

## AVALIAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS DOS EXTRATOS DE *Annona crassiflora* (ARATICUM)

F.B.O. NETO<sup>1</sup>, N.R.L. MORAIS<sup>2</sup>, A.R.F. XAVIER<sup>3</sup>, S. E. T. BRILHANTE<sup>4</sup>, L. A. ALVES<sup>5</sup>

E-mail: franciscobarros@cristanobrasil.com<sup>1</sup>, najara18@hotmail.com<sup>2</sup>, raoni.freitas@hotmail.com<sup>3</sup>, estefana\_torres@hotmail.com<sup>4</sup>, leonardo.alcantara@ifrn.edu.br<sup>5</sup>

### RESUMO

Ao longo da história a humanidade vem utilizando as plantas de forma a obter benefícios. Uma dessas formas de utilização é através da medicina natural ou alternativa que leva químicos e farmacêuticos de todo o mundo a procura de comprovação científica da eficácia desse material comumente utilizadas pela comunidade em geral através de testes que comprovem a existência de

substâncias benéficas à saúde. Dentre as substâncias com atividade comprovada encontram-se o grupos dos compostos fenólicos. Dessa forma, o presente estudo propõe a avaliação do teor de fenóis totais dos extratos de *Annona crassiflora* (Araticum) muito utilizada na medicina popular.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fenóis totais, extratos vegetais, araticum.

## EVALUATION OF TOTAL PHENOL CONTENT OF EXTRACTS *Annona crassiflora* (araticum)

### ABSTRACT

Throughout history men has used plants in order to bring the benefits. One of these ways is the use of natural or alternative medicine. This way takes chemicals and pharmaceuticals worldwide demand scientific proof of the effectiveness of this material commonly used by the general community through tests that prove the

existence of substances beneficial to health. Among the substances with proven activity are group of phenolic compounds. Thus, this study intends to evaluate the content of total phenolic content of the extracts of *Annona crassiflora* (araticum) widely used in popular medicine.

**KEYWORDS:** Total phenols, plant extracts, araticum .

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No início da década de 1990 a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993). A história do uso de plantas medicinais tem mostrado que as mesmas fazem parte da evolução humana e foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados pelos povos. As antigas civilizações têm em suas próprias histórias, referências a cerca das plantas medicinais e, muito antes do surgimento de qualquer forma de escrita, o homem já utilizava plantas como alimentos e remédio (DORTA, 1998).

O araticum (*Annona crassiflora* Mart.) é um espécie frutífera, pertence à família Annonaceae e encontra-se amplamente distribuída no cerrado (RIBEIRO E SILVA, 1996; SILVA *et al.*, 2001). Seus frutos, também conhecidos como marolo, são coletadas entre fevereiro e março. Os frutos são utilizados na alimentação e são muito apreciados por sua polpa doce, amarelada e de aroma bastante forte. As sementes possuem ação contra afecções parasitárias do couro cabeludo. Na medicina popular a infusão das folhas e das sementes pulverizadas são utilizadas para combater a diarreia e induzir a menstruação. (ALMEIDA *et al.*, 1994; LORENZI, 1988).

A descoberta humana das propriedades úteis ou nocivas dos vegetais tem sua origem no conhecimento empírico. A observação dos efeitos do uso desses vegetais no comportamento dos animais bem como no organismo humano tem um importante papel. Por exemplo, a observação de religiosas sobre os efeitos excitantes dos cafeeiros selvagens (*Coffea arabica*), nos herbívoros domésticos que os tinham ingerido fez com que estas se utilizassem desses vegetais para prolongar o estado de vigília a que eram submetidas devido as suas piedosas ocupações (Goof, 1997).

