ESTUDO FITOQUÍMICO E POTENCIAL BIOLÓGICO DAS FOLHAS DE SCHINUS MOLLE L. (ANACARDIACEAE)

Camila Dias Machado (PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Rosi Zanoni da Silva (Orientadora), e-mail: rosizanoni@bol.com.br
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas

Área: Farmácia; Subárea: Farmacognosia

Palavras-chave: screening fitoquímico, doseamento, atividade antioxidante.

Resumo
Schinus molle L. (Anacardiaceae) é conhecida como aroeira-salsa ou aroeirinha e usada tradicionalmente como antiespasmódica, cicatrizante e antimicrobiana. Os objetivos foram investigar a sua composição química, o doseamento de polifenóis e flavonoides totais e a análise do potencial antioxidante dos extratos alcoólico e hidroalcoólico 70% e frações de *Schinus molle*. O extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% contém alcaloides, antraderivados O e C heterosídicos, flavonoides, taninos e saponinas. O doseamento de polifenois (21,96 ± 0,0217) foi maior no extrato hidroalcoólico 70% e flavonoides no extrato alcoólico (34,607 ± 0,1045). A atividade antioxidante apresentou maior potencial na fração hidroalcoólica diclorometano.

Introdução

Schinus molle L. (Anacardiaceae) é conhecida como aroeira-salsa ou aroeira-periquita. É nativa na América do Sul e usada popularmente como antiespasmódica, antirreumática, emenagoga, anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante (SANTOS et al., 2013). O valor terapêutico das plantas medicinais é atribuído aos metabólitos secundários, sendo que constituintes químicos que são denominados de marcadores químicos caracterizam o vegetal (MIGLIATO et al., 2007). Portanto, o conhecimento da composição química das espécies vegetais é de suma importância para a identificação do material vegetal. O potencial antioxidante de um vegetal tem importância medicinal para a prevenção de doenças degenerativas (NASCIMENTO et al., 2011). Os objetivos do trabalho foram investigar a composição química de *S. molle* L., quantificar polifenois e flavonoides totais e avaliar o potencial antioxidante do extrato alcoólico e hidroalcoólico 70%.

Materiais e Métodos

Material botânico
As folhas *S. molle* L. foram coletadas em 09/14, no bloco M da UEPG. A exsicata foi depositada no Herbário da UEPG sob o número 20048.

Preparação dos Extratos e Frações
Folhas de *S. molle* secas (500g) foram utilizadas na preparação do extrato alcoólico (EABSM) e hidroalcoólico 70% (EHABSM) por turbólise, com etanol e maceração por 3 dias. Os extratos foram fracionados por partição líquido-líquido com hexano (H), diclorometano (DCM) e acetato de etila (AE) e obteve-se as frações: FHBEASM, FDCMBEASM e FAEBEASM do EABSM e FHBEHASM, FDCMBEHASM e FAEBEHASM do EHABSM.

Screening fitoquímico

Identificação dos metabólitos secundários: alcaloides (Draggendorf, Mayer e Bourchardat), heterósidos cardiotônicos (Lafon, Liebermann-Buchard, Keller-Killiani), antraquinonas (Borntraëger), flavonoides (Shinoda, $AlCl_3$,Taubouk, Pew, NaOH e HCl), taninos (gelatina, acetato de cobre e de chumbo, $FeCl_3$), cumarina e saponina.

Doseamento de polifenois totais pelo método de Folin-Ciocalteau
Preparação de três diluições sucessivas de 6/1,2/0.096 mg/mL de extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% (0,015 g). Adicionou-se 1 mL do reativo Folin-Ciocalteau. Soluções ficaram em repouso por 30 min. ao abrigo da luz. Leitura em espectrofotômetro (760 nm). O padrão de ác. pirogálico em 0,5/0,025/0,002 mg/mL. Para fins de cálculos: TT (%) = [62,5 (A1 – A2) x m2] ÷ (A3 – m1), (m1: massa (g) da amostra; m2: massa do ácido pirogálico (g). Resultados expressos pela média/desvio padrão do teor de polifenois totais em % de ác. pirogálico.

Doseamento de flavonoides totais pelo método $AlCl_3$ 2%
O extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% e as frações acetato de etila foram diluídas em metanol (1000 µg/mL) e 2 mL de $AlCl_3$ 2% e 2 mL das amostras. Após 1 h foram realizadas as leituras em espectrofotômetro 420 nm por meio da curva de calibração do padrão de quercetina 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µg/mL. Resultados expressos em mEqQ.g-1 de quercetina/g do extrato e frações, usando a equação com base na curva de calibração: y = 0,1012x – 0,5032, R2 = 0,9984.

