



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UniCEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

GUILHERME FEITOSA DO NASCIMENTO
JÉSSIKA VERIDIANO DUTRA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DOS VEGETAIS: UNHA
DE GATO (*UNCARIA TOMENTOSA*); INDIANO OLI-BANUM
(*BOSWELLIA SERRATA*); GYMNEMA (*GYMNEMA SYLVESTRE*) E
ALCACHOFRA (*CYNARA SCOLYMUS*)**

BRASÍLIA

2019



GUILHERME FEITOSA DO NASCIMENTO
JÉSSIKA VERIDIANO DUTRA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DOS VEGETAIS: UNHA
DE GATO (*UNCARIA TOMENTOSA*); INDIANO OLI-BANUM
(*BOSWELLIA SERRATA*); GYMNEMA (*GYMNEMA SYLVESTRE*) E
ALCACHOFRA (*CYNARA SCOLYMUS*)**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica
apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e
Pesquisa.

Orientação: Dra. Francislete Rodrigues Melo

BRASÍLIA
2019

RESUMO

O uso de plantas medicinais é quase tão antigo quanto à civilização humana. Estas plantas têm servido como fonte constante de substâncias biologicamente ativas e possibilitando o tratamento de diversas doenças, por proporcionarem grandes chances de obterem-se moléculas que tenham sucesso em combater diversas enfermidades, devido a sua diversidade de constituintes químicos. Os compostos fenólicos possuem capacidade antioxidante devido ao seu poder redutor do grupo hidroxila aromático, que reduz radical livre reativos e produz o radical fenoxila estabilizado por ressonância. O presente trabalho teve como objetivos realizar a determinação quantitativa de compostos fenólicos e atividade antioxidante em amostras de droga vegetal feita a partir de Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Indiano oli-banum (*Boswellia serrata*), Gymnema (*Gymnema sylvestre*) e Alcachofra (*Cynara scolymus*) adquiridas comercialmente no Distrito Federal. Para isso, foram realizados ensaios colorimétricos utilizando extrato etanólico das referidas plantas, para realizar os ensaios de determinação de compostos fenólicos totais – folin-ciocauteau, determinação da atividade antioxidante, as curvas padrões foram realizadas utilizando ácido gálico e trolox. As espécies utilizadas na obtenção dos extratos foram adquiridas por meio de parceria com uma empresa de manipulação (drogavet[®]) na forma de droga vegetal. As espécies de plantas utilizadas neste trabalho foram escolhidas baseadas no seu potencial para o controle de peso, depressão e em sua possível capacidade de produção de compostos fenólicos que são potentes antioxidantes. Após a realização das curvas padrões, foram feitos teste em triplicatas, com os extratos produzidos das drogas vegetais de: Boswellia, Gymnema, Alcachofra e Unha de gato, onde se determinou as quantidades de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos mesmos. Sendo que a unha de gato mostrou maior atividade antioxidante, enquanto a Alcachofra obteve o maior resultado em relação aos compostos fenólicos. Deve-se ressaltar que estes resultados são estimativas do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em seus equivalentes químicos (ácido gálico e trolox), já que diferentes compostos fenólicos contribuem de forma diferente para as leituras.

PALAVRAS CHAVES: Compostos Fenólicos. Atividade Antioxidante. Extrato.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	4
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	5
2.1 RADICAIS LIVRES.....	5
2.2 ANTIOXIDANTES	5
2.3 UNCARIA TOMENTOSA.....	6
2.4 BOSWELLIA SERRATA.....	7
2.5 GYMNEMA SYLVESTRE	7
2.6 CYNARA SCOLYMUS	7
3. METODOLOGIA	8
3.1 OBTENÇÃO DAS DROGAS VEGETAIS UTILIZADAS.....	8
3.2 PREPARO DOS EXTRATOS VEGETAIS	8
3.3 ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS – FOLIN- CIOCAUTEAU.....	9
3.3.1 PREPARO DE SOLUÇÕES.....	9
3.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO	9
3.5 ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	10
3.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	11
3.6.1 PREPARO DE SOLUÇÕES.....	11
3.6.2 CURVA PADRÃO DO TROLOX	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
4.1 ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	12
4.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	14
4.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS TRABALHADOS	15
5. CONCLUSÃO	17
Referências Bibliográficas.....	1

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é quase tão antigo quanto à civilização humana. Estas plantas têm servido como fonte constante de substâncias biologicamente ativas e possibilitando o tratamento de diversas doenças, por proporcionarem grandes chances de obterem-se moléculas que tenham sucesso em combater diversas enfermidades, devido a sua diversidade de constituintes químicos (Nascimento et al., 2000; Pessini et al., 2003). A busca por plantas com atividade antioxidante que podem ser utilizadas no combate a enfermidades tem sido crescente; Algumas plantas medicinais tais como: Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Indiano oli-banum (*Boswellia serrata*), Gymnema (*Gymnema sylvestre*) e Alcachofra (*Cynara scolymus*), usadas neste projeto, possuem compostos fenólicos que são potentes antioxidantes.

Os compostos fenólicos possuem capacidade antioxidante devido ao seu poder redutor do grupo hidroxila aromático, que reduz radical livre reativos e produz o radical fenoxila estabilizado por ressonância. Os polifenóis compreendem o maior grupo dentre os compostos bioativos nos vegetais, sendo subdivididos em classes, de acordo com a sua estrutura química. Na medicina, eles têm sido utilizados como antibacterianos, anti-inflamatórios, anticâncer, imunomoduladores, no combate ao estresse oxidativo e tratamento de doenças neurodegenerativas.

Diversos fatores como o uso de drogas, tabagismo, contato com pesticidas e poluentes também podem induzir a formação de radicais livres (CAROCHO & FERREIRA, 20113). A exposição dos organismos a radicais livres, provenientes de diversas fontes, levou os organismos a desenvolver mecanismos de defesas para eliminá-los (CADENAS, 1997), estas reações não são adequadas em condições fisiológicas normais. Dado isso, a melhor forma de eliminação destes radicais livres formados, depende da ação de antioxidantes exógenos (AUGUSTO et al., 1995).

