

# 7

CAPÍTULO

## **IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS ISOLADOS DE *ERIOTHECA PUBESCENS* (MALVACEAE)**

*Michelle Aparecida Machado<sup>1</sup>*

*Vinícius Evangelista Araújo<sup>1</sup>*

*Vanessa Gisele Pasqualotto Severino<sup>1</sup>*

*Richele Priscila Severino<sup>1</sup>*

**Agradecimentos:** Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de

---

<sup>1</sup> Unidade Acadêmica Especial de Física e Química, Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão, Catalão, Brasil.

E-mail de contato: [ilp\\_michelle@hotmail.com](mailto:ilp_michelle@hotmail.com)

Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro. Agradecem também ao Prof. Dr. Hélder Nagai Consolaro, da UFG, pela identificação da espécie *E. pubescens*, e aos professores Antônio Gilberto Ferreira, da UFSCar, e Luciano Morais Lião, da UFG, pela realização dos experimentos de RMN.

**Resumo:** A espécie *Eriotheca pubescens*, conhecida popularmente como paineira do Cerrado, é uma espécie pertencente à família Malvaceae e ocorre em áreas de Cerrado. Análise fitoquímica de espécies pertencentes a essa família descreve o isolamento de ácidos graxos, óleos essenciais, sesquiterpenoides do tipo cadineno, lactonas sesquiterpênicas, triterpenoides, flavonoides, entre muitos outros compostos. No entanto, a espécie *E. pubescens* não possui estudos sobre sua composição química, portanto o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo químico do extrato etanólico do caule dessa espécie, buscando o isolamento, purificação e caracterização de metabólitos secundários, além da avaliação do potencial antioxidante dos compostos isolados. Foi possível o isolamento e identificação estrutural de cinco compostos fenólicos, sendo estes o ácido *p*-hidroxibenzoico (I), o ácido 3,4-diidroxibenzoico (II), o ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico (III), o ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico (IV) e o flavonol quercetina (V).

**Palavras-chave:** *Eriotheca pubescens*. Cerrado. Fenólicos. Antioxidante.

**Abstract:** *Eriotheca pubescens* is a species of the Malvaceae family and is found in areas of Cerrado, popularly known as the “paineira do cerrado”. Previous phytochemical investigations of Malvaceae species describe the isolation of fatty acids, essential oils, sesquiterpenoids of cadinene-type, sesquiterpene lactones, triterpenoids and flavonoids, among many other compounds. There are no previous chemical studies on *E. pubescens* and then the present study aimed to carry out the chemical study of the ethanol extract of the stem of this species in the isolation, purification and characterization of secondary metabolites, and evaluation of the antioxidant capacity of the isolated compounds. The study has isolated and identified five phenolics compounds, of which four of derivatives of benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid (I), 3,4-diidroxibenzoic acid (II), 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid (III), 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid (IV) and the flavonol quercetin (V).

**Keywords:** *Eriotheca pubescens*. Cerrado. Phenolics. Antioxidant.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com área colossal que possui diversos tipos de solo e uma grande variedade de climas fornecendo condições únicas de pressão seletiva às adaptações da vida. Nesse ambiente de intensa competição, as plantas, vivendo

sob estresse, desenvolvem mecanismos químicos para adaptação. Entre os mecanismos de defesa química está a síntese de moléculas antivirais, antifúngicas e inseticidas. A extraordinária diversidade química encontrada em espécies tropicais transforma os biomas brasileiros em reservatórios potenciais de novos princípios ativos (QUEIROZ; FARO; MELO, 2009).

Dentre os biomas brasileiros, encontra-se o Cerrado, com condições ambientais adversas que estimulam a produção de metabólitos secundários, elevando assim sua diversidade química (ESPINDOLA-DARVENE, 2007). Localizado principalmente no Planalto Central do Brasil, esse bioma ocupava cerca de 24% do território nacional, sendo a segunda maior formação vegetal brasileira depois da Amazônia, e é também considerada a savana tropical mais rica do mundo em biodiversidade (EMBRAPA, 2007). No entanto, mesmo com rica biodiversidade, o Cerrado teve sua cobertura vegetal original reduzida em cerca de 50% até o ano de 2010 (MMA/IBAMA, 2011).

As condições ambientais do Cerrado, que sofre seis meses ou mais de seca com solo pobre em nutrientes e rico em alumínio, estimulam a produção de metabólitos secundários, elevando assim sua diversidade química. Considerando essa riqueza química é que se buscam novas opções terapêuticas que possam permitir chegar a medicamentos inovadores para tratar uma diversidade de patologias, como doenças infecciosas, câncer, diabetes, obesidade, entre outras (ESPINDOLA-DARVENE, 2007). Além dos aspectos ambientais, o Cerrado tem grande importância social, com mais de 200 espécies usadas na medicina popular e mais de 400 utilizadas na recuperação de solos degradados. Diversos tipos de frutos comestíveis são regularmente consumidos pela população local, tais como os frutos do pequi (*Caryocar brasiliense*), buriti (*Mauritia flexuosa*), mangaba (*Hancornia speciosa*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), bacupari (*Salacia crassifolia*), cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*), araticum (*Annona crassifolia*) e as sementes do barú (*Dipteryx alata*). Contudo, inúmeras espécies de plantas e animais correm risco de extinção (MMA, 2015).

O Cerrado é uma das 25 áreas do mundo consideradas críticas para a conservação, em virtude de sua riqueza biológica e da alta pressão antrópica à qual vem sendo submetido. Devido a essa excepcional riqueza, o Cerrado, ao lado da Mata Atlântica, é considerado um dos *hotspots* mundiais, isto é, um dos biomas mais ricos e ameaçados do planeta. A extensa transformação antrópica do Cerrado tem resultado em grandes perdas de biodiversidade (MMA, 2002). Apesar do reconhecimento de sua importância biológica, de todos os *hotspots* mundiais, o Cerrado é o que possui a menor porcentagem de áreas sob proteção integral, tendo somente 8,21% de seu território legalmente protegido por unidades de conservação (MMA, 2015).

Na diversidade de espécies da flora do Cerrado, encontram-se espécies da família Malvaceae, que possui distribuição predominantemente tropical, incluindo

cerca de 250 gêneros e 4.200 espécies. No Brasil, ocorrem cerca de 80 gêneros e 400 espécies (CARVALHO; GAIAD, 2015). Produtos naturais extraídos de plantas que pertencem à família Malvaceae são utilizados no tratamento de muitas enfermidades, entre elas picadas de cobra, asma, distúrbios gastrointestinais e reumatismo, como diurético, entre outros (GOMES et al., 2011). Estudo químico realizado com espécies pertencentes a essa família descreve o isolamento de ácidos graxos, óleos essenciais, sesquiterpenoides do tipo cadineno, lactonas sesquiterpênicas, triterpenoides, flavonoides, entre outros compostos (COSTA et al., 2009).