Determinação da atividade antioxidante pelo complexo fosfomolibdênio
Soluções padrões de rutina (200 µg/mL) e ác. gálico (200 µg/mL). EBASM, EBHASM, FHBEASM, FHBEHASM, FDCMBEASM, FDCMBEHASM , FAEBEASM e FAEBEHASM foram testados na concentração de 200 µg/mL em etanol. Misturou-se 3 ml do reativo (molibdato de amônio 4mM, fosfato de sódio 28 mM, ácido sulfúrico 3 M) e 300 µL de cada extrato. Este mesmo procedimento foi feito para os padrões e o branco (etanol). Os tubos foram incubados por 90 min a 95°C e depois resfriados. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (695nm). Para efeito de cálculo, a vitamina C e o ác. gálico foram considerados como 100% de atividade antioxidante.

Atividade antioxidante pela redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) (RUFINO et al., 2007)
Utilizou-se 100 µL da sol. de DPPH (0,8 mg/mL) e 20 µL de metanol para o controle. Padrões de ác. gálico (1mg/mL) e vitamina C (1 mg/mL). Estes padrões sofreram diluições seriadas (500/25/12,5/6,25/3,125/1,5 µg/mL). EABSM, EHABSM, FHBEASM, FHEBHASM, FDCMBEASM, FDCMBEHASM, FAEBEASM e FAEBEHASM sofreram diluições seriadas nas mesmas concentrações dos padrões. Misturou-se 20 µL de cada amostra e 100 µL da solução de DPPH. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (517nm). Resultados foram expressos pela IC 50 (fórmula: % inibição = [(Ac – Aa)/Ac)] x 100. Ac: absorbância da solução controle; Aa: absorbância dos extratos no tempo de 30 min).

Atividade antioxidante pelas espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)
Retirou-se 500 µL da sol. de gema de ovo (5% m/v) e 100 µL de sol. de EABSM, EHABSM, HBEASM, FHBEHASM, FDCMBEASM, FDCMBEHASM FAEBEASM e FAEBEHASM, foram dissolvidos em 1 mL de etanol (95%). Determinações foram feitas na concentração de 1000 ppm (m/v). A peroxidação lipídica foi induzida pela

adição de 50 µL de ABAP à 0,035%. Foi adicionado 1500 µL de sol. de ác. acético (20%) e 1500 µL de sol de TBA à 0,035% (m/v) em sol de SDS à 0,55% (m/v). O grupo controle foi preparado com os reagentes. As reações foram realizadas durante 1 h a 95°C. Após o resfriamento, as amostras foram centrifugadas com 1500 µL de butanol a 1200 rpm por 3 min. A absorbância do sobrenadante foi realizada em 532 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos pelo Índice Antioxidante da amostra em percentual (IA%). IA% = (1-A/C) x 100, (C: absorbância do controle totalmente oxidado; A: média aritmética das absorbâncias dos extratos testados).

Resultados e Discussão

Screnning fitoquímico

Foi detectado a presença de alcaloides, antraderivados O e C – heterosídicos, flavonoides, taninos e saponinas na sua composição química.

Doseamento de polifenois totais pelo método de Folin-Ciocalteau

O doseamento de polifenóis no EABSM foi de 16,9 ± 0,064 % e no EHABSM 70% foi de 21,96 ± 0,0217 %. O EHABSM 70% extraiu melhor os taninos.

Doseamento de flavonoides totais pelo método $AlCl_3$ 2%

O doseamento de flavonoides totais (mEqQ.g-1) demonstrou que EABSM (34,607 ± 0,1045) e EHABSM (24,073 ± 0,089) e FAEBEASM (20,911 ± 0,04) e FAEBEHASM (10,674 ± 0,017). Verificou-se que o teor de flavonoides é maior no EABSM, seguido do EHABSM, FAEBEASM e FAEBEHASM. Estes dados confirmam que a polaridade do solvente extrator influencia diretamente no processo extrativo, baseado no princípio da polaridade, semelhante dissolve semelhante.

