

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *CNIDOSCOLUS PHYLLACANTHUS* (FAVELEIRA) PELO MÉTODO DA CAPTURA DE RADICAIS LIVRES, DPPH

N.R.L. MORAIS¹, F.B.O. NETO², L. A. Alves³

E-mail: najara18@hotmail.com¹, franciscobarros@cristanobrasil.com², leonardo.alcantara@ifrn.edu.br³

RESUMO

Até os dias atuais é fácil observar principalmente em pequenas comunidades o costume de se utilizar plantas no tratamento de algumas enfermidades, baseado nesse conhecimento popular, a ciência busca comprovar a eficácia desse método de tratamento. Uma das principais propriedades encontradas nas plantas que justificam seu uso na medicina popular é a capacidade antioxidante que

previne o envelhecimento precoce e pode diminuir as chances de se desenvolver várias doenças degenerativas. Tendo em vista a crescente busca por novas fontes de naturais de antioxidantes, este trabalho se propõe a avaliar a capacidade antioxidante dos extratos de faveleira (*Cnidoscopus phyllacanth*), planta comum no Rio Grande do Norte.

PALAVRAS-CHAVE: Extrato de plantas, atividade antioxidante, faveleira.

ANTIOXIDANT ACTIVITY EVALUATION OF *CNIDOSCOLUS PHYLLACANTHUS* EXTRACTS (FAVELEIRA) BY FREE RADICAL CAPTURE METHOD, DPPH

ABSTRACT

Nowadays it is easily observed the plants use in treatment of some diseases mainly in small communities, based on that popular knowledge, science seeks to prove the efficacy of this treatment method. One of the properties found plants that justify this use is the antioxidative capacity that prevents premature aging and

can decrease the chances of developing several degenerative diseases. Given the search for new sources of natural antioxidants, this work evaluates the antioxidant capacity of faveleira (*Cnidoscopus phyllacanth*), common plant in Rio Grande do Norte.

KEYWORDS: Plants extracts, antioxidant activity, faveleira.

1 INTRODUÇÃO

A natureza fornece ao homem uma grande infinidade de plantas com valores medicinais. As plantas medicinais vêm sendo usadas desde o início dos tempos como forma de tratamento de doenças sendo a flora brasileira uma rica fonte de plantas que podem auxiliar no mesmo bem como na prevenção de doenças. Para Freitas (1999), as plantas medicinais constituem importante recurso terapêutico no tratamento da saúde humana, principalmente das nações em desenvolvimento. Servem tanto à conhecida “medicina caseira”, que faz parte da cultura popular destes países, como de matéria prima para elaboração de medicamentos fitoterápicos ou extração de compostos químicos farmacologicamente ativos (FREITAS, 1999).

Atualmente, encontra-se descrito na literatura um grande número de trabalhos científicos que comprovam as propriedades medicinais de várias plantas. Segundo Santos (2006), o Brasil possui uma flora estimada em mais de 40.000 espécies, havendo conhecimentos populares de propriedades medicinais de várias delas. Por outro lado, apesar dos esforços e pesquisas científicas que possibilitem o bom aproveitamento deste potencial que o país possui, estes estudos ainda não são produzidos em volume suficiente (SANTOS, 2006).

A espécie *Cnidoscolus phyllacanthus*, popularmente conhecida por faveleira ou favela é uma planta pertencente à família Euphorbiaceae, decídua, heliófila, pioneira e endêmica da caatinga nordestina, que ocorre abundantemente nos estados da Paraíba, Pernambuco, Bahia, Piauí, Rio Grande do Norte, Ceará, Sergipe e Alagoas (GOMES, 1973; LORENZI, 1998; MARQUES 2007) sendo bastante adaptada às condições adversas existentes em seu ambiente natural. Apresenta porte arbustivo, com galhagem entrecruzada, lactescente e pode atingir cinco metros de altura. Sua casca é suberosa e rica em proteínas, suas raízes são tuberculadas, as flores dióicas e brancas (LORENZI, 1998; BATISTA *et al.*, 2007). Seu principal uso é como planta forrageira.

A maioria das plantas de faveleira possui grande quantidade de espinhos pequenos, agudos e urticantes nos limbos e pecíolos das folhas. A presença dos espinhos torna algumas operações de manejo difíceis, como o corte e o manuseio das folhas. Plantas inermes também podem ser encontradas, porém, em frequência muito menor que as plantas com espinhos (BATISTA *et al.*, 2007).

