

Atividade antioxidante de extratos aquosos de *Cochlospermum angolense* (Borututu)

Ana F. Vinha^{a,b,c}, Anabela Costa^a, Marta Soares^{a,c}, Pedro Pires^{c,d}, MBPP Oliveira^a

^aREQUIMTE/Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Porto, Portugal. ^bFaculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal.

^cCITS/Instituto Politécnico de Saúde do Norte, CESPU, V. N. Famalicão, Portugal.

^dInstituto Politécnico de Saúde, Benguela, Angola.

*acvinha@ufp.edu.pt

Palavras-chave: *Cochlospermum angolense*, Atividade antioxidante, Planta medicinal, ABTS^{•+}, DPPH, FRAP.

RESUMO

A utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos ocorre, desde longa data, em determinadas regiões, por questões culturais e devido ao difícil acesso da população a medicamentos. Contudo, essa utilização tem aumentado significativamente nos últimos tempos, a nível global, dada a associação da ideia de inocuidade a produtos naturais. De acordo com a OMS, aproximadamente 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional ou a fitoterapia no tratamento de várias doenças. O Borututu (*Cochlospermum angolense*) é uma planta angolana conhecida pelos seus efeitos benéficos no tratamento de determinadas síndromas patológicas e também pelo seu uso na culinária.

No presente trabalho estudou-se a atividade antioxidante (captura do radical livre ABTS^{•+}, DPPH e FRAP) e os teores de compostos antioxidantes (fenóis totais, flavonóides e taninos totais) de extratos aquosos das cascas frescas e secas de borututu, vulgarmente utilizados em infusões. Os extratos aquosos da casca fresca e seca do Borututu apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em fitoquímicos, provando que o processo de secagem e de conservação influenciam a composição da planta.

1. INTRODUÇÃO

Numerosos dados científicos responsabilizam os radicais livres e compostos oxidantes pelo envelhecimento precoce e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, tais como cancro, doenças cardiovasculares, cataratas, perda funcional do sistema imune e disfunções cerebrais [1-4]. As espécies reativas de oxigénio (ERO), tais como os radicais hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), hidroperóxido ($\text{ROO}\cdot$) e o anião radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), causam danos profundos no ADN e nos processos metabólicos dos lípidos e das proteínas.

A utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos ocorre, desde longa data, em determinados regiões, por questões culturais e devido ao difícil acesso da população a medicamentos [5]. Contudo, esta utilização tem crescido significativamente nos últimos

tempos, a nível global, dada a associação da ideia de inocuidade a produtos naturais. De acordo com a OMS, aproximadamente 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional ou a fitoterapia na ação terapêutica de várias doenças [6].

A pesquisa fitoquímica tem como objetivo conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais e/ou avaliar a sua presença. Mesmo quando não se dispõe de estudos químicos sobre as espécies de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar o grupo de metabolitos secundários relevantes na planta medicinal. O Borututu (*Cochlospermum angolense*) é uma planta angolana conhecida pelos seus efeitos benéficos no tratamento de determinadas síndromes patológicas e também pelo seu uso na culinária. Tanto os óleos essenciais como os componentes não voláteis (extratos) obtidos das plantas têm sido estudados quanto ao seu potencial antioxidante, demonstrando valores interessantes.

O presente trabalho teve como principal objetivo estudar a composição química em compostos bioativos (fenólicos totais, flavonóides e taninos) de extratos aquosos obtidos da planta fresca e da planta seca. Pretendeu igualmente avaliar o seu potencial antioxidante, recorrendo a diferentes métodos analíticos, de forma a garantir o melhor rendimento, como planta medicinal.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

A raiz de Borututu foi colhida, em Abril de 2012, na cidade de Benguela, Angola, transportada por via aérea sob atmosfera controlada e hermeticamente selada, ao abrigo da luz. O material vegetal foi separado em dois lotes, sendo um deles seco à temperatura ambiente (20°C) e ao abrigo da luz e humidade, durante 1 semana. As amostras foram trituradas (Moulinex A5052HF) e 5 g de casca (seca e fresca) maceradas em 50 ml de água a 40°C±1°C, durante 60 min.

