UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

FLÁVIA LOPES DE LIMA

Caracterização do potencial antioxidante de *Senna rugosa* e *Senna velutina* (Fabaceae)

Dourados - MS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

FLÁVIA LOPES DE LIMA

Caracterização do potencial antioxidante de *Senna rugosa* e *Senna velutina* (Fabaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Grande Dourados para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, sob a orientação do Prof. Dr. Edson Lucas dos Santos.

Dourados-MS
2013

FLÁVIA LOPES DE LIMA

Caracterização do potencial antioxidante de *Senna rugosa* e *Senna velutina* (Fabaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Grande Dourados para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, sob a orientação do Prof. Dr. Edson Lucas dos Santos.

Aprovado em ____ de _____ de 2013.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Edson Lucas dos Santos – Orientador
Universidade Federal da Grande Dourados

_____

Ms. Uilson Pereira dos Santos
Universidade Federal da Grande Dourados

_____

Ms. Jaqueline Ferreira Campos
Universidade Federal da Grande Dourados

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que me deu forças para que eu nunca desistisse de alcançar meus objetivos. Aos meus pais, pessoas essenciais em minha vida, que acreditaram em mim e sempre apoiaram as minhas escolhas. À minha irmã e aos meus sobrinhos, riquezas e presentes de Deus na minha vida! Com vocês por perto tudo fica mais fácil.

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, quem me deu forças para chegar até aqui e sempre fez a sua vontade ao invés da minha. Sem Ele eu não teria conseguindo tantas coisas boas e teria desistido inúmeras vezes. Aos meus pais, exemplos de honestidade e humildade. Pessoas que se esforçaram para que eu pudesse ter o melhor, para que a educação estivesse entre os meus principais valores e que muitas vezes deixaram de fazer suas vontades para que eu pudesse fazer a minha. Eu devo não só este trabalho a eles, mas também quem eu sou hoje e quem eu me tornarei um dia. Irei o mais longe que puder por vocês! A minha irmã, que sempre me incentivou e comemorou minhas vitórias comigo, se orgulha de tudo e está sempre ao meu lado, independente de nossos desentendimentos. Aos meus sobrinhos Guilherme e Carolina, tão pequenos e tão importantes, e que muito além de serem o descanso da minha tela, são as maiores riquezas que Deus poderia colocar em minha vida. À minha vozinha Rosa, em especial, que torce e se alegra com minhas vitórias. Ao meu avô Benedito, que se encheria de orgulho se ainda estivesse entre nós e se emocionaria ao ver a conclusão dessa etapa. As pessoas que entraram na minha vida e sem elas eu não seria quem sou hoje: àquela que fez parte da minha vida em todos os momentos, dividindo a vida, as alegrias, tristezas e a casa, Taís; aos meus amigos e companheiros de faculdade, que estiveram comigo durante todo o dia e me fizeram entender que companhia é muito mais que estar junto: Bruna, Carlos, Mayara, Luan Ramos, Maria Priscila, Larissa e Thuliane e, também, aqueles que eu tive a sorte de encontrar pelo caminho: Ellem, Binho, Luan Souza e Mateus... Obrigada pela amizade de vocês! A dois anjos que sempre estiveram por perto e mais do que de repente participaram tão intensamente comigo dos últimos momentos desse meu trabalho: Jaque e Carol, vocês são especiais e me motivaram a chegar até o fim! Não sei o que teria sido de mim sem vocês. Às companheiras de longas noites e finais de semana no laboratório da faculdade: Glaucia e Giseli, vocês fizeram meus experimentos mais alegres e me ensinaram muito. À pessoa que me recebeu de portas abertas em seu laboratório, além de guiar meus passos na etapa final do curso, durante o período de estágio, Dra. Adriana Girardi. Ao meu orientador, professor Dr. Edson Lucas, exemplo de conhecimento e de até onde eu pretendo chegar. Sempre me motivou e me incentivou a buscar sempre mais. Abriu-me a maior porta da minha vida e me transmite conhecimentos valiosos. Obrigada pela confiança e pelas oportunidades oferecidas.

