

Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana cearensis*

Larisse de Oliveira dos Santos, Magda Rosa Reis, Luci Emi Ogava, Katyúscya Veloso Leão*, Luciana Lucas Machado, Simone Possedente de Lira

Colegiado de Química, Universidade Federal do Oeste da Bahia, Rua Professor José Seabra de Lemos, 316. Recanto dos Pássaros, CEP: 47.808-02, Barreiras, Bahia, Brasil.

Article history: Received: 28 February 2015; revised: 16 August 2015; accepted: 09 December 2015. Available online: 09 February 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v1i1.706>

Abstract: *Amburana cearensis* A. C. Smith (Fabaceae) is popularly known as cumaru. Its stem bark is used in folk medicine for the treatment of respiratory disorders and as anti-inflammatory. With knowledge of their pharmacological potential of this work was to total phenolics content and antioxidant activity in the ethanolic extract of leaves and bark (EEF and EEC) and methanol and ethyl acetate fractions of leaves (FMEF and FAcF). The Antioxidant activity of the extract and fractions was evaluated using spectrophotometric method at concentrations of 1.0; 0.1; 0.01 and 0.001 mg mL⁻¹. For the total phenolics, determined by the Folin-Ciocalteu method, expressed as gallic acid equivalent g⁻¹ (GAE) for sample. All samples showed antioxidant activity, but FMEF fraction showed the highest value for activity (94%) when compared to standard ascorbic acid. The total phenolics content showed the most significant result was to FAcF fraction with 134.66 mg of EGA g⁻¹.

Keywords: *Amburana cearensis*; antioxidante; fenóis totais; plantas medicinais

1. INTRODUÇÃO

A oxidação é um processo necessário para a manutenção da vida, assim a existência de radicais livres no organismo é um processo natural, no qual estes são fundamentais para diversas funções como na produção de energia, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, síntese de substâncias biológicas etc. [1, 2]. No entanto, seu excesso pode causar danos ao organismo. Nos últimos anos, muitos estudos apresentaram evidências de que os radicais livres e outros oxidantes são responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas a ele, como câncer, doenças cardiovasculares, disfunções cerebrais etc. [3].

A produção de radicais livres nos seres vivos pode ser controlada por compostos antioxidantes de origem endógena e/ou provenientes da dieta alimentar, como tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides [4-7].

Segundo Sousa e colaboradores [3] denominam-se antioxidantes as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou

inibem a oxidação do substrato [1, 2]. Desta forma, a busca por alimentos ou plantas medicinais que tenham estas propriedades tem aumentado significativamente, uma vez que compostos fenólicos podem promover proteção ao organismo e frequentemente apresentam atividade antioxidante.

Vale ressaltar que os compostos fenólicos são compostos secundários produzidos por plantas que apresenta pelo menos um grupo fenol e entre as inúmeras atividades atribuídas a este grupo de compostos destaca-se a atividade de proteção contra estresse oxidativo por meio da capacidade de atuar como sequestrador de radicais livres e na quelatação de metais de transição. A estrutura química dos compostos fenólicos incluindo tipo, grau de metoxilação e número de hidroxilas são alguns parâmetros que qualificam sua atuação como agentes redutores, sendo os intermediários formados nestas reações em que apresentam relativa estabilidade pela presença de ressonância do anel aromático destes compostos. Baseando-se nestes fatos, este trabalho teve como propósito investigar a atividade antioxidante dos constituintes fenólicos presentes em *Amburana cearensis*.

*Corresponding author. E-mail: kleao@ufob.edu.br

Amburana cearensis é uma espécie encontrada no cerrado do Oeste Baiano, pertence à família Fabaceae (Leguminosae - Papilionoideae), é uma árvore frondosa nativa do nordeste brasileiro [8, 9] a qual, desde de 2005, foi considerada espécie sob o risco de extinção pela União Internacional para Conservação da Natureza –IUCN [10], devido ao seu uso de maneira extrativista para várias finalidades comerciais, em geral sua madeira é largamente empregada em carpintaria e perfumaria e suas sementes são utilizadas como aromatizante, cujo o aroma é similar ao odor de baunilha.