Grande parte dos estudos da favela é voltada para a área agrária, sendo poucos os estudos da espécie na área da química de produtos naturais. Por essa razão o presente trabalho tem como objetivo a avaliação da capacidade antioxidante da *Cnidoscolus phyllacanthus*, e desta forma descobrir novas fontes vegetais com a respectiva atividade comprovada.

revisão bibliográfica

Trabalhos de Halliwell (1994) e Bianchi (1999) definem radicais livres como espécies químicas, orgânicas, inorgânicas ou átomos, que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente. A presença de um excesso desses radicais livres, resultado de um desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, é um dos principais causadores de danos celulares pelo processo chamado estresse oxidativo (SIES, 1993; BIANCHI, 1999).

Uma forma de prevenir o estresse oxidativo, diminuindo a concentração desses radicais no organismo é a utilização de compostos antioxidantes na dieta ou mesmo sintéticos (DOROSHOW, 1983; HALLIWELL *et al.*, 1995; WEIJL *et al.*, 1997; BIANCHI, 1999). Compostos antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, comumente classificados como enzimáticos ou não enzimáticos, tais como: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides) (HALIWELL, 1995). Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. (SIES & STAHL, 1995; BIANCHI, 1999; MORAIS, 2009).

Estudos envolvendo antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças. Entretanto, nos alimentos são encontrados uma grande variedade de substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos (JACOB, 1995; NIKI *et al.*, 1995; HERCBERG *et al.*, 1998; BIANCHI *et al.*, 1999).

Na literatura são reportados vários métodos de avaliação da capacidade antioxidante de substâncias e extratos vegetais. Dentre eles destacam-se os métodos:

a) Método fosfomolibdênio: Esse método baseia-se na determinação espectrofotométrica da redução do Mo^{+4} a Mo^{+5} , com formação subsequente de fosfato de Mo^{+5} , que apresenta absorção máxima a 695 nm (Prieto *et al.*, 1999).

b) Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico): O método ABTS foi descrito inicialmente por Re *et al.* (1999) e modificado por Kuskoski *et al.* (2004). Na metodologia o radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$ é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado o radical $\text{ABTS}^{\cdot+}$, o mesmo é diluído em etanol até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 ($\pm 0,02$) a um comprimento de onda de 754 nm, a uma temperatura de equilíbrio de 30°C.

c) Método do DPPH: Desenvolvido por Brand-Willams *et al.* (1995), o método DPPH tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH^{\cdot} por antioxidantes. Com modificações, Kim *et al.* (2002) aplicam o método com base na absorbância do radical de DPPH^{\cdot} 100 μM (3,9 mL) dissolvido em metanol a 80%, no comprimento de onda de 517 nm.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção do material vegetal

A matéria prima utilizada na obtenção dos extratos de *Cnidocolus phyllacanthus* (Faveleira) foi obtida na própria instituição de ensino, IFRN - Câmpus Apodi. O material foi previamente separado por folhas, talos e raiz, triturada e pesada.

2.2 Obtenção dos extratos de *Cnidocolus phyllacanthus* (Faveleira)

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.

2.3 Avaliação da capacidade antioxidante

A avaliação da capacidade antioxidante dos extratos da *Cnidioscolus phyllacanthus*, foi realizada através de método de captura de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), descrito pela primeira vez por Brand-Williams (1995) com modificações.

Cada extrato foi pesado e diluído a fim de se obter soluções em diferentes concentrações (1000, 500, 100, 50, 40 e 20 ppm), após diluída uma alíquota de 1,0 mL de cada concentração foi disposta em tubos de ensaio, em ambiente escuro, juntamente com 1,0 mL de uma solução de DPPH 60 µM e a mistura homogeneizada em Vortex. Após 30 minutos foi feita a leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 520nm, tendo como branco o solvente utilizado para a preparação das soluções. Para as análises foi realizado também a leitura de uma solução contendo 1mL do solvente e 1,0 mL da solução DPPH previamente preparado. A porcentagem de inibição de cada extrato foi obtida a partir da utilização dos valores de absorbância utilizando a Fórmula 1. Todas as análises foram feitas em triplicata.

Após a leitura das absorbâncias das amostras foi feito um gráfico utilizando-se software Origin 7.0 com os valores da porcentagem de inibição de cada concentração, com a finalidade de se verificar a linearidade dos resultados obtidos. Por fim foi calculado o IC₅₀ (capacidade do extrato de neutralizar 50% do radical livre do DPPH) a partir da Fórmula 2, a seguir.

$$\% \text{ In} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs DPPH}} \times 100\% \quad (1)$$

Onde, %In = Porcentagem de inibição do extrato

Abs amostra = absorbância obtida nos extratos

Abs DPPH = absorbância obtida com a amostra DPPH/etanol

$$50 = a + b \times X \quad (2)$$

Onde, 50 = Valor pré-determinado (referente á inibição de 50% do radical)

a e b = coeficientes da reta obtidos no programa Origin 7.0

X = Concentração inibitória de 50 % do radical (IC₅₀)

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os extratos hexânico, etanólico e aquoso das folhas, talos e raízes da faveleira foram avaliados quanto a sua capacidade antioxidante utilizando método de captura de radicais DPPH

descrito na literatura. Os valores de IC₅₀ de cada extrato foram comparados com o valor do Trolox, padrão positivo para o teste, conhecido por sua alta atividade antioxidante. Os resultados obtidos das análises encontram-se dispostos nas Tabelas 1, 2 e 3 a seguir.

