AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Bryophyllum pinnatum*

Taciana Oliveira de SOUSA (1); Romézio Alves Carvalho da SILVA (2); Mirna Sales Loiola ROSA (3)

- (1) Instituto Federal do Piauí, Teresina PI, e-mail: tacisousa@yahoo.com.br
- (2) Instituto Federal do Piauí, Teresina PI, e-mail: romezioh@yahoo.com.br
- (3) Instituto Federal do Piauí, Teresina PI, e-mail: mirnasales01@hotmail.com

RESUMO

O interesse pela descoberta de novos antioxidantes a partir de fontes naturais vem crescendo nos últimos anos, principalmente por prevenir a deteriorização de alimentos e minimizar o dano oxidativo às células vivas. Os métodos mais utilizados para determinar a atividade antioxidante *in vitro* são métodos varredores de radicais, a exemplo do DPPH. A planta *Bryophyllum pinnatum* pertence à família Crassulaceae, é conhecida popularmente como coirama, folha-da-fortuna, saião e erva-da-costa. Essa planta é usada no tratamento de diversas doenças. Diante disso fez-se necessário o estudo da atividade antioxidante da presente planta. As folhas de *B. pinnatum* foram colhidas no CCA da UFPI, foi então preparado o extrato etanólico e em seguida foi submetida à avaliação da atividade antioxidante pelo método do seqüestro do radical DPPH. Obteve-se uma porcentagem de atividade antioxidante inferior a 50 % em todas as concentrações testadas comparadas aos padrões. Diante de tal resultado, torna-se necessário a realização de testes antioxidantes frente a outros radicais para melhor avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico da *B. pinnatum*.

Palavras-chave: Bryophyllum pinnatum, DPPH, antioxidante

1 INTRODUCÃO

O Piauí é um estado com uma grande biodiversidade. Além disso, tem-se outra grande riqueza, que é o conhecimento popular do uso de plantas medicinais, obtido pelo uso tradicional de plantas como medicamentos pela nossa população. Maciel et al. (2002) mostraram que ainda hoje é muito comum nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais serem comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais, onde são consumidos sem comprovação de sua ação farmacológica.

Diante disso, fez-se necessário o estudo da planta *Bryophyllum pinnatum* quanto a sua possível atividade antioxidante. Esta espécie é bastante utilizada para tratamento de diversas doenças, mas ainda há ainda pouca informação sobre a sua possível atividade antioxidante.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O uso de plantas medicinais e seus extratos vêm crescendo na assistência à saúde em função de sua fácil aceitabilidade, disponibilidade e baixo custo. Uma parte considerável da população mundial utiliza a medicina popular para seus cuidados primários em relação à saúde, e se presume que a maior parte dessa terapia tradicional envolve o uso de extratos de plantas ou seus princípios ativos (VARANDA, 2006; BALUNAS et al.; 2006)

A planta *Bryophyllum pinnatum* (Figura 1) pertence à família *Crassulaceae*, e tem como sinônimo o nome ciêntífico *Kalanchoe pinnata* e *Bryophyllum Calycinum* Salisb. É conhecida popularmente como coirama, folha-da-fortuna, saião e erva-da-costa. Esta planta é muito encontrada em países com clima tropical, nativa da África e amplamente disseminada no Brasil apresentando facilidade de adaptação climática e pelo seu caráter invasor. A *B. pinnatum* é muito utilizada em medicina popular em alguns países, como Brasil, Índia, África, Irlanda, para o tratamento de diversas doenças (FORTE et al.; 2007).



Figura 1 – Bryophyllum pinnatum

A *Bryophyllum pinnatum* é usado popularmente como analgésica, antialérgica, antiartrítica, antibacteriana, antidiabética, antifúngica, antiinflamatória, antilítica, anti-séptica, cicatrizante, diurética, hemostática, emoliente, imunosupressiva, imunoestimulante, tônica pulmonar, calmante, anti-leishmaniose, antipirético; atividade antimicrobiana de gânglios e infecções de vias urinárias e genitais, antinociceptivo, atividade tocolítica, e usado ainda contra a tosse e tratamento de gastrite (FORTE et al., 2007; ARMOND, 2007; SOARES et al., 2009).

Esta planta é uma erva suculenta, perene, glabra, que pode chegar de 1 a 1,5 metros de altura. Possui folhas opostas, pecioladas, simples, crenadas e muito carnudas. Tem a propriedade de multiplicarem-se pêlos ângulos das crenas e nervuras, mesmo se a folha estiver dilacerada, presa a uma parede, a uma árvore, ou ao um sítio qualquer sombreado. As folhas são peitorais, emolientes e refrescantes topicamente (BRAGA, 1951). A *B. pinnatum* apresenta propagação vegetativa (pelas folhas), sendo também de fácil propagação em qualquer solo (SOARES et al., 2009).