Esta espécie é conhecida popularmente como “umburana-de-cheiro”, “imburana-de-cheiro”, “cumaru” e “cumaru-do-Ceará”. Na medicina popular há relatos do uso da casca e das sementes para o tratamento de asma, tosse, bronquite, inflamações e espasmos [11-14].

Há vários trabalhos com relatos de isolamento de substâncias da *Amburana cearensis* como cumarina, glicosídeos fenólicos e flavonóides como isocampferídeo, campferol e ácido vanílico. Entretanto até o momento não há nenhum estudo que associe a atividade biológica a um princípio ativo ou a um complexo fitoterápico, ou mesmo de identificação se a atividade é resultado da sinergia entre os compostos [15-20].

Como parte do nosso estudo sobre a investigação da ação farmacológica das folhas e casca da *Amburana cearensis*, o presente trabalho teve como objetivo fazer uma análise qualitativa dos principais compostos, avaliar a atividade antioxidante e determinar os fenóis totais dos extratos etanólicos da casca e da folha bem como as frações acetato de etila e metanólica das folhas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

Cascas e folhas de *Amburana cearensis* (242UFOB) foram coletadas no município de Barreiras-BA em novembro de 2013. Todas as exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário da UFOB.

Preparação dos extratos

O material vegetal foi secado a temperatura ambiente e em seguida foi triturado. Os extratos

etanólicos, das folhas (EEF) e da casca (EEC) foram obtidos por meio de extração a frio com etanol, por quatro vezes consecutivas e cada extração teve a duração de 2 dias. Os extratos foram reunidos e concentrados em evaporador rotativo.

Fracionamento cromatográfico do EEF

Adicionou-se cerca de 2 g do extrato etanólico em sílica gel e através de atrito mecânico utilizando gral de porcelana homogeneizaram-se os materiais para completa adsorção. Um funil de Gush, revestido com papel filtro foi preenchido com a sílica gel com o extrato já adsorvido, foi eluído, em ordem crescente de polaridade, com hexano, acetato de etila e metanol, para obtenção das respectivas frações (FHexF, FAcF, FMeF). Estas foram concentradas em evaporador rotativo, de acordo com a temperatura de ebulição de cada solvente.

Análise qualitativa dos compostos presente nos extratos por cromatografia em camada delgada (CCD)

Os extratos foram analisados utilizando cromatofolhas de sílica-gel 20 x 20 cm da marca Macherey-Nagel, com indicador de fluorescência/UV 254 nm (Polygram® Sil G/UV 254, 0,20 mm). As frações foram ressuspensas no solvente de maior solubilidade e aplicadas na placa de CCD, que foram eluídas em cubas, contendo fase móvel. Após a separação a placa foi inspecionada sob luz ultravioleta (254 nm e 365 nm) e reveladas com os reagentes Dragendorff - para avaliar a presença de alcalóides e compostos nitrogenados, ácido Fosfomolibdico- para esteróides e derivados de lipídeos, Ninidrina – para aminoácidos, amins e aminoaçúcares e Anisaldeído-para açúcares, terpenos e esteróides.

Para a fase móvel foi utilizado proporções de solventes específicos de acordo com a solubilidade de cada amostra. Para frações solúveis em etanol, metanol, água e acetato de etila: Diclorometano/ Acetato de etila (7:3 v/v), Diclorometano / Metanol (8:2 v/v), 8A:2B (v/v), onde A (Hexano/ Diclorometano 2:8 v/v) e B (Acetato de etila: Metanol 9:1 v/v. Para frações solúveis em hexano: hexano/ acetato de etila (7:3 v/v).