A formação de radicais livres é fundamental para o funcionamento fisiológico e celular adequado, produção de energia e metabolismo bem regulado. Entretanto, nas últimas décadas, foram realizadas inúmeras pesquisas para esclarecer o papel desses radicais livres em processos fisiopatológicos como envelhecimento, câncer, aterosclerose, inflamação, entre outros (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). Radicais livres são átomos ou moléculas que possuem pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos (MARTELLI & FRANCIS, 2014).

Neste projeto, foi determinado a presença de polifenóis totais de: Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Indiano oli-banum (*Boswellia serrata*), Gymnema (*Gymnema sylvestre*) e Alcachofra (*Cynara scolymus*) em extratos feitos a partir de drogas vegetais adquirida comercialmente no Distrito Federal. Além disso, foi verificada a atividade antioxidante dos mesmos materiais.

O presente trabalho teve como objetivos realizar a determinação quantitativa de compostos fenólicos e atividade antioxidante em amostras de droga vegetal feita a partir de Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Indiano oli-banum (*Boswellia serrata*), Gymnema (*Gymnema sylvestre*) e Alcachofra (*Cynara scolymus*) adquiridas comercialmente no Distrito Federal. Para isso, foram realizados ensaios colorimétricos utilizando extrato etanólico das referidas plantas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 RADICAIS LIVRES

Radicais livres são pequenas moléculas instáveis produzidas a partir da energia recebida por um átomo de oxigênio extremamente reativo, que de alguma forma perdeu um elétron de sua camada mais externa. A principal fonte de radicais livres produzidos no organismo vem do metabolismo normal do oxigênio, mas uma maior produção pode ser causada por processos inflamatórios, como os que ocorrem na obesidade. Estes têm efeitos deletérios nas células e estão geralmente associados a patologias e morte celular. Estas patologias são derivadas de um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade antioxidante, associado à inaptidão da célula de restabelecer o equilíbrio (Monica B. et al, 2016).

Os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) está relacionado com o seu sítio de formação (Anderson, 1996; Yu & Anderson, 1997). A maioria dos radicais livres age muito rapidamente, podendo ser produzidos com a mesma velocidade com que desaparecem, sendo que quando atacam, podem transformar a molécula atacada em outro radical livre, gerando reações em cadeia bastante danosas (Youngson, 1995).

A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena (por ex., superóxido dismutase), ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Destas últimas destacam-se tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenóides. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (Clayton et al, 2007).

2.2 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo ser enzimáticos ou não enzimáticos (Selene et al, 2009). Nos últimos anos, têm-se investigado os efeitos dos antioxidantes em relação às enfermidades, principalmente nos países desenvolvidos do ocidente. As pesquisas têm tentado explicar os benefícios dos antioxidantes nas enfermidades cardiovasculares, inflamações, em numerosos tipos de câncer, na AIDS, e inclusive em outros diretamente

associados com o processo de envelhecimento, como o das cataratas, doença de Alzheimer e outras alterações do sistema nervoso (Cai et al., 2004; Netzel et al., 2007). Plantas medicinais usadas na medicina tradicional podem conter vários metabolitos secundários com potencial antioxidante, como os compostos fenólicos, flavonoides e taninos (Fabiano et al, 2016).

Um dos mais importantes constituintes dos vegetais é o fenol, este dá origem a vários outros compostos, como por exemplo, os taninos (Martins, 2000; Ferro, 2008). Segundo ferro 2008, as principais funções deste composto são: atividade antioxidante, aromatizante, antibacteriano, antiviral e ação expectorante. Os polifenóis compreendem o maior grupo dentre os compostos bioativos nos vegetais, sendo subdivididos em classes, de acordo com a estrutura química de cada substância (Arts ICW & Hollman PCH, 2005).

2.3 UNCARIA TOMENTOSA

Uncaria tomentosa (Willd.) é uma planta lenhosa e trepadeira pertencente à família Rubiaceae nativa da Amazônia e popularmente conhecida como “Unha de gato” devido a ganchos presentes em sua estrutura que se assemelham a unhas de gatos, possui diversos efeitos medicinais, dentre eles atividades anti-inflamatória e antitumoral. Sua casca é amplamente utilizada para fazer decocções médicas para tratar de diarreias, úlceras, doenças do trato urinário, artrite, reumatismo e cânceres (AGUILAR et al.,2002).

Uncaria tomentosa (Willd.) é conhecida no Brasil como unha-de-gato pela presença de espinhos semi curvados e pontiagudos de consistência lenhosa que são muito semelhantes às garras dos felinos, a presença desses espinhos facilita com que ela se apoie em cascas e ramos de árvores fazendo com que ela consiga subir em direção a luz, são plantas trepadeiras perenes que se destacam devido as características de suas folhas, das cores de suas flores e o formato dos espinhos. Com ampla distribuição na América Central e na Amazônia essa planta é encontrada nos estados do Acre, Amazonas, Amapá e Pará sendo conhecida por nomes variados como garabato, espera-aí, entre outros (MIRANDA et al., 2003; OBREGÓN-VILCHES, 1997; POLLITO, 2004).

Devido a sua eficácia no tratamento de doenças nas tribos indígenas, ela começou a ser muito utilizada como fitoterápica em todo o mundo por volta da década de 1930, nas tribos era muito utilizada para a confecção de chás feitos a partir da casca do caule ou das raízes da unha-de-gato e utilizadas para tratar alguns processos degenerativos, para úlceras gástricas e principalmente processos inflamatórios, dentre esses efeitos, algumas mulheres utilizavam essas decocções feitas a partir das raízes como método contraceptivo (JONES, 1995; SHENG et al, 1998).

