrões utilizados para a análise cromatográfica dos compostos fenólicos foram o ácido gálico, catecol, catequina, ácido clorogênico, ácido cafêico, vanilina, seringaldeído, ácido cumárico, cumarina, rutina, miricitina e quercetina da marca Sigma-Aldrich. Todos os solventes utilizados para cromatografia foram de grau analítico; álcool metílico HPLC (Sigma-Aldrich), ácido acético glacial (Vetec) e água ultra-pura obtida de um sistema Milli-Q Direct 8 (Millipore SAS®, Molsheim, França).

A separação dos compostos fenólicos foi realizada em equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Shimadzu®, Kyoto, Japão). A coluna cromatográfica empregada nas análises foi de fase reversa (C₁₈) (Shim-pack VP-ODS, 4,6 mm x 150 mm, 4,6 µm). Para a construção das curvas analíticas (10 pontos), foram realizadas diluições de uma solução-estoque de concentração de 200 ppm contendo uma mistura de todos os padrões (Mix). Para isso, foram preparadas soluções com concentrações que variaram de 1 a 10 ppm em solução água: etanol (70:30 v/v).

Como fase móvel para a eluição dos compostos, foi utilizada uma solução de ácido acético a 0,1% em água (Solvente A) e metanol (Solvente B). As amostras e os padrões foram eluídos de acordo com o

gradiente de variações do Solvente B: de 0 a 5 min (7-11%); 5 a 10 min (11-16%); 10 a 15 min (16-25%); 15 a 30 min (25%); 30 a 34 min (25-38%); 34 a 38 min (38-50%); 42 a 46 min (60-65%); 46 a 50 min (65-70%); 54 a 58 min (75-85%); 58 a 62 min (85-25%); 62 a 63 min (25-7%); 63 a 80 min (7%). O comprimento de onda utilizado no detector UV-VIS foi de 290 nm, fluxo de 0,6 mL/min, volume de injeção de 20 µL e temperatura de 35°C. As injeções dos padrões foram realizadas em triplicata e as amostras injetadas uma única vez. A identidade dos analitos nas amostras confirmadas pelo tempo de retenção dos padrões injetados individualmente e no Mix. Foram calculados os limites de detecção (LD) e os limites de quantificação (LQ) para cada um dos padrões analisados.

Determinação do conteúdo fenólico total

Os teores fenólicos totais (TFC) dos extratos etanólicos foram determinados com o reagente Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Cicco et al. (2009) com as seguintes modificações: alíquotas (120 µL) de soluções etanólicas de extrato seco (50 µg/mL), foram colocadas em tubos de ensaio, seguidas da adição de 180 µL de água. Em seguida, 300 µL de reagente FC foram adicionados a cada tubo. Após 2 min, foram adicionados 2,4 mL de uma solução de carbonato de sódio a 5% (p/v). A mistura foi agitada e aquecida, a 40°C, em banho-maria, por 20 min. Os tubos foram, então, resfriados rapidamente e a cor desenvolvida analisada a 760 nm, em um espectrofotômetro MultiSpec-1501 UV-vis (Shimadzu, Japão). O mesmo procedimento foi realizado utilizando 120 µL de etanol como branco. A concentração de compostos fenólicos foi estimada usando uma curva de calibração traçada com ácido gálico (GA) em etanol (1,5 x 10⁻⁴, 2,5 x 10⁻⁴, 3,5 x 10⁻⁴, 5,0 x 10⁻⁴, 6 x 10⁻⁴, 7,0 x 10⁻⁴, 8,5 x 10⁻⁴, 1,3 x

10-3 mol L⁻¹) como referência de polifenóis, em triplicata. Os resultados foram expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico/grama de extrato seco (mg de EAG/g de extrato seco).

Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH

A determinação da capacidade antioxidante das amostras foi feita de acordo com Saánchez-Moreno e colaboradores (1999), com algumas modificações. A capacidade antioxidante foi determinada monitorando-se a reação entre o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e os extratos, por meio da medida do decréscimo da absorbância a 516 nm, em espectrofotômetro (UV-vis modelo Multispec – 1501 Shimadzu, Japão). Soluções aquosas dos extratos foram preparados de forma que sua concentração final dentro da cubeta fosse 50 µg mL⁻¹. No preparo das misturas reacionais foram utilizados 0,3 mL da solução dos extratos e 2,7 mL da solução metanólica de DPPH (40 µg mL⁻¹) e suas medidas de absorbância foram feitas a 516 nm. Fez-se um controle com 0,3 mL da solução do extrato da amostra e 2,7 mL de metanol para verificar o espectro da amostra.

A percentagem da capacidade sequestradora de radicais (RSA - radical scavenging ability) de cada amostra foi calculada utilizando a Equação 1:

$$\% \text{ RSA} = \left[\frac{\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right] \times 100 \quad (1)$$

Abs_{controle} é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH• e Abs_{amostra} é a absorbância da mistura reacional (DPPH• + amostra). As reações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como % RSA média ± desvio padrão.

Uma curva de calibração da porcentagem à inibição do ácido gálico foi construída para

determinar os valores de IC₅₀ dos extratos, que é a concentração na qual 50% do DPPH na solução é eliminada. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Para tal, o DPPH (11,829 mg) foi pesado com precisão e dissolvido em 100 mL de metanol para obter soluções de 0,3 mM de DPPH. As amostras foram preparadas com seis concentrações, a saber: 10, 50, 100, 200, 300 e 400 mg/L. 1 mL de solução de metanol de DPPH agitados vigorosamente com 2,5 mL de solução de amostra e deixados em temperatura ambiente por 30 min no escuro. A absorbância da mistura de reação foi medida espectrofotometricamente a 516 nm.

Resultados e Discussão

A identificação de compostos ativos em amostras vegetais via análise por CLAE é bastante empregado e utiliza a comparação dos tempos de retenção, área do pico e concentração de compostos padrões com a amostra em estudo. Flavonoides e outros compostos fenólicos foram relatados por Badalica-Petrescu et al. (2014) nas concentrações de 104 mg/100mL e 13mg/100mL, respectivamente, em extratos vegetais, quando se utilizou uma mistura de picos individuais de determinados padrões a 280nm de comprimento de onda.

De acordo com os resultados das análises por CLAE, do presente estudo percebe-se que o ácido clorogênico, um ácido fenólico, é o único presente nas seis espécies estudadas (Tabela I). Os ácidos clorogênicos são componentes antioxidantes produzidos por plantas em resposta a condições de estresse ambiental, como infecções por patógenos microbianos, ferimentos mecânicos e níveis excessivos de luz UV ou visível (FARAH; DONANGELO, 2006). Um estudo realizado por Liang e Kitts (2016) demonstra uma tabela com vários relatos científicos acerca

da ação antioxidante do ácido clorogênico e seus isômeros, abordando diversas metodologias de análise da atividade. Dentre estes, Cha et al. (2014) mostraram até 90% de inibição do radical DPPH em concentrações Micromolares.

Diante do exposto, a presença do ácido clorogênico foi um indicativo para prosseguir a investigação acerca da ação antioxidante das seis espécies em estudo. Em termos quantitativos, a catequina foi o metabólito fenólico em maior concentração e foi encontrado apenas na *C. odorata* (Tabela I).

Como pode ser observado, as quantidades de fenóis totais variaram entre as espécies de 15,88 a 274,30 (mg EAG/g extrato seco). As espécies com maiores valores de conteúdo fenólico total foram *C. odorata* 274,44 (mg EAG/g extrato seco) e *A. cearenses* 265,30 (mg EAG/g extrato seco), respectivamente

(Tabela 2). Esta ordem corrobora com estudos anteriores em que a espécie *C. odorata* apresentou 430,74 (mg/g Equivalente Ácido tânico), enquanto *A. cearenses* apresentou menor teor (119,30 mg EAG/g extrato seco) destes indicadores importantes para atividade antioxidante (ANDRADE, 2015; SANTOS et al., 2016).