Oliveira et al. (2012) realizaram estudo de atividade antioxidante e determinação do teor de compostos fenólicos presentes na fração acetato de etila, proveniente de extração líquido-líquido de extrato etanólico de quatro espécies de plantas da família Malvaceae (*Sidastrum micranthum*, *Wissadula periplocifolia*, *Sida rhombifolia* e *Herissantia crispa*). Os resultados obtidos demonstraram que espécies dessa família possuem alto teor de compostos fenólicos e boa atividade antioxidante e, conseqüentemente, podem ser utilizadas no tratamento de doenças relacionadas ao aumento na produção de radicais livres.

O gênero *Eriotheca* Schott & Endl. pertence à família Malvaceae e é constituído por 24 espécies distribuídas exclusivamente na América do Sul, sendo que no Brasil encontram-se 16 espécies, presentes na Mata Atlântica, na Floresta Amazônica e no Cerrado, abrangendo estados desde a região Norte até a região Sudeste (DUARTE; ESTEVES, 2012).

A espécie *Eriotheca pubescens* (Mart. Ex. Zucc.) Schott & Endler. (Malvaceae), de nomes populares paineira do cerrado (DF) ou colher de vaqueiro (SP), ocorre em áreas do cerrado sentido restrito, cerradão e nas bordas das matas de galeria, sendo uma espécie nativa e não endêmica do Brasil (BARBOSA, 2008). Essa espécie está presente nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, nos estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo e no Distrito Federal. É caracterizada como árvore melífera, semidecídua que possui período de floração de julho a setembro e frutificação de agosto a novembro. Os frutos produzem uma paina usada para confecção de tecidos e preenchimento de travesseiros (DUARTE, 2015; LORENZI, 2002).

## 2 OBJETIVOS

Realizar o estudo químico do extrato etanólico do caule de *E. pubescens* buscando o isolamento, purificação e caracterização de metabólitos secundários, assim como avaliar o potencial antioxidante dos compostos fenólicos isolados, através do método de captura dos radicais livres com DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Coleta do material vegetal**

A espécie *E. pubescens* foi coletada aleatoriamente nas dependências da Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão (UFG/RC), no município de Catalão-GO em 20 de maio de 2010. Os dados e as coordenadas do GPS (S18°09'16.4"; W47°55'43.2") foram armazenados para coletas futuras. Essa parte do trabalho foi auxiliada pelo Prof. Dr. Hélder Nagai Consolaro (Departamento de Ciências Biológicas – UFG/RC), o qual realizou a identificação e a catalogação do material vegetal.

#### **3.2 Preparo do extrato etanólico**

O caule coletado da espécie *E. pubescens* foi seco, moído e submetido à extração em etanol à temperatura ambiente. Foram realizadas três extrações sucessivas de sete dias cada, sendo que, após cada extração, o material foi filtrado, e o solvente, evaporado em evaporador rotativo à baixa pressão.

#### **3.3 Isolamento de metabólitos secundários**

Inicialmente, o extrato etanólico foi analisado por cromatografia em camada delgada (CCD), de maneira a avaliar a natureza dos compostos a serem separados. A avaliação por CCD foi feita eluindo as amostras, utilizando misturas de solventes orgânicos (Hex/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/AcOEt/MeOH) em diferentes proporções; como reveladores, foram utilizados solução ácida de vanilina e radiação ultravioleta nos comprimentos de onda 254 e 365 nm.

Após a análise por CCD, o extrato foi fracionado por cromatografia em coluna (CC), sendo as frações secadas, pesadas e reavaliadas quanto à sua polaridade via CCD. As frações de média e baixa polaridade foram submetidas a separações por cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária sílica-gel e, no caso das frações de média a alta polaridade, utilizou-se como fase estacionária *Sephadex* LH-20.

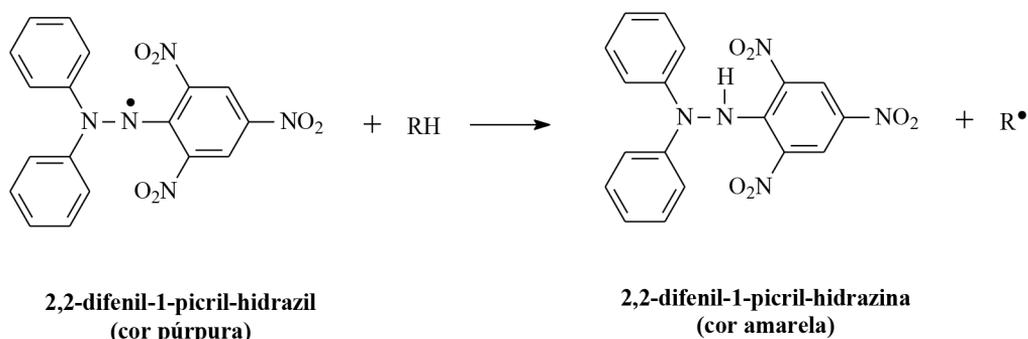
#### **3.4 Identificação estrutural das substâncias isoladas**

Para caracterização e elucidação estrutural, as substâncias isoladas foram submetidas à ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Os experimentos de RMN foram realizados no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, em um equipamento 400 Bruker, AVANCE III, 9,4 Tesla, em colaboração com o Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira, e também no Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Regional Goiânia, em um equipamento

500 Bruker, AVANCE III, 11,75 Tesla, em colaboração com o Prof. Dr. Luciano Morais Lião.

### 3.5 Ensaio antioxidante

A avaliação da capacidade antioxidante das amostras foi realizada por meio do ensaio que se baseia na redução do radical DPPH<sup>•</sup>, de coloração violeta e máximo de absorvância a 517 nm, que, ao aceitar um elétron ou um H<sup>•</sup>, torna-se uma molécula estável de coloração amarela, conseqüentemente diminuindo a absorvância (Figura 1).



**Figura 1.** Estrutura química do radical DPPH<sup>•</sup> e sua reação com um antioxidante indicado por RH. Fonte: Pyszynska e Pekal (2013).

Para a determinação da atividade antioxidante, as amostras foram solubilizadas em metanol na concentração de 1 mg/mL e, a partir da solução inicial, foram realizadas sucessivas diluições de concentrações (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63 e 7,81 µg/mL). Como controle positivo, foi utilizada uma solução-padrão de quercetina (LU et al., 2014) nas mesmas concentrações das amostras ensaiadas. Os ensaios foram realizados em tubos de ensaio, onde adicionou-se 150 µL da solução de amostra em diferentes concentrações e 2.850 µL da solução metanólica 0,1 mM de DPPH. Em seguida, os tubos de ensaio foram agitados em agitador vórtex para homogeneização e incubados ao abrigo de luz por 30 minutos à temperatura ambiente. Após incubação, foram realizadas leituras em espectrofotômetro de UV-Vis a 517 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas da leitura do controle negativo. A porcentagem de redução do radical DPPH<sup>•</sup> foi calculada segundo a Equação (1):

$$\% \text{ redução do DPPH}^{\bullet} = [(Abs_{\text{controle}} - Abs_{\text{amostra}}) / Abs_{\text{controle}}] \times 100 \quad (1)$$

Em que:

$Abs_{amostra}$  = absorvância da amostra com a solução de DPPH;

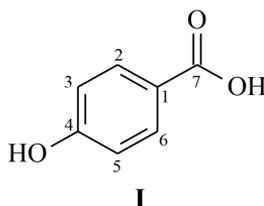
$Abs_{controle}$  = absorvância da solução metanólica de DPPH (controle negativo).