Dentre os princípios ativos presentes nesta planta, os mais citados como possíveis responsáveis pelas atividades farmacológicas descritas são os metabólitos secundários, polifenóis como flavonóides, glicosídeos de ácido quinóico e taninos e pelo menos 17

alcalóides oxindólicos, e até alguns com baixa concentração na planta mas que podem agir em alguns casos como saponinas e triterpenos poli-hidroxiados (MONTORO et al, 2004; RIZZI et al, 1993; DE MATTA et al, 1976).

2.4 BOSWELLIA SERRATA

É uma planta encontrada em algumas partes da Índia, sendo que esta também está presente em outros locais como; nordeste da África e no Oriente Médio. Dentre suas partes mais usadas a casca se destaca por seus constituintes químicos, incluindo alcalóides, terpenóides, taninos, fenóis, saponinas e triterpenos pentacíclicos. Dentro da Medicina indiana, plantas ricas nestes compostos têm sido amplamente utilizados (Hussain et al., 2013).

O extrato de *B. serrata* tem sido usado no tratamento de doenças com características inflamatórias, como artrite, osteoartrite e doenças intestinais, pois esses compostos inibem os leucotrienos (LT). Os leucotrienos estão envolvidos na iniciação e manutenção da inflamação, e a inibição da LT pode prevenir efetivamente a oxidação de lipídios e a liberação de citocinas inflamatórias (Safayhi et al., 1995; Gayathri et al., 2007).

2.5 GYMNEMA SYLVESTRE

Gymnema sylvestre R. Br. é uma planta da família Asclepidaceae nativa do sudoeste da Índia, África tropical e Austrália. Desde os tempos antigos esta planta tem sido usada na medicina tradicional indiana (ayurvédica), sendo considerada eficaz na melhora da diabetes (Nadkarni, 1982). Em um trabalho com animais o extrato das folhas de *Gymnema* R. Br melhorou os níveis de colesterol e triglicérides influenciando no metabolismo lipídico (Bishayee; Chaterjee, 1994).

Esta planta é utilizada no tratamento de diabetes devido a suas moléculas de ácido gimnêmico ter seus arranjos atômicos análogo às moléculas de glicose, sendo assim quando a planta é ingerida os receptores das papilas identificam as moléculas da planta deixando assim de serem ativados por moléculas de açúcar. Sendo utilizada também no tratamento de constipação, hiperglicemia, hemorróidas, cálculos renais, asma, cardiopatia, bronquite, mordida de cobra, problemas urinários, estomacais. Além disso possui também atividade antimicrobiana, antitumoral e anti inflamatória (Joshi, et al., 2011; Verma, 2016; Tiwari, Mishra e Sangwan, 2014).

2.6 CYNARA SCOLYMUS

A *Cynara scolymus* L. é uma planta nativa do Mediterrâneo, sul da Europa, Ilhas Canárias e norte da África, pertencente à família Asteraceae, muito conhecida como Alcachofra esta planta é cultivada em todo o mundo e amplamente utilizada para fins medicinais e alimentícios sendo citada desde o século 4 a.C. sendo apreciada como um vegetal suculento com benefícios digestivos (COSTA 2009; NOLDIN 2003; SCHULTZ 2004).

A principal parte da planta utilizada para fins medicinais é a folha, tendo entre seus componentes químicos os derivados fenólicos incluindo os ácidos cafeoilquínicos, flavonóides, sesquiterpenos e alguns ácidos alifáticos (ESCOPE, 2009; COSTA, 2009). O extrato de alcachofra é amplamente utilizado para tratar problemas de gastrite, além de ter propriedades diuréticas, atividade antitrombótica, anti-arterosclerótica, hipocolesterolêmica e hepato regeneradora. (ERNST 1995; FINTELMANN, 1996).

3. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado nos Laboratórios LABOCIEN do Centro Universitário de Brasília - UniCEUB, Brasília, DF, no período de agosto de 2018 a junho de 2019. As drogas vegetais Unha de Gato (*Uncaria tomentosa*), Indiano oli-banum (*Boswellia serrata*), Gymnema (*Gymnema sylvestre*) e Alcachofra (*Cynara scolymus*) utilizadas para as análises foram adquirida por meio de parceria com a Drogavet®.

3.1 OBTENÇÃO DAS DROGAS VEGETAIS UTILIZADAS

As espécies utilizadas na obtenção dos extratos foram adquiridas por meio de parceria com uma empresa de manipulação (DrogaVet®) na forma de droga vegetal. As espécies de plantas utilizadas neste trabalho foram escolhidas baseadas no seu potencial para o controle de peso, depressão e em sua possível capacidade de produção de compostos fenólicos que são potentes antioxidantes. (Tabela 1).

Tabela 1. Nome comum e científico das plantas utilizadas para a obtenção do extrato.

Nome comum	Nome científico
Unha de gato	<i>Uncaria tomentosa</i>
Indiano oli-banum	<i>Boswellia serrata</i>
Gymnema	<i>Gymnema sylvestre</i>
Alcachofra	<i>Cynara scolymus</i>

3.2 PREPARO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Para a obtenção dos extratos foram utilizados material desidratado (droga vegetal); 20g do pó foi colocado em um béquer com etanol 99,3% P.A., em uma proporção 1:5 peso/volume, este material foi envolto em papel alumínio, com o objetivo de evitar oxidação do mesmo, perdendo suas propriedades. Foi feita então a maceração à temperatura ambiente, sob agitação constante por sete dias. Após essa etapa o material foi filtrado em papel filtro, retirando qualquer impureza ou resíduo sólido. Este extrato filtrado passou por um processo de evaporação térmica, do qual se utilizou mantas aquecedores (entre 40° a 50° C), evaporando todo o álcool mantendo apenas os princípios ativos em sua forma concentrada.

