DETERMINAÇÃO DE FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE *Poincianella bracteosa* (FABACEAE)

TOTAL PHENOLICS AND FLAVONOIDS DETERMINATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY EVALUATION OF *Poincianella bracteosa* (FABACEAE) EXTRACTS

PASSOS, Marcel Mark da Silva^{*}; FERNANDES, Erica Porto; GUALBERTO, Simone Andrade; SILVA, Sandra Lúcia da Cunha e DA SILVA, Débora Cardoso

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Ciências Exatas e Naturais, Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais.

^{*} Autor correspondente

e-mail: marcelmarkdm.mp@gmail.com

Received 3 January 2019; received in revised form 28 March 2019; accepted 31 March 2019

RESUMO

Conhecida popularmente como catingueira, a *Poincianella bracteosa* é bastante utilizada pelas comunidades do entorno do município de Tanhaçu, na Bahia para combater a tosse e bronquite, portanto, a partir de dados de um levantamento etnobotânico foi realizada a prospecção fitoquímica do extrato etanólico obtido das partes aéreas da *Poincianella bracteosa*, bem como a determinação da capacidade antioxidante e dos teores de fenólicos e flavonoides totais presentes no extrato etanólico e frações. O estudo envolveu a obtenção do extrato etanólico das partes aéreas da espécie em estudo, por percolação com solução hidroetanólica a 70%. O fracionamento do extrato etanólico foi realizado com três diferentes solventes (hexano, diclorometano e acetato de etila). A análise preliminar da composição química foi feita por testes in vitro, com reagentes específicos para as diferentes classes de metabólitos secundários. A quantificação dos fenólicos e flavonoides totais foi feita por métodos espectrofotométricos na região do visível. A avaliação da capacidade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro de radicais livres DPPH e pelo método da redução de íons ferro (FRAP). Os resultados da prospecção química demonstraram a presença de flavonoides, glicosídeos, gomas e mucilagens, heterosídeos antociânicos e taninos condensados no extrato etanólico, sendo comprovado pela quantificação de compostos fenólicos e flavonoides totais. O extrato etanólico e as frações acetato de etila (FAE) e diclorometânica (FD) apresentaram uma forte capacidade antioxidante, sendo que a fração FAE foi a mais ativa, com CE_{50} de $3,07 \pm 0,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Os resultados obtidos demonstram que a espécie estudada é rica em compostos fenólicos e apresenta uma forte capacidade antioxidante, mostrando grande potencial para aplicação como antioxidante natural.

Palavras-chave: Metabólitos Secundários, Antioxidantes Naturais, Plantas Medicinais.

ABSTRACT

Popularly known as “catingueira”, *Poincianella Bracteosa* is widely used by communities in the vicinity of the municipality of Tanhaçu, in Bahia to combat cough and bronchitis, therefore, based on data from a survey was performed ethnobotanical Phytochemical prospecting of the ethanolic extract obtained from aerial parts of *poincianella Bracteosa*, as well as the determination of antioxidant capacity and the levels of total phenolics and flavonoids present in the ethanolic extract and fractions. The study involved the obtaining of the ethanolic extract of the aerial parts of the species under study, by percolation with a 70% solution hidroetanólica. The fractionation of the ethanolic extract was performed with three different solvent (hexane, dichloromethane and ethyl acetate). The preliminary analysis of chemical composition was made by in vitro tests, with specific reagents for the different classes of secondary metabolites. The quantification of phenolics and total flavonoids was made by methods espectrofotométricos in the region of visible. The assessment of antioxidant capacity was performed by the method of kidnapping of free radicals DPPH and by method of reduction of iron ions (FRAP). The results of chemical prospecting demonstrated the presence of flavonoids, glycosides, gums and mucilage, heterosídeos antociânicos and condensed tannins in the ethanolic extract, being confirmed by quantification of total phenolics and total flavonoids. The ethanolic extract and the ethyl acetate fractions (SAF) and diclorometânica (FD) showed a strong antioxidant capacity, being that the SAF fraction was the most active, with EC_{50} of $3.07 \pm 0.05 \mu\text{g.mL}^{-1}$. The results show that the studied species is rich in phenolic compounds and has a strong antioxidant capacity, showing great potential for application as a natural antioxidant.