Está bem estabelecido que os antioxidantes fenólicos, nomeadamente flavonóides e ácidos fenólicos, estão comumente distribuídos em folhas de plantas, tecidos de flores e partes lenhosas, como caule e casca. Nas plantas, esses fenólicos antioxidantes desempenham um papel vital para o crescimento normal e proteção contra infecções e lesões de fontes internas e externas. A atividade antioxidante dos fenóis é resultado da sua propriedade redox, isto é, sua capacidade de atuarem como agentes redutores ou doadores de hidrogênio. Consequentemente, eles

Tabela I. Quantificação dos compostos fenólicos em cada espécie

Compostos fenólicos	Concentração (ppm)					
	<i>C. odorata</i>	<i>A. cearenses</i>	<i>D. regia</i>	<i>T. avellanadae</i>	<i>T.serratifolia</i>	<i>B. cuspidata</i>
Ácido Gálico (1)	0,274	-	-	-	-	-
Catecol (2)	-	-	-	-	-	-
Catequina(3)	5,802	-	-	-	-	-
Ácido Clorogênico (4)	0,557	0,509	0,779	0,715	0,715	0,559
Ácido Cafêico (5)	-	-	0,270	0,418	-	0,290
Vanilina(6)	-	-	-	-	-	-
Siringaldeído (7)	-	-	-	-	-	-
Ácido Cumárico (8)	-	-	0,182	-	-	-
Cumarina (9)	-	-	-	0,183	0,176	0,264
Rutina (10)	-	-	-	1,982	2,356	1,665
Miricitina (11)	-	-	-	2,399	-	-
Quercetina(12)	-	0,680	0,997	0,613	0,619	-

Tabela II. Valores de IC₅₀ (mg/L) e Conteúdo Fenólico Total (CFT) dos extratos etanólicos das espécies estudadas

Extrato	DPPH IC ₅₀ (mg/L)	CFT (mg EAG*/g extrato seco)
<i>C. odorata</i>	42,9 ± 1,8	274,44 ± 10,39
<i>A. cearenses</i>	217 ± 32,4	265,30 ± 5,88
<i>D. regia</i>	246 ± 5,6	32,84 ± 0,49
<i>T. avellanadae</i>	Nd**	42,34 ± 2,20
<i>T.serratifolia</i>	Nd**	18,02 ± 4,90
<i>B. cuspidata</i>	Nd**	15,88 ± 4,84

Os dados são exibidos com média ± desvio padrão de três vezes as replicações.

*Equivalente de ácido gálico.

**Não determinado

Fonte: Autores (2022)

podem agir eliminando os radicais livres (ZHANG et al., 2018).

Para o presente trabalho, a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH* em 50%, em um tempo fixo de 30 min., foi avaliada para as seis amostras citadas na Tabela II. Nota-se que as amostras *T. avellanadae*, *T. serratifolia*, *B. cuspidata* não foram capazes de reduzir o radical DPPH em 50% nas condições experimentais.

O ensaio de radicais livres é um dos métodos mais utilizados e tornou-se rotina no estabelecimento da atividade antioxidante de extratos de plantas (MATSUBARA et al., 1991). O DPPH é um radical livre que aceita um elétron ou hidrogênio radicalar para se tornar uma molécula diamagnética (BISWAS; HALDAR; GHOSH, 2010). A capacidade de redução do radical foi estimada com base no decréscimo de sua absorbância, quando frente aos extratos etanólicos.

Cedrela odorata

A espécie *C. Odorata* já é relatada por possuir ação hipoglicêmica, hipocolesterolêmica, possuir baixa toxicidade, possuir ação dissuasivas e tóxicas que afetam larvas de *Hypsipyla* (FLORES et al., 2015; GIORDANI; COLLICCHIO; ASCENCIO, 2015; HILJE et al., 2007). Em estudo de autoria

de Rashed (2014) foram encontrados bons resultados antioxidantes quando o solvente de extração era diclorometano com 85,45% de inibição de DPPH em comparação com a amostra padrão, que foi o extrato de chá verde com 96,41% de capacidade inibitória.