3.3 ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS – FOLIN-CIOCAUTEAU

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras de extrato etanólico das espécies estudadas foi feita por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin–Ciocalteu com modificações (Singleton & Rossi, 1965).

3.3.1 PREPARO DE SOLUÇÕES

Para o preparo do folin, o reagente Folin-Ciocalteu foi diluído em água destilada onde para cada 1 mL de folin medido em pipeta p1000 foram adicionados 3 mL de água destilada medidos em proveta.

Para o preparo do ácido gálico foram pesados 5 mg de Ácido gálico em balança analítica e posteriormente diluído em 100 mL de água destilada medida em proveta para preparar a solução estoque.

Para o preparo do carbonato de sódio 20% foram pesados 14 g de carbonato de sódio em balança analítica e diluídos em 70 mL de água destilada medida em proveta.

3.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO

Para realizar a curva de calibração foram feitos 6 soluções a serem lidas em espectrofotômetro, sendo intitulados devido a sua concentração (Branco, 10, 20, 30, 40 e 50) todos feitos em triplicata (Tabela 2). Para o preparo do branco foram adicionados a um tubo de ensaio 1000 µL de água destilada, 1 mL de Folin e 2 mL de Carbonato de sódio.

Para o preparo do Branco 10 foram adicionados a um tubo de ensaio 800 µL de água destilada, 200 µL de Solução de Ácido Gálico, 1 mL de Folin e 2 mL de Carbonato de sódio. Para o preparo do 20 foram adicionados a um tubo de ensaio 600 µL de água destilada, 400 µL de Solução de Ácido Gálico, 1 mL de Folin e 2 mL de Carbonato de sódio. Para o preparo do 30 foram adicionados a um tubo de ensaio 400 µL de água destilada, 600 µL de Solução de Ácido Gálico, 1 mL de Folin e 2 mL de Carbonato de sódio.

Para o preparo do 40 foram adicionados a um tubo de ensaio 200 µL de água destilada, 800 µL de Solução de Ácido Gálico, 1 mL de Folin e 2 mL de Carbonato de sódio. Para o preparo do 50 foram adicionados a um tubo de ensaio 1000 µL de Solução de Ácido Gálico, 1 mL de Folin e 2 mL de Carbonato de sódio. A absorbância de todos os tubos foram lidos a 700 nm em cubetas.

Tabela 2 - preparo da curva de calibração

Concentração	Solução de Ácido Gálico (μL)	Água Destilada (μL)	Folin (mL)	Carbonato de sódio 20% (mL)
Branco	-	1000	1	2
10	200	800	1	2
20	400	600	1	2
30	600	400	1	2
40	800	200	1	2
50	1000	-	1	2

3.5 ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

O ensaio foi feito em triplicata para cada amostra (Alcachofra, Gymnema, Boswelia e Unha de Gato) e o branco, onde em cada tubo de ensaio foi adicionado 2 mL de água destilada, 1 mL de folin, 2 mL de carbonato de sódio e 200 μL extrato vegetal. Todas as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 700 nm.

Tabela 3 - Preparo das amostras para o ensaio de compostos fenólicos.

Planta	Água destilada (mL)	Folin (mL)	Carbonato de sódio (mL)	Extrato (μL)
Unha de gato	2	1	2	200
Alcachofra	2	1	2	200
Boswelia	2	1	2	200
Gymnema	2	1	2	200
Branco	2 + 200 (μL)	1	2	-

3.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante foi avaliada utilizando-se o método do sequestro de radicais livres captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS), modificado pela EMBRAPA (2007). Os resultados obtidos por meio dos extratos foram comparados com a curva padrão feita com Trolox. A capacidade para sequestrar o cátion radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS⁺) foi determinada de acordo com metodologia descrita por Chen et al. (2011).

3.6.1 PREPARO DE SOLUÇÕES

A solução de ABTS⁺ foi preparada pela reação de ABTS 7 mM (192 mg de ABTS em 50 mL de água destilada); persulfato de potássio, 140 mM (378,4 mg para 10 mL de água destilada). Foi realizada a incubação à temperatura ambiente no escuro (vidro âmbar), durante 16 h, pois nesta condição, o ABTS (substrato) quando em contato com o persulfato (oxidante) passa por um processo de oxidação gerando radical livre (formando um produto esverdeado), sendo usada posteriormente na curva padrão. Este produto corado (ABTS⁺) quando em contato com algum antioxidante (como trolox ou as amostras de extratos) volta para a forma não oxidada, perdendo assim sua coloração, as leituras realizadas no espectrofotômetro foram postas na tabela 4 (curva padrão do trolox).

Para realizar os experimentos foram diluídos 30 microlitros dos extratos em 3 mL do radical ABTS, este permaneceu em repouso por 6 minutos (para ação do antioxidante). Dado isto foi realizada a leitura dos preparados no espectrofotômetro, em um comprimento de 734 nanômetros; todo o experimento foi realizado em triplicatas e foi utilizando etanol como branco (com o objetivo de calibrar a máquina).

3.6.2 CURVA PADRÃO DO TROLOX

Para o preparo da solução padrão de trolox 2 mM, foram pesados 25 mg de trolox em balança analítica e diluído em álcool etílico completando o volume para 50 mL em uma proveta com álcool etílico, em seguida transferiu-se para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado. Sendo utilizado somente no dia da análise.

A partir da solução padrão de trolox (2.000 M), foram medidas soluções variando a concentração de 100 M a 2.000 M. Em ambiente escuro, foi transferido uma alíquota de 30 µL de cada solução de trolox para tubos de ensaio, misturado com 3 mL da solução do radical ABTS e foi realizada a leitura em 734 nanômetros após 6 minutos da mistura, e utilizado álcool etílico como branco para calibrar o espectrofotômetro.

Tabela 4: Amostras de Trolox preparadas em diferentes concentrações para serem usadas na curva padrão do trolox.

