

ESTUDO FITOQUÍMICO E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Aniba parviflora*

PHYTOCHEMICAL STUDY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Aniba Parviflora*

A. C. F. de OLIVEIRA^{1*}, J. R. NOGUEIRA², G. F. da SILVA¹, E. S. LIMA³, S. D. JUNIOR.¹, P. M. ALBUQUERQUE¹

¹ Escola Superior de Tecnologia, Universidade do Estado do Amazonas, Curso de Engenharia Química

² Universidade do Estado do Amazonas, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia

³ Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas

E-mail: dressacfo@gmail.com

article info

Article history:

Received 20 May 2016

Accepted 3 January 2017

Available online 27 July 2017

PALAVRAS-CHAVE: Macacaporanga; Atividade Antioxidante; Fitoquímica.

KEYWORDS: Macacaporanga; Antioxidant Activity; Phytochemical.

RESUMO: *A Aniba parviflora (Lauraceae) é uma planta aromática encontrada na floresta amazônica que produz metabólitos secundários com diversas funções biológicas, tal como a atividade antioxidante. Neste trabalho se realizou um estudo químico de extratos obtidos desta espécie, a fim de identificar os metabólitos responsáveis pela atividade antioxidante. Os extratos de A. parviflora foram preparados por meio de partição líquido-líquido a partir dos extratos etanólicos brutos de folhas e galhos. Fez-se a triagem fitoquímica em todas as fases e extratos, e na sequência verificou-se a presença ou não de atividade antioxidante em todas as fases e extratos com a finalidade de associar a atividade antioxidante com seu metabolismo secundário.*

ABSTRACT: *The Aniba parviflora (Lauraceae) is an aromatic plant that is found in amazon forest and produces secondary metabolites that has a several functions biological, such as antioxidant activity. This work is held a extracts from chemical study obtained this kind, identify the end of metabolites activity responsible antioxidant. The extracts of A. parviflora were prepared by liquid-liquid partion half from gross extracts ethanolic leaves and branches. there was the study phytochemical in all phases and extracts, and then verified to presence or not of antioxidant activity in all phases and extracts to associate of purpose antioxidant activity your secondary metabolism.*

1. INTRODUÇÃO

As plantas aromáticas possuem diversas potências biológicas. Segundo Maia e Andrarde (2007) as espécies da família Lauraceae têm significativo potencial biológico, tendo em vista que já foram realizados diversos estudos que comprovaram tal potencial. Os estudos de Kubitzki e Renner (1982) afirmam que a *Aniba parviflora* é uma planta aromática que pertence à família Lauraceae. Segundo Alcântara et al. (2010) e Revilla (2002) ela é uma

árvore de médio porte, que pode ser encontrada ao redor de igarapés da floresta amazônica ocidental, distribuída nas localidades de Santarém, Faro e médio rio Tapajós. Pereira (2010) apresenta que o linalol é um dos componentes majoritários do óleo essencial da *A. parviflora* e possui várias propriedades biológicas descritas.

As plantas possuem o metabolismo primário, responsável pela síntese de substâncias importantes para a realização de suas funções vitais, e o metabolismo secundário, constituído dos metabólitos que possuem diversas funções e estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação da planta a seu meio. Segundo Pereira e Cardoso (2012) os metabólitos secundários são importantes na área da farmacologia devido a seus efeitos biológicos sobre a saúde da espécie humana, alguns possuindo atividade antioxidante. Antioxidantes são segundo Antunes e Canhos (1984) compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação. Razavi et al. (2008) diz que alguns antioxidantes são capazes de desempenhar papéis importantes na eliminação dos radicais livres e prevenção de lesões celulares. As plantas podem ser fontes de substâncias antioxidantes, já que possuem diversos compostos resultantes do seu metabolismo secundário. Ainda que os fenóis e flavonóides estejam associados com a maioria dos antioxidantes naturais, vários compostos estão sendo descobertos.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo realizar análises fitoquímicas e de atividade antioxidante em extratos de folhas e galhos de *Aniba parviflora*.