A atividade sequestrante do radical DPPH• foi expressa em termos de  $EC_{50}$  (concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH), sendo essa determinada através do cálculo de atividade antioxidante em diferentes concentrações, expressa em uma curva de capacidade antioxidante da amostra  $\times$  concentração (MISHRA; OJHA; CHAUDHURY, 2012).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação estrutural do ácido *p*-hidroxibenzoico (I)

O ácido *p*-hidroxibenzoico (ácido 4-hidroxibenzoico) (I) foi obtido na forma de um sólido marrom (43,9 mg) e, quando analisado por CCD e revelado em solução ácida de vanilina, apresentou uma mancha cinza-azulada. Quando submetido à radiação UV em comprimento de onda 254 nm e 365 nm, apresentou-se como uma mancha verde e azul, respectivamente. A identificação estrutural foi realizada utilizando as técnicas espectroscópicas uni e bidimensional de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$ , em comparação com dados da literatura (DHAKAL et al., 2009).



No espectro de RMN de  $^1H$  (Figura 2) da substância I, verificou-se a presença de sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo um duplete em  $\delta_H$  6,81 ( $J = 8,8$  Hz, 2H) e um duplete em  $\delta_H$  7,87 ( $J = 8,9$  Hz, 2H) atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-5; H-2 e H-6, respectivamente. No espectro de RMN de  $^{13}C$  (Figura 3) da substância I, foram observados cinco sinais de carbono entre  $\delta_C$  115 e 171, sendo os sinais mais desblindados  $\delta_C$  163,3 e 170,5 atribuídos aos carbonos carbinólico (C-4) e carboxílico (C-7). Na análise do mapa de contorno de HSQC (Figura 4) da substância I, foram observadas as correlações de hidrogênios e carbonos diretamente ligados.

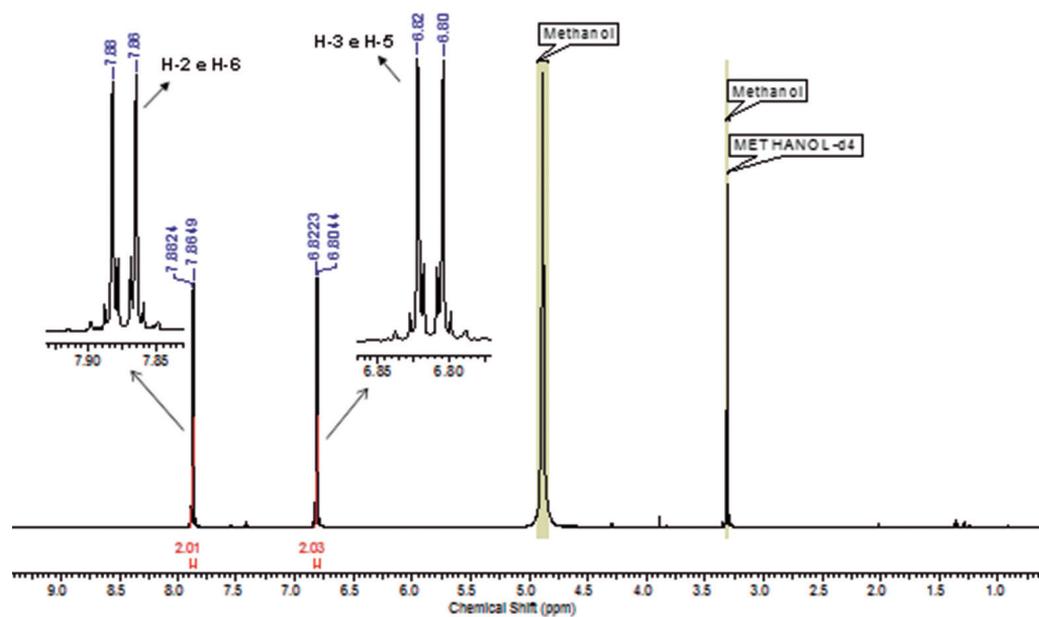


Figura 2. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) da substância I.

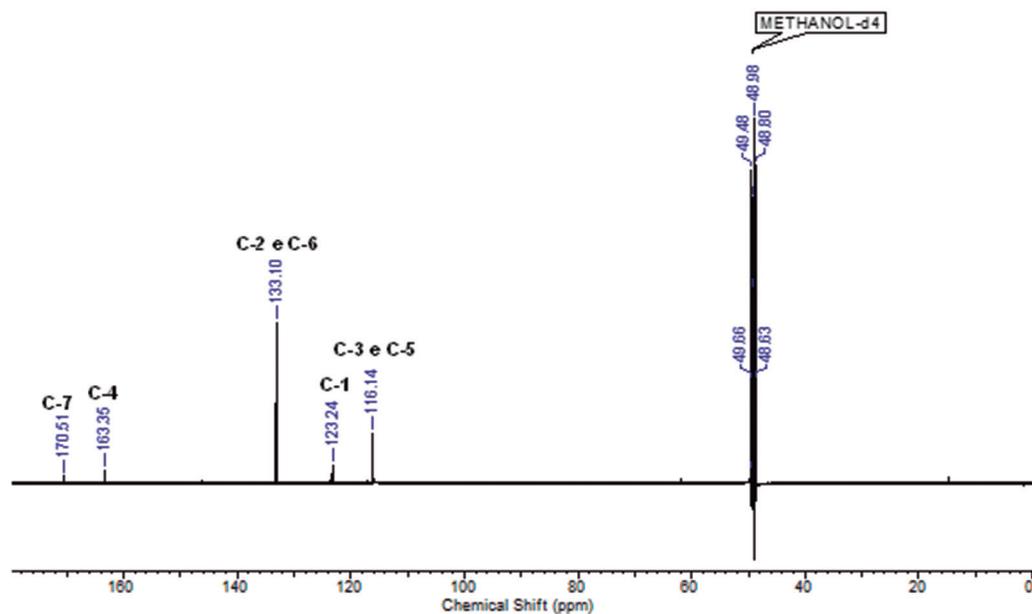


Figura 3. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) da substância I.