1. INTRODUÇÃO

A *Poincianella bracteosa* (Tul) L.P. Queiroz (Fabaceae), conhecida popularmente como catingueira, catinga de porco preta ou pau de rato, que possui hábito arbóreo de porte médio com flores amarelas arrançadas em cachos e se difunde amplamente no nordeste semiárido, no bioma Caatinga, essa espécie foi escolhida como objeto desse estudo, a partir de dados de um levantamento etnobotânico, realizado por Cunha e Silva et al. (2012), com as comunidades do entorno do município de Tanhaçu, na Bahia. Os trabalhos sobre a *P. bracteosa* ainda são incipientes, carecendo de mais estudos, com o objetivo de se conseguir dados sobre suas propriedades químicas e farmacológicas, para indicar a sua utilização como planta medicinal e inseticida botânico (SANTOS, 2013).

Recentemente, devido o aumento no interesse em antioxidantes naturalmente encontrados em plantas, e às mesmas possuírem metabolismo primário, responsável pela síntese de importantes substâncias para a realização de suas funções vitais, e o metabolismo secundário, composto por metabólitos muito abundantes que têm várias funções e estão inteiramente implicadas nos mecanismos que facilitam a adequação da planta a seu meio. Os metabólitos secundários das plantas, além de ser um vasto grupo, têm formidáveis propriedades biológicas e atividades farmacológicas, como antioxidante, antialérgico, antibiótico, hipoglicêmico e anticancerígeno (BORNEO et al., 2008; KATALINIĆ et al., 2004; MULABAGAL and TSAY, 2004). 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.

Tendo em vista que o estresse oxidativo é oriundo de um desequilíbrio ocasionado por produção excessiva de Radicais Livres, de forma endógena (reações metabólicas) ou por fatores exógenos (radiações ionizantes, por exemplo), ocorre o estresse oxidativo, que está intimamente relacionado a uma ampla variedade de doenças humanas (FANG et al., 2002; FILIPOVIC et al., 2015). Segundo Droge (2002) o estresse oxidativo é patogênese de muitas doenças, se torna, portanto, necessária a

intensificação dos estudos pautados nas espécies vegetais com propriedades medicinais e antioxidantes, muito ainda a fim de averiguar mais profundamente no ponto de vista químico e biológico das espécies da flora mundial, sobretudo da brasileira, bem como também buscar propriedades que reduzam esse estresse e, assim, para a prevenção de doenças crônicas.

Os radicais livres (RL) são moléculas instáveis e altamente reativas, que têm um elétron não emparelhado em seu orbital. Desenvolvem dois tipos de papéis um como uma espécie benéfica e outra deletéria. A produção contínua dos RL em níveis moderados é essencial à saúde por estarem envolvidos em vários processos biológicos. O equilíbrio entre produção e remoção de RL é conseguido através do mecanismo de defesa do corpo, que garante as concentrações ideais (OLIVEIRA, 2016).

A proteção contra esses RL pode ser aumentada pela ingestão de antioxidantes, por exemplo, na dieta. Um antioxidante é uma substância que pode intervir em ciclos oxidativos para inibir ou retardar seus danos em biomoléculas através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres, a complexação de metais e a redução de espécies bioativas (Pietta, 2000).

Esses compostos estão presentes de forma natural em plantas, animais e microrganismos ou sendo sintetizados por meios químicos. As principais classes de compostos naturais com atividade antioxidante são: vitaminas (C e E), carotenóides (carotenos e xantofilas) e polifenóis (flavonóides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) (OROIAN et al., 2015; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; SINDHI et al., 2013).

A amplitude do interesse em relação aos antioxidantes, se deve aos efeitos desses compostos sobre os radicais livres e consequentes benefícios que promovem ao organismo. Além disso, são apontados como potenciais candidatos na redução de doenças cardiovasculares e atividades anticarcinogênicas, antialérgicas, efeitos anti-artrogênicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antitrombóticos. Somado à isso ainda existe a escassez de terapias eficazes para a maioria das doenças crônicas, que provoca uma maior utilização de antioxidantes na proteção contra essas doenças resultando maior demanda de estudos. Tais

efeitos, em síntese, resultam do potencial de óxido-redução de determinados compostos; à capacidade de competição por sítios ativos e receptores nas múltiplas estruturas celulares; ou, ainda, à habilidade em modular a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA, membranas) (BASTOS et al., 2009; MARTINS et al., 2016).