Tabela 1: Resultados dos testes antioxidantes dos extratos hexânico da faveleira

Extrato	IC ₅₀
Folhas	58,3 ppm
Talos	382,5 ppm
Raízes	Insolúvel
Trolox	4,0 ppm

Tabela 2: Resultados dos testes antioxidantes dos extratos etanólico da faveleira

Extrato	IC ₅₀
Folhas	245,7ppm
Talos	362,6 ppm
Raízes	203,6 ppm
Trolox	4,0 ppm

Tabela 3: Resultados dos testes antioxidantes dos extratos aquosos da faveleira

Extrato	IC ₅₀
Folhas	230 ppm
Talos	Insolúvel
Raízes	Insolúvel
Trolox	4,0 ppm

Dentre os extratos testados observou-se melhor capacidade antioxidante o extrato hexânico das folhas da faveleira apresentando valor de IC₅₀ de 58,3 ppm seguido do extrato etanólico das raízes com valor de 203,6 ppm.

De uma forma geral, a partir dos resultados obtidos nos testes antioxidantes dos extratos da faveleira, pode-se verificar que os mesmos apresentaram uma capacidade antioxidante relativamente baixa, visto os altos valores de IC₅₀ observados quando comparados ao padrão positivo Trolox, com IC₅₀ de 4,0 ppm. Pretende-se dar continuidade ao trabalho pelo estudo bioguiado dos referidos extratos para obtenção de frações e/ou substâncias puras presentes na planta com atividade relevante.

4 CONCLUSÃO

Diante dos estudos realizados da capacidade antioxidante dos extratos de diferentes partes da faveleira pode-se concluir que apesar destes não apresentarem uma boa capacidade antioxidante frente à captura de radicais DPPH outros métodos devem ser utilizados para avaliar os resultados obtidos. Pretende-se dar continuidade ao trabalho a partir do fracionamento dos extratos com intuito de obter frações e/ou substâncias puras com atividade relevante.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, C. E. A. Variabilidade Molecular De Acessos De Faveleira [Cnidocolus Phyllacanthus (M. Arg.) Pax & Hoffm.] Inermes E Com Espinhos. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**. v. 11, n. 1, p. 31-36, 2007.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**. v. 12, n. 2, p. 123 – 130, 1999.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel- issenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- DOROSHOW, J.H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. **Cancer Research**. v. 43, n. 2, p. 460-472, 1983.
- FREITAS, P. C. D. Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: Pothomorphe umbellata (L) Miq e Piper regnellii (Miq) CDC / Antioxidant activity species medicinals of Piperaceae family: Pothomorphe umbellata (L) Miq and Piper regnellii (Miq) CDC. São Paulo; s.n; 1999. 115 p.
- GOMES, R. P. Forragens fartas na secas. 2. ed. São Paulo: Nobel AS, 1973. p. 233.
- HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.
- HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLINGER, J., ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.
- HERCBERG, S. et al .Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, v. 68, n. 1, p. 3 - 20, 1998.
- JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, v. 15, n. 5, p. 755-766, 1995.
- KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; GARCIAPARILLA, M. C.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 691-693, 2004.
- LORENZI, H. Cnidocolus phyllacanthus: Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil/--2. ed. São Paulo: Nova Odessa, Editora Plantarum,1998.
- MARQUES, F. J. Propagação Sexuada E Assexuada Da Faveleira (Cnidocolus Phyllacanthus (Müll. Arg.) Pax & L. Hoffm.): Subsídios Para O Seu Cultivo Como Lavoura Xerófila. Universidade Federal Da Paraíba. Paraíba, 2007.
- MORAIS, S. M. et al . Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, p. 315-320, 2009.
- NIKI, E., NOGUSHI, N., TSUCHIHASHI, H., GOTOH, N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and b-carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1322-1326, 1995.
- SANTOS, A. B. Atividade antoxidante dos extratos vegetais da flora Brasileira: Estudo com ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e teoria do funcional da densidade (TFD) USP-Ribeirão Preto, São Paulo, 2006.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213 - 219, 1993.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

M.SOARES et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de Uvas niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, 2008

WEIJL, N.I., CLETON, F.J., OSANTO, S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. **Cancer Treatment Reviews**, v. 23, n. 4, p. 209- 240, 1997.