No presente trabalho foram identificados e quantificados os fenólicos, ácido gálico (1), catequina (3) e ácido Clorogênico (4) no extrato bruto etanólico de *C. odorata* (Tabela I). Dentre estes, a catequina, um polifenol pertencente à classe dos flavonoides, apresenta-se em maior quantidade (5,802 ppm). A presença dos fenólicos ácido gálico e catequina em *C. Odorata* foi também relatada anteriormente por Giordani (2015), inclusive com maior quantidade deste último composto. As catequinas atuam como agentes antioxidantes através de (1) mecanismos diretos em que ocorre a eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e íons metálicos quelantes; e (2) mecanismos indiretos - induzindo enzimas antioxidantes, inibindo enzimas pró-oxidantes e produzindo enzimas de desintoxicação de fase II e enzimas antioxidantes (HWANG et al., 2006; KOPUSTINSKIENE; BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018).

A espécie em questão destaca-se por apresentar a maior atividade inibitória do radical DPPH, dentre as seis plantas estudadas, com

98,66%, considerando a maior concentração testada (400 µg/mL) (Figura 1), além do potencial de inibição de 50% da concentração de radical DPPH (IC₅₀), ter sido de apenas 42,9 mg/L (Tabela 2). Como observa-se no Gráfico 1, a *C. odorata* demonstrou uma capacidade antioxidante máxima já na segunda concentração testada do extrato bruto etanólico (100 µg/mL).

Uma justificativa para os bons resultados alcançados pode estar associada à presença de flavonoides e/ou triterpenos (Tabela I) conhecidos por suas ações como agentes antioxidantes. Chen et al. (2020) realizou a extração de flavonoides da alfafa e concluíram que esse extrato exibia atividade antioxidante poderosa e poderia ser um aditivo potencial para rações de aves e gado. Em outro trabalho, Wang (2020) afirma que uma espécie de samambaia da China (*Isoetes sinensis*) pode ter um elevado potencial comestível e ser considerada uma planta medicinal, devido sua alta atividade antioxidante e conteúdo de flavonoides observados.

Amburana cearenses

Muitas são as atividades biológicas atribuídas cientificamente à *Amburana cearenses*, entre elas, anti-inflamatória, antibacteriana, neuroprotetora, antioxidante (LEAL et al., 2008; PEREIRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2020). Há evidências crescentes de que os compostos extraídos das sementes de *A. cearensis* são uma fonte de novos compostos neuroprotetores, incluindo cumarinas, glicosídeos fenólicos, e flavonoides como amburosídeo A (SILVA et al., 2020). Ainda em relação às sementes, um estudo realizado por Pereira et al. (2014) mostra que ocorre um aumento da biossíntese de substâncias antioxidantes sob condições de restrição hídrica.

Conforme os resultados obtidos pelo presente estudo, a espécie *A. cearensis* também possui capacidade para inibir o radical DPPH, e esta capacidade encontra-se numa faixa de

16 a 85 % (Gráfico 1) e o IC₅₀ obtido de 246 mg/L (Tabela 2).

Apesar de identificarmos apenas dois dos doze compostos fenólicos analisados, existem vários estudos que denotam a espécie como sendo rica em compostos fenólicos, podendo a atividade aqui observada estar associada a outros fenólicos não investigados neste trabalho, já que Silva et al. (2020) fazem menção a vários estudos que mostram a presença dessa classe de compostos em extratos da casca do caule de *A. cearenses*, obtidos em diferentes solventes. Sendo 1-benzopirano-2-não, dihidrocumarina, ácido *trans*-metil-3,4-dimetoxicinâmico, ácido metil-3-metoxi-4-hidroxibenzóico e guaiacol exemplos de padrões fenólicos encontrados (NEGRI et al., 2004 *apud* SILVA et al., 2020), não foram investigados no presente estudo. Neste mesmo contexto, 15 compostos fenólicos foram identificados da resina desta espécie por meio de métodos espectroscópicos, como Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massas (OLIVEIRA et al., 2017). Extratos etanólicos das sementes de *A. cearenses* mostraram atividades antioxidantes comparáveis aos padrões ácido ascórbico e Rutina conforme Aguiar et al. (2017). Este é o primeiro relato que demonstra a ação antioxidante do extrato etanólico da casca do caule da *A. cearenses*.