2.2 Determinação dos compostos fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais dos extratos aquosos foi efetuada pelo método de Folin–Ciocalteu (Merck), segundo metodologia descrita [7], com ligeiras modificações e curva padrão de catequina. Os resultados foram expressos em mg de fenólicos totais em equivalente de catequina por 100g de amostra.

2.3 Determinação do teor de flavonóides totais

Para a determinação de flavonóides totais utilizou-se um método colorimétrico, seguindo metodologia previamente descrita [8]. A técnica envolveu a medida de absorção, a 425 nm, do complexo AlCl₃-flavonóide, utilizando uma reta de calibração de apigenina ($R^2=0,99885$). As determinações analíticas foram efetuadas num espectrofotómetro (UV-VIS Shimadzu, modelo-UV-1800). O teor de flavonóides totais, expresso em miligramas (mg) de apigenina por 100 g de amostra, foi calculado através da equação 1 (C-concentração de flavonóides, expressa em mg apigenina por 100 g de planta; A = absorvância; FD = fator de diluição; m = massa da

amostra (g); $E_{1\%,1\text{cm}} = 336,5$ absorção específica da apigenina). O ensaio foi realizado em triplicado.

$$C = \frac{AFD}{mE_{1\%,1\text{cm}}} \quad (1)$$

2.4 Determinação do teor de taninos

Os teores de taninos totais dos extratos aquosos foram quantificados espectrofotometricamente (Shimadzu, modelo- UV-1800) a 725nm. A 2 ml de cada extrato foram adicionados 2 ml de reagente Folin-Denis. Após 3 min de repouso, foram adicionados 2 ml de carbonato de sódio (8%), mantendo um período de repouso de 2 horas ao abrigo da luz. Para a quantificação fez-se uma curva de calibração a partir de soluções de ácido tânico com diferentes concentrações.

2.5 Atividade antioxidante

Para avaliação da atividade antioxidante foram realizados três ensaios: DPPH com 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo [9]; ABTS com 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonato) [10]; e FRAP, poder antioxidante por redução de ferro [10]. Todas as leituras foram realizadas em triplicado recorrendo-se a um leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5).

2.6 Análise estatística

A análise dos resultados foi efetuada pela aplicação da ANOVA e o teste Tukey pretendendo identificar as diferenças significativas entre as médias, usando o software Statistica® 6.0. O nível de significância considerado para a diferença entre as médias foi de 5% ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas em triplicado e os resultados apresentados como média \pm desvio padrão (SD).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de fenólicos totais, flavonóides e taninos extraídos (meio aquoso) na planta fresca e submetida a um processo de secagem, com teor de humidade inferior a 10%, estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de fenólicos totais, flavonóides totais e taninos em extratos aquosos da raiz de Borututu fresca (EF) e seca (ES).

Extratos	Fenólicos totais	Flavonoides totais	Taninos
EF	331,3 \pm 21,48 ^A	78,7 \pm 2,52 ^A	11,3 \pm 0,78 ^A
ES	423,6 \pm 23,16 ^B	196,6 \pm 32,84 ^B	16,0 \pm 0,89 ^B

*Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão ($n = 3$); médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

Pela análise dos resultados verifica-se que tanto para os fenólicos totais, como para os flavonóides totais e taninos, os teores mais elevados foram obtidos nos extratos da planta seca, ou seja, raiz de Borututu após processo de secagem, sendo visível uma diferença significativa para as três variáveis estudadas ($p < 0,05$). Na Figura 1 (em baixo) estão esquematizadas as atividades antioxidantes para ambos os extratos, e mediante os diferentes métodos analíticos propostos.

