

**Evento:** XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DA CASCA DA SCHINUS POLYGAMUS<sup>1</sup>**  
**PHYTOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT EVALUATION OF THE EXTRACTS OF SCHINUS POLYGAMUS BARK**

**João Vinícius Müller Kaufmann<sup>2</sup>, Lucas Machado Sulzbacher<sup>3</sup>, Maicon Machado Sulzbacher<sup>4</sup>, Gabriela Elisa Hirsch<sup>5</sup>, Anagilda Bacarin Gobo<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Departamento de Ciências da Vida - UNIJUI.

<sup>2</sup> Aluno do curso de graduação em Farmácia da UNIJUI, bolsista PIBIC/CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. joaovmkaufmann@gmail.com

<sup>3</sup> Aluno do curso de graduação em Enfermagem da UNIJUI, bolsista PROBIC/FAPERGS, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. lucas.sulzbacher@hotmail.com

<sup>4</sup> Aluno do curso de mestrado em Atenção Integral à Saúde - UNIJUI/UNICRUZ, bolsista CAPES, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. maiconsulzbacher@hotmail.com

<sup>5</sup> Aluna pós-doutoranda em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ, bolsista CAPES, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. ehgabis@yahoo.com.br

<sup>6</sup> Professora Mestre do Departamento de Ciências da Vida (DCVida) - UNIJUI. agobo@unijui.edu.br

<sup>7</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida) - UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Orientador. thiago.heck@unijui.edu.br

## **INTRODUÇÃO**

*Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera é uma planta pertencente à família Anacardiaceae, popularmente conhecida como Assobiadeira, Aroeira-assobiadeira ou Aroeira, uma planta nativa de regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, presente principalmente na Argentina, Uruguai e no sul do Brasil. De acordo com a medicina popular, o uso desta planta na forma de infusão está relacionado com suas funções analgésicas, anti-inflamatórias e antissépticas, usada na limpeza de ferimentos (ERAZO, 2006; GEHRKE, 2012). Seu óleo essencial é constituído predominantemente de monoterpenos, limoneno e  $\beta$ -pineno, onde o mesmo apresentou ação antimicrobiana. Já dos extratos provenientes das partes aéreas da planta foram extraídos metabolitos como  $\beta$ -sitoesterol, ácido chiquímico e quercetina, os quais apresentaram ação antipirética, anti-inflamatória e analgésica (GONZALEZ, 2004; DAMASCENO 2010). O gênero *Schinus* apresenta cerca 600 espécies e os estudos de seus óleos essenciais e extratos demonstraram ações antifúngica, antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória. Ao avaliar a sua constituição química, foi encontrado substâncias da classe dos fenóis, flavonoides, terpenos e saponinas (ONO, 2008; EL-MASSARY, 2009; JOHANN, 2010). Tendo em vista que a *S. polygamus* é utilizada na medicina popular e que estudos sobre as suas características fitoquímicas e ações biológicas são escassos, este estudo tem o objetivo de avaliar diferentes extratos obtidos da casca

**Evento:** XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

da *S. polygamus* quanto a presença de compostos fenólicos, teor de fenóis totais e potencial antioxidante, a fim de associar sua possível ação terapêutica no combate a doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

### **METODOLOGIA**

Para a obtenção do extrato da casca da *S. polygamus* foram coletadas cascas frescas no Instituto Regional de Desenvolvimento Rural da UNIJUI (IRDER), RS, Brasil, no dia 11 de fevereiro de 2019, no período da manhã, onde as temperaturas mínimas e máximas encontravam-se em torno de 20 a 30° C e a umidade relativa do ar em torno de 85% (INMET, 2019). As mesmas foram levadas ao Herbário Rogério Bueno (UNIJUI) para identificação botânica, sendo confirmada e sua exsicata registrada sob o N° 6157. O peso das amostras somou um total de 286,89 gramas, e estas foram limpas e submetidas ao processo de secagem em estufa com temperatura controlada de 36 °C durante 24 horas. A seguir, foram trituradas com liquidificador e submetidas ao processo extrativo por maceração com partição sólido-líquido com diferentes solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade: Hexano, Acetato de etila e Metanol. Cada solvente ficou em contato com a amostra por 21 dias e a cada 7 dias a solução obtida era filtrada em papel filtro e em seguida o solvente era eliminado em evaporador rotatório sob pressão reduzida com temperatura controlada de 60° C. Ao final do processo extrativo se obteve um total de 9 extratos brutos, sendo três de cada solvente (SP - HEX 1, 2 e 3, SP - ACOET 1, 2 e 3, SP - MET 1, 2 e 3).