Quais extratos são realmente ativos, como e quando podem ser descritos e como devem ser preparados são questões que misturam o conhecimento popular ao científico e que devem ser respondidas através de comprovações científicas e da ampliação dos estudos das plantas brasileiras, principalmente nas áreas de fitoquímica e etnofarmacologia (MACIEL *et al.*, 2002). Somente com estas respostas que já existem para dezenas de fitomedicamentos, e sua divulgação, os médicos passarão a prescrevê-los, aproximando-se dos desejos da população, de utilizar as plantas medicinais em seus tratamentos.

No Brasil, diretrizes do ministério da saúde determinaram prioridade na investigação das plantas medicinais e, implantando a fitoterapia como prática oficial da medicina, orientaram as Comissões Interinstitucionais de Saúde (CIS) a buscarem sua inclusão no Sistema Único de Saúde (SUS). Porém, para que essa inclusão ocorra é essencial que os profissionais da área da saúde conheçam as atividades farmacológicas e a toxicidade das plantas medicinais de cada bioma brasileiro, de acordo com os costumes, tradições e condição socio-econômica da população. Diversos trabalhos já foram realizados em estados como Ceará com o objetivo de desvendar o uso de plantas medicinais pela população, encontrando alta prevalência de uso (Silva *et al.*, 2006).

Tendo em vista os aspectos apresentados, esse estudo se propõe a avaliar os teores de fenóis totais presentes no araticum e assim tomar conhecimento sobre a viabilidade de utilização dessa planta para esses medicinais.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal. São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (SHAHIDI, 1995). Devidos à sua ampla variedade, enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (NACZK, 2004).

As substâncias fenólicas podem aparecer livres ou na forma de glicosídeos. Poliglicosídeos são muito solúveis em água e pouco solúveis em solventes orgânicos apolares. A posição do açúcar na estrutura fenólica influi na solubilidade e em outras propriedades físico-químicas. As agliconas apresentam uma grande variedade de solubilidade e estabilidade. Estas diferenças podem ser usadas para separá-los, quantificá-los e desenvolver estudos de suas atividades fisiológicas (ANTOLOVICH, PRENZLER, RYAN, 2000; CHEN *et al.*, 1998, DOMÍNGUEZ, 1973, SWAIN e HILLIS, 1959).

Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos tem recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica e a lipooxigenase *in vitro* (HASLAM, 1996; SOARES, 2002).

Vários efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos compostos fenólicos presentes nas frutas, vegetais, chás e vinhos. Estudos epidemiológicos, clínicos e *in vitro* mostram múltiplos efeitos biológicos relacionados aos compostos fenólicos da dieta, tais como: atividades antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (GUSMAN, 2001; CANTOS, 2002; BEER, 2003).

## 3. METODOLOGIA

### 3.1 Obtenção do material vegetal

A matéria prima utilizada na obtenção dos extratos de *Annona crassiflora* (Araticum) foi obtida na zona rural de Apodi-RN. O material foi previamente separado por folhas, talos e raiz, triturada e pesada.

### 3.2 Obtenção dos extratos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Após pesagem o material foi deixado ao ar livre para perda de umidade e imerso em hexano por um período de 72 h. A mistura foi filtrada e o solvente concentrado em evaporador rotativo obtendo-se seu respectivo extrato hexânico.

O material vegetal (torta) foi então deixado imerso em etanol por 72 h e, posteriormente em água para obtenção de seus extratos, etanólicos e aquoso, respectivamente.

### 3.3 Avaliação fitoquímica dos extratos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Como análise preliminar, foram realizadas uma série de testes qualitativos propostos por Matos (1997) com intuito de identificar os grupos de metabólitos secundários presentes nos extratos de araticum, denominados testes fitoquímicos. No processo foram avaliados a presença de: fenóis e taninos; antocianinas, antocianidinas e flavonóides; leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas; flavonóis flavanonas, flavanonóis e xantonas; esteróides e triterpenóides.