O objetivo da pesquisa foi realizar a prospecção química e biológica do extrato etanólico e das diferentes frações obtidas das partes aéreas da *P. bracteosa* e determinar o conteúdo fenólico total e concentrações de flavonoides por métodos espectrofotométricos, bem como examinar a atividade antioxidante através da realização de testes in vitro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal

A parte aérea (folhas e talos) (Figura 1) da *Poincianella bracteosa* foi coletada no período matutino, no mês de agosto de 2016, na Floresta Nacional de Contendas do Sincorá, situada no município de Contendas do Sincorá – BA região semiárida da Bahia. A identificação foi realizada pela taxonomista Guadalupe Edilma Licona Macedo, e a exsicata depositada no herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, sob o registro Macedo, G. E. L.: HUESB 5894 (As coordenadas geográficas do local foram: S: 13° 57,622'; WO: 41° 6,685'; Elevação: 1.188m; distância 13,93; AZ: N.).

FIGURA 1. Parte aérea do Material vegetal. Fonte: Santos, M.R. (2013).

2.2. Preparo e fracionamento do extrato etanólico

O material vegetal coletado foi selecionado, pesado e, previamente seco em estufa de circulação de ar por 48 horas a uma temperatura de 40°C(±2°C). Posteriormente, foi realizada a trituração manual das folhas e talos. O material seco e triturado foi submetido à percolação com solução hidroetanólica a 70% até exaustão e, após o término das extrações, o solvente foi concentrado utilizando Evaporador rotatório (Fisaton, modelo 802, Brasil) sob pressão reduzida a 45°C(±1°C), obtendo-se o extrato etanólico (EEC) mantido em tubo estéril e armazenado em geladeira a 4°C.

O EEC foi fracionado por partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes: hexano, diclorometano e acetato de etila. A partição foi realizada a partir de 50 g do EEC diluído em uma solução hidroetanólica a 70%. Iniciou-se o fracionamento do extrato utilizando-se como solvente o hexano (C₆H₁₄), seguido do diclorometano (CH₂Cl₂) e do acetato de etila (C₄H₈O₂), para obterem-se, respectivamente, as frações hexânica (FH), diclorometânica (FD), acetato de etila (FAE) e, o que restou da solução hidroalcoólica, passou a denominar-se fração hidroalcoólica (FHA).

2.3. Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica preliminar do extrato etanólico obtido da parte aérea (folhas e talos) da *Poincianella bracteosa* foi realizada seguindo a metodologia descrita por Matos (1988), com a finalidade de identificar os seguintes grupos de metabólitos secundários: alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, cumarinas, glicosídeos, catequinas, heterosídeos antociânicos e gomas e mucilagens.

2.4. Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais presentes no EE e nas frações da espécie em estudo foi feita pela técnica de espectroscopia na região do visível, através do método de Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia descrita por Wettasinghe e Shahidi (1999), com modificações.

O extrato etanólico e as frações FH e FD foram diluídas em etanol na concentração de 300 µg.mL⁻¹, já a fração acetato de etila (FAE) foi diluída na concentração de 150 µg.mL⁻¹. Em tubos de ensaio, homogeneizou-se alíquotas de 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (RFC), 0,5 mL do extrato e 1,0 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), sendo esta

mistura ajustada para 10 mL com água deionizada e submetidos à agitação vigorosa em agitador de tubos. A mistura foi mantida em repouso à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), por 25 minutos. O branco foi realizado nas mesmas condições, excluindo-se a amostra. As leituras das absorbâncias foram medidas a 773 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV 1800.

O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação das absorbâncias das amostras em uma curva analítica construída com soluções padrão de ácido gálico (3,9; 7,8; 15,62; 31,25; 62,5; 125,0 e $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato concentrado. A Equação de regressão linear obtida foi $y = 0,0053x + 0,0294$, e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9961$. Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro.

2.5. Determinação de flavonoides totais

A concentração dos flavonoides totais foi determinada por ensaio colorimétrico usando cloreto de alumínio como agente cromóforo, de acordo com a metodologia descrita por Marinova et al. (2005), com modificações. Para a realização do ensaio, o extrato etanólico e as frações FH, FD e FHA foram diluídos na concentração de $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$, já para a fração acetato de etila (FAE) foi utilizada a concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, usando-se metanol como solvente em todas as amostras.