A análise qualitativa da presença de compostos bioativos nos extratos foi efetuada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando cromatofolhas de alumínio como suporte e sílica gel 60 F254 (Merck) como adsorvente. Os extratos foram aplicados nas placas com auxílio de um capilar de vidro, e então a placa foi eluída em cuba cromatográfica utilizando-se como eluente/fase móvel uma solução Hexano e Acetato de etila (30:70), e Hexano, Acetato de etila e Ácido Fórmico (20:70:10) para aquelas que não apresentaram resultados visíveis usando a primeira solução. Após a corrida na cuba, as cromatofolhas foram borrifadas com o reagente revelador NP-PEG, seguido de tratamento térmico em placa aquecedora a 50°C para revelação (WAGNER; BLADT, 1996). Com base nos resultados da CCD foram escolhidas frações para análise do teor de Fenóis Totais (FT) com o reagente de Folin-Ciocalteu (SOUSA et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2011) e atividade antioxidante pela técnica do sequestro do radical livre sintético DPPH (CORRÊA et al., 2019). Soluções estoque dos extratos na concentração de 1000 µg/mL foram previamente preparadas e as concentrações de 10, 100, 200, 300, 500 e 1000 µg foram testadas. A atividade antioxidante dos extratos foi comparada ao padrão de Ácido Gálico nas mesmas concentrações das amostras, devido ao seu conhecido potencial antioxidante. Os resultados dos FT foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por mL de extrato. A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada utilizando o cálculo a seguinte fórmula:  $AA\% = [(Ab - Aa) / Ab] \times 100$ , onde, **Ab** foi a absorbância do branco e **Aa** foi a absorbância da amostra com DPPH testada e os resultados foram expressos em porcentagem de remoção do radical DPPH (AA%). Para a avaliação dos resultados do teor de FT entre as diferentes concentrações testadas foi realizado ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey e teste t pareado para avaliação entre os extratos obtidos com diferentes solventes, considerando  $P \leq 0,05$  como significativo. Para avaliação estatística e cálculo da concentração capaz de remover 50% do

**Evento:** XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

radical DPPH (EC50), utilizou-se o programa GraphPad 7.0.

### RESULTADOS e DISCUSSÃO

Ao avaliar os compostos bioativos presentes nos diferentes extratos por CCD, nota-se a presença marcante de compostos fenólicos nos extratos de acetato de etila e metanol, e ausência dos mesmos nos dois primeiros extratos do solvente Hexano (Figura 1). Como pode ser visto na Figura 1, nota-se que a revelação com NP-PEG apresentou bandas de cor esverdeadas no extrato SP - HEX 3, um amarelo intenso seguido de verde e um azul claro fraco nos extratos SP - ACOET 1 e 2, e o SP - MET 3 apresentou coloração esverdeada.

**Figura 1** - Resultados da CCD para os diferentes extratos da casca da *Schinus polygamus*.

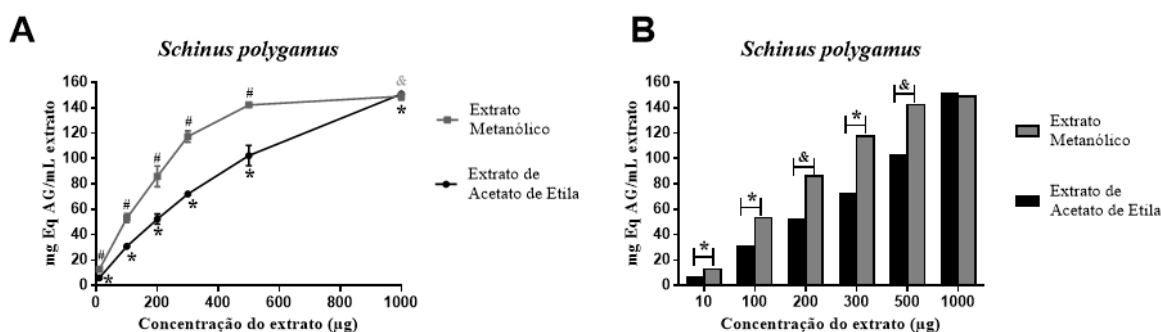


O surgimento de coloração laranja-amarelado ou amarelo-esverdeado é sugestivo da presença de substâncias como quercetina, mircetina e campferol. Já somente a coloração laranja é sugestivo da presença de leutonina e de azul de ácidos carboxílicos fenólicos e cumarinas (WAGNER; BLADT, 1996). Estudos vem demonstrando que a quercetina possui um excelente poder antioxidante in vitro, sendo o flavonoide de maior poder sequestrador de espécies reativas de oxigênio (ERO). Esta substância já teve sua presença confirmada em extrato metanólico da *S. polygamus* (ERAZO, 2006; HAUBER, 2008). Ao comprarmos a presença de compostos bioativos presentes em extratos da espécie *Schinus lenticifolius*, em estudo anterior realizado por nosso grupo de pesquisa (CORRÊA, 2019), a mesma apresentou ausência de compostos fenólicos no extrato hexânico, e a presença dessas substâncias nos extratos de acetato de etila e metanol, como o encontrado aqui para *S. polygamus*.

