

VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV
Semana
de Iniciação Científica da URCA
e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
CNIDOSCOLUS QUERCIFOLIUS POHL. (SIN. C. PHYLLACANTHUS (MULL.
ARG) PAX & L. HOFFM.) (FAVELEIRA) POR DIFERENTES MÉTODOS

Emanuely Gonçalves dos Santos¹, Joice Barbosa do Nascimento²,
Débora Odília Duarte Leite³ Mariana Pereira da Silva⁴ Natália Kelly Gomes
de Carvalho⁵ Johnatan Wellisson da Silva Mendes⁶ Maria Inácio da Silva⁷
José Galberto Martins da Costa⁸

Resumo: A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, detentor de um número expressivo de espécies vegetais raras e endêmicas que possuem diversas funcionalidades, seja para fitoterapia, uso forrageiro ou culinário. A espécie *Cnidoscopus quercifolius* Pohl., (sin. *C. phyllacanthus* (Mull. Arg.) Pax & L. Hoffm.), (Euphorbiaceae) é popularmente conhecida como “favela” ou “faveleira”. Esta espécie apresenta inúmeras indicações na medicina tradicional, no entanto, pouco se sabe sobre a sua composição química e atividades biológicas. Sabendo do potencial farmacológico dessa espécie, esse estudo tem como perspectiva avaliar sua atividade antioxidante por diferentes métodos, assim como, realizar sua caracterização química por métodos cromatográficos. A atividade antioxidante será determinada pelos métodos de sequestro de radicais livres (DPPH e ABTS), pela capacidade de evitar a degradação da desoxirribose e pela capacidade quelante e redutora do ferro. A separação e caracterização dos compostos presentes serão avaliados por cromatografia líquida de alta eficiência. Os perfis fenólicos serão avaliados por interpolação da absorbância da amostra contra uma curva de calibração obtida com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL) e expressos como mg de EAG (equivalência de ácido gálico) por g de extrato. A partir dos resultados que são obtidos nesses estudos será possível avançar na área de produtos naturais, identificando possíveis substâncias úteis qualificadas na área de interface Química-Biológica.

Palavras-chave: *Cnidoscopus quercifolius*. faveleira. atividade antioxidante. perfil químico. Caatinga.

¹ Universidade Regional do Cariri, email:emanuely.goncalves@urca.br

² Universidade Regional do Cariri, email:joicenascimento2010@live.com

³ Universidade Regional do Cariri, email:biodeboraleite@yahoo.com.br

⁴ Universidade Regional do Cariri, email:marianapereiras295@gmail.com

⁵ Universidade Regional do Cariri, email:nataliakellygc@gmail.com

⁶ Universidade Regional do Cariri, email:johnatansmendes@outlook.com

⁷ Universidade Regional do Cariri, email:maria.i.silva@urca.br

⁸ Universidade Regional do Cariri, email:galberto.martins@gmail.com

1. Introdução

No Brasil, a utilização de plantas para fins medicinais é uma prática comum, principalmente entre as populações de baixo poder aquisitivo, devido ao seu fácil acesso (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010; LEITE, 2019). O bioma Caatinga apresenta uma diversidade de plantas utilizadas na medicina tradicional, no entanto, poucas dessas espécies foram investigadas quanto a sua composição química e atividades biológicas. Considerando o exposto, fica evidente a necessidade de desenvolver novos estudos que possam caracterizar essas espécies. A espécie *Cnidocolus quercifolius* Pohl., pertencente à família Euphorbiaceae (RIBEIRO et al., 2020a) é popularmente conhecida como “favela”, “faveleira” ou “urtiga-branca” (MELO; SALES, 2008). Seus extratos são empregados na medicina tradicional para o tratamento de dores de dente (MAGALHÃES et al., 2019; REGIS et al., 2021), ouvido, costas, disenteria, apendicite, gripe e tosse (ALVES et al., 2017), cauterização e coagulação de feridas (ALVES et al., 2017).

Apesar de ser amplamente utilizada na medicina tradicional em diversas comunidades do Nordeste brasileiro, ainda existem poucos estudos na área de química e farmacologia sobre suas propriedades terapêuticas (PEIXOTO SOBRINHO et al. 2012; OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2017). Dessa maneira, considerando a necessidade de encontrar novas substâncias com potencial antioxidante e a escassez de estudos químicos com a espécie *C. Quercifolius*, esse projeto tem como perspectiva realizar o perfil químico de extratos fixos e frações da espécie e avaliar sua atividade antioxidante por diferentes métodos.