Delonix regia

A constituição fenólica da *Delonix regia* é bem descrita na literatura. Azab (2013) fez o isolamento de sete flavonoides de *D. regia*, dentre os quais está a quercetina, também identificada e quantificada no presente artigo (Tabela 1). Análises por HPLC realizada por Shabir et al. (2011) também identificou no extrato metanólico do caule o ácido gálico, aqui encontrado (Tabela 1).

As Investigações acerca do potencial antioxidante do extrato etanólico da casca do caule de *D. regia* mostrou um importante

potencial sequestrante de DPPH de 70,97% na maior concentração testada (400µg/mL) e, ainda que a concentração inibitória (IC50) tenha sido 246 mg/L (Gráfico 1 e Tabela 2). Este resultado corrobora com outros estudos que mostram bons resultados dessa atividade. Salem, Abdel-Megeed e Ali et al. (2014), por sua vez, relatam um percentual sequestrante de DPPH acima de 80% para os óleos essenciais da casca do caule. Salunkhe, Pise e Gaikwad (2019) fizeram o estudo com extratos metanólicos e sugerem que a flor ou folha de *D. régia* podem representar antioxidantes com valores nutricionais importantes.

A espécie *D. régia* demonstra uma excelente capacidade de eliminação de radicais DPPH, mesmo apresentando conteúdo fenólico inferior as espécies mais ricas (*C. odorata* e *A. cearenses*) (Tabela II). Uma possibilidade para este resultado é que a atividade antioxidante também pode ser relacionada a outras classes de metabólitos secundários, como os terpenos. Mohandas e Kumaraswamy (2018) relatam que a alta propriedade antioxidante de *Thuidium tamariscellum* é principalmente devido à presença de uma quantidade considerável de terpenóides.

Tabebuia avellanadae*, *Tabebuia serratifolia* e *Bathysa cuspidata

Tabebuia avellanadae, *Bathysa cuspidata* e *Tabebuia serratifolia* também apresentaram capacidade sequestrante do DPPH, porém em menor proporção, demonstrando uma inibição do radical DPPH de 34,69; 22,43; 19,19 % respectivamente (Gráfico 1). Qualitativamente, a espécie *T. avellanadae* se destaca com a presença de seis substâncias fenólicas, a saber: Ácido Clorogênico, Ácido Cafeico, Cumarina, Rutina, Miricitina e Quercetina (Tabela 1). Quatro destes compostos foram identificados em *T. serratifolia*. Portanto, essas espécies do gênero *Tabebuia* apresentam em sua composição fitoquímica compostos do tipo fenólicos estando em concordância

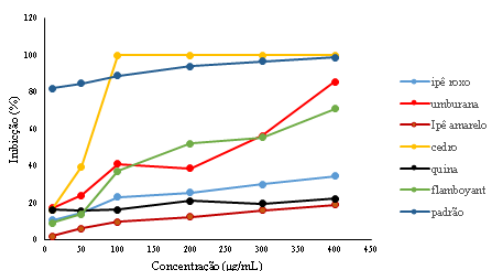
com relatos de Borges et al. (2018), que mostra a presença e as quantidades dessa classe de compostos em extratos obtidos em acetona, etanol e acetato de etila em espécies do gênero *Tabebuia*. Muitos fatores podem contribuir para a observação de um maior ou menor efeito sequestrante do radical DPPH, uma vez que há diferenças na distribuição e/ou concentração dos fitoquímicos conforme a parte da planta ou, ainda, devido ao solvente utilizado (SIMÕES et al., 2000).