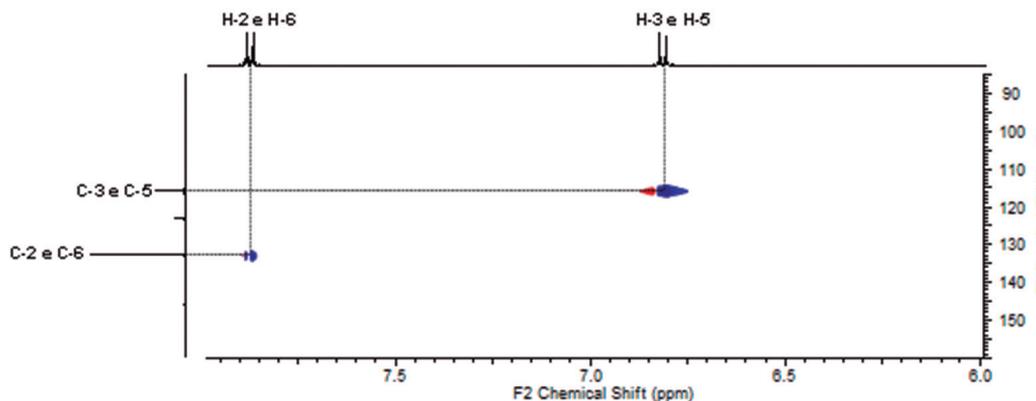
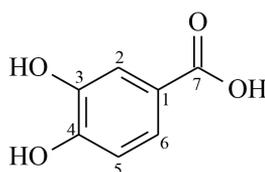


Figura 4. Mapa de contorno HSQC da substância I ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz).

## 4.2 Identificação estrutural do ácido 3,4-diidroxibenzoico (II)

O ácido 3,4-diidroxibenzoico (ácido protocatecuico) (II) foi obtido na forma de um sólido amarelo (148,3 mg) e, quando analisado por CCD e revelado em solução ácida de vanilina, apresentou uma mancha cinza. Manchas verde e azul foram observadas quando submetido à radiação UV em comprimento de onda 254 nm e 365 nm, respectivamente. A identificação estrutural foi feita utilizando as técnicas espectroscópicas uni e bidimensional de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , em comparação com dados da literatura (LEE et al., 2011).



II

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 5) da substância II, verificou-se a presença de sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo um dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,79 ( $J = 7,8$  Hz, 1H), um dubleto largo em  $\delta_{\text{H}}$  7,41 ( $J = 2,0$  Hz, 1H) e um singlete largo em  $\delta_{\text{H}}$  7,44 (1H), atribuídos aos hidrogênios H-5, H-6 e H-2, respectivamente. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 6) da substância II, foram observados sete sinais de carbono entre  $\delta_{\text{C}}$  115 e 171, sendo os sinais mais desblindados  $\delta_{\text{C}}$  146,2; 151,6 e 170,4 atribuídos aos carbonos carbinólicos (C-3 e C-4) e carboxílico (C-7). Na análise do mapa de contorno de HSQC (Figura 7) da substância II, foram observadas as correlações de hidrogênios e carbonos diretamente ligados. Foi observada também correlação não direta, em *meta*, do H-2 com o C-6.

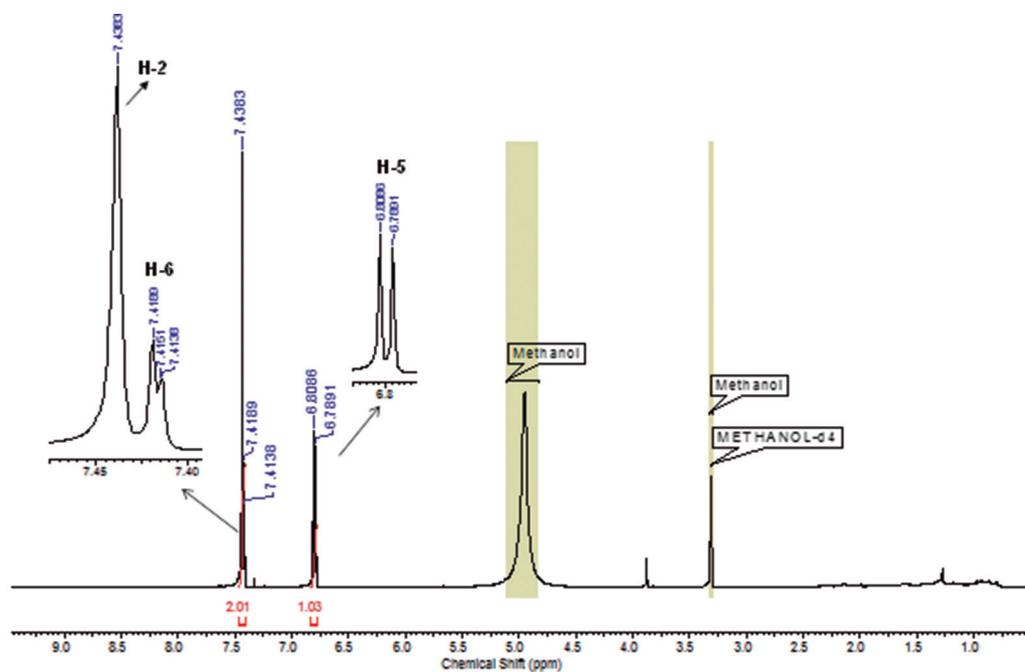


Figura 5. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) da substância II.

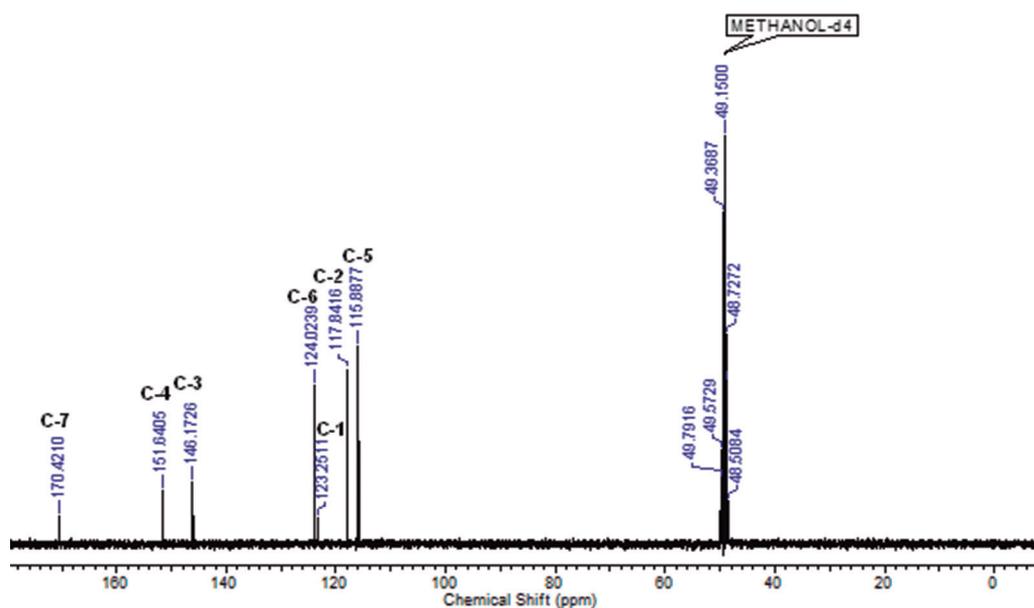


Figura 6. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) da substância II.

