

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Dioclea virgata* (RICH) AMSH

Carol Anne Pereira Silva¹; Clayton Queiroz Alves²; Danilo Ferreira Pinto³

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

carolanneps@gmail.com

2. Orientador, Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: cleiroz@gmail.com

3. Participante do projeto Estudo Fitoquímico e Avaliação de Atividade Biológica de Metabólitos Isolados de *Dioclea Virgata* (Rich) Amsh. (Leguminosae), Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

daniLOW.f@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: *Dioclea virgata* (Rich). Estudo Fitoquímico. Atividade antioxidante.

INTRODUÇÃO

O gênero *Dioclea* pertence à família Leguminosae (Fabaceae) e possui cerca de 50 espécies distribuídas em zonas tropicais, sendo a maioria encontrada na América Central e do Sul, especialmente na Amazônia. Diversas espécies deste gênero têm sido estudadas através da análise de proteínas, sendo descrito na literatura o isolamento de lectinas das sementes destas espécies com atividade anticancerígena (MACIEL, 2002). As espécies deste gênero são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diversos males, como no tratamento de doenças dos rins e da próstata. Apesar do grande interesse pelo estudo de plantas com reconhecida atividade medicinal, ainda existem espécies desse gênero que não foram estudadas do ponto de vista fitoquímico, nem avaliadas quanto ao seu potencial biológico (ALVES, 2000). O termo oxidação de uma substância era comumente definido como a incorporação de oxigênio em sua estrutura. Existem muitos testes para avaliar a atividade antioxidante de diversas substâncias. Estes testes têm se tornado ferramentas usuais e extremamente necessárias na seleção inicial de substâncias que possam ser utilizadas como fármacos, auxiliando os pesquisadores na avaliação da atividade (ALVES, 2010). Um dos métodos utilizados para a avaliação dessa atividade é o sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina (MOLYNEUX et al, 2000). Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido. Portanto, diante dos efeitos farmacológicos observados em espécies do gênero *Dioclea*, faz-se de grande importância o aprofundamento no estudo fitoquímico visando um melhor conhecimento das classes de metabólitos produzidos por estas espécies, bem como na busca de compostos bioativos oriundos de plantas. Esta pesquisa tem como tema o Estudo Fitoquímico e Atividade Antioxidante de *Dioclea virgata* (Rich) amsh, onde o objetivo principal é fazer o estudo dos constituintes químicos presentes no extrato clorofórmio das folhas desta espécie e a avaliação da atividade antioxidante do extrato bruto e frações.

METODOLOGIA

Fracionamento do Extrato Clorofórmio de *D. virgata*:

Através da técnica de Cromatografia Líquida Clássica (CLC) obteve-se frações purificadas do extrato. Após o empacotamento, foi preparada uma pastilha do extrato, que foi colocada na coluna e eluída com sistema de solvente que consistia na mistura de hexano e acetato de etila. O monitoramento das frações foi realizado utilizando a técnica de cromatografia em camada delgada (CCD). Para a realização da CCD as frações foram aplicadas em uma placa de sílica com a ajuda de um tubo capilar; depois de aplicar as amostras à placa, a mesma foi introduzida em uma cuba cromatográfica contendo uma fase móvel constituída por hexano e acetato de etila. A placa foi deixada na cuba, onde o solvente subiu por capilaridade até que ele estivesse a aproximadamente 1 cm da parte superior da placa. O parâmetro principal que foi analisado na CCD é o fator de retenção (Rf), o qual é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão e a distância percorrida pela fase móvel. A técnica de CCD foi utilizada para identificação das frações coletadas por cromatografia líquida clássica.

Teste de atividade antioxidante:

Para a avaliação da atividade antioxidante o extrato bruto e as suas frações (clorofórmica, hexânica e acetato de etila) foram submetidas ao teste do sequestro do radical livre DPPH em diferentes concentrações, sendo submetido à leitura em espectrofotômetro à 517nm. Foi utilizada uma concentração de 2mg/mL para todas as amostras (extrato bruto e frações), bem como para o ácido gálico que foi o padrão utilizado. O teste foi realizado em triplicata para cada amostra, onde no final, foi feita a média da atividade antioxidante que cada amostra apresentou.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fracionamento do Extrato Clorofórmio de *D. virgata*:

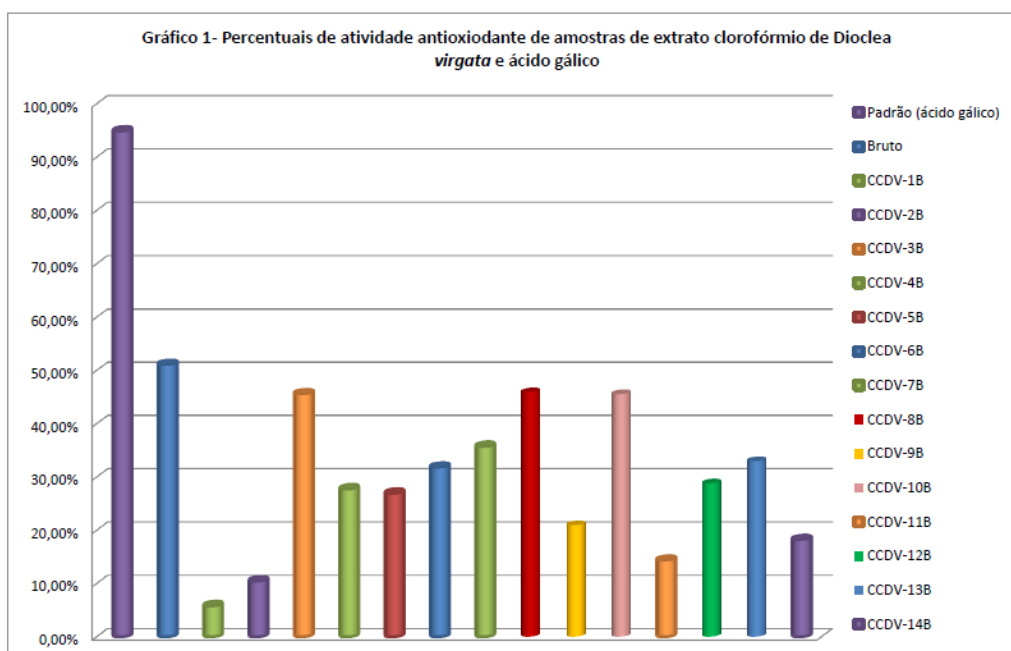
Foram realizados três fracionamentos através da técnica de cromatografia em coluna (CC) sendo que no primeiro obteve-se trinta e seis frações semipurificadas (CCDV-A1 à CCDV-A36). Analisando o perfil cromatográfico e o Rf das amostras por meio da técnica de cromatografia em camada delgada (CCD), estas foram devidamente reunidas resultando em dezoito frações (CCDV- B1 à CCDV- B18). Dentre as frações obtidas no primeiro fracionamento, a fração de código – CCDV-A32 – foi selecionada devido ao perfil cromatográfico apresentado por esta. Do fracionamento da fração – CCDV-A32 – resultaram 12 frações semipurificadas (CCDV-C1 à CCDV- C12) que, após serem comparadas por cromatografia de camada delgada e agrupadas aquelas possuíam perfil e Rf semelhante, sendo CCDV-C9, CCDV-C10 e CCDV-C11. Não sendo possível o isolamento de nenhuma substância na fração escolhida inicialmente, fez-se a coluna cromatográfica dessas frações unidas que resultaram em quatorze subfrações semipurificadas, sendo elas CCDV-D1 e CCDV-D14, que foram submetidas ao teste de atividade antioxidante.

Tabela 1: Massa das subfrações semipurificadas CCDV-D1 à CCDV-D14

Subfrações	Massa (g)
CCDV-D1	0,2361
CCDV-D2	0,4210
CCDV-D3	0,4320
CCDV-D4	0,3911
CCDV-D5	0,2879
CCDV-D6	0,1071
CCDV-D7	0,4165
CCDV-D8	0,2304
CCDV-D9	0,3028
CCDV-D10	0,1977
CCDV-D11	0,3955
CCDV-D12	0,4045
CCDV-D13	0,5788
CCDV-D14	0,2461

Avaliação da atividade antioxidante:

Através dos resultados apresentados na tabela 1, pode-se observar que as amostras apresentaram baixa atividade antioxidante quando comparadas com o padrão ácido gálico. O extrato bruto foi a amostra que apresentou maior taxa de atividade antioxidante (51,11%), em comparação com o padrão (94,84%).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos fracionamentos realizados, não houve o isolamento das substâncias, mas como este procedimento de purificação por cromatografia é moroso, este resultado podia ser esperado. A atividade antioxidante foi avaliada pelo sequestro do radical DPPH por substâncias antioxidantes presentes nos extrato bruto, frações e pelo padrão de ácido gálico. O padrão de

ácido gálico demonstrou ser significativamente mais ativo em comparação com o resultado da atividade antioxidante do extrato bruto e das frações, que apresentaram baixa atividade. É fundamental o prosseguimento do estudo fitoquímico dessa espécie, pois como demonstrado na literatura, os metabólitos presentes em espécies no gênero *Dioclea* podem ser responsáveis por suas propriedades medicinais já conhecidas, bem como é necessário à realização de mais testes que comprovam sua atividade biológica, tendo em vista o uso dessa planta na medicina popular para diversas patologias.

REFERÊNCIAS

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; JUNIOR, A.S.; ZANI, C. L. **Men. Inst. Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro. 95, 367-373, 2000.

ALVES, C. Q., DAVID, J. M., DAVID, J. P., BAHIA, M. V., AGUIAR, R. M. Métodos para Determinação de Atividade Antioxidante in vitro em Substratos Orgânicos, **Química Nova**, 33(10) 2202-2210, 2010

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

MOLYNEUX, P.; SONGKLANAKARIN J. **SCI. TECHNOL.** n. 26, v. 18, p. 211, 2004.