Estudos realizados mostraram a presença de heterosídeos, fenóis, flavonas, flavonóis, xantonas, esteróides, triterpenóides. Além desses constituintes químicos há também aminoácidos a exemplo da arginina, na qual é anticancerígena, a glicina que diminui a quantidade de ácido úrico no organismo e a histidina. Há ainda os bufadienolídeos, presente nas folhas, que promovem uma atividade anti-tumoral (COUTINHO et al., 2001; RIBEIRO, 2008)

A utilização de substâncias com capacidade antioxidante pode ser de grande relevância na prevenção e terapêutica de doenças relacionadas com o aumento do estresse oxidativo. Embora o uso terapêutico de plantas ser tão antigo quanto a própria espécie humana, o conhecimento de suas propriedades antioxidantes é relativamente recente. Verifica-se que nas últimas décadas ocorreu um enorme crescimento da investigação científica nessa área, envolvendo o efeito de extratos brutos, de frações purificadas ou de componentes isolados e compostos fenólicos que, em muitos estudos, têm demonstrado essa atividade (TEPE & SOKMEN, 2007; ARGOLO et al., 2004; ZHENG & WANG, 2001; AHMAD et al., 2005; KHLEBNIKOV et al., 2007; MASUDA et al., 1999).

Atualmente existe uma série de métodos *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais, tendo em vista a grande variedade de compostos com propriedades antioxidantes, além da complexidade quanto ao seu modo de combater os distintos radicais livres. Dentre os métodos descritos, os ensaios de captura de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) que utiliza espécies radicalares estáveis e a detecção do ponto final se realiza geralmente por absorbância, sendo muito empregados na determinação da atividade antioxidante de alimentos, bebidas, plasma, folhas e frutos (LU & FOO, 2000).

O modelo para avaliação da atividade antioxidante utilizando DPPH• é baseado na capacidade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil em reagir com substâncias doadoras de H (DPPH• + $[AH]_n \rightarrow DPPH-H + [A•]_n$), incluindo compostos fenólicos (ROGINSKY & LISSI, 2005), sendo um método amplamente

utilizado e relativamente rápido quando comparado a outras técnicas (SÁNCHEZ-MORENO et al., 1998; MENSOR et al., 2001).

Diante disso, fez-se necessário o estudo da planta *Bryophyllum pinnatum* quanto a sua possível atividade antioxidante pelo método DPPH. Esta espécie é bastante utilizada para tratamento de diversas doenças, mas ainda há ainda pouca informação sobre sua atividade antioxidante.

3 METODOLOGIA

3.1 Preparação do extrato etanólico:

As folhas de *Bryophyllum pinnatum* foram colhidas no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, em seguida foram secas em estufa e moídas. O extrato etanólico foi preparado com 129 g de folhas em aparelhagem *sohxle*t por 12 horas, resultando em 31, 2417 g de extrato etanólico.

3.2 Atividade antioxidante:

Foi preparada uma solução estoque (250 mg/L) do extrato etanólico e dos padrões, e realizadas diluições para obtenção de concentrações finais de 200, 150, 100, 50 e 25 mg/L. As medidas das absorbâncias das misturas reacionais (0,3 mL da solução da amostra ou do controle positivo e 2,7 mL da solução estoque de DPPH na concentração de 40 mg/L), foram feitas a 517 nm para o extrato e controles no tempo 30 minutos. A mistura de etanol (2,7 mL) e extrato (0,3 mL) foi utilizada como branco.

Os valores de absorbância nas concentrações de 250, 200, 150, 100, 50 e 25 mg/L, no tempo de 30 min foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA%), determinados pela seguinte equação (TEPE & SOKMEN, 2007; HUANG et al., 2003).

$$%AA = \{ [Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100 \} / Abs_{controle}$$
 [Eq. 01]

onde, Abs_{controle} é a absorbância inicial da solução etanólica de DPPH e Abs_{amostra} é a absorbância da mistura reacional (DPPH + amostra).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem de atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* pelo método DPPH pode ser observado no gráfico da Figura 2.