Amostra	Solução padrão trolox (mL)	Álcool Etílico (mL)	Concentração Final (mM)
1	0,5	9,5	100
2	2,5	7,5	500
3	5,0	5,0	1.000
4	7,5	2,5	1.500
5	10	0	2.000

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

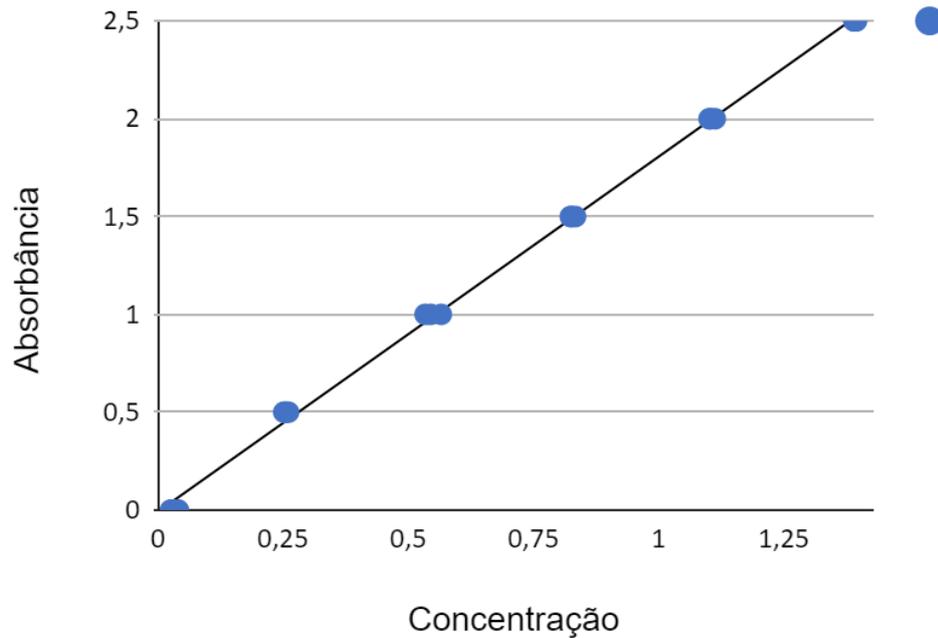
4.1 ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Na tabela 4 estão os valores encontrados para polifenóis totais usados para a curva padrão: Ácido Gálico, em triplicatas, onde podemos encontrar valores que variaram entre 0,032 a 1,395. Estes estão distribuídos no Gráfico 1 que mostra curva padrão para determinação de compostos fenólicos totais (mg/ml)

Tabela 4 - Curva compostos fenólicos totais: Ácido Gálico

Amostra (mg/ml)	Leitura	Concentração
0	0,032	0
0	0,026	0
0	0,041	0
0,5	0,252	0,5
0,5	0,255	0,5
0,5	0,261	0,5
1	0,534	1
1	0,545	1
1	0,566	1
1,5	0,824	1,5
1,5	0,826	1,5
1,5	0,834	1,5
2	1,104	2
2	1,113	2
2	1,101	2
2,5	1,391	2,5
2,5	1,39	2,5
2,5	1,395	2,5

Gráfico 1: curva padrão para determinação de compostos fenólicos totais (mg/ml)



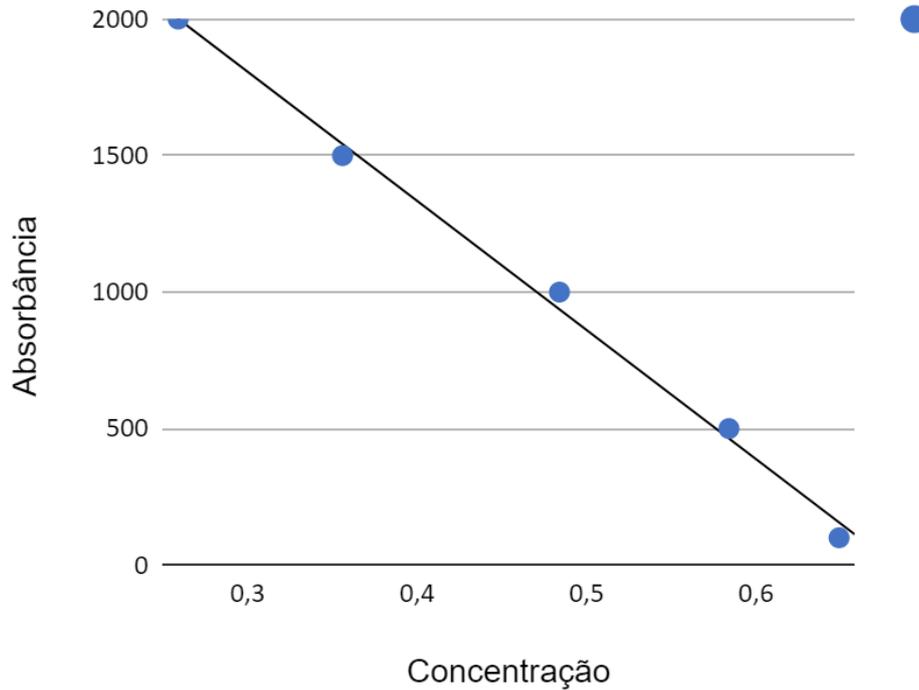
4.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Na tabela 5 estão os valores encontrados para a atividade antioxidante formando a curva padrão: trolox. Nela podemos encontrar valores que variaram entre 0,259 a 0,649, sendo que esta leitura mudou de acordo com a concentração do trolox. Estes estão distribuídos no Gráfico 2 que mostra curva padrão do trolox.

tabela 5:Leitura das amostras de trolox em diferentes concentrações, para realizar a curva.