### 3.4 Determinação de fenóis totais nos extratos de *Annona crassiflora* (Araticum)

A determinação de fenóis totais foi realizada pelo método Folin-Cicateau (Bonoli et al., 2004) cada extrato vegetal foi dissolvido em metanol. Transferido para um balão volumétrico de 100 mL e o volume final completado com metanol. 7,5mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, esta segunda solução teve seu volume novamente acertado com metanol. Uma alíquota de 100µL desta ultima solução foi agitada com 500 µL do reagente Folin-Cicateau e 6mL de água destilada por um minuto, passado esse tempo 2mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 15% foram adicionados à mistura e agitado por 30s. A solução teve seu volume acertado para 10mL com água destilada. Após 2h as absorbâncias das amostras foram medidas a 750nm utilizando-se cubetas de vidro, tendo como "branco" o metanol e todos os reagentes, menos o extrato. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 350µL/mL) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. Os testes foram realizados em triplicata.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Testes fitoquímicos dos extratos de araticum

Os extratos hexânico, etanólico e aquosos das folhas, raízes e talos de araticum foram submetidos a testes descritos por Mattos (1997) com intuito de avaliar qualitativamente a presença de grupos de metabólitos secundários nos mesmos. Os resultados das avaliações são apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, a seguir.

Tabela 1: Resultado dos testes fitoquímicos dos extratos hexânicos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Testes	Extrato hexânico		
	Folha	Raiz	Talo
Fenóis e taninos	N	N	N
Antocianinas, antocianidinas e flavonóides	N	N	+ flavonas, flavonóis e xantonas
Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	N	N	N
Fenóis, flavonoides e xantonas	N	N	N
Esteróides e triterpenóides	N	N	N

Saponinas	N	N	N
-----------	---	---	---

N = Teste negativo

Tabela 2: Resultado dos testes fitoquímicos dos extratos etanólicos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Testes	Estrato etanólico		
	Folha	Raiz	Talo
Fenóis e taninos	N	N	N
Antocianinas, antocianidinas e flavonóides	N	N	N
Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	N	N	N
Fenóis, flavonoides e xantonas	N	N	N
Esteroides e triterpenóides	Verde sem aparecimento do azul evanescente com partículas suspensas	N	N
Saponinas	N	N	N

N = Teste negativo

Tabela 3: Resultados dos testes fitoquímicos dos extratos aquosos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Testes	Estrato aquoso		
	Folha	Raiz	Talo
Fenóis e taninos	N	N	N
Antocianinas, antocianidinas e flavonóides	Leve mudança de coloração. Flavonas flavonóis e xantonas	N	N
Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	N	N	N
Fenóis, flavonoides e xantonas	N	N	N

Esteroides e triterpenóides	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
Saponinas	N	N	+

N = Teste negativo

Como pode-se observar esses testes não dizem muito a respeito das substâncias que podem ser encontradas nos extratos, visto que os mesmos são de cunho qualitativo, sendo assim muitas variáveis podem alterar os resultados como, por exemplo, a quantidade de extrato diluído para a realização dos mesmos.

#### 4.2 Avaliação de Fenóis Totais dos extratos de araticum

O estudo quantitativo dos extratos de araticum permitiram a avaliação do teor de fenóis presentes em suas folhas, talos e raízes. Os resultados obtidos nos testes em questão são apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6, a seguir.

Tabela 4: resultado do teste fenóis totais dos extratos hexânicos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Extrato hexânico de de <i>Annona crassiflora</i> (Araticum)	
Material	Quantidade de fenóis
Folhas	0,282 mgEAG/g ext. bruto
Talos	0,0125 mgEAG/g ext. bruto
Raiz	0,167 mgEAG/g ext. bruto

Tabela 5: Resultados do teste fenóis totais dos extratos etanólicos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Extrato etanólico de <i>Annona crassiflora</i> (Araticum)	
Material	Quantidade de fenóis
Folhas	0,102 mgEAG/g ext. bruto
Talos	0,570 mgEAG/g ext. bruto
Raiz	0,552 mgEAG/g ext. bruto

Tabela 6: Resultados do teste fenóis totais dos extratos aquosos de *Annona crassiflora* (Araticum)