2. Objetivo

Objetivo Geral

Realizar o perfil químico e avaliar a ação antioxidante dos extratos fixos e frações das cascas de *Cnidocolus quercifolius* por diferentes métodos.

Objetivos Específicos

- Preparar os extratos fixos das cascas de *C. Quercifolius* e obter frações por diferentes solventes orgânicos;
- Determinar o conteúdo total de fenólicos e flavonoides
- Identificar os compostos químicos presentes no extrato com uso de Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas;
- Determinar atividade antioxidante pelo método ABTS+;
- Determinar atividade antioxidante pelo método DPPH;
- Determinar a capacidade antioxidante relativa (CAR);
- Determinar a atividade quelante de íon Fe⁺² e poder redutor de íon Fe⁺³;
- Verificar a capacidade de impedimento da degradação oxidativa da 2-deoxyribose (2-dr).

3. Metodologia

3.1 Obtenção dos extratos fixos de *C. quercifolius*, preparação das frações e análise de extratos e frações por LC-MS

As cascas de *C. quercifolius* serão obtidas comercialmente no mercado central da cidade de Juazeiro do Norte, Sul do Estado do Ceará, Brasil (7° 12'16,6" Sul, 39° 19'01,0" Oeste). Os extratos serão obtidos de acordo com o método Soxhlet (American Oil Chemists' Society, 1995). As cascas secas do caule serão inicialmente trituradas em liquidificador industrial, e transferidas para um aparelho de Soxhlet, onde serão refluxadas durante 4h com hexano e, em seguida, com acetato de etila e metanol. As soluções serão filtradas e concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, com temperatura entre 50 - 70 °C. Posteriormente, os extratos serão fracionados por cromatografia em coluna (CC) usando-se sílica gel 60 como fase estacionária e os solventes Hexano (Hex), diclorometano (CH₂Cl₂), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) como fase móvel em ordem crescente de polaridade, para a obtenção das frações. Para a separação e caracterização dos compostos presentes no extrato e frações de *C. quercifolius* pretende-se utilizar a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas – CLAE (VÉKEY, 2001).

3.2 Determinação do teor de compostos fenólicos e flavonoides

A determinação de fenóis totais (FT) do extrato ocorrerá pelo método de Folin- Cicalteau descrito por Bonoli et al. (2004). O teor de FT será determinado por interpolação da absorbância da amostra contra uma curva de calibração obtida com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL) e expressos como mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por g de extrato. A quantificação dos flavonoides será realizada de acordo com a metodologia descrita por Kosalec, (2004) com adaptações. Cada extrato será preparado em uma concentração inicial de 20 µg/mL e diluída para 10, 5, 2 e 1 µg/mL. As amostras serão adicionadas 760 µL de metanol, 40 µL de acetato de potássio a 10% (CH₃CO₂K), 40 µL de cloreto de alumínio a 10% de 1.120 mL de água. As amostras serão incubadas à temperatura ambiente e as leituras serão realizadas em espectrofotômetro a 415 nm.

3.3 Ensaio da descoloração do radical ABTS^{•+}

Para a realização do ensaio será utilizado o cátion radical ABTS^{•+}, que apresenta coloração azul-esverdeada forte e pode ser formado pela oxidação do sal diamônio do ABTS (ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) com persulfato de potássio (K₂S₂O₈) (RE et al., 1999). Esta análise baseia-se na capacidade do composto antioxidante em reduzir o ABTS^{•+} pela doação de um elétron ao radical, causando a descoloração da solução e conseqüente diminuição da absorbância em 734 nm.

3.4 Atividade sequestradora de radical livre DPPH

A atividade sequestradora de radical livre será determinada pelo método fotocolorimétrico de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil), conforme (CHOI et al., 1994), com modificações, e ácido ascórbico como antioxidante padrão. A inibição do DPPH por antioxidantes é seguida pelo desaparecimento da sua absorção, a troca da cor é proporcional a concentração e potência do antioxidante.

3.5 Ensaio da capacidade antioxidante relativa (CAR)

Ensaio da capacidade antioxidante relativa (CAR), será determinada pelo método do reagente fosfomolibdênio, baseado na redução do Mo (VI) a

Mo(V) e subsequente formação do complexo verde de fosfato/Mo(V) em pH ácido e alta temperatura (PRIETO; AGUILAR, 1999). A formação do complexo será acompanhada por leituras de absorvância em comprimento ajustado para 695nm.