Amostra	Trolox (μL)	Radical ABTS (mL)	Tempo de incubação (min)	Leitura (absorbância)
1	30	3	6	0,649
2	30	3	6	0,584
3	30	3	6	0,484
4	30	3	6	0,356
5	30	3	6	0,259

Gráfico 2: Curva padrão para determinação de atividade antioxidante.



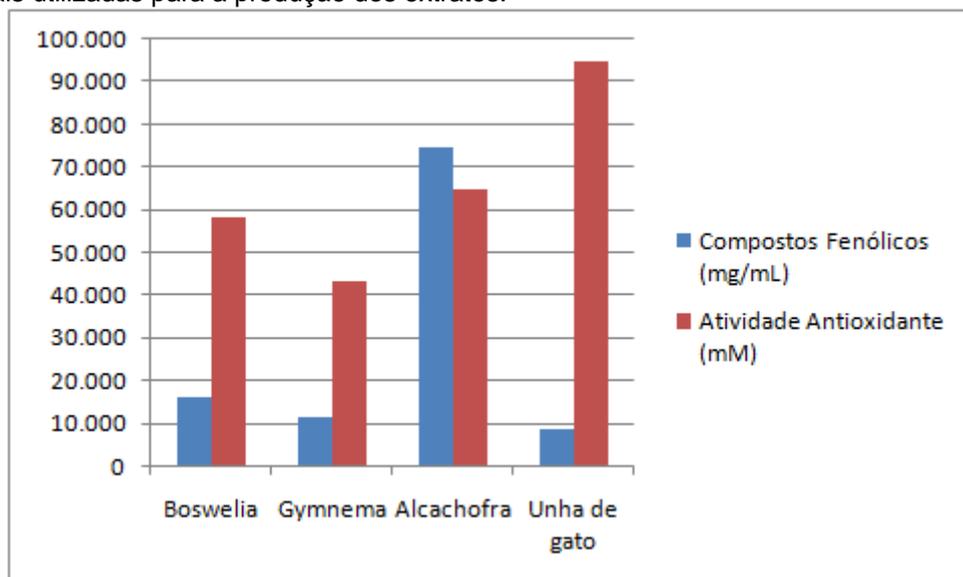
4.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS TRABALHADOS

Após a realização das curvas padrões, foram feitos teste em triplicatas, com os extratos produzidos das drogas vegetais de: Boswelia, Gymnema, Alcachofra e Unha de gato, onde se determinou as quantidades de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos mesmo.

Tabela 6: Resultados da leitura em espectrofotômetro dos extratos trabalhados.

	Compostos Fenólicos (mg/mL)	Atividade Antioxidante (mM)
Boswelia	15.791	58.212
Gymnema	11.357	43.047
Alcachofra	74.880	64.997
Unha de gato	8.669	94.941

Gráfico 3: Variação da quantidade dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante entre as drogas vegetais utilizadas para a produção dos extratos.



Deve-se ressaltar que estes resultados são estimativas do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em seus equivalentes químicos (ácido gálico e trolox), já que diferentes compostos fenólicos contribuem de forma diferente para as leituras. A tabela 6 e o gráfico 3 mostram os resultados obtidos para cada extrato bem como a variação existente entre eles. A desproporcionalidade relativamente alta em relação a atividade antioxidante e compostos fenólicos totais de uma mesma planta se dá pois a atividade antioxidante não é totalmente dependente dos compostos fenólicos, existem outros constituintes químicos e fatores que podem estar relacionados, como o período de colheita, local de crescimento ou até mesmo ao estágio de crescimento da planta, que podem interferir nos metabólicos.

Neste trabalho a maior diferença encontrada entre fenóis totais e atividade antioxidante foi da Unha de Gato, sendo que esta diferença pode ter ocorrido em procedência da diluição do extrato puro em virtude da amostra se encaixar dentro das curvas padrões, para a realização dos teste.

De acordo com Parveen et al. (2019), o teor total de compostos fenólicos e flavonóides do extrato hidroalcoólico de *Gymnema sylvestre* foi de ($r^2 = 0,998$) e da rutina ($r^2 = 0,989$), foram determinados a partir da curva de calibração do ácido gálico; seus resultados estão dentro da curva utilizada neste trabalho, reforçando não apenas o potencial do extrato de *Gymnema sylvestre* mas como também aferindo a qualidade da curva aqui realizada. Em seu trabalho foi averiguado que o teor total de fenólicos foi de 29,36 mg de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato, enquanto o teor de flavonóides foi de 18,65 mg de equivalentes de rutina por grama de extrato. Os resultados obtidos neste trabalho confirmam uma média de 11.357 (mg/mL) de extrato.

Parveen et al. (2019), também traz em seu trabalho, dados sobre potencial antioxidante de *G. sylvestre* que foi equivalente à eliminação de DPPH foi aumentado em relação à concentração do extrato e foi aumentado para uma concentração de 40 µg / mL, sendo que este corrobora para os resultados aqui encontrados, de acordo com a tabela 6.

Segundo Mominur et al., (2014) foi encontrado na *G. sylvestre* (fenóis totais) 53.63636+/- 0.454545, em seu trabalho foi obtido uma concentração substancialmente maior, isso pode ter ocorrido em decorrência da diluição realizada, para se encaixar em diferentes curvas. O extrato de *Gymnema sylvestre* é rico em flavonóides dentre seus principais fenóis, os quais são os principais responsáveis pelo potencial antioxidante do extrato.

Segundo Sharma (2011) o extrato aquoso de *Boswellia serrata* reduz significativamente os radicais livres inibindo até 96,4% destes. Estes radicais são bastante reativos e muitas vezes podem até ser tóxicos para as células, sendo assim, o extrato de *Boswellia* é uma ótima opção para reduzir esses radicais, o que corrobora os resultados encontrados de uma alta atividade antioxidante para esta planta (Tabela 6 e Gráfico 3).