Uma vez detectada a presença de compostos fenólicos nos extratos da casca da *S. polygamus*, foi avaliado o teor de FT nas frações onde a presença deles foi positiva, em diversas concentrações (10, 100, 200, 300, 500 e 1000 µg), através de CCD: SP - ACOET e SP - MET. Ao avaliar o teor de FT nos diferentes extratos (Figura 2), nota-se que no extrato metanólico, a partir da dose de 500

**Evento:** XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

µg, não houve mais aumento no teor de FT (Figura 2A), o que sugere que tenha havido uma saturação da solução extratora (metanol) nesse tipo de extrato, o que não ocorreu com o acetato de etila. Ainda, o extrato metanólico obteve uma maior concentração desses compostos em comparação com o extrato de acetato de etila, o que demonstra uma maior capacidade extratora destes de FT pelo metanol (Figura 2b). Destaca-se também que, A confirmação de substâncias fenólicas em diferentes extratos da *S. polygamus* abre novas possibilidades de estudos para esta espécie, principalmente na área da saúde, visto que alguns estudos relacionam essas estruturas com atividades antioxidantes e quelantes de metais (SOUSA, 2007; HAUBER, 2008; PEREIRA; CARDOSO, 2012), sugerindo que eles poderiam ser usados no tratamento ou prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.



**Figura 2.** Teor de Fenólicos Totais em diferentes concentrações do extrato de Acetato de Etila e Metanol obtidos da casca da *Schinus polygamus*. A) ANOVA de uma via seguido de pós-teste de Tukey, A) \* diferença entre todas as doses ( $p < 0.0001$ ), # Diferença entre todas as doses ( $p < 0.0001$ ); & 1000 vs 100, 200, 300 µg ( $p < 0.0001$ ); B) Teste t pareado \*  $p < 0.01$ , &  $p < 0.05$

A avaliação da ação antioxidante mostrou que o extrato metanólico apresentou um valor de EC50 de 18,6 µg de extrato, enquanto o extrato de acetato de etila apresentou valor de EC50 de 24,3 µg, demonstrando que o extrato metanólico possui uma maior capacidade de inibição do radical DPPH, o que provavelmente está relacionado ao maior de FT no mesmo.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato SP - MET obteve melhores resultados quando comparado com o SP - ACOET, considerando o maior rendimento extrativo, maior teor de FT e maior capacidade de inibição do radical DPPH. Entretanto, na avaliação por CCD, o extrato de acetato de etila apresentou uma maior variedade de compostos fenólicos visíveis. Deste modo, mais estudos devem ser feitos para aprimorar o conhecimento sobre os compostos bioativos desta espécie e seu possível uso na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

**Palavras-chave:** planta; metabólito; fenóis; antioxidante.

**Keywords:** plant; metabolite; phenols; antioxidant

### REFERENCIAS:

CORRÊA, Jéssyca Bandeira et al. Characterization of *Schinus lentiscifolius* Marchand

**Evento:** XXVII Seminário de Iniciação Científica - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

(Anacardiaceae) Bark Extract and Its Effects on Lymphocyte Oxidative Stress and Heat Shock Response. **Chemistry & Biodiversity**, v. 16, n. 1, p. e1800303, 2019.

DAMASCENO, Flaviana C.; NICOLLI, Karine P.; CARAMÃO, Elina Bastos; et al. Changes in the volatile organic profile of *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) and *Baccharis spicata* (Asteraceae) induced by galling psyllids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 3, p. 556-563, 2010.

EL-MASSRY, Khaled F.; EL-GHORAB, Ahmed H.; SHAABAN, Hamdy A.; et al. Chemical Compositions and Antioxidant/Antimicrobial Activities of Various Samples Prepared from *Schinus terebinthifolius* Leaves Cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5265-5270, 2009.

ERAZO, Silvia; DELPORTE, Carla; NEGRETE, Rosa; et al. Constituents and biological activities of *Schinus polygamus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 3, p. 395-400, 2006.

GEHRKE, I.T.S.; **Estudo fitoquímico e biológico das espécies *Schinus lentiscifolius*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* e *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) do RS.** 2012. 182 p. Tese (Doutorado em Química). Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

GONZÁLEZ, Silvia; E. GUERRA, Pedro; BOTTARO, Hugo; et al. Aromatic plants from Patagonia. Part I. Antimicrobial activity and chemical composition of *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 19, p. 36-39, 2004.

HAUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**. v.19, n.1, p. 97-108, jan./mar. 2008.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: . Acesso em: 16 jun. 2019.

JOHANN, Susana; SÁ, Nívea P; LIMA, Luciana ARS; et al. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 9, p. 30, 2010.

NASCIMENTO, J.C. et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

ONO, Masateru; YAMASHITA, Masakazu; MORI, Kaori; et al. Sesquiterpenoids, Triterpenoids, and Flavonoids from the Fruits of *Schinus molle*. **Food Science and Technology Research**, v. 14, n. 5, p. 499-508, 2008.

PEREIRA, R.J; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

WAGNER, H. BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas.** 2ª Edição. Berlin: Springer, 1996. 384 p.