A *Bathysa cuspidata* é uma planta popularmente conhecida no Brasil como “quina-do-mato” e sua casca é usado na medicina popular para o tratamento de distúrbios estomacais e hepáticos. Por esta razão, a maioria dos trabalhos publicados tem como foco a avaliação do potencial hepatoprotetor ou de reconstrutora hepática de extratos de *B. cuspidata*. Essas bioatividades podem estar associadas à presença de compostos fenólicos, que provocaria mudanças nos parâmetros de peroxidação lipídica e a ativação de uma importante enzima antioxidante que catalisa a conversão de radicais superóxidos (O_2^-) em oxigênio molecular (O_2) (NOVAES et al., 2012; GONÇALVES et al., 2014). O presente estudo faz a primeira menção da atividade antioxidante desta espécie vegetal, baseada em sua capacidade sequestrante de DPPH.

A busca por antioxidantes de origem natural tem sido uma constante, por que implica na prevenção de doenças preocupantes, como diabetes, câncer e todas que resultam de sucessivas oxidações celulares. A alternativa mais empregada para driblar esses efeitos maléficis é o uso de antioxidantes sintéticos, porém traz como desvantagem efeitos colaterais que podem ser igualmente prejudiciais. Assim, o desenvolvimento de bioantioxidantes ou a otimização dos já existentes é uma realidade. A exemplo, Wu et al. (2012) explorou uma nova estratégia para melhorar e aumentar a estabilidade, solubilidade e se-

gurança do resveratrol, que é um composto fenólico, considerado um potente agente antioxidante que pode atuar como quelante de espécies reativas de oxigênio (ERO) e ferro, sendo encontrado em várias plantas, como o amendoim, a uva e seus produtos derivados, como o vinho tinto (ALBERTON; SCHOR 2014; KITADA; KOYA, 2013).

Gráfico 1. Potencial antioxidante dos extratos etanólicos usando DPPH



Fonte: Autores (2022)

Considerações finais

As seis espécies estudadas apresentaram potencial antioxidante. Maiores atividades sequestrantes de radical DPPH foram detectadas com os extratos etanólicos das espécies *C. odorata*, *A. cearenses* e *D. regia* com 98,66, 85,68 e 70,97%, respectivamente. O potencial de inibição de 50% da concentração de radical DPPH segue a ordem *C. odorata* > *A. cearenses* > *D. regia*. Os resultados obtidos mostraram que estas três espécies são muito importantes do ponto de vista medicinal para a prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, sendo necessária uma exploração fitoquímica maior para isolar metabólitos com atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. A. et al. Development of a rich fraction in phenolic compounds with high antioxidant and antimicrobial activity in *Amburana cearensis* seeds extracts. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 11, n. 41, p. 648-655, 2017.
- ALBERTONI, G., SCHOR, N. Resveratrol desempenha importante papel no mecanismo de proteção na doença renal - mini-revisão. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 37, n. 1, p. 106-114, 2015.
- ALIREZALU A. et al. Physicochemical Characterization, Antioxidant Activity, and Phenolic Compounds of Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits Species for Potential Use in Food Applications. **Foods**, v. 9, p. 436, 2020.
- ALONSO, S. G.; GARCIA-ROMEROA, E.; HERMOSIN-GUTIERREZ, I. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 618, 2007.
- ANDRADE, B. A. **Atividade fotoprotetora in vitro de espécies medicinais da caatinga pernambucana e incorporação em gel dermatológico**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; NETO, P. J. R. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 57-59, 2002.
- AZAB S. S.; DAIM, M. A.; OMAIMA, A., ELDAHSHAN. Phytochemical, cytotoxic, hepatoprotective and antioxidant properties of *Delonix regia* leaves extract. **Medicinal chemistry research**, v. 10, p. 4269-4277, 2013.