Alíquotas de 0,5 mL de cada amostra foram adicionadas em tubos de ensaio, contendo 4,0 mL de água deionizada. Em seguida, foram acrescentados 0,3 mL de uma solução aquosa de nitrito de sódio (NaNO_2) a 5% e agitados em agitador de tubos. Após 5 minutos, 0,3 mL de solução aquosa de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 10% foram adicionados e as soluções homogeneizadas. Após 6 minutos, 2,0 mL de solução aquosa de NaOH a 1,0 M foram adicionados e o volume acertado para 10,0 mL com água deionizada. As soluções foram agitadas e as absorbâncias foram lidas a 510 nm em espectrofotômetro Shimadzu UV 1800, tendo sendo utilizado como "branco" o metanol e todos os reagentes, com exceção dos extratos.

Para determinar o teor de flavonoides construiu-se uma curva analítica com soluções padrão de quercetina (20,0; 40,0; 60,0; 80,0 e $100,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$), sendo as absorbâncias das amostras interpoladas nela. O teor de

flavonoides totais foi expresso como mg de EQ (equivalente de quercetina) por g de extrato. A Equação de regressão linear obtida foi $y = 0,00095x - 0,00530$, e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,99784$. As análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro. Os resultados foram expressos em mg EQ (equivalente de quercetina) por g de extrato.

2.6. Capacidade antioxidante pelo método DPPH

A avaliação capacidade da antioxidante pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada seguindo a metodologia descrita por RUFINO et al. (2007), com algumas adaptações, sendo monitorada a capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical livre DPPH. O DPPH é um radical livre extremamente estável. Ao contrário de radicais livres gerados *in vitro*, o DPPH apresenta uma vantagem de não ser afetado por certas reações paralelas, como a quelação de íons metálicos e inibição por enzimas. Uma solução DPPH recém-preparada exibe uma cor púrpura intensa. Esta cor violeta geralmente desaparece quando moléculas antioxidantes eliminam radicais livres de DPPH (fornecendo átomos de hidrogênio ou por doação de elétrons, possivelmente através de um ataque de radicais livres sobre a molécula do DPPH) e convertê-los em um líquido incolor/produto branqueada, resultando em uma diminuição na absorbância.

A solução de DPPH• foi preparada pesando-se 2,4 mg do reagente 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (Sigma-Aldrich), dissolvidos em metanol PA em balão volumétrico de 100 mL, para obter-se uma solução de concentração 0,06 mM.

Foram preparadas diluições do extrato etanólico, das frações hexânica e diclorometânica em metanol PA, de forma a obter-se as concentrações de 500; 400; 300; 200 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e diluições da fração acetato de etila em metanol PA, de forma a obter-se as concentrações de 300; 250; 200; 150 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Também foram preparados os controles positivos de quercetina (150; 125; 100; 75; 50 e $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e rutina (100; 80; 60; 40 e $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Em ambiente escuro foram transferidos 0,1 mL de cada concentração das amostras para tubos de ensaio contendo 3,9 mL de solução metanólica de DPPH a 0,06 mM e as soluções homogeneizadas em agitador de tubos. O controle negativo foi composto por todos os

reagentes, exceto o extrato.

O tempo de reação das amostras foi inicialmente determinado por uma cinética de reação, sendo observada a redução das absorbâncias até sua estabilização. O tempo de reação observado para os extratos e os controles positivos foi de 30 minutos. Ao término das reações, as leituras foram feitas em espectrofotômetro Shimadzu UV 1800, em comprimento de onda de 515 nm, sendo utilizado o metanol como "branco". Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro.

Os valores médios das absorbâncias de todas as concentrações testadas foram convertidos em percentual de inibição de capacidade antioxidante, determinados pela Equação:

$$\%I = \frac{[(ABS\ DPPH - ABS\ Amostra)]}{[ABS\ DPPH] * 100}$$

Em que: ABS DPPH é a leitura da absorbância da solução de DPPH puro e ABS Amostra é a leitura registrada para cada amostra após a aplicação do método DPPH.