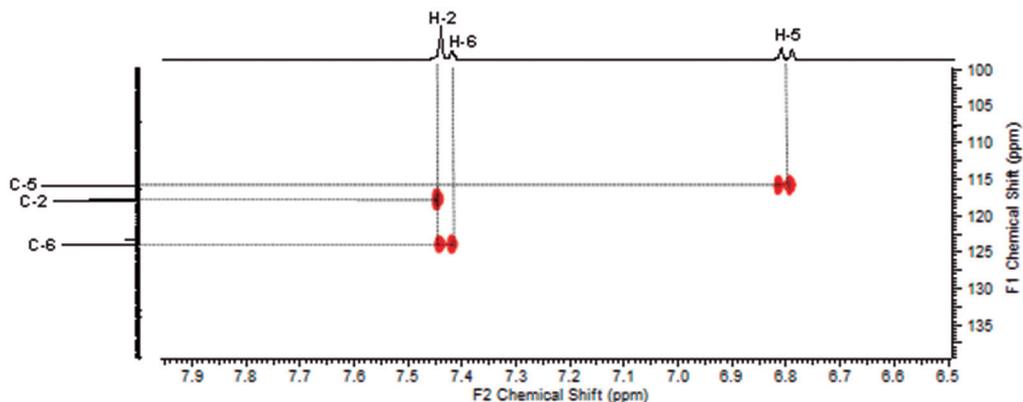
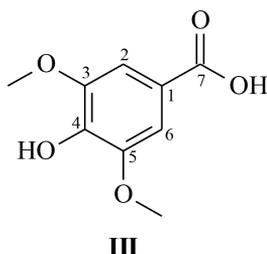


Figura 7. Mapa de contorno HSQC da substância II ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

### 4.3 Identificação estrutural do ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico (III)

O ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico (ácido siríngico) (III) foi obtido na forma de um sólido marrom (8,1 mg) e, quando analisado por CCD, apresentou uma mancha cinza ao ser revelado em solução ácida de vanilina, e mancha verde e azul quando submetido à radiação UV em comprimento de onda 254 nm e 365 nm, respectivamente. A identificação estrutural foi feita utilizando as técnicas espectroscópicas uni e bidimensional de RMN de  $^1\text{H}$  e HSQC, em comparação com dados da literatura (ABBAS et al., 2007).



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 8) da substância III, verificou-se a presença de um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  7,33 (2H), atribuído aos hidrogênios aromáticos H-2 e H-6. Foi observado ainda um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  3,88 (6H), atribuído aos hidrogênios das metoxilas (3- $\text{OCH}_3$  e 5- $\text{OCH}_3$ ). Na análise do mapa de contorno de HSQC (Figura 9) da substância III, foram observadas as correlações de hidrogênios e carbonos diretamente ligados.

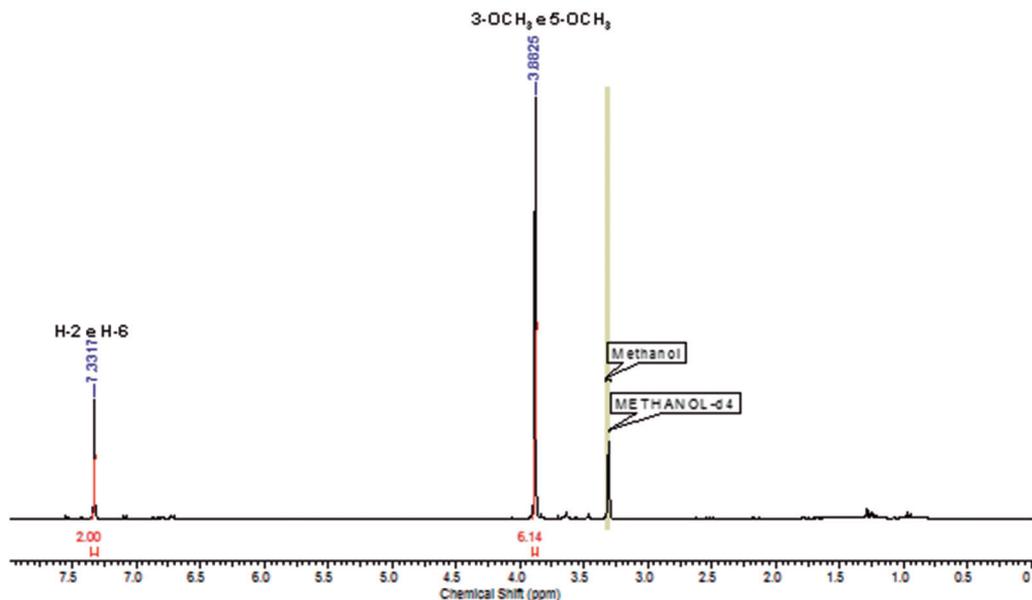


Figura 8. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) da substância III.

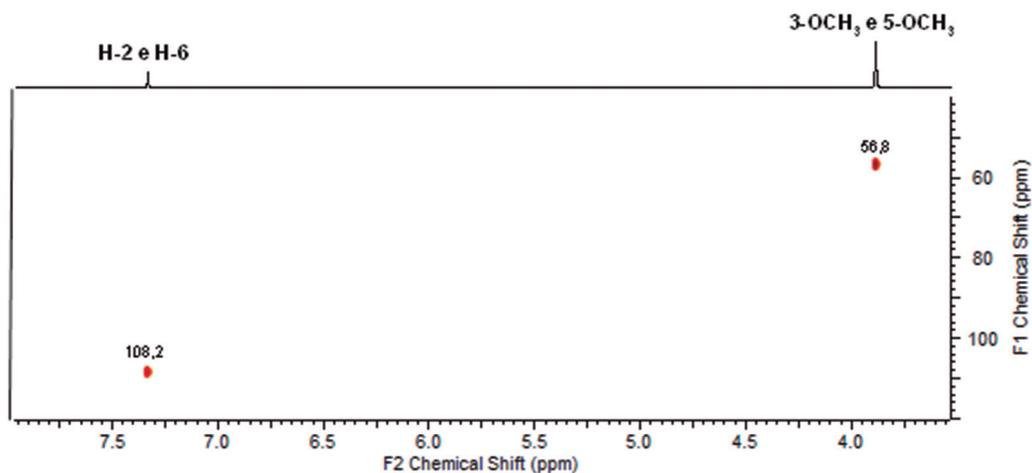
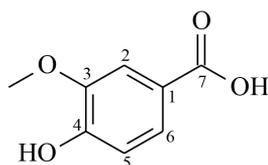


Figura 9. Mapa de contorno HSQC da substância III ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

#### 4.4 Identificação estrutural do ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico (IV)

O ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico (ácido vanílico) (IV) foi obtido na forma de um sólido marrom (5,1 mg) e, quando analisado por CCD e revelado com solução ácida de vanilina, apresentou uma mancha cinza. Quando submetido à

radiação UV em comprimento de onda 254 nm e 365 nm, apresentou, respectivamente, uma mancha verde e azul. A identificação estrutural foi feita utilizando as técnicas espectroscópicas uni e bidimensional de RMN de  $^1\text{H}$  e HSQC, em comparação com dados da literatura (ZHANG et al., 2009).