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta do Material Vegetal

As folhas e galhos de *A. parviflora* foram coletados na Fazenda Experimental Curauá-PEMATEC, localizada em Santarém-PA, no período chuvoso, em abril de 2012.

2.2 Obtenção dos Extratos

A obtenção do material vegetal foi feita utilizando a metodologia de Silva (2012), sendo o material vegetal (folhas e galhos finos), após seco e triturado foi macerado com álcool etílico de cereais 92,8° INPM em temperatura ambiente, sendo a extração realizada em três ciclos de 72 h, totalizando um período de nove dias, onde a cada 72h o material vegetal foi filtrado e um novo solvente adicionado a este. Por fim, os filtrados foram submetidos ao rotaevaporador, sob pressão reduzida a 40°C, até a retirada total do solvente. Uma fração do extrato bruto resultante foi dissolvido em etanol-água (1:3) e submetido à partição líquido-líquido, utilizando primeiramente o solvente hexano, seguido de diclorometano e acetato de etila. Após a partição obtiveram-se as fases solúveis em hexano, diclorometano e acetato de etila, as quais foram rotaevaporadas, e uma fração hidroalcoólica que foi liofilizada.

2.3. Ensaios Fitoquímicos

Para os testes fitoquímicos as soluções de cada fase e dos extratos etanólicos de folhas e galhos foram preparadas na concentração de 0,01 g/mL. Foi utilizada a metodologia descrita por Matos (1997).

2.3.1 Esteroides: colocou-se 2,0 mL da amostra em 3 tubos de ensaio, adicionou-se 2,0 mL de clorofórmio em dois deles, em seguida foi feita a filtração em funil com algodão coberto com Na₂SO₄, transferiu-se o filtrado para um tubo de ensaio completamente seco. Adicionou-se 1,0 mL de anidrido acético e agitou-se suavemente. Em seguida, adicionou-se cuidadosamente 3 gotas de H₂SO₄ concentrado e agitou-se novamente. Em caso positivo ocorre mudança (de azul evanescente, ao verde persistente).

2.3.2 Flavonoides: transferiu-se para dois tubos de ensaio, 2,0 mL da mesma amostra usada no teste anterior e acrescentou-se aproximadamente 0,5 cm de magnésio em fita, e 2,0 mL de HCl concentrado e aguardou-se efervescência. Em caso positivo a solução obtém uma coloração rósea.

2.3.3 Fenóis e Taninos: Colocou-se 2,0 mL da amostra preparada e adicionou-se três gotas de cloreto férrico (FeCl₃) em dois dos tubos de ensaio e observou-se a reação. Observou-se a coloração após a reação. Após a reação em caso positivo há uma coloração inicial entre o azul e o vermelho, é indicativo da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo. Caso haja taninos hidrolisáveis há precipitado escuro de tonalidade azul. A presença de taninos catéquicos é observada caso a solução fique verde.

2.3.4 Saponinas: Em 2,0 mL da amostra em dois tubos de ensaio adicionou-se 2,0 mL de clorofórmio e 5,0 mL de água destilada. Em seguida a solução foi agitada energeticamente aproximadamente 15 segundos e observou-se se houve a formação de espuma, indicativa da presença de saponinas.

2.3.5 Alcaloides: Colocou-se 2,0 mL de amostra em tubos de ensaio, adicionou-se 15 gotas de NaOH 1% e adicionou-se 2,0 mL de água e 2,0 mL de clorofórmio. Separou-se a fração clorofórmica e adicionou-se 15 gotas de HCl 1% e 2,0 mL de água. Após separar a fração aquosa, adicionaram-se 3 gotas de reagente de Dragendorff e verificou-se a formação de precipitado ou turvação, indicativo da presença de alcaloides.