“[ ] Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar no sonho que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém. [ ] Se você quiser alguém em quem confiar: confie em si mesmo, quem acredita sempre alcança. “

Renato Russo

Resumo

Senna rugosa e *Senna velutina* são espécies nativas da região de Cerrado do Brasil, utilizadas na medicina popular no tratamento de infecções, inflamações e de doenças ligadas ao estresse oxidativo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante dos extratos das folhas e raízes de duas espécies de *Senna*. A partir dos vegetais secos e triturados foram preparados extratos etanólicos das folhas e extratos aquosos e etanólicos das raízes. A análise da atividade antioxidante foi realizada pelo método de captação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), adotando como padrões de referência, o ácido ascórbico e o BHT (butil hidroxitolueno). Os extratos que apresentaram maiores valores de captação dos radicais livres da solução de DPPH foram os etanólicos das folhas e raízes de *Senna velutina* (IC_{50} = 7,9 ± 0,9 µg/mL e IC_{50} = 9,9 ± 4,0 µg/mL, respectivamente) e o etanólico das folhas de *Senna rugosa* (IC_{50} = 10,5 ± 2,6 µg/mL), comparados ao antioxidante padrão ácido ascórbico (IC_{50} = 2,5 ±0,2 µg/mL). As quantidades de fenóis e flavonoides totais presentes na composição dessas espécies foram descritas recentemente e estes valores relacionam-se intimamente com a capacidade antioxidante apresentado neste estudo. Nos ensaios de atividade antioxidante, tanto *S. rugosa*, quanto *S. velutina* apresentaram potencial de sequestro dos radicais livres de forma dose dependentes. Os resultados obtidos a partir deste estudo reforçam o uso popular dessas espécies no tratamento e/ou prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo, tais como diabetes, catarata, câncer e esclerose múltipla.

Palavras-chave: Estresse oxidativo; Radicais livres; Fenóis; Flavonoides; DPPH

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Composição floral de *Senna rugosa*..... 16

Figura 2. Composição floral de *Senna velutina*..... 17

Figura 3. Estrutura química do ácido ascórbico..... 21

Figura 4. Estrutura química do BHT..... 22

Figura 5. Estrutura química do DPPH com o ganho de um elétron, tornando-se hidrazina..... 28

Figura 6. Soluções controle em diferentes concentrações de modo a descontar a possível interferência de coloração do extrato na amostra..... 29

Figura 7. Descoloração do radical livre DPPH pela atividade antioxidante do ácido ascórbico..... 30

Figura 8. Inibição do DPPH pelo EEFSR, EEFSV, controles ácido ascórbico e BHT..... 32

Figura 9. Inibição do DPPH pelo EERSR, EERSV, controles ácido ascórbico e BHT..... 32

Figura 10. Inibição do DPPH pelos EARSR, EARSV, controles ácido ascórbico e BHT..... 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Materiais vegetais utilizados..... 27

Tabela 2. Percentual de atividade máxima..... 35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 11

2. OBJETIVOS 13

2.1 Objetivo Geral.....13

2.2 Objetivos Específicos 13

3. JUSTIFICATIVA 13

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 14

4.1 Fabaceae 14

4.2 Gênero *Senna*.....15

4.3 *Senna rugosa* 15

4.4 *Senna velutina* 16

4.5 Oxidação e redução 17

4.6 Radicais livres e o estresse oxidativo 18

4.7 Antioxidantes.....19

4.8 Compostos com potencial antioxidante.....20

4.9 Compostos fenólicos – Polifenóis e flavonoides.....23

5. MATERIAIS E MÉTODOS 24

5.1 Coleta e identificação do material botânico 24

5.2 Preparo do material vegetal colhido 25

5.3 Preparo do extrato etanólico das folhas 25

5.4 Preparo do extrato etanólico das raízes 25

5.5 Preparo do extrato aquoso das raízes.....26

5.6 Rendimento dos extratos vegetais 27

5.7 Preparo das soluções.....27

5.8 Avaliação da atividade antioxidante pelo método dos radicais livres DPPH.....28

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO 30

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....35

8. REFERÊNCIAS 37

1. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo é um termo em destaque nos dias atuais e a ciência busca formas de amenizar os efeitos danosos que levam a essa disfunção. O estresse oxidativo é ocasionado pelo excesso de radicais livres, que é gerado pelo desequilíbrio entre os agentes antioxidantes e, contribuindo, para o aparecimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis (LIMA, 2008). Consta na literatura que as plantas medicinais, bem como as frutas, hortaliças, grãos e especiarias são excelentes fontes de prevenção de doenças, além de combaterem os radicais livres (OLIVEIRA et al., 2007).