A concentração efetiva da amostra necessária para reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (CE_{50}) foi calculada a partir de uma curva analítica, obtida graficamente por plotagem da concentração das amostras em relação à porcentagem de inibição do radical DPPH (%I) produzido elas mesmas. Os resultados da avaliação da capacidade antioxidante também foram expressos em quantidade em gramas de extrato necessários para reduzir um grama de DPPH, conforme definido por RUFINO et al. (2007). Preparou-se uma curva analítica de DPPH nas seguintes concentrações: 10; 20; 30; 40; 50; e 60 μ M, obtendo-se a equação de regressão linear correspondente a $y = 0,0134x + 0,0155$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9987$. O valor correspondente à metade da absorbância da solução de DPPH puro (0,06 mM) foi substituído na equação do DPPH, para encontrar a concentração em μ M de DPPH, correspondente a 50% da concentração inicial do radical e, em seguida, transformado para g de DPPH pela Equação:

$$g\ DPPH = (\mu M\ DPPH / 1.000.000) * 394,3\ (\text{peso molecular do DPPH})$$

Em seguida, o valor de CE_{50} (μ g.mL⁻¹) calculado anteriormente, foi transformado para g.L⁻¹ e dividido pelo valor encontrado de g de DPPH, obtendo-se assim, o resultado final expresso em g de extrato por g de DPPH.

A capacidade antioxidante das amostras foi expressa também pelo índice de capacidade antioxidante (ICA) proposto por Scherer e Godoy (2009). Este índice facilita comparar a força antioxidante de diferentes extratos, e é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$ICA = \frac{[\text{Conc. Inicial de DPPH } (\mu\text{g. mL}^{-1})]}{CE_{50} (\mu\text{g. mL}^{-1})}$$

A concentração do DPPH usada no ensaio correspondeu a 24 μ g.mL⁻¹ para uma solução de 0,06 mM. A capacidade antioxidante é considerada fraca quando o ICA < 0,5, moderada quando o valor do ICA for entre 0,5 e 1,0 e forte quando o valor de ICA estiver entre 1,0 e 2,0 e muito forte quando o ICA > 2,0.

2.7. Capacidade antioxidante pelo método FRAP

A avaliação da capacidade antioxidante dos extratos obtidos dos caules da espécie em estudo, foi determinada também pelo método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), seguindo a metodologia descrita por RUFINO et al. (2006), com modificações.

O reagente FRAP foi obtido a partir da mistura de 25 mL de uma solução tampão de acetato a 0,3 M, acrescido de 2,5 mL de uma solução (1:3) de TPTZ (Sal de 2,4,6-Tri-(2-Piridil)-1,3,5-Triazina) a 10 μ M com Ácido p-toluenosulfônico e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico a 20 mM.

As amostras (EE, FH, FD) foram preparadas na concentração de 300 μ g.mL⁻¹ a FAE foi preparada na concentração de 100 μ g.mL⁻¹. Os controles positivos (Rutina e quercetina) foram preparados também na concentração de 100 μ g.mL⁻¹, usando-se metanol PA como solvente em todas as amostras. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 μ L de cada amostra para tubos de ensaio (em triplicata). Posteriormente, acrescentou-se 270 μ L de água deionizada e 2,7 mL do reagente de FRAP. As amostras foram homogeneizadas em agitador de tubos e mantidas em banho-maria a 37°C por 30

minutos. Após esse tempo foram feitas as leituras das absorbâncias em comprimento de onda de 595 nm, sendo utilizado o reagente de FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro.

A Equação da reta $y = 0,000536x + 0,020200$, com o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9982$ foi obtida a partir da curva analítica construída com soluções de sulfato ferroso nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 μM , seguindo o mesmo procedimento de análises das amostras.

Os valores médios das absorbâncias das amostras foram substituídos na equação de regressão linear obtida, para se determinar a capacidade das amostras em reduzir o Fe^{3+} presente na solução a Fe^{2+} . O resultado final foi expresso em mg de Fe^{2+} / grama de extrato.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A triagem fitoquímica realizada no EEC indicou a presença de diferentes classes de metabólitos secundários, apresentando resultados positivos para taninos condensados, glicosídeos, heterosídeos antociânicos, gomas e mucilagens e flavonoides.