Quando testados os compostos fenólicos de diferentes extratos de *U. tomentosa*, pôde-se observar que as folhas apresentaram maior conteúdo fenólico (17.482,3-32.323,3 µg / g de extrato) do que a casca (5122,0–17,770,2 µg / g de extrato) que é amplamente utilizada para fazer decocções, isso se repetiu para as medições de compostos fenólicos totais (Navarro-Hoyos, et al., 2018). Mesmo que o extrato produzido neste trabalho tenha sido feito a partir da droga vegetal (produto comercializado), e não se sabe ao certo de qual parte da planta a droga foi extraída, os resultados encontrados foram semelhantes ao do trabalho supracitado conforme a tabela 6 e o gráfico 3.

Os resultados encontrados por Garcia et al. (2012) ilustra que o ensaio de radicais livres são considerados confiáveis e reprodutíveis, devido a seus produtos apresentarem o coeficiente de variação menor, apresentando assim, significância quando aplicados em análises estatísticas.

Segundo Rice-Evans et al., (1995) os compostos fenólicos totais encontrados no extrato feito a partir das folhas de alcachofra foi elevado (aproximadamente 2795 mg), porém, o teor dos compostos fenólicos não determina a capacidade de eliminar radicais livres. Alguns métodos podem ser utilizados para confirmar as propriedades antioxidantes como o uso do radical livre ABTS, sendo assim Biel (2019) encontrou resultados positivos para a capacidade antioxidante do extrato de alcachofra, ilustrando uma alta capacidade de eliminar esses radicais, corroborando os resultados encontrados neste trabalho conforme a tabela 6 e o gráfico 3.

5. CONCLUSÃO

Para que uma planta medicinal desempenhe suas funções biológicas é necessário se seguir todas as etapas de extração de princípios ativos, levando sempre em consideração a

solubilidade e disponibilidade desses compostos. Durante o processo extrativo podemos também coletar informações sobre as propriedades físicas do material vegetal, como cor, odor e textura. Desta forma, torna-se interessante seguir com a caracterização bioquímica desses extratos. Fazem-se necessários mais testes para avaliar os extratos destas plantas, sejam eles combinados com outros tipos de extratos ou em maiores concentrações, pois todos apresentam potencial para atividade antioxidante e altos teores de compostos fenólicos.

Devido à simplicidade de uma reação bioquímica, a atividade sequestradora de radicais livres de qualquer extrato vegetal é comumente usada para determinar o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Os extratos hidroalcoólicos são as ricas fontes de fenóis e flavonóides e potencial antioxidante. O extrato hidroalcoólico demonstrou claramente o forte potencial antioxidante contra os radicais livres ABTS.

O presente trabalho sugere que seja realizado um perfil completo via fitoquímicos e o perfil metabólico precisa ser feito para identificar os outros componentes fenólicos ativos no campo de descoberta e desenvolvimento de drogas, que podem ajudar em diversas doenças.

Referências Bibliográficas

- A. K. VERMA, S. S. DHAWAN, S. SINGH, K. A. BHARATI, AND JYOTSANA, "Genetic and chemical profiling of *Gymnema sylvestre* accessions from central India: its implication for quality control and therapeutic potential of plant," **Pharmacognosy Magazine**, v.12, n. 4, p.407– 413, 2016.
- AGUILAR, J.L. et al. Anti-inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Pretoria, v. 81, 271–276, 2002.
- ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v.350, n.1, p.103-108,1996.
- ARTS ICW, HOLLMAN PCH. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **Journal of clinical nutrition**.v.81, n.1, p. 317-325, jan., 2005.
- AUGUSTO, O.; HIX, S.; MORAIS, M. S.; VASQUEZ-VIVAR, J.; **Ciência e Cultura** 1995, 280, 27.
- BENVENUTO, Monica. et al. The Potential Protective Effects of Polyphenols in Asbestos-Mediated Inflammation and Carcinogenesis of Mesothelium. **Nutrients**, Basel, v.8, n.5, p. 275, may, 2016.
- BIEL, W. et al. Proximate Composition, Minerals and Antioxidant Activity of Artichoke Leaf Extracts. **Biological Trace Element Research**, Jun, 2019.
- BISHAYEE, A;CHATERJEE, M. Hypolipidemic and antiatherosclerotic effect of oral *Gymnema sylvestre* leaf extract in albino rats fed on high fat diet. **Phytotherapy research**, London, v.8, n.2, p.118 - 120. Mar, 1994.
- CADENAS, E. Basic mechanisms of antioxidant activity. **Biofactors**, Mexico City, v. 6, n.4, p. 391-397, 1997.
- CAI, Y. et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life sciences**, Ramadan, v.74, n.17, p. 2157-2184, mar., 2004.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. "A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives". **Food and Chemical Toxicology**, New York, v.51, p.15-25, jan., 2013.
- COSTA RS, OZELA EF, BARBOSA WLR, PEREIRA NL, SILVA JAC. **Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (spray-drying) de *Cynara scolymus* L (Asteraceae)**. Rev. Bras. Farm. 2009; 90(3): 169-174.
- DE MATTA, S. M; et al. Alkaloids and procyanidins of *Uncaria* sp. from Peru. **Farmaco Sci**, Pavia, v.31, n.7, p.527-535. jul. 1976.
- ERNST E. **Die Artischocke – eine Heilpflanze mit Geschichte un zukunftsprospektive. Naturamed.** 1995; 10:7.
- ESCAP Monographs: **The scientific foundation for Herbal Medicinal Products 2nd Edition, Escop**, 2009.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira.**, São Paulo , v. 43, n. 1, p. 61-68, Mar. 1997.