Determinação de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais

presentes nas amostras de extrato etanólicos, EEF e EEC, bem como as frações FAcF e FMeF da espécie estudada, seguindo a metodologia de Sousa et al [3]. Foram preparadas triplicatas das amostras na concentração de 0,15 mg/mL utilizando metanol como solvente. 500 µL de Folin–Ciocalteu juntamente com 6 mL de água destilada foram adicionadas à 100 µL de cada extrato e fração. A mistura foi homogeneizada e em seguida foi adicionado 2 mL da solução saturada de Na₂CO₃ a 15 % e água destilada até o volume total de 10 mL. Homogeneizou-se novamente a solução e deixou-se em repouso por 2 h na ausência de luz. Após este período 1 mL de cada amostra foi acondicionado em cubeta de quartzo para a determinação da absorbância utilizando Espectrofotômetro UV-VIS Varian Cary, comprimento de onda de 750 nm e metanol puro como branco. O teor de fenóis totais foi expresso em equivalente de ácido gálico (EAG) por g de extrato e o quantitativo foi determinado pela interpolação das absorbâncias das amostras contra a curva de calibração do ácido gálico em diferentes concentrações, cuja equação é:

$$C = 800,05A + 0,0163; R = 0,975$$

C: Concentração do ácido gálico

A: Absorbância da amostra

R: Coeficiente de correlação

Análise quantitativa da atividade antioxidante

A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi feita seguindo metodologia de Sousa et al [3], com pequenas modificações. Foram realizadas triplicatas de EEF, EEC, FAcF e FMeF, nas seguintes concentrações: 0,001, 0,01, 0,1 e 1 mg/mL onde utilizou-se metanol como solvente. Uma alíquota de 1 mL da solução de DPPH diluído em metanol na

concentração de 60 µmol.L⁻¹ foi adicionada a 1 mL de cada extrato e fração, deixando em repouso por 30 min na ausência de luz. Após este período, o monitoramento do consumo de radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazida) pelos extratos e frações ocorreu através da medida do decréscimo da absorbância a qual foi transformada em % de inibição segundo a equação:

$$I(\%) = 1 - \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do DDPH}} \times 100$$

As medidas foram efetuadas em Espectrofotômetro UV-VIS Varian Cary em comprimento de onda de 520 nm, utilizando como controle positivo o Trolox (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) e Vitamina C (ácido ascórbico).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação preliminar qualitativa dos extratos por CCD em sílica gel permitiu uma visão geral dos principais compostos presentes nas amostras (Tabela 1). Nesta análise foi possível observar que todos os compostos presentes no extrato etanólico das folhas (EEF) também estavam presentes na fração acetato de etila das folhas (FAcF), fato já esperado devido a pequena diferença de polaridade entre os solventes, os quais são os aminoácidos, amins e ou aminoaçúcares, esteróides e derivados lipídeos, terpenos e saponinas. A fração metanólica das folhas (FMeF) apresentou apenas taninos e ácido gálico na sua composição. Por fim a fração etanólica das cascas revelou a presença de esteróides e derivados lipídeos, terpenos e saponinas. Alcalóides e/ou compostos nitrogenados e flavonóides não foram detectados em nenhuma amostra.

Tabela 1. Principais compostos dos extratos e frações da *A. cearensis* utilizando CCD.

Principais compostos	EEC	EEF	FAcF	FMeF
Alcalóides e/ou compostos nitrogenados	-	-	-	-
Aminoácidos, amins e/ou aminoaçúcares	-	+	+	-
Esteróides e derivados de lipídeos	+	+	+	-
Terpenos	+	+	+	-
Saponinas	+	+	+	-
Flavonoides	-	-	-	-
Taninos	-	-	-	+
Ácido gálico	+	-	-	+

(+): detectado, (-): não detectado

Vários estudos referentes a composição química da *A. cearensis* reportam a presença de cumarinas na

casca [12, 19, 21] e terpenos nas folhas [19] o que corrobora com os resultados apresentados na análise

qualitativa.

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e casca, bem como das frações metanólicas e

acetato de etila, nas concentrações de 0,001, 0,01, 0,1 e 1 mg/mL, determinadas pelo ensaio de DPPH, estão apresentadas na figura 1.