A medicina popular, com o uso de extratos vegetais para chás e compressas, substitui os medicamentos alopáticos e é bastante utilizada com o intuito de curar e prevenir diversas enfermidades. Neste contexto, os estudos na área vegetal caminham junto aos avanços da medicina. Os vegetais apresentam diversas propriedades de interesse farmacológico. A Etnobotânica, que conceitua o papel da natureza relacionado às crenças populares, auxilia na descoberta por esses compostos, estudando a classificação dos vegetais e quais são suas reais utilidades, baseada em investigação científica (MACIEL et al., 2002). Uma família muito estudada e de grande importância, devido ao vasto potencial terapêutico relacionado aos compostos presentes em suas estruturas, é a Fabaceae (SALINAS, 1992 *apud* VIRTUOSO, 2005).

Fabaceae apresenta composição química complexa, e inclui a presença de compostos fenólicos, flavonoides, antracênicos e antraquinônicos (SADO, 2009). Fabaceae é uma família rica em gêneros e um deles, muito estudado devido a sua diversidade de compostos químicos é o gênero *Senna*. Consta na literatura que *Senna* é utilizada como laxante (FRANZ, 1993 *apud* MASOKO et al., 2009) e como antibacteriano no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (TSHIKALANGE et al., 2005 *apud* MASOKO et al., 2009).

Dentre as espécies do gênero *Senna* que podem ser citadas por possuírem propriedades farmacológicas, está *Senna italica*, com propriedades antibacterianas, laxativas, anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas, antineoplásicas, antivirais e antioxidantes (MASOKO et al., 2009); *Senna occidentalis*, utilizada como antibacteriano, antifúngico, antitumoral e hepatoprotetora (LOMBARDO et al., 2009).

Visto que muitas espécies pertencentes ao gênero *Senna* apresentam compostos químicos de interesse farmacológico, que estão associadas ao combate dos radicais

livres, este estudo buscou mensurar a atividade antioxidante dos extratos vegetais de *Senna rugosa* e *Senna velutina*, avaliar qual melhor solvente para extrair seus princípios ativos e determinar os compostos químicos presentes, uma vez que ainda não há estudos que descrevam tais propriedades nestas espécies.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar a atividade antioxidante de extratos etanólicos e aquosos das espécies S*enna rugosa* e *Senna velutina*.

2.2 Específicos

- Quantificar os teores de fenóis e flavonoides totais.
- Determinar quais as concentrações dos extratos capazes de inibir 50% (IC50) dos radicais livres DPPH.

3 JUSTIFICATIVA

Na natureza existem plantas que apresentam propriedades medicinais, como muitas espécies da família Fabaceae. Dentro dessa família está inserido o gênero *Senna*, rico em compostos químicos e alguns deles apresentam ação antioxidante. Algumas espécies pertencentes ao gênero *Senna*, como a *Senna macranthera* (NOGUEIRA, 2009), *Senna italica* (MASOKO et al., 2010) e *Senna crotalarioide* (GARCIA-RODRÍGUEZ, 2011), são exemplos dos vegetais do gênero que apresentam esse potencial. Em razão de outras espécies de *Senna* apresentarem potenciais terapêuticos, há a necessidade de buscar por novos produtos com ações farmacológicas e uma das formas é investigar em grupos já conhecidos. *Senna rugosa* e *Senna velutina* são espécies pertencentes a esse gênero e não apresentam estudos que comprovem sua atividade farmacológica. O objetivo do presente trabalho é estudar o potencial antioxidante dos extratos vegetais destas duas espécies, os quais já são relatados popularmente.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Fabaceae

A família Fabaceae, também conhecida por Leguminosae, possui cerca de 700 gêneros e 18.000 espécies. Sua distribuição é ampla e variável, e representa uma das maiores famílias de Angiospermas. Os vegetais pertencentes a essa família habitam diversos locais, como campos, brejo, matas, neves e se adaptam bem em desertos. (SOUZA et al., 2005). Nos cerrados, bioma predominante na região de Mato Grosso do Sul, apresenta vasta riqueza de espécies e uma das famílias que é encontrada em maior número nessa vegetação é a Fabaceae. A importância de estudos desse bioma e das espécies que o habitam está na exploração dos recursos terapêuticos ofertados pelas plantas medicinais (GUARIM NETO & MORAIS, 2003).