2.4 Atividade Antioxidante

O ácido gálico foi usado como padrão antioxidante. Para o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) utilizou-se o método descrito por Molyneux et al. (2004) adaptado. Foram pesados 2 mg de DPPH e dissolvidos em 12 mL de etanol absoluto. Para o teste, foram adicionados 30 µL das diluições das amostras, nas concentrações de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 e 1,5625 µg/mL, e 270 µL da solução de DPPH. A placa permaneceu incubada ao abrigo da luz por 30 min e após esse período, realizou-se a segunda leitura da absorbância (A₂) e mensurou-se a redução do radical livre DPPH a 492 nm no leitor de microplaca. Como controle negativo utilizou-se 30 µL de etanol e 270 µL de solução de DPPH. Os resultados foram expressos em porcentagem de captura de DPPH, calculado segundo a Equação 1.

$$\text{Atividade}(\%) = 100 - \frac{(A_2 - A_1 \text{ amostra})}{(A_2 - A_1 \text{ controle})} \quad (1)$$

Para o ABTS utilizou-se o método descrito por Re et al. (1999) com adaptações. 10 mg de ABTS foram dissolvidos em 5 mL de água ultrapura, sendo adicionados 5,0mL de uma solução de persulfato de potássio a 5 mM. Depois de misturada e homogeneizada, a solução foi mantida num frasco âmbar pelo mínimo de 16 h, protegido da luz. Após isso, é realizada uma diluição com 10 mL de etanol 96° ou até que a absorbância fique em torno de 1,0. Para o teste foram adicionados na placa 30 µL das amostras nas concentrações de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 e 1,5625 µg/mL, e 270 µL da solução de ABTS. Depois da incubação foi realizada leitura em 492nm. Como controle negativo utilizou-se 30 µL de etanol e 270 µL de solução de ABTS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes fitoquímicos qualitativos são rápidos e de baixo custo e foram utilizados para conhecer as classes químicas dos metabólitos de *A. parviflora* presentes nos extratos etanólicos e suas fases. Os resultados estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1– Testes fitoquímicos em extratos e fases de *Aniba parviflora*.

Amostras	Esteroides	Flavonóides	Taninos	Saponina	Alcaloides
EEF	-	+	+	-	-
EEG	+	-	+	+	-
FHXF	+	-	-	+	-
FHXG	-	-	-	+	+
FDCMF	+	-	-	-	-
FDCMG	-	-	-	-	+
FACETF	-	+	+	-	-
FACETG	+	-	+	-	+
FHAF	+	+	+	-	-
FHAG	-	-	+	+	+

EEF=Extrato etanólico de folhas, EEG=Extrato etanólico de galhos, FHXF=Fase hexânica de folhas, FHXG=Fase hexânica de galhos, FDCMF=Fase diclorometano de folhas, FDCMG=Fase diclorometano de galhos, FACETF=Fase acetato de etila de folhas, FACETG= Fase acetato de etila de galhos, FHAF=Fase hidroalcoólica de folhas, FHAG=Fase hidroalcoólica de galhos.

A partir da triagem fitoquímica verificou-se a presença de taninos condensados nos extratos etanólicos de folhas e galhos, nas fases acetato de etila e também na hidroalcoólica já que a coloração da solução após a reação foi verde. No extrato etanólicodas folhas, assim como nas fases acetato de etila e a fase hidroalcoólica também verificou-se a presença de flavonoides. No extrato etanólico dos galhos identificaram-se além dos taninos, saponinas e alcaloides, pois após a reação houve formação de espuma e precipitado com a coloração vermelho tijolo, respectivamente. Todos os resultados foram confirmados segundo Barbosa (2001) e Matos (1997).

Os resultados de atividade antioxidante das fases particionadas de folhas e galhos de *A. parviflora* estão apresentados na Tabela 2. Segundo Borges et al. (2011) o método DPPH consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila, já o método ABTS mede a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico). O método DPPH é muito utilizado para se determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas como: compostos fenólicos, fenilpropanóides, fenólicos totais, flavonóis, cumarinas carotenoides, entre outros, já com o método ABTS é possível medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica.

Tabela 2 – Atividade antioxidante das fases particionadas de *Aniba parviflora*.