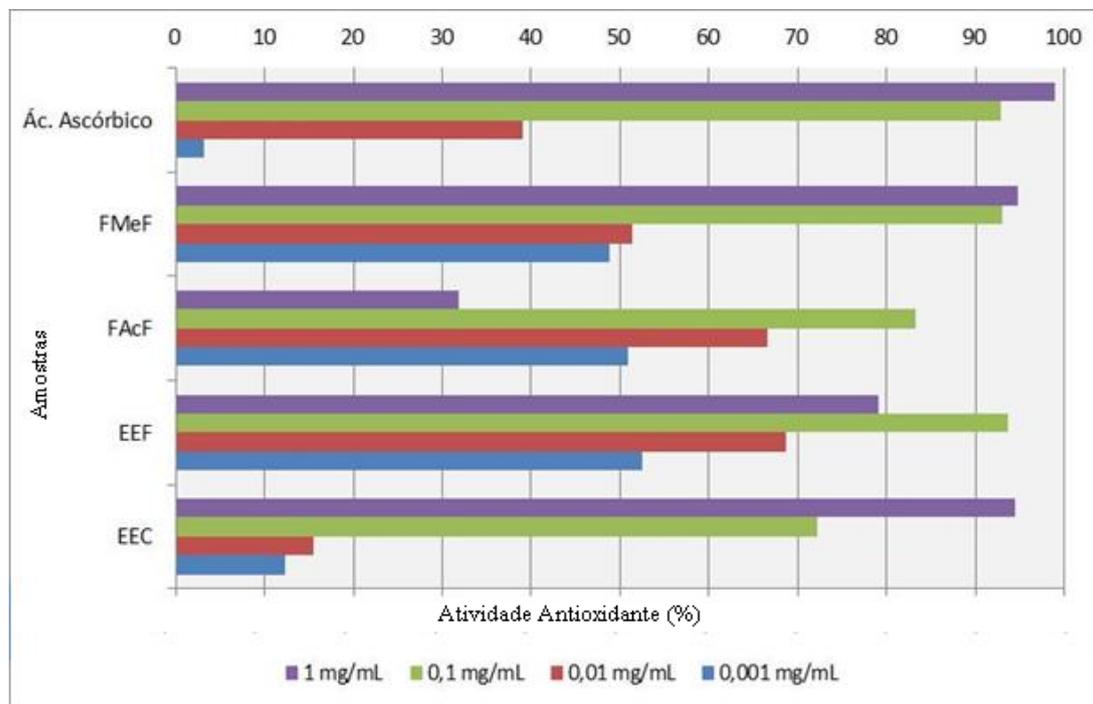


Figura 1. Potencial antioxidante de extratos e frações de *A. cearensis*.

Os maiores valores foram observados nas folhas na concentração de 0,1 mg/mL, onde o extrato etanólico, a fração acetato de etila e a fração metanólica com 93,63, 83,21 e 93,01% respectivamente. Já o extrato etanólico da casca apresentou o melhor resultado na concentração 1 mg/mL, 94,55%.

Como as análises de atividade antioxidante se mostraram expressivos, conduziu-se a quantificação de fenóis totais. Os resultados encontrados para os extratos e frações estão na Tabela 2, e com base nesses valores é possível verificar que todas as frações apresentam bons valores de teor de fenóis totais. A fração metanólica apresentou o menor teor com 108,66 mg EAG/g e o maior, de 134,66 mg EAG/g, foi detectado para a fração acetato de etila, corroborando com os resultados apresentados na análise da atividade antioxidante.

Pode se concluir que o extrato etanólico de *Amburana cearensis* apresentou alta concentração de fenóis totais e grande atividade antioxidante, 131,14 mg EAG/g e 93,13%, respectivamente. Contudo, as demais frações apresentaram menores valores, porém

próximos a este valor, sugerindo assim que não apenas as sementes que são já bastante estudadas como também as folhas da *A. cearensis* podem ser uma alternativa aos antioxidantes sintéticos, na preparação de aditivos alimentar, bem como em preparações farmacêuticas e cosméticas.

Tabela 2. Fenóis totais de extrato e frações de *A. cearensis*.