Todas as amostras avaliadas apresentaram altos teores de compostos fenólicos, sendo para a FAE ($586,41 \pm 3,24$ mg EAG g^{-1} de extrato), para a FD ($390,70 \pm 16,22$ mg EAG g^{-1} de extrato), para o EE ($220,25 \pm 1,22$ mg EAG g^{-1} de extrato) e para a fração FH ($50,31 \pm 2,56$ mg EAG g^{-1} de extrato). O menor teor de FT foi registrado na FH e o maior teor na FAE, isso se deve pela alta solubilidade de fenóis em solventes polares fornecendo alta concentração destes compostos nos extratos obtidos usando solventes polares (MOHSEN e AMMAR, 2008; ZHOU e YU, 2004).

Com relação aos flavonoides totais, os resultados obtidos foram expressos em miligramas de EQ (equivalentes de quercetina) por grama de extrato, observando-se, também, que o maior teor foi encontrado na FAE, com $356,67 \pm 20,81$ mg EQ g^{-1} . A menor concentração também foi encontrada na FH conforme apresentado na Tabela 1

TABELA 1. Teores de fenólicos totais e flavonoides totais no extrato etanólico e frações obtidas da parte aérea da *Poincianella bracteosa*

Amostras	Fenólicos totais (mg EAG g^{-1} de extrato $\pm$ DP)	Flavonoides totais (mg EQ g^{-1} de extrato $\pm$ DP)
EEC	$110,13 \pm 1,57$	$209,12 \pm 10,52$
FH	$25,15 \pm 0,88$	-
FAE	$293,21 \pm 10,69$	$537,89 \pm 7,44$
FD	$195,35 \pm 24,53$	$247,72 \pm 9,92$

DP (desvio padrão); EEC (extrato etanólico concentrado); FH (fração hexânica); FAE (fração acetato de etila); FD (fração diclorometânica).

Fonte: Próprio Autor.

Os resultados da avaliação quantitativa da capacidade antioxidante do extrato e frações obtidas de *Poincianella bracteosa*, pelo método do sequestro de radicais livres DPPH e pelo método FRAP, estão expostos na Tabela 2. Os resultados são expressos pelos percentuais de inibição do radical DPPH (%) e pelos valores de CE_{50} , que equivalem à quantidade de extrato necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%, e pelos índices de capacidade antioxidante (ICA) proposto por Scherer e Godoy (2009). Já os resultados da capacidade antioxidante obtidos pelo método FRAP são expressos em miligramas de Fe^{2+} por grama de extrato analisado.

Entre as amostras analisadas, a FAE apresentou maior capacidade antioxidante, com porcentagem de inibição de $91,02 \pm 1,65\%$ e com valor de CE_{50} igual a $3,07 \pm 0,050$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, resultados comparáveis aos controles positivos rutina (CE_{50} $3,09 \pm 0,038$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) e quercetina (CE_{50} $2,17 \pm 0,012$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), enquanto o EE e a FD apresentaram maiores valores de CE_{50} , de $9,15 \pm 0,240$ a $9,46 \pm 0,120$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectivamente. Verifica-se que o potencial redutor destes extratos é alto, pois seriam necessários $0,32 \pm 0,005$ gramas da fração acetato de etila (FAE) para reduzir um grama de DPPH, e que esta capacidade antioxidante pode estar relacionada aos teores de fenólicos e flavonoides totais presentes nas amostras. Devido ao baixo percentual de inibição encontrado para a FH ($2,82 \pm 1,25\%$), os valores de CE_{50} , ICA e a quantidade em gramas de extrato por gramas de DPPH dessa amostra não foram determinados. Estes resultados demonstram que o teor de fenólicos das frações influencia diretamente no seu potencial antioxidante.

Scherer e Godoy (2009) propõem haver uma dificuldade na comparação do potencial antioxidante entre extratos, devido às diferentes maneiras como os resultados são expressos, tais como a porcentagem de inibição (%) ou o valor de CE_{50} , que muda de acordo com a concentração final do DPPH utilizado, pois este método permanece sofrendo muitas adaptações ou modificações, e diversos procedimentos têm sido propostos. Desta maneira, o índice de capacidade antioxidante (ICA), proposto pelos citados autores, procura facilitar a comparação da força antioxidante de diferentes extratos de plantas.