- FERRO, Degmar. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu. p. 211, 214, 2008.
- FINTELMANN V. **Antidyspeptische und lipidsenkende wirkungen von artischockenblatter-extrakt**. Zeitschrift für Allgemeinmedizin. 1996; 72:48-57.
- GARCIA, E.J. et al. Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth. **Braz. Den. Journal**. v. 23, n.1, p.22-27, 2012.
- GAYATHRI, B. et al. Pure compound from *Boswellia serrata* extract exhibits antiinflammatory property in human PBMCs and mouse macrophages through inhibition of TNF α , IL-1 β , NO and MAP kinases. **International immunopharmacology**, Amsterdam, v.7, n.4, p.473 - 482. Apr, 2007.
- HUSSAIN, H. et al. **Chemistry and biology of essential oils of genus boswellia**. Evid Based Complement Alternat Med, Athens, mar. 2013.
- JONES, K. **Cat's claw, healing vine of Peru**. Seattle: Sylvan Press, 1995.
- JOSHI, P. K. et al. "Assessment of RAPD and ISSR marker systems for establishing distinctiveness of forage Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) varieties as additional descriptors for plant variety protection," **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, vol. 71, n. 1, p. 25–36, 2011.
- MARTELLI, Felipe; NUNES, Francis Morais Franco. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**. São Paulo, v. 66, n. 3, p. 54-57, set. 2014.
- MARTINS, M.A; GONCALVES, G. F; SOARES, A.C.F. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares associados a compostos fenólicos, no crescimento e mudas de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília , v. 35, n. 7, p. 1465-1471, Jul. 2000.
- MASSIMO, Nepi, FEDERICO, Selvi, ETTORE Pacini. Variation in nectar–sugar profile of *Anchusa* and allied genera (Boraginaceae), **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 162, n. 4, p. 616 - 627, april, 2010.
- MIRANDA, E.M.; SOUSA, J.A.; PEREIRA, R.C.A. Caracterização e avaliação de populações nativas de unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. e *U. guianensis* (Aubl.) Gmel.] no vale do rio Juruá-AC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, p.41-46, 2003.
- MIRTHA, N. H. et al. Polyphenolic Composition and Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanollic Extracts from *Uncaria tomentosa* Bark and Leaves. **Antioxidants**. v.65, n.7, May, 2018.
- MONTORO, P. et al. Identification and quantification of components in extracts of *Uncaria tomentosa* by HPLC-ES/MS. **Phytochem Anal**, Chichester, v.15, n.1, p.55-64, jan, 2004.
- MORAIS, S.M. et al . Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa , v. 19, n. 1b, p. 315-320, Mar. 2009.
- NADKARNI AK. 3rd ed. **Mumbai: Popular Prakashan Pvt, Ltd**; 1982. Indian Material Medica.
- NASCIMENTO, Gislene GF et al. Atividade antibacteriana de extratos vegetais e fitoquímicos em bactérias resistentes a antibióticos. **Revista Brasileira de Microbiologia**. São Paulo, v. 31, n. 4, p. 247-256, out. 2000.
- NETZEL, Michael. et al. Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdam v.8, n.3, p.365-372, sep, 2007.

NOLDIN VF & FILHO VC. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L (alcachofra) cultivada no Brasil. **Química nova**. v.26, n.3, p.331-334. 2003.

OBREGÓN-VILCHES, L. **Uña de Gato. Género Uncaria. Estudios botánicos, químicos y farmacológicos de Uncaria tomentosa y Uncaria guianensis**. 3.ed. Lima: Instituto de Fitoterapia Americano, 1997.

P. TIWARI, B. N. MISHRA, AND N. S. SANGWAN, “**Phytochemical and pharmacological properties of *Gymnema sylvestre*: an important medicinal plant,**” *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 830285, 18 pages, 2014.

PESSINI, G.L. et al . Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá , v. 13, supl. 1, p. 21-24, 2003.

POLLITO, P.A.Z. **Dendrologia, anatomia do lenho e status de conservação das espécies lenhosas dos gêneros Cinchona, Croton e Uncaria no estado do Acre, Brasil**. 181p. Tese Doutorado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2004.

RAHMAN, M. et al. Comparative assessment on in vitro antioxidant activities of ethanol extracts of *Averrhoa bilimbi*, *Gymnema sylvestre* and *Capsicum frutescens*. **Pharmacognosy Research**. v.6. n.1, p. 36 - 41. Jan, 2014.

RICE-EVANS C, MILLER NJ, BOLWELL GP, BRAMLEY PM, PRIDHAM JB (1995) **The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids**. *Free Radic Res* 22:375–383

RIZZI, R. et al. Mutagenic and antimutagenic activities of *Uncaria tomentosa* and its extracts. **Journal Ethnopharmacol**, Lausanne, v.38: n.1, p. 63 - 77. jan, 1993.

ROSS, J.A; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual review of nutrition**, Palo Alto, v.22, p.19-34. july, 2002.

SAFAYHI, H. et al. Mechanism of 5-Lipoxygenase Inhibition by Acetyl-11-keto- β -boswellic Acid. *Mol Pharmacol*. **Molecular pharmacology**, Bethesda, v.47, n.6 p.1212–1216, jun. 1995.

SCHUTZ, K.D. et al. Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from Artichoke (*Cynara Scolymus* L) Heads, Juice, and Pomace by HPJC-DAD- ESI/MS. **J.Agric.Food.Chem**. v.52, p.4090 - 4096, 2004.

SHABANA, P. et al. Chromatography Based Metabolomics and In Silico Screening of *Gymnema sylvestre* Leaf Extract for Its Antidiabetic Potential. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2019.

SHENG, Y. et al. Induction of apoptosis and inhibition of proliferation in human tumor cells treated with extracts of *Uncaria tomentosa*. **Anticancer Research**, Palo Alto, v.18, n.5, p.3363–3368. sep. 1998.

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

VARGAS, S. F. et al. Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. n. 16:83, feb., 2016.

YOUNGSON, R. **Como combater os radicais livres: o programa de saúde dos antioxidantes**. Rio de Janeiro: Campus, 1995. 151p.

YU, T.W. et al. Reactive oxygen species induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, Amsterdam, v.379, n.2, p.201-210, oct. 1997.