- BADALICA-PETRESCU, M. et al. Comparative HPLC-DAD-ESI(+) ms fingerprint and quantification of phenolic and flavonoid composition of aqueous leaf extracts of *Cornusmas* and *Crataegus monogyna*, in relation to their cardiotoxic potential. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v. 42, p. 9-18, 2014.
- BERNATONIENE, J.; KOPUSTINSKIENE, D. M. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. **Molecules**, v. 23, p. 965, 2018.
- BISWAS, M., HALDAR, P. K., GHOSH, A. K. Antioxidant and free-radical-scavenging effects of fruits of *Dregeavolubilis*. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v. 1, n. 1, p. 29-34, 2010.
- BORGES, J. C. M. et al. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities of the wood extracts of *Tabebuia avellanedae* from the Cerrado of Brazil. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 12, n. 25, p. 404-414, 2018.
- CARDOSO, S. M.; FAZIO, A. The Antioxidant Capacities of Natural Products 2019 **Molecules**, v. 25, p. 5676. 2020.
- CHA, J. W. et al. The Polyphenol Chlorogenic Acid Attenuates UVB-mediated Oxidative Stress in Human HaCaT Keratinocytes. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 22, p. 136-142, 2014.
- CHEN, S. et al. Investigation of Chemical Composition, Antioxidant Activity, and the Effects of Alfalfa Flavonoids on Growth Performance. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 10, p.1-11, 2020.
- CICCO, N. et al. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical Journal**, v. 91, p. 107-110, 2009.
- DIMITRIOS STAGOS. Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts. **Antioxidants**, v.9, p.19, 2020.
- FANG, F. et al. Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. **Food Research International**, v. 41, p. 53, 2008.
- FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 23-36, 2006.
- FLORES, D. C. A. et al. Pharmacological and Genotoxic Properties of Polyphenolic Extracts of *Cedrela odorata* L. and *Juglans regia* L. Barks in Rodents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, p.8, 2015.
- GIORDANI, M. A.; COLLICCHIO, T. C.; ASCENCIO, S. D. “Hydroethanolic extract of the inner stem bark of *Cedrela odorata* has low toxicity and reduces hyperglycemia induced by na overload of sucrose and glucose,” **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 352-361, 2015.
- GONÇALVES, R V., RÔMULO D., LEITE, J P. V., VILELA, E F., CUPERTINO M.C., NUNES, L.G., MATTA, S L. P. Hepatoprotective effect of *Bathysa cuspidata* in a murine model of severe toxic liver injury. **Internacional Journal of experimental pathology**, v. 93, n. 5, p. 370-376, 2012.
- GONÇALVES, R. V. et al. Bark Extract of *Bathysa cuspidata* in the Treatment of Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 57, n. 4, p. 504-513, 2014.
- HILJE, L. et al. Systemic activity of plant extracts in *Cedrela odorata* (Meliaceae) seedlings and their biological activity on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. **Agricultural and forest entomology**, v.1, 2007.
- HWANG, D. H. et al. Suppression of MyD88- and TRIF-dependent signaling pathways of Toll-like receptor by (□)-epigallocatechin-3-gallate, a polyphenol component of green tea. **Biochem. Pharmacology**, v. 72, p. 850-859, 2006.