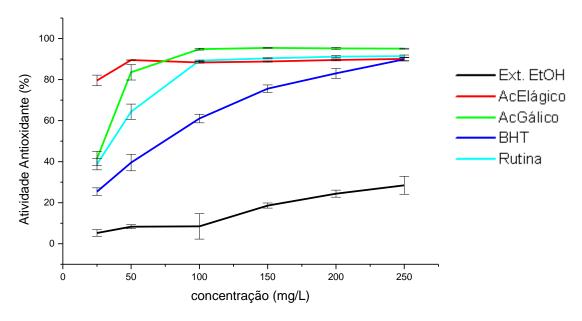


Figura 2 – Atividade antioxidante (%) de B.pinnatum

Observa-se no gráfico que o extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum*, apresentou valores de atividade antioxidante inferiores a 50% em todas as concentrações testadas. Nota-se ainda que o percentual de inibição na maior concentração testada (250 mg/L) para o extrato é de cerca de 28 %. Comparando este valor com o percentual encontrado para os padrões observa-se que há similaridade com o BHT (cerca de 22 %) na menor concentração (25 mg/L) e que há uma diferença significativa quando comparado com o padrão ácido gálico que apresenta cerca de 80 % de inibição na menor concentração testada (250 mg/L).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Obteve-se uma baixa atividade antioxidante para o extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum*, mesmo apresentando compostos fenólicos como o eugenol e canferol. A baixa atividade antioxidante comparada com os padrões não é determinante porque está havendo comparação de um extrato que apresenta mistura de substâncias com o padrão que é puro.

Diante de tal resultado, torna-se necessário a realização de testes antioxidantes frente a outros radicais para melhor avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico da *B. pinnatum*.

REFERÊNCIAS

VARANDA, E.A. Atividade **mutagênica de plantas medicinais**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 27, p. 1-7, 2006.

BALUNAS, M. J.; JONES, W. P.; CHIN, Y.; MI, Q.; FARNSWORTH, N. R.; SOEJARTO, D. D.; CORDELL, G. A.; SWANSON, S. M.; PEZZUTO, J. M.; CHAI, H.; KINGHORN, A. D. **Relationships between inhibitory activity against a cancer cell line panel, profiles of plants collected, and compound classes isolated in an anticancer drug discovery project**. Chemistry & Biodiversity, v. 3, p. 897 – 915, 2006.

FORTE, T. S.; DIOGO, A. N. M.; MARTINS, R. C. A.; Controle **de qualidade:** *kalanchoe pinnata* (lam.) **pers**.; Anais da 59ª Reunião Anual da SBPC, 2007.

ARMOND. C.; Indicadores químicos, crescimento bioeletrografias de plantas de jambu (*Acmella oleracea* L.), capim-limão (*Cymbopongon citratus* (DC) Stapf) e folha-da-fortuna (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Okem) submetidos a tratamento homeopático. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.

SOARES, M. V.; CHACON, S. F.; NODA, S. N.; NODA, H.; MENDONÇA, M. A. F.; HIDALGO, A. F.; MENDONÇA, M. S. S.; SILVA, A. L.; RIBEIRO, W. G.; BRAGA, M. D. S.; Sistema de produção e conservação tradicional das plantas medicinais por agricultores familiares nas localidades de nova aliança e novo paraíso no município de Benjamin Constant-AM. Disponível em < http://www.cnpat.embrapa.br/sbsp/anais/Trab_Format_PDF/179.pdf> acessada em Setembro de 2009.

BRAGA, R.; Plantas do Ceará. Revista do Instituto do Ceará, p. 229, 1951.

COUTINHO, D. F.; AMARAL, F. M. M.; GOULART, M. M.; RIBEIRO, M. N. S.; **Estudo fitoquímico comparativo das folhas de** *Bryophyllum Calycinum* **Salisb., em diferentes períodos de coleta**. Revista do Hospital Universitário/UFMA, v 2. 30-34. 2001.

RIBEIRO, C. M.; Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

TEPE, B.; SOKMEN, A. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic Tanacetum subspecies from Turkish flora. Bioresource Technology, v. 98, p. 3076-3079, 2007.

HUANG, YU-LING; PEI-YU YEH; CHIEN-CHANG SHEN; CHIEN-CHIH CHEN. **Antioxidant flavonoids from the rhizomes of Helminthostachys zeylanica**. Phytochemistry, v. 64, p. 1277–1283, 2003.

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

ARGOLO, A. C. C.; SANTANA, A. E. G.; PLETSCH, M.; COELHO, L. C. B. B. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. Bioresouce Technology, v. 95, p. 229 233, 2004.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. **Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 49, p. 5165 5170, 2001.

AHMAD, R.; ALI, A. M.; ISRAF, D. A. T, ISMAIL, N. H.; KHOZIRAH SHAARI, K.; LAJIS, N. H. Antioxidant, radical-scavenging, anti-inflammatory, cytotoxic and antibacterial activities of methanolic extracts of some Hedyotis species. Life Sciences, v. 76. p. 1953–1964, 2005.

KHLEBNIKOV, A. I.; SCHEPETKIN, I. A.; DOMINA, N. G.; KIRPOTINA, L. N.; MARK T. QUINN, M. T. Improved quantitative structure–activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 15, p. 1749–1770, 2007.

MASUDA, T.; YONEMORI, S.; OYAMA, Y.; TAKEDA, Y.; TANAKA, T.; ANDOH, T.; SHINOHARA, A.; NAKATA, M. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.47, p. 1749-1754, 1999.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol.76, 1998.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, v. 92, p. 235-254, 2005.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytotherapy research, v. 15, p.127-130, 2001.