IV

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 10) da substância IV, verificou-se a presença de vários sinais na região de hidrogênios aromáticos. Dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,76 ( $J = 8,3$  Hz, 1H) e  $\delta_{\text{H}}$  7,43 ( $J = 1,8$  Hz, 1H) foram atribuídos aos hidrogênios H-5 e H-2, respectivamente. Observou-se ainda um duplo dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,39 ( $J = 1,8$  e  $8,3$  Hz, 1H), que indica o acoplamento *meta* entre H-2 e H-6 e o acoplamento *orto* entre H-5 e H-6. Foi observado ainda um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  3,88 (3H), atribuído aos hidrogênios da metoxila (3-OCH<sub>3</sub>). Na análise do mapa de contorno de HSQC (Figura 11) da substância IV, foram observadas as correlações de hidrogênios e carbonos diretamente ligados.

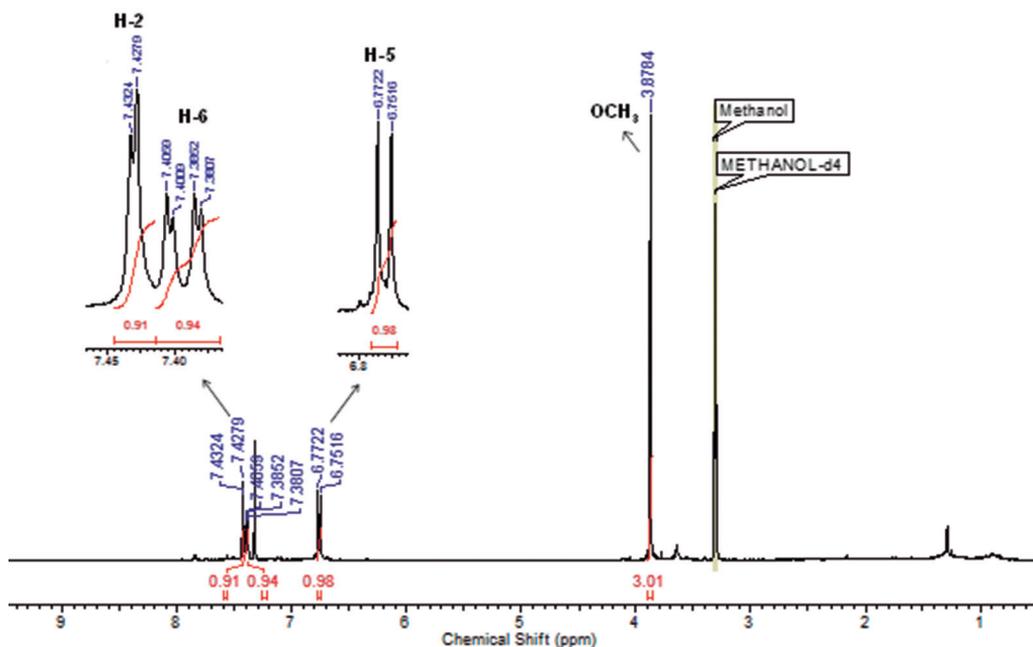


Figura 10. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) da substância IV.

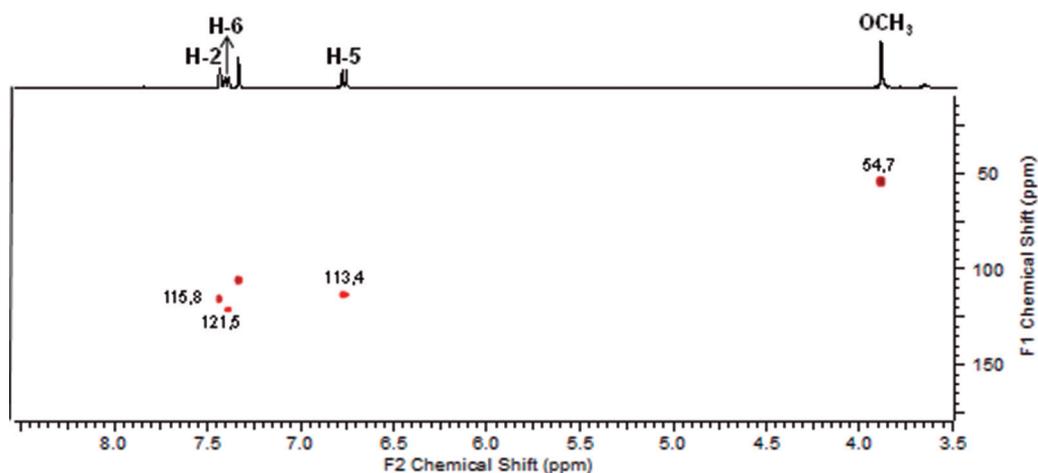
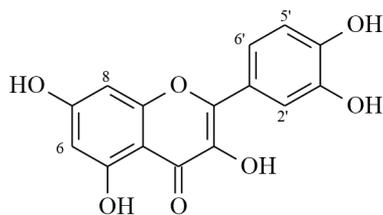


Figura 11. Mapa de contorno HSQC da substância IV ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

#### 4.5 Identificação estrutural do flavonoide quercetina (V)

O flavonoide quercetina (V) foi obtido na forma de um sólido amarelo (2,1 mg) e, quando analisado por CCD e revelado com solução ácida de vanilina, apresentou uma mancha amarela. Já quando submetido à radiação UV em comprimento de onda 254 nm e 365 nm, apresentou uma mancha cinza e outra amarela, respectivamente. A identificação estrutural foi feita utilizando a técnica espectroscópica de RMN de  $^1\text{H}$ , em comparação com dados da literatura (KOOLEN et al., 2012).



V

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 12) da substância V, verificou-se a presença de sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,19 ( $J = 1,8$  Hz, 1H) e  $\delta_{\text{H}}$  6,40 ( $J = 1,8$  Hz, 1H), correspondentes a H-6 e H-8, respectivamente. Esse conjunto de sinais é característico de acoplamento *meta* de anel aromático, sendo atribuído ao anel A de um flavonoide substituído em C-5 e C-7. Ainda nessa mesma região, foram observados dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,90 ( $J = 8,5$  Hz, 1H) e  $\delta_{\text{H}}$  7,74 ( $J = 2,0$  Hz, 1H), atribuídos respectivamente aos hidrogê-

nios H-5' e H-2', e um duplo dubleto em  $\delta_H 7,63$  ( $J = 8,5$  e  $2,0$  Hz, 1H), atribuído a H-6'. Esse conjunto de sinais indica acoplamento *meta* entre H-2' e H-6', e acoplamento *orto* entre H-5' e H-6', caracterizando assim que o anel B do flavonoide é substituído em C-3' e C-4'.