- IDU, M1., OVUAKPORIE-UVO2, P.O., NDANA, R.W. Preliminary phytochemistry and in vitro antimicrobial properties of the chloroform and ethanol extracts of the roots of *Cedrela odorata*, *Chlorophora excelsa* and *Gmelina arborea*. **International Journal of Analytical, Pharmaceutical and Biomedical Science**, v. 4, n. 2, p.117-122, 2015.
- KABTNI S. et al. Influence of climate variation on phenolic composition and antioxidant capacity of *Medicago minima* populations. **Scientific Reports**, v.10, p. 8293, 2020.
- KITADA M.; KOYA, D. Renal protective effects of resveratrol. **Oxid Med Cell Longev** 2013.
- RASHED, K. Antioxidant potential of *Cedrela odorata* stems extracts and Bio active Phytoconstituents. **Hygeia journal for drugs and medicines**, v. 6, n. 1, p.25-30, 2014.
- LEAL L. K. A. M. et al. Protective effects of amburoside A, a phenol glucoside from *Amburana cearensis*, against CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. **Planta Medica**, v. 74, p. 497-502, 2008.
- LIANG, NINGJIAN, KITTS, D. D. ROLE of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. **Nutrients**, v.8, p.16, 2016.
- MOHANDAS, G. G.; KUMARASWAMY, M. Antioxidant Activities of Terpenoids from *Thuidium tamariscellum* (C. Muell.) Bosch. and Sande-Lac. a Moss **Pharmacognosy Journal**, v. 10, n. 4, p. 645-649, 2018.
- NEGRI, G. et al. Chemistry of the stem bark of *Amburana cearenses* (Allemão) (A.C.SM.). **Revista Brasileira. Plantas Medicinai**s, v. 6, p.1-4, 2004.
- NOVAES, R. D. et al. Effect of Bark Extract of *Bathysa cuspidata* on Hepatic Oxidative Damage and Blood Glucose Kinetics in Rats Exposed to Paraquat. **Toxicologic Pathology**, v. 40, p. 62-70, 2012.
- OLIVEIRA G. P. et al. Isolation and structure elucidation of flavonoids from *Amburana cearensis* resin and identification of human DNA topoisomerase II- α inhibitors. **Phytochemistry Letters**, v. 22, p. 61-70, 2017.
- OLIVEIRA, M. T. A. et al. UPLC–MS–QTOF analysis and antifungal activity of Cumaru (*Amburana cearensis*). **Biotech**, v. 10, p. 545, 2020.
- PEREIRA E. et al. Effect of water restriction on total phenolics and antioxidante properties of *Amburana cearensis* (Fr. Allem) A.C. Smith cotyledons during seed imbibition. **Acta Physiology Plant** v. 2, 2014.
- PEREIRA E. P. L. et al. *Amburana cearensis* seed extracts protect PC-12 cells against toxicity induced by glutamate. **Brazilian Journal Pharmacognosy**, v. 27, p. 199-205, 2017.
- SALEM, M. Z. M.; ABDEL-MEGEED, A.; ALI, H. M. Steam wood and bark extracts of *Delonix regia* (Boj. Ex.Hook): Chemical Analysis and Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Properties. **BioResources**, v.9, n. 2, p. 2382-2395, 2014.
- SALUNKHE, M. B.; PISE, N. M.; GAIKWAD, D. K. Antioxidant Potential of Various Parts of *Delonix regia*. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v.1, n. 4, p.312-314, 2019.
- SÁNCHEZ-MORENO, JOSÉ A LARRAURI, FULGENCIO SAURA-CALIXTO. Free radical scavenging capacity of selected red, rosé and white wines. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, n. 10, p. 1301-1304, 1999.
- SANTOS, L. O. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana cearenses*. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v.8, n. 1, p.44-49, 2016.
- SHABIR, G. et al. Antioxidant and Antimicrobial Attributes and Phenolics of Different Solvent Extracts from Leaves, Flowers and Bark of Gold Mohar [*Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf.]. **Molecules**, v.16, p. 7302-7319, 2011.

SHARMA, S.; ARORA, S. Phytochemicals and pharmaceutical potential of *Delonix regia* (bojer ex hook) raf a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 8, 17-2, 2015.

SILVA, J. H. C. et al. *Amburana cearensis*: Pharmacological and Neuroprotective Effects of Its Compounds. **Molecules**, v. 25, p. 3394, 2020.

SILVA, M. C. A.; PAIVA, S. R. “Antioxidant activity and flavonoid content of *Clusia fluminensis* Planch. & Triana,” **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 3, p. 609-616, 2012.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da Planta ao medicamento, Porto Alegre/Florianópolis Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2000.

WANG, X. et al. Flavonoids and antioxidant activity of rare and endangered fern: *Isoetes sinensis*. **PLOS ONE**, v. 12, 2020.

YADAV, A. R. et al. Antioxidant Activity of *Psidium guajava* Leaf Extracts. **Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology**, v. 12, p. 3-4, 2020.

WU L. et al. The effect of resveratrol on FoxO1 expression in kidneys of diabetic nephropathy rats. **Molecular Biology Reports**, v. 39, p. 9085-93. 2012.