3.6 Ensaio de atividade quelante do íon Fe^{+2} e poder redutor de íon Fe^{+3}

A capacidade em quelar (Fe^{2+}) ou reduzir Fe^{3+} será determinada através do ensaio da o-fenantrolina. O ensaio baseia-se na reação de Fe^{2+} livre com 1,10 o-fenantrolina (ophe) para formar um complexo laranja-vermelho chamado com frequência ferroína (ph) $3Fe^{+2}$, o qual é medido por leituras de abs. a 510nm.

3.7 Ensaio da degradação oxidativa da 2-deoxyribose (2-dr)

A inibição da degradação da 2-DR *in vitro*, será determinada de acordo à metodologia de (GUTTERIDGE, 1981) baseada na quantificação do principal produto desta degradação, o malonildialdeído MDA, um composto de três carbonos formado a partir do ataque do radical hidroxil à 2-DR segundo. O MDA formado a partir da degradação da 2-DR é detectado e quantificado espectrofotometricamente em meio ácido através da adição de ácido tiobarbitúrico (TBA) que, depois de aquecimento, forma um cromóforo (MDA-TBA₂) com pico de absorção em 532 nm, a intensidade da cor é uma medida inversa da proteção contra a degradação oxidativa.

3.8 Análise de dados

As análises para todos os dados dos ensaios antioxidantes *in vitro*, serão realizadas em triplicata e os dados expressos como média ($n=3$) \pm desvio padrão (DP) usando a Análise de Variância (ANOVA) sucedida pelo teste de Tukey de comparações múltiplas para dados com distribuição normal e desvios padrões significativamente semelhantes, utilizando o programa GraphPad Prism 6. Os valores estatísticos considerados serão aqueles com valores de p inferiores a 0,05 ($p < 0.05$).

4. Resultados Esperados

A espécie *C. quercifolius* pode ser considerada importante para o desenvolvimento de trabalhos na área de química biológica. A partir do desenvolvimento desse estudo têm-se como perspectiva a identificação de substâncias ativas que possam agir como antioxidantes naturais e dessa forma contribuir para o desenvolvimento de novas pesquisas para elaboração de fármacos com esta atividade. Espera-se dessa forma, contribuir para o conhecimento científico de plantas do semiárido nordestino a partir dos achados dos ensaios antioxidantes, para a sua validação científica na prática medicinal.

5. Considerações finais

Dessa forma, com a realização desse trabalho espera-se oferecer contribuição ao conhecimento químico e biológico da espécie *C. quercifolius*, subsidiando o seu uso na prática popular e contribuindo para o uso racional e seguro desse recurso natural da Caatinga. A realização do projeto vai propiciar

a integração com foco no desenvolvimento científico e avançar na área de estudo com produtos naturais, identificando possíveis substâncias úteis para a farmacologia com efeitos positivos desde seu perfil químico à sua performance antioxidante.

6. Referências

ALVES, E. P., DE F, L. R., DE ALMEIDA, C. M., FREIRES, I. A., ROSALEN, P. L., RUIZ, A. L., ... & DE BRITO COSTA, E. M. Antimicrobial and Antiproliferative Activity of Bauhinia forficata Link and Cnidocolus quercifolius Extracts commonly Used in Folk Medicine. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, 18(8), 635-640, 2017.

CHOI, Jae Sue; LEE, Hee Jung; KANG, Sam Sik. Alaternin, cassiaside and rubrofusarin gentiobioside, radical scavenging principles from the seeds of Cassia tora on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. **Archives of Pharmacal Research**, v. 17, n. 6, p. 462-466, 1994.

GUTTERIDGE, J.M. Thiobarbituric acid-reactivity following iron-dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. **Febs Letters**, v. 128, n. 2, p. 343-346, 1981.

MELO, A. L. D., & SALES, M. F. D. O gênero Cnidocolus Pohl (Crotonoideae-Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 806-827, 2008.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. G. Estudo fitoquímico e avaliação do efeito citotóxico de Cnidocolus quercifolius Pohl (Euphorbiaceae) em células de melanoma humano. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde e Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, 2017.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

ROCHA, L. P. B., OLIVEIRA ALVES, J. V., DA SILVA AGUIAR, I. F., DA SILVA, F. H., DA SILVA, R. L., DE ARRUDA, L. G., ... & DA SILVA, M. V. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p.e44101018282-e44101018282, 2021.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 12, p. 31-42, 2010.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26(9-10): 1231-1237, 1999.