Os membros da família Fabaceae podem ser encontrados como ervas, arbustos e árvores de grande porte. Uma característica marcante é a presença de raízes pivotantes, que podem atingir vários metros abaixo do solo. Esta família se divide em três subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* e *Papilioideae* (Faboideae) e possui uma vasta riqueza de espécies, sendo *Senna*, o gênero com a maior variedade (LEWIS & LIMA, 2005*apud* NOGUEIRA, 2009).

O interesse econômico dessa família advém da inserção de algumas espécies dessa família na alimentação humana e animal, como o feijão (*Phaseolus vulgaris*), a soja (*Glycine max*) e o amendoim (*Arachis hypogaea*) (FERREIRA et al., 2012). A família apresenta grande riqueza de espécies, sendo importantes fontes de proteínas. Algumas espécies também são utilizadas pela indústria na fabricação de óleos, corantes, tintas, inseticidas, lubrificantes e perfumes. Fabaceae está relacionada a fatores que beneficiam a saúde, uma das evidências que confirmam essa propriedade é sua riqueza em constituintes químicos que ressaltam seu potencial farmacológico. A presença de compostos químicos confere, além de outros benefícios, a proteção contra o estresse oxidativo. Um importante composto ligado a essa proteção são os isoflavonóide e atuam como antioxidante no sequestro dos radicais (NOGUEIRA, 2009).

4.2 Gênero *Senna*

O gênero *Senna* podendo apresenta, em média, 350 espécies na forma de ervas, arbustos, árvores e cipós, ocupando diferentes habitats (MARAZZI et al., 2006; VIEGAS JUNIOR et al., 2006; SADO, 2009). Estudos recentes revisaram a taxonomia do gênero *Senna* e, algumas espécies pertencentes ao gênero *Cassia*, consideradas sinonímias de *Senna* sofreram reclassificações, passando a pertencer a *Senna*. Os exemplos de vegetais que passaram por essa revisão incluem *Senna alexandrina*, *Senna angustifolia* e *Senna alata* (SILVA et al., 2010).

Os membros do gênero *Senna* apresentam flores amarelas, com anteras longas e filetes curtos, com a presença de estaminódios. Os vegetais desse gênero são bastante conhecidos, uma vez que muitas de suas espécies possuem substâncias medicinais, tais como derivados fenólicos, antracênicos e antraquinônicos (SADO, 2009). Essas espécies, além de serem utilizadas como antioxidantes são também utilizadas como purgante, antitumorais, para banhar feridas e para dores no estômago (VIEGAS JUNIOR et al., 2006).

4.3 *Senna rugosa*

Senna rugosa é uma espécie vegetal pertencente à família Fabaceae, de natureza herbácea, sendo comum em habitats como extremidades de mata. Suas flores apresentam coloração amarela, sendo bastante atrativa aos agentes polinizadores, principalmente às abelhas de grande porte (CARVALHO et al., 2001). É conhecida popularmente como “amarelinho”, mas possui outras denominações, como pau preto, alcaçuz bravo, boi gordo, infalível, raiz preta e também pode ser encontrada na literatura como *Cassia rugosa*. Apresenta forma de vida fanerófita e caméfita com potencial de autodispersão. A época de floração e de frutificação de *S. rugosa* ocorre no mês de junho (COSTA et al., 2004).

Essa espécie é bastante encontrada em vegetação de cerrado e curiosamente apresenta a raiz com coloração amarelo vivo, distinguindo-a de outras espécies. O fruto apresenta coloração marrom e a semente varia entre as cores marrom e amarela, e essas colorações características ocorrem devido à quantidade elevada de compostos fenólicos (PAULA et al., 2005).