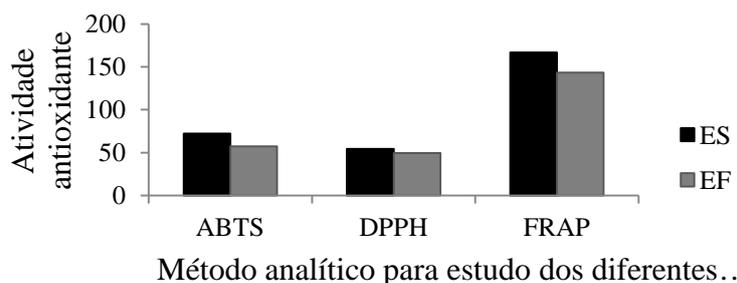


Figura 1. Atividade antioxidante pelos métodos do DPPH, ABTS e FRAP dos extratos aquosos da raiz de Borututu fresca e seca.

A atividade antioxidante mostrou diferenças significativas entre os dois extratos estudados ($p < 0,05$), tendo o processo de secagem aumentado a concentração dos compostos bioativos e, conseqüentemente, o seu poder antioxidante, atingindo valores de $166,77 \text{ mg Fe}^{++}\text{g}^{-1}$ (FRAP) $> 72,31 \text{ mg Trolox g}^{-1}$ (ABTS) $> 54,58 \text{ mg Trolox g}^{-1}$ (DPPH) para o extrato seco e $143,41 \text{ mg Fe}^{++}\text{g}^{-1}$ (FRAP) $> 57,45 \text{ mg Trolox g}^{-1}$ (ABTS) $> 49,52 \text{ mg Trolox g}^{-1}$ (DPPH) para a raiz fresca. As atividades antioxidantes, independentemente do método estudado, mostram uma relação positiva com os teores de compostos bioativos, o que vai de encontro com outros estudos publicados. O FRAP mostrou ser o método mais reprodutível, com valores superiores, independentemente da natureza dos extratos. Embora a atividade antioxidante seja elevada para esta matriz vegetal, a mesma mostrou-se inferior (1/2) à atividade antioxidante descrita para a erva-mate [11] e para o chá verde ($142,3 \text{ mg Trolox}/100\text{ml}$) [5].

4 CONCLUSÕES

Este estudo ainda preliminar permite concluir que a raiz de Borututu possui elevada quantidade de compostos antioxidantes e que os mesmos estão diretamente relacionados com a sua potencialidade nos ensaios *in vitro*. Estudos posteriores deverão ser realizados, com a identificação dos metabólitos secundários de maior relevância e sua possível correlação com cada um dos métodos estudados.

Referências

- [1] S Chanda, R Dave, Afri J Microbiology Reschr, 2009, 3(13): 981-996.
- [2] L Rackova, M Oblozinsky, D Kostalova, V Kettmann, LBezakova, J Inflam, 2007, 4, 15.
- [3] U Singh, I Jialal, Pathophysiol, 2006, 13, 129-142.
- [4] H Wang, M Zhao, B Yang, Y Jiang, G Rao, Food Chem, 2008, 107, 1399-1406.
- [5] ASG Costa, A Nunes, IMC Almeida, MR Carvalho, MF Barroso, RC Alves, MBPP Oliveira, LWT - Food Sci Technol, 2012, *in press*.
- [6] E Puppò, CP Silva, J Basic Appl Pharmac Sci, 2008, 29(1), 53-58.
- [7] M Wettasinghe, FJ Shahidi, J Agric Food Chem, 1999, 47, 1801-1812.
- [8] RD Petry, KCB De Souza, VL Bassani, PR Petrovick, G González-Ortega, R Bras Farm 1998, 79, 7-10.
- [9] DO Kim, SW Jeong, CY Lee, Food Chem, 2003, 81, 321-326.
- [10] L Lachman, LWT - Food Sci Technol, 2010, 43, 52-58.
- [11] M Vieira, M Marachin, CM Pagliosa, R Podestá, RDMS Amboni, Int Adv Cleaner Prod 2009, 1-11.