Amostras	Inibição DPPH IC ₅₀ ± DP (µg/mL)	Inibição ABTS IC ₅₀ ± DP (µg/mL)
FHXF	>100	>100
FHXG	>100	>100
FDCMF	>100	>100
FDCMG	>100	>100
FACETF	33,16 ± 4,12	68,53
FACETG	31,31 ± 4,15	>100
FHAF	23,79 ± 4,17	36,45 ± 1,6
FHAG	26,70 ± 4,19	26,22 ± 0,03
Ácido gálico	11,92 ± 2,13	6,61 ± 0,21

FHXF = Fase hexânica de folhas, FHXG = Fase hexânica de galhos, FDCMF = Fase diclorometano de folhas, FDCMG = Fase diclorometano de galhos, FACETF = Fase acetato de etila de folhas, FACETG = Fase acetato de etila de galhos, FHAF = Fase hidroalcoólica de folhas, FHAG = Fase hidroalcoólica de galhos.

Verifica-se na Tabela 2 que os extratos FHAF, FHAG, FACETF, e FACETG apresentaram alta atividade antioxidante pelo ensaio DPPH com um valor de IC₅₀ próxima à do ácido gálico (padrão antioxidante). Para o teste com ABTS⁺ apenas FHAF e FHAG demonstraram atividade significativa. Segundo Pereira e Cardoso (2012), a atividade antioxidante possivelmente está associada à presença dos taninos, que são compostos fenólicos solúveis em água, e flavonóides, que são substâncias contendo 15 átomos de carbono, ambos conhecidos por terem propriedade antioxidante.

4. CONCLUSÕES

A partir dos testes realizados, verificou-se que as fases hidroalcoólica e acetato de etila de folhas da *Aniba parviflora* apresentam atividade antioxidante significativa, com moléculas capazes de sequestrar radicais livres. Verifica-se que a atividade antioxidante dos extratos se dá devido à presença de taninos condensados e flavonoides. Assim, esta espécie mostra-se promissora como fonte de antioxidantes para uso em alimentos, na indústria farmacêutica e cosmética.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES e à FAPEAM pelo suporte financeiro, e à EST/UEA pela infraestrutura concedida para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K. DE L.; JUNIOR, V. F. DA V. Composição química de óleos essenciais de espécies de Aniba e Licaria e suas atividades antioxidante e antiagreganteplaquetária. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 141–145, 2010.
- ANTUNES, A. J.; CANHOS, V. **Aditivos em Alimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 1984.
- BARBOSA, W. L. R. et al. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém - PA, 2001.
- BORGES, L. L.; LUCIO, T. C.; GIL, E. S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia, vol.7, N.12, p.6-8, 2011
- KUBITZKI, K.; RENNER, S. Lauracea I (Aniba and Aiouea). **Flora Neotropica**, v. 31, p. 1-124. 1982.
- MAIA, S. G. S.; ANDRADE, E. H.; Plant sources of Amazon rosewood oil. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1906-1910. 2007.
- MATOS, F.J.A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3 ed. Fortaleza, p: 150, 2009.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.26, p. 211-216, 2004.
- PEREIRA, I. C. **Fitoquímica, biometria e germinação de Aniba fragans (macacaporanga) cultivadas no município de Santarém**. Programa de pós graduação em recursos naturais da Amazônia. Instituições: Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA e Universidade de Campinas – UNICAMP. 2010.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4. 2012.
- RAZAVI, S. M.; NAZEMIYEH, H.; HAJIBOLAND, R.; KUMARASAMY, Y.; DELAZAR, A.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. Coumarins from the aerial parts of Prangosuloptera (Apiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 1-5. 2008.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorization assay. **Free Radical Biology Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.
- REVILLA, J. **Plantas Úteis da Bacia Amazônica**. Manaus: INPA, 2002. v.1.
- SILVA, G. F. **Estudo do potencial biotecnológico de Anibacanelilla (H.B.K) Mez para obtenção de cosméticos**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais), Escola Superior de Ciências da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2012.