Avaliando os resultados pelo índice de capacidade antioxidante (ICA), observa-se que os extratos EE (ICA = 2,62), FAE (ICA = 7,80) e FD (ICA = 2,54) apresentaram valores superiores a 2,0 e que, de acordo com a classificação proposta por Scherer e Godoy (2009), estes valores sugerem uma capacidade antioxidante muito forte para estes extratos, sendo que os controles positivos rutina (ICA = 7,76) e quercetina (ICA = 11,03), ambos antioxidantes naturais, são flavonoides, com ação terapêutica em patologias potencialmente produzidas por radicais livres, e não são tóxicos. Para a fração FH o ICA não foi calculado por apresentar baixo percentual de inibição.

Segundo Oliveira et al. (2015), o método DPPH é considerado um dos mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de substâncias puras ou misturas complexas. No entanto, para caracterizar completamente um composto como antioxidante, tal capacidade não deve ser baseada em uma única metodologia, sendo necessária a aplicação de outros métodos, como por exemplo, o FRAP (*Ferric-Reducing Ability of Plasma*), o ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*), o TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) e os métodos de peroxidação lipídica. Deste modo, a avaliação da capacidade antioxidante dos extratos também foi feita pelo método FRAP, sendo a capacidade antioxidante medida através da redução do íon ferro Fe^{+3} a Fe^{+2} ocorrendo o desenvolvimento de coloração azul escura nas soluções, devido à presença de compostos antioxidantes nas amostras avaliadas. Portanto, quanto maior o potencial antioxidante dos compostos presentes nas amostras, maior será a produção de íons Fe^{+2} na solução. Através desse método, a fração acetato de etila (FAE) também exibiu maior capacidade antioxidante quando confrontada aos demais extratos ($75,67 \pm 3,94$ mg Fe^{2+} . g^{-1} extrato),

sendo também comparável aos controles positivo Rutina ($82,43 \pm 4,25$ mg Fe^{2+} . g^{-1} extrato) e quercetina ($139,73 \pm 3,08$ mg Fe^{2+} . g^{-1} extrato), corroborando com os resultados obtidos no ensaio com o DPPH.

Desta forma, observa-se que os resultados encontrados nesse trabalho indicam a alta eficiência antioxidante do extrato etanólico e frações obtidas da parte aérea da *Poincianella bracteosa*, quando comparados com os controles positivos rutina e quercetina.

4. CONCLUSÕES:

Os teores de fenólicos e flavonoides totais encontrados nos extratos e frações obtidos da *Poincianella bracteosa* foram relativamente altos, e estão correlacionados com os valores da capacidade antioxidante achados para os mesmos. Destaca-se a fração acetato de etila, que apresentou um potencial antioxidante bastante pronunciado, comparável à capacidade dos flavonoides antioxidantes rutina e quercetina, confirmando assim, que a espécie em estudo apresenta excelente potencial para aplicação como antioxidante natural.

5. AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro, e à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pela disponibilização da infraestrutura para a realização dos trabalhos.

6. REFERÊNCIAS:

1. BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, São Paulo, v. 53, n. 5, **2009**.
2. BORNEO, R., LEON, E.A., AGUIRRE, A., RIBOTTA, P., CANTERO, J.J. **2008**. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their in vitro testing in model food system. Food Chem. 112, 664-670.