O amarelinho é utilizado para tratar enfermidades como úlceras e como anti-dartroso (MOREIRA, 1862 e CASTRO, 1868 *apud* FENNER et al, 2006). Os compostos bioativos são extraídos através das folhas e da raiz de *S. rugosa*. Normalmente, aqueles vegetais que possuem compostos químicos em suas raízes, caules ou cascas sofrem danos ao serem colhidos e podem, até mesmo, levar a planta à morte, como é o caso da espécie em questão. *S. rugosa* é bastante utilizada in natura, em forma de compressas e chás, para tratar mordeduras de cobras e também pode ser utilizado como vermífugo (RODRIGUES et al., 2001; CARVALHO et al., 2001).

http://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/5459389008/in/photostream/

Figura 1. Composição floral de *Senna velutina*

4.4 *Senna velutina*

Senna velutina está inserida na subfamília C*aesalpinioideae*, encontrada na natureza com formato arbustivo, é amplamente distribuída na vegetação de cerrado, apresentando o seu período de reprodução durante o mês de março (IGLESIAS et al., 2011). Suas raízes apresentam coloração avermelhada, característica dessa espécie e que atribuiu a esse vegetal ser popularmente conhecido como “vermelhinho”. Quanto às características morfológicas e anatômicas, *S. velutina* possui folhas compostas, flores amarelas, pentâmeras e hermafroditas, e seus frutos apresentam deiscência (PEDROSO, 2010).

Senna velutina é bem adaptada à vegetação de Cerrado, comprovadas pela elevada produtividade da espécie, quantidade, comprimento e biomassa dos frutos nessa região. Nessa espécie, o ambiente determina a expressão de algumas características relacionadas à morfologia e o principal caráter que sofre influência do meio é a reprodução (SAIKI et al., 2008). Existem poucos relatos científicos que descrevem *S. velutina*, entretanto, em razão da espécie pertencer à família Fabaceae, há indícios, como a coloração avermelhada de suas raízes, de que esse vegetal também apresente compostos químicos de interesse farmacológico.

Fonte: PEDROSO et al., 2009

Figura 2. Composição floral de *S. velutina*

4.5 Oxidação e redução

O termo oxidação é utilizado para definir a conversão de determinada substância química em um derivado que apresenta menos elétrons em sua estrutura (ALVES et al., 2010), caracterizando a perda de um ou mais elétrons. Outros processos também podem caracterizar a oxidação, como o aumento no número de oxidação, a perda de elétrons, o ganho de oxigênio ou a perda de hidrogênio. Portanto, o processo contrário, de ganho de elétrons é denominado redução. A redução, além de caracterizar o ganho de elétrons, também pode advir dos processos de perda de oxigênio, do ganho de hidrogênio ou da diminuição do número de oxidação (FERREIRA et al., 1997).

Os processos de oxidação e redução ocorrem concomitantemente, ou seja, a oxidação só ocorre se houver a redução. Isto acontece porque uma substância tem que ter disponibilidade para receber os elétrons que serão perdidos pelo composto oxidado. O processo de perda de elétrons leva à produção de radicais livres, realizada de forma natural ou ocasionada por alguma disfunção biológica, que ocorre em razão da etapa do ciclo aeróbico e metabólico da oxidação (BARREIROS et al., 2006). Os elétrons desemparelhados centralizam-se em átomos de oxigênio ou de nitrogênio, adquirindo as denominações de espécies reativa de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN). Esses grupos fazem parte de processos naturais do metabolismo como a fagocitose e a produção de energia (VASCONCELOS et al., 2007)

4.6 Radicais livres e o estresse oxidativo

O desemparelhamento de um ou mais elétrons de átomos, grupos de átomos ou moléculas que se localizam em uma órbita externa são denominados de radicais livres (MIYASHIRO, 2010). Os radicais livres são produzidos constantemente pelas células através de parte dos processos metabólicos, que gera também espécies reativas (NOGUEIRA, 2009). As ERO e ERN fazem parte dessas espécies reativas que causam dano celular.