Extrato aquoso de <i>Annona crassiflora</i> (Araticum)	
Material	Quantidade de fenóis
Folhas	-
Talo	0,102 mg EAG/g ext. bruto
Raíz	0,130 mg EAG/g ext. bruto

A partir dos dados obtidos por meio dos testes fenólicos dos extratos de *Annona crassiflora* pode-se observar que o extrato etanólico dos talos apresentaram os maiores teores de fenóis (0,570 mgEAG/g ext. bruto) seguido do extrato etanólico das raízes (0,552 mgEAG/g ext. bruto) do extrato hexânico das folhas (0,282 mgEAG/g ext. bruto). Este último é pouco comum, visto que os extratos hexânico são características pela presença de compostos pouco polares sendo necessária uma maior investigação do mesmo.

## 5. CONCLUSÃO

A partir dos testes realizados com os extratos de araticum podemos concluir que os testes fitoquímicos apresentaram algumas irregularidades visto que, mesmo os extratos que não apresentaram teste positivo para fenóis apresentaram concentrações, mesmo que pequenas dos mesmos no teste quantitativo.

Os testes quantitativos de compostos fenólicos mostraram que os extratos hexânico, etanólico e aquoso das folhas, raízes e talos da *Annona crassiflora* (araticum) apresentam quantidades relativamente semelhantes com destaque para os extratos etanólico dos talos e raízes e o extrato hexânico das folhas.

Pretende-se com esse trabalho uma posterior avaliação da capacidade antioxidante dos respectivos extratos frente à teste de captura de radical DPPH o que comprovaria ainda mais a presença desse grupo de compostos nos mesmos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKERELE, O.; **HerbalGram**. v. 28, p. 13, 1993.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Brasil (EMBRAPA), Brasil, p. 48-335, 1994.
- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, K. R.; RYAN, D. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. **Analyst**. v. 125, p. 989-1009, 2000.
- BEER, D. et al. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: Free radical scavenging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 902-909, 2003.
- BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. Antioxidant Phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study Among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5195, 2004.
- CANTOS, E.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5691-5696, 2002.
- CHEN, Z. Y.; CHAN, P. T.; ZHANG, Z.; CHUNG, H. Y. Antioxidative activity of green tea catechin extract compared with that of Rosemey extract. **Journal Analytical Official Chemistry Society**. v. 75, n. 9, p. 327-333, 1998.
- DOMÍNGUEZ, X. A. **Métodos de investigación fitoquímica**. México: Limusa, 295p., 1973.
- DORTA E.J. Introdução. In: Escala Rural: especial de plantas medicinais. v. 1, n. 4, p. 1-62. São Paulo: Escala Ltda; 1998.
- GOFF J. As doenças têm história. 2a ed. Lisboa: Terramar; 1997.
- GUSMAN, J.; MALONNE, H.; ATASSI, G. A reapraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 8, p. 1111-1117, 2001.
- HASLAM, E.; Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**. v.59, p. 205, 1996.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2 ed., Ed. Plantarum, Brasil, 1988.

MACIEL, M.A.M. ; PINTO, A.C. ; VEIGA, JR. V.F. ; ECHEVARRIA, A. ; GRYNBERG, N.F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v. 25, p. 429-438, 2002.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95, 2004.

RIBEIRO, J.F.; SILVA, J.C.S. Manutenção e recuperação da biodiversidade do bioma Cerrado: o uso de plantas nativas. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8., 1996, Planaltina. Anais... Planaltina: EMBRAPA, CPAC, 1996. p. 10-14.

SILVA, D.B. DA.; SILVA, J.A. DA; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. DE .Frutas do cerrado. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 179p., 2001.

SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES I. F. S.; SOUSA F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, p. 455-462, 2006.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 331 p., 1995.

SOARES, S. E.; Phenolic acids as antioxidants. **Revista de Nutrição** v. 15, p. 71, 2002.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I Quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal Science and Food Agricultural**. v. 10, p. 63-68, 1959.