3. CUNHA, S. L., GUALBERTO, S. A., MACEDO, G. E. L., DA SILVEIRA, T. C., & DA SILVA, D. C. **2012**. Plantas medicinais usadas pela comunidade do povoado de Laços (Tanhaçú/Bahia) e encontradas na Floresta Nacional Contendas do Sincorá. *Revista Caatinga*, 25(3), 130-136.
4. DROGE W **2002**. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47-95.
5. FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, v. 18, n. 10, p. 872-879, **2002**.
6. FILIPOVIC, M.; MARKOVIC, Z.; ĐOROVIC, J.; DIMITRIC, J.; MARKOVIC; LUCIC, B.; AMIC, D. QSAR of the free radical scavenging potency of selected hydroxybenzoic acids and simple phenolics. *Comptes Rendus Chimie*, v. 18, n. 5, p. 492-498, **2015**.
7. KATALINIĆ, V., MILOŠ, M., KULIŠIĆ, T., JUKIĆ, M. 2004. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem.* 94, 550-557. <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.004>>.doi: 10.1016>
8. MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASOVA, M. Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, v. 40, n.3, p.255-260, **2005**. Disponível em: <<http://dl.uctm.edu/journal/node/j2005-3/Marinova.pdf>>.
9. MARTINS, N.; PETROPOULOS, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post- harvest conditions: A review. *Food Chemistry*, v. 211, p. 41-50, **2016**.
10. MATOS, F. J. A. Introdução a Fitoquímica Experimental. 2 ed. Fortaleza: Edições EUFC, **1988**. 141p.
11. MULABAGAL, V., TSAY, H. **2004** Plant Cell Cultures - an alternative and efficient source for the production of biologically Important secondary metabolites. *Int. J. Appl. Sci. Eng. Tech.* 2, 29-48. <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.526.4681&rep=rep1&type=pdf>>. doi: 10.1.1.526.4681
12. OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.17, n.1, p. 36-44, **2015**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12_165>. doi: 10.1590/1983-084X/12_165
13. OLIVEIRA, R. S. A. P. Conceitos alternativos sobre radicais livres: origens, prevalência e intervenções. Dissertação Mestrado- Instituto de Química da USP— São Paulo, **2016**. 253p
14. OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, v. 74, p. 10-36, **2015**.
15. PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. 4. **2012**. ISSN 2179-4804. Disponível em: <<https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/article/view/386>>.
16. Pietta, P.G. *J. Nat. Prod.*, **2000**, 63, 1035.
17. RUFINO, M. S. M., et al. Metodologia científica: Determinação da Capacidade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado Técnico *On line*, Embrapa 125. Fortaleza, CE, 4p, **2006**. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/download/index.php?pub/cot_125.pdf>.
18. RUFINO, M. S. M., et al. Metodologia científica: Determinação da Capacidade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico *On line Embrapa* 127. Fortaleza, CE, 4p, **2007**. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/download/index.php?pub/cot_127.pdf>.

19. SANTOS, M. R. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante dos extratos das partes aéreas de *Poincianella bracteosa*. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA, **2013**.
20. SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food Chemistry, v. 112, p. 654-658, **2009**. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>>.doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.026
21. SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity

and health effects – A review. Journal of functional foods, **2015**.

22. SINDHI, V.; GUPTA, V.; SHARMA, K.; BHATNAGAR, S.; KUMARI, R.; DHAKA, N. Potential applications of antioxidants – A review. Journal of Pharmacy Research, v. 7, n. 9, p. 828-835, **2013**.
23. WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 47, p. 1801-1812, **1999**. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9810416>> doi: 10.1021/jf9810416

TABELA 2. Resultados da capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP encontrados para o extrato etanólico e frações obtidas da parte aérea da *Poincianella bracteosa*

Amostras	DPPH				FRAP
	Inibição (%)	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	g de extrato/g de DPPH	ICA	mg Fe ²⁺ . g ⁻¹ extrato ± DP
EEC	66,15 ± 1,50	9,15 ± 0,24	0,97 ± 0,24	2,62	43,15 ± 3,01
FH	2,82 ± 1,25	-	-	-	0,41 ± 0,23
FD	60,03 ± 3,23	9,46 ± 0,12	0,99 ± 0,12	2,54	33,63 ± 1,02
FAE	91,02 ± 1,65	3,07 ± 0,05	0,32 ± 0,05	7,80	75,67 ± 3,94
quercetina	71,45 ± 1,41	2,17 ± 0,02	0,23 ± 0,01	11,03	139,73 ± 3,08
rutina	43,36 ± 1,46	3,09 ± 0,04	0,33 ± 0,03	7,76	82,43 ± 4,25

DP (desvio padrão); ICA (Índice de Capacidade Antioxidante); - Não calculado (capacidade muito baixa); EEC (extrato etanólico concentrado); FH (fração hexânica); FD (fração diclorometânica); FAE (fração acetato de etila); Controles positivos: rutina e quercetina; Concentrações para determinar o percentual de inibição (%): EE, FD e FH (500 µg.mL⁻¹); FAE (300 µg.mL⁻¹); Rutina (100 µg.mL⁻¹); Quercetina (150 µg.mL⁻¹).

Fonte: Próprio Autor.