As ERO e ERN podem causar danos mais graves nas moléculas de DNA e RNA, levando a processos de mutação por alteração na ordem de bases, e o desenvolvimento de câncer através da incorporação de bases com danos. Podem ocorrer outros processos como a perda da atividade enzimática, oxidação dos lipídeos, ruptura da membrana que pode levar à morte celular. Para evitar que esses processos sejam desencadeados, o organismo possui mecanismos de proteção, como a enzimática com atuação de enzimas como a catalase e superóxido dismutase, ou aquelas administradas com a alimentação (BARREIROS et al., 2006; BRITO, 2012).

Os mecanismos de proteção são importantes, pois que a presença de ERO e ERN no organismo pode contribuir para o estresse oxidativo e isso ocorre devido a uma elevada produção de radicais livres e o desequilíbrio dos sistemas antioxidantes do nosso organismo. Segundo Bertoldi (2006), o estresse oxidativo em organismos vivos é capaz de gerar compostos de elevada toxicidade e que geram efeitos danosos, prejudicando a

saúde e elevando o risco de contrair doenças cardíacas e degenerativas, além da suscetibilidade ao envelhecimento.

Nos últimos anos, os interesses relacionados ao conhecimento dos radicais livres tem sido crescentes, especialmente relacionados ao desenvolvimento de novos métodos que buscam mensurar a atividade antioxidante de diferentes compostos. A procura por compostos bioativos que previnam ou atenuem os efeitos do dano oxidativo tem motivado pesquisas que visam minimizar os efeitos deletérios causados pela presença dos radicais livres nas células. A principal preocupação em relação à presença desses radicais é a sua relação com patologias como o câncer, doenças degenerativas e neurológicas, o envelhecimento precoce, entre outras, na qual sua presença determina a causa ou o agravamento de doenças (ALVES et al., 2010).

O desenvolvimento de doenças pode estar relacionado com a cronicidade dos mais diversos tipos de dano celular em função da produção excessiva de radicais livres. Como forma de neutralizar os radicais e suavizar os prejuízos ocasionados por esses compostos, diversas fontes naturais de antioxidantes, como os vegetais estão sendo cada vez mais pesquisados, inclusive aqueles já inseridos no mercado e com ampla utilização popular (SOUZA et al., 2010).

4.7 Antioxidantes

A ingestão de alimentos como frutas e legumes tem se correlacionado inversamente com a ocorrência de doenças ligadas a presença de radicais livres e espécies reativas, atuando como varredores dos radicais, bloqueadores de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e quelante de metais (SALVADOR & HENRIQUES, 2004). Acredita-se que uma dieta que inclui composto polifenólicos, vitamina E, ácido ascórbico, carotenoides, entre outros, são eficazes na prevenção de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (HUANG et al., 2005).

As células humanas sofrem prejuízos com a presença dos radicais livres gerados a partir dos processos aeróbicos. Desta forma, as células necessitam de proteção contra esses compostos e da reatividade das espécies químicas, sendo importante a atuação dos mecanismos de proteção. Para garantir que isso ocorra, os tecidos humanos possuem

integrados a ele, sistemas antioxidantes como os enzimáticos e não enzimáticos (SILVA et al., 2010).

Os antioxidantes químicos ou não enzimáticos, são de grande relevância e o organismo é capaz de sintetizá-lo direta ou indiretamente. Os antioxidantes que pertencem a essa classe são aqueles de baixo peso molecular, as vitaminas A, C e E, produtos naturais como carotenoides, flavonoides, polifenóis, tióis e furanóides e produtos sintéticos como Ebselen, N-acetilcisteína e Trolox (OLIVEIRA et al., 2009).

Outra classe de antioxidantes importantes são os enzimáticos, na qual fazem parte as enzimas superóxido dismutase (Sod), a glutationa peroxidase (GPx), a glutationa redutase (GR) e a catalase (Cat). Os antioxidantes enzimáticos atuam dependente do substrato, produção de co-substratos da seletividade e o grau de especificidade por esse substrato (SALVADOR & HENRIQUES, 2004). O principal mecanismo de defesa antioxidante é composto pelos superóxidos dismutases, que apresentam atividade peroxidásica, sendo os mais estudados (OLIVEIRA et al., 2009) e apresentando elevada eficiência na detoxificação das espécies reativas (SILVA et al., 2010).