Amostra	FT (mg EAG/g amostra ± DP)
EEC	119,30 ± 0,0091
EEF	131,14 ± 0,0151
FMeF	108,66 ± 0,0277
FAcF	134,66 ± 0,011

6. REFERÊNCIAS E NOTAS

- [1] Atoui, A. K.; Mansouri, A.; Boskou, G.; Kefalas, P. *Food Chem.* **2005**, *89*, 27. [CrossRef]
- [2] Barreiros, A. L. B. S.; David, J. M.; David, J. P. *Quim. Nova* **2006**, *29*, 113. [CrossRef]
- [3] Sousa, C. M. M.; Silva, H. R.; Vieira-Jr, G. M.; Ayres, M.

- C. C.; Costa, C. L. S. C.; Araujo, D. S.; Cavalcante, L. C. D.; Barros, E. D. S.; Araújo, P. B. M.; Brandão, M. S.; Chaves, M. H. *Quim. Nova*, **2007**, *30*, 351. [[CrossRef](#)]
- [4] Valko, M.; Izakovic, M.; Mazur, M.; Rhodes, C. J.; Telser, J. *Mol. Cell. Biochem.* **2004**, *266*, 37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [5] El-Agamey, A.; Lowe, G. M.; McGarvey, D. J.; Mortesen, A.; Phillip, D. M.; Truscott, T. M.; Young, A. J. *Arch. Biochem. Biophys.* **2004**, *430*, 37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [6] Omoni, A. O.; Aluko, R. E. *Trends Food Sci. Technol.* **2005**, *16*, 344. [[CrossRef](#)]
- [7] Haslam, E. J. *Nat. Prod.* **1996**, *59*, 205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [8] Braga, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3.ed. Fortaleza: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1976.
- [9] Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Ed. Plantarium, 1992.
- [10] Leite, E. J. *J. Nat. Conserv.* **2005**, *13*, 49. [[CrossRef](#)]
- [11] Pereira, I. M.; Andrade, L. A.; Costa, J. R. M.; Dias, J. M. *Acta Botânica Brasileira* **2001**, *15*, 413. [[CrossRef](#)]
- [12] Silva, A. C. O.; Albuquerque, U. P. *Acta Botânica Brasileira* **2005**, *19*, 17. [[CrossRef](#)]
- [13] Silveira, E. R.; Pessoa, O. D. L. Constituintes micromoleculares de plantas do Nordeste com potencial farmacológico: com dados de RMN ¹³C. Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, 2005.
- [14] Almeida, J. R. G. S.; Moraes, A. C. A.; Ribeiro, R. L.; Góis, R. M. O.; Quintans Júnior, L. J. Resumo publicado em anais do evento. Fortaleza: Gráfica Universitária - UFC, **2005**.
- [15] Bravo, J. A.; Sauvain, M.; Gimenez, A.; Munoz, V. O.; Callapa, J.; Le Men-olivier, L.; Massiot, G.; Lavand, C. *Photochem.* **1999**, *50*, 71.
- [16] Canuto, K. M.; Silveira, E. R. Flavonoides de *Amburana cearencis* (FR. All) A. C. Smith (cumaru). Anais do Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Recife, 2000.
- [17] Canuto, K. M.; Silveira, E. R. *Quim. Nova*. **2006**, *29*, 1241. [[CrossRef](#)]
- [18] Bezerra, A. M. E.; Canuto, K. M.; Silveira, E. R. Estudo fitoquímico de espécimes jovens de *Amburana cearensis* A.C Smith. Anais da 29ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2006.
- [19] Almeida, J. R. G. S.; Guimarães, A. G.; Siqueira, J. S., Santos, M. R.V.; Lima, J. T.; Nunes, X. P.; Quintans-Júnior, L. J. *Scientia Plena* **2010**, *6*, 11.
- [20] Negri, G.; Oliveira, A. F. M.; Salatino, M. L. F.; Salatino, A. *Rev. Bras. Plant. Med.* **2004**, *6*, 1.
- [21] Bravo, J. A. A.; Sauvain, M.; Gimenez, A. T.; Munhoz, V. O.; Callapa, J., Le Men-Olivier, L.; Massiot, G.; Lavaud, C. *Phytochem.* **1999**, *50*, 71. [[CrossRef](#)]