Determinação da atividade antioxidante pelo complexo fosfomolibdênio

A atividade antioxidante em relação a vitamina C demonstra FDCMBEHASM (81,38 ± 0,1107), FAEBEASM (49,87 ± 0,0609), FAEBEHASM (37,29 ± 0,0540), FHBEHASM (36,49 ± 0,082), FHBEASM (14,29 ± 0,0175), EABSM (11,68 ± 0,035), EHABSM (10,17 ± 0,015) e FDCMBEASM (0,70 ± 0,001). FDCMBEHASM (138,95 ± 0,1107), FAEBEASM (85,16 ± 0,0609), FHBEHASM (62,30 ± 0,082), FAEBEHASM (63,68 ± 0,0540), FHBEASM (24,40 ± 0,0175), EABSM (19,94 ± 0,035), EHABSM (17,36 ± 0,015) e FDCMBEASM (1,20 ± 0,0010). Os resultados demonstram que a FDCMBEHASM apresentou a maior atividade antioxidante e FDCMBEASM o menor potencial antioxidante, tabela 1.

Tabela 1 - Atividade antioxidante dos extratos e frações de *S. molle* L.

Extratos de Schinus molle L.	AA% em relação à vitamina C	AA% em relação ao ácido gálico
EABSM	11,68 ± 0,035	19,94 ± 0,035
EHABSM	10,17 ± 0,015	17,36 ± 0,015
FHBEASM	14,29 ± 0,0175	24,40 ± 0,0175
FDCMBEASM	0,70 ± 0,001	1,20 ± 0,001
FAEBEASM	49,87 ± 0,0609	85,16 ± 0,0609
FHBEHASM	36,49 ± 0,082	62,30 ± 0,082
FDCMBEHASM	81,38 ± 0,1107	138,95 ± 0,1107
FAEBEHASM	37,29 ± 0,0540	63,68 ± 0,0540

Atividade antioxidante pela redução do radical DPPH

O resultado revela que a fração hidroalcoólica diclorometano apresentou maior potencial antioxidante (6,25 µg/mL) (Gráfico 1). FHBEASM, FDCMBEASM e FHBEHASM não tem ação antioxidante.

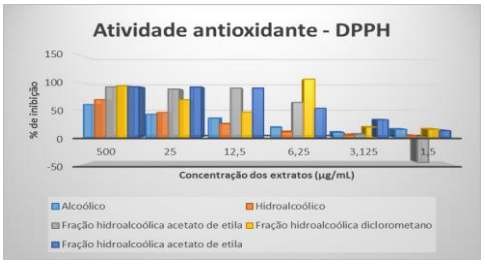


Gráfico 1 – Atividade antioxidante (Redução do radical DPPH)

Atividade antioxidante pelas espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

As análises por TBARS nos revelou que o potencial antioxidante de FHBEHASM é 143,072 ± 0,0176 e FDCMBEHASM é 108,511 ± 0,0072, conforme Tabela 2 abaixo.

Tabela 2 - Atividade antioxidante TBARS das folhas de *S. molle* L.

Extratos de *Schinus molle* L.	**Índice Antioxidante %**
EABSM	31,127 ± 0,0169
EHABSM	39,410 ± 0,0152
FHBEASM	39,628 ± 0,0113
FDCMBEASM	44,634 ± 0,0167
FAEBEASM	88,889 ± 0,0293
FHBEHASM	143,072 ± 0,0176
FDCMBEHASM	108,511 ± 0,0072
FAEBEHASM	88,272 ± 0,0787

Ao analisar os testes antioxidantes de Fosfomolibdênio, DPPH e TBARS, concluimos que FDCMBEHASM tem melhor potencial antioxidante (108,511 ± 0,0072) por TBARS. FDCMBEHASM extraiu os flavonoides metoxilados, responsáveis pela atividade antioxidante (SÁ et al., 2012).

Conclusões

Extrato alcoólico e hidroalcoólico 70% contém taninos, flavonóides, alcalóides, saponinas e antraderivados O e C heterosídicos. O extrato hidroalcoólico 70% tem maior teor de taninos e o extrato alcoólico maior teor de flavonóides. A fração diclorometano do extrato hidroalcoólico 70% tem melhor ação antioxidante.

Agradecimentos

Bolsa de iniciação científica (PIBIC) da Fundação Araucária.

Referências

1. MIGLIATO, K.F. et. al. Controle de Qualidade do Fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p. 94-101, Jan/Mar. 2007.
2. NASCIMENTO, J. C. et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 92, n. 4, p. 327 – 332, 2011.
3.RUFINO, M. S. M. et al. Determinação da atividade antioxidante em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, v.127, p. 1-4, 2007.
4. SANTOS, A. C. A. D. et al. **Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae).** Biochemical Systematics and Ecology .n.48, p. 222–227, 2013.
5. SÁ, P. G. S. D. et al. Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 561-566, 2012.