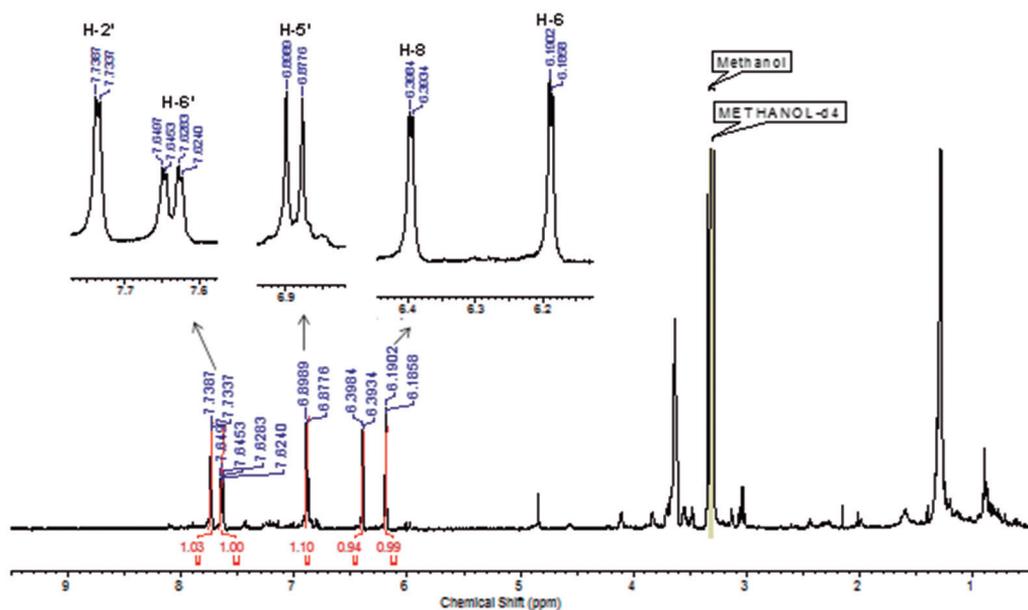


Figura 12. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) da substância V.

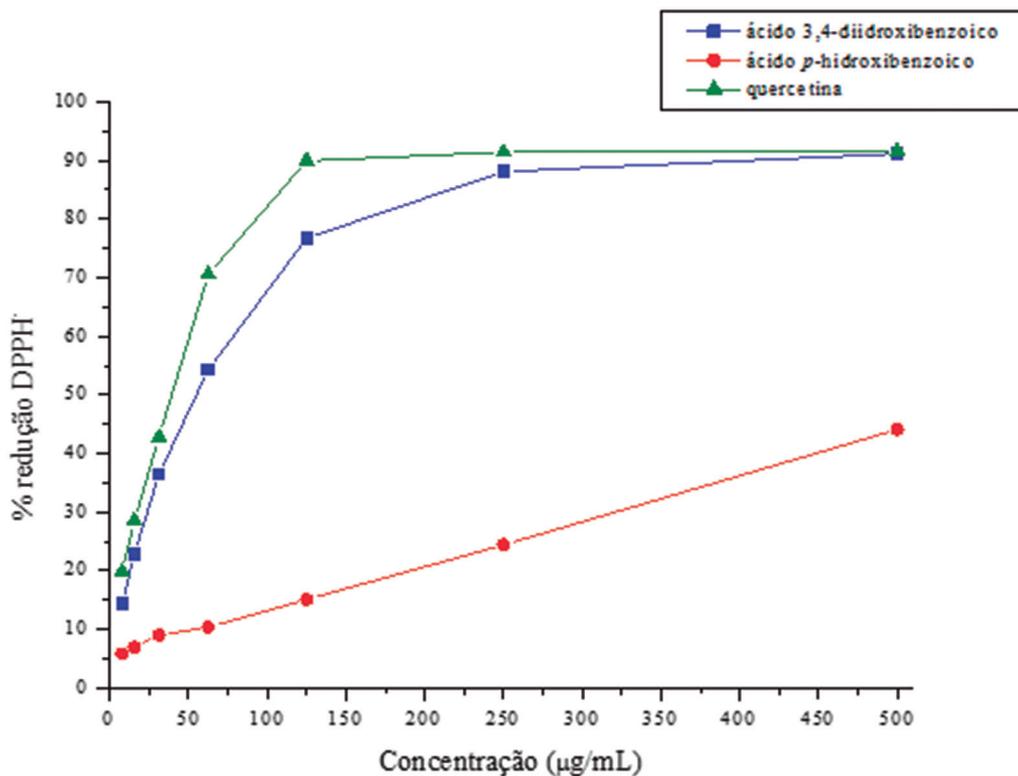
## 4.6 Atividade antioxidante

As plantas sintetizam compostos antioxidantes, principalmente compostos fenólicos, que auxiliam em seus mecanismos de defesa através da neutralização de espécies reativas de oxigênio (ERO), a fim de evitar danos oxidativos. A atividade antioxidante de plantas geralmente é bem correlacionada com o teor de seus compostos fenólicos. Há um crescente interesse em estudos com extratos de plantas e óleos essenciais, com finalidade de selecionar substâncias que possam ser utilizadas como fármacos (NIĆIFOROVIĆ et al., 2010). Nesse contexto, a atividade antioxidante dos compostos fenólicos isolados de *E. pubescens* foi determinada pelo método de captura dos radicais livres com DPPH, onde os valores de  $\text{EC}_{50}$  estão apresentados na Tabela 1, e as curvas de dose  $\times$  resposta estão representadas na Figura 13.

**Tabela 1.** Valores de  $EC_{50}$  para ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido 3,4-diidroxibenzoico e para o controle positivo quercetina

Amostra	$EC_{50}$ (mM)				
	1ª réplica	2ª réplica	3ª réplica	Média ± DP	CV (%)
ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico (I)	4,31	4,20	4,10	4,20 ± 0,1034	2,4614
ácido 3,4-diidroxibenzoico (II)	0,35	0,35	0,33	0,34 ± 0,0083	2,4337
Quercetina	0,11	0,11	0,12	0,11 ± 0,0057	4,9489

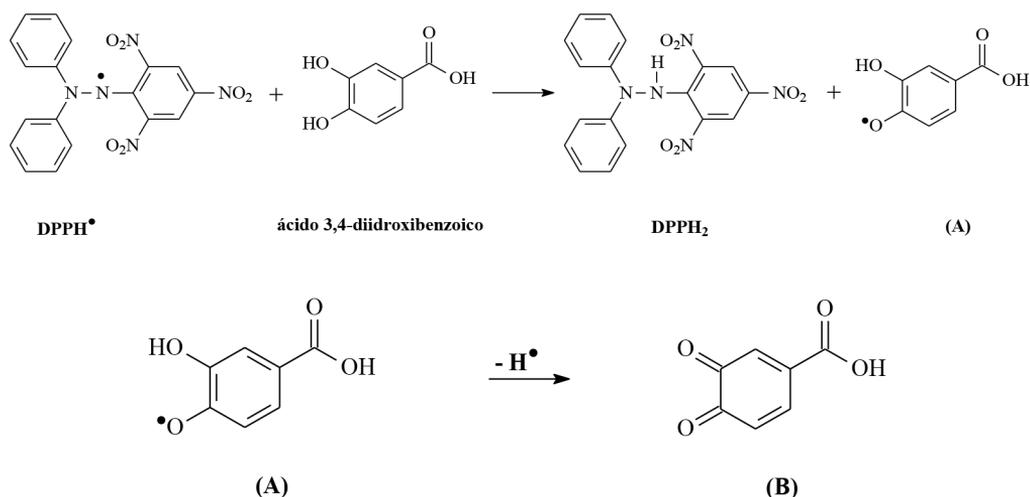
DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.



**Figura 13.** Efeito de diferentes concentrações de ácido *p*-hidroxibenzoico (I) e ácido 3,4-diidroxibenzoico (II) no teste de atividade antioxidante com DPPH.

Os dados obtidos demonstram que o ácido *p*-hidroxibenzoico (I) apresentou capacidade de supressão do DPPH<sup>\*</sup> distante dos valores referentes à quercetina

padrão, com  $EC_{50}$  de  $4,20 \pm 0,1034$  mM. Por outro lado, o ácido 3,4-diidroxibenzoico (II) apresentou valor próximo ao da quercetina padrão, tendo  $EC_{50}$  de  $0,34 \pm 0,0083$  mM. A reação entre o DPPH $\cdot$  e ácido 3,4-diidroxibenzoico (II) pode ser explicada pela seguinte equação química (SAITO; KAWABATA, 2005):



Por possuir dois grupos hidroxila, o ácido 3,4-diidroxibenzoico (II) permite a remoção de dois hidrogênios na forma radicalar e, conseqüentemente, leva à formação de uma quinona estável. Isso não ocorre para o ácido *p*-hidroxibenzoico (I), que possui somente um grupo hidroxila, justificando assim seus maiores valores de  $EC_{50}$ .

## 5 CONCLUSÃO

O estudo químico do caule de *E. pubescens* levou ao isolamento e identificação estrutural de cinco compostos fenólicos, sendo quatro derivados do ácido benzoico: o ácido *p*-hidroxibenzoico (I), o ácido 3,4-diidroxibenzoico (II), o ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzoico (III), o ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico (IV) e o flavonol quercetina (V).

Os resultados de atividade antioxidante pelo método de captura dos radicais livres com DPPH demonstraram que *E. pubescens* é uma espécie promissora, uma vez que o ácido 3,4-diidroxibenzoico (II) e a quercetina (V) apresentam elevados potenciais antioxidante, e ambos foram isolados dessa espécie. Dessa forma, os resultados obtidos através do estudo químico e de atividades antioxidantes da *E. pubescens* permitem contribuir para o conhecimento químico dessa espécie e, conseqüentemente, do gênero, que até o momento não possui relatos de estudos químicos e biológicos.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, F. A. et al. Phytochemical and biological studies on Saudi *Commiphora opobalsamum* L. *Nat. Prod. Res.*, v. 21, p. 383-391, 2007.
- BARBOSA, A. C. C. **Recuperação de área degradada por mineração através da utilização de sementes e mudas de três espécies arbóreas do Cerrado, no Distrito Federal.** Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008. 88 p.
- CARVALHO, P. E. R.; GAIAD, Sérgio. **Espécies arbóreas brasileiras.** Malvaceae. EMBRAPA – Agência de Informação, 2015. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies\\_arboreas\\_brasileiras/arvore/CONT000fu1ekyj602wyiv807nyi6s9rqihfq.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fu1ekyj602wyiv807nyi6s9rqihfq.html)>. Acesso em: 21 set. 2015.
- COSTA, D. A. et al. First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L. (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. *Quim. Nova*, v. 32, p. 48-50, 2009.
- DHAKAL, R. C. et al. Phytochemical constituents of the bark of *Vitex negundo* L. *J. Nepal Chem. Soc.*, v. 23, p. 89-92, 2009.
- DUARTE, M. C.; ESTEVES, G. L. Nomenclatural notes on *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae). *Novon: A J. Bot. Nomencl.*, v. 22, p. 152-154, 2012.
- EMBRAPA – Agência de Informação. **Bioma Cerrado**, 2007. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/Abertura.html>>. Acesso em: 18 set. 2015.
- ESPINDOLA-DARVENE, L. S. Cerrado: Fonte de descoberta de novos medicamentos. *Brasília Médica*, v. 44, p. 193-198, 2007.
- GOMES, R. A. et al. Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-di-o-methylisoscuteallarein as motulator of bacterial drug resistance. *Quim. Nova*, v. 34, p. 1385-1388, 2011.
- JBRJ. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Eriotheca* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB027559>>. Acesso em: 19 set. 2015.
- KOOLEN, H. H. F. et al. Triterpenes and flavonoids from the roots of *Mauritia flexuosa*. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 22, p. 189-192, 2012.
- LEE, I.-C. et al. Polyphenolic constituents from the aerial parts of *Thymus quinquecostatus* var. *japonica* collected on ulleung island. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, v. 54, p. 811-816, 2011.
- LORENZI, H. *Eriotheca pubescens*. In: \_\_\_\_\_. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.
- LU, Y. et al. Antioxidant Activity Determination of Citronellal and Crude Extracts of *Cymbopogon citratus* by 3 Different Methods. *Pharmacol. Pharm.*, v. 5, p. 395-400, 2014.
- MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chem.*, v. 130, p. 1036-1043, 2012.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade brasileira: Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Brasília: MMA/SBF, 2002.

\_\_\_\_\_. **O bioma Cerrado**, 2015. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 21 set. 2015.

MMA/IBAMA. Ministério do Meio Ambiente/Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Programa de monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite**, 2011. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/relatoriofinal\\_cerrado\\_2010\\_final\\_72\\_1.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatoriofinal_cerrado_2010_final_72_1.pdf)>. Acesso em: 23 set. 2015.

NIĆIFOROVIĆ, N. et al. Antioxidant activity of selected plant species: potential new sources of natural antioxidants. **Food Chem. Toxicol.**, v. 48, p. 3125-3130, 2010.

OLIVEIRA, A. M. F. et al. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. **Antioxidants**, v. 1, p. 33-43, 2012.

PYRZYNSKA, K.; PEKAL, A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. **Anal. Methods**, v. 5, p. 4288-4295, 2013.

QUEIROZ, E. F.; FARO, R. do R. de A.; MELO, C. A. A biodiversidade brasileira como fonte de novas drogas: passado, presente e futuro. **Rev. Fitoter.**, v. 9, p. 31-35, 2009.

SAITO, S.; KAWABATA, J. Effects of electron-withdrawing substituents on DPPH radical scavenging reactions of protocatechuic acid and its analogues in alcoholic solvents. **Tetrahedron**, v. 61, p. 8101-8108, 2005.

ZHANG, Z. et al. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). **Food Chem.**, v. 113, p. 160-165, 2009.