4.8 Compostos com potencial antioxidante

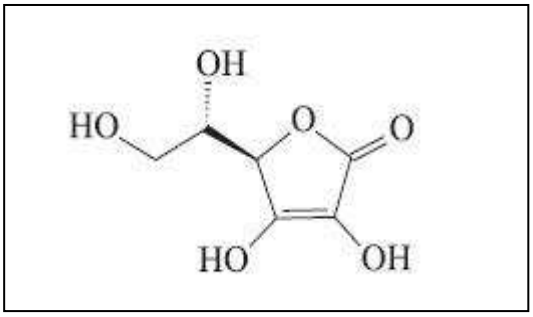
É sabido que muitos alimentos naturais possuem um papel importante no tratamento ou na prevenção de muitas enfermidades. Estudos indicam que a ingestão desses alimentos pode combater doenças crônicas ou degenerativas e, portanto, é necessária uma alimentação saudável para garantir os benefícios oferecidos por eles. Dentre os alimentos que preservam compostos bioativos em sua composição, estão os produtos de origem vegetal, como frutas, hortaliças, sementes e cereais (OLIVEIRA et al., 2009). Um assunto de grande interesse relacionado aos radicais livres é o estresse oxidativo.

O estresse oxidativo é ocasionado pela produção de compostos oxidativos e desbalanço entre os sistemas antioxidantes do organismo. O estresse oxidativo é o promotor para diversas doenças como câncer, inflamações, doenças cardiovasculares, entre outras (SILVA et al., 2010), sendo que, a inserção de fontes de compostos antioxidantes na alimentação pode contribuir na prevenção de tais enfermidades. Muitos antioxidantes são produzidos naturalmente pelo nosso organismo e outros são oriundos de uma dieta à base de alimentos naturais que fornecem compostos bioativos que atuam

na captação dos radicais livres, como os compostos fenólicos e flavonoides (SOARES, 2002).

Alguns compostos são comercializados como antioxidantes, como o ácido ascórbico e o BHT. São muito utilizados nos ensaios de atividade antioxidante, sendo excelentes padrões de referência, de forma a comparar se a espécie em estudo apresenta propriedades de captação dos radicais livres, tão eficazes ou superiores aos potenciais apresentado por esses compostos.

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel e de fundamental importância para o funcionamento do corpo humano (MANELA-AZULAY et al., 2003). Faz parte da composição natural de muitos alimentos, como frutas frescas, tais como: limão, laranja, uva, morango e tomate, além das hortaliças. Também está presente na indústria alimentícia, na forma de aditivos e reagentes (OLIVEIRA et al., 2009). O ácido ascórbico é um antioxidante altamente eficaz, pois possui a capacidade de formar radicais com baixa reatividade a partir da eliminação de espécies muito reativas (ALVES et al., 2010) (Figura 3).

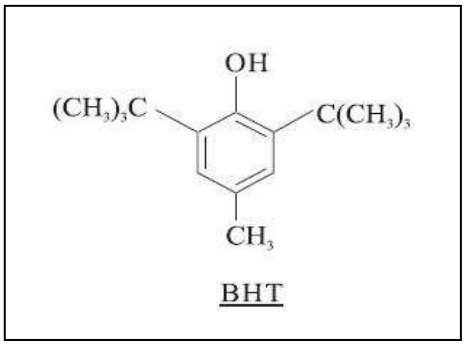


Fonte: ALVES et al, 2010

Figura 3. Estrutura química do ácido ascórbico

O BHT é um antioxidante de caráter lipofílico largamente utilizado na indústria alimentícia por possuir elevado potencial na captação dos radicais livres e impedir ou interromper o processo de oxidação dos lipídios (SILVA et al., 1998). Os antioxidantes utilizados em alimentos são conhecidos como antioxidantes primários e apresentam cadeia fenólica em sua composição, permitindo a inativação ou remoção dos radicais

livres formados e minimizando os efeitos da oxidação (RAMALHO et al., 2006) (Figura 4).



Fonte: RAMALHO & JORGE, 2006

Figura 4. Estrutura química do BHT

Vários produtos são fontes naturais de antioxidantes, como frutas (ROESLER et al., 2007; MELO et al., 2008), hortaliças (MELO et al., 2006) e extratos vegetais (OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; SILVA et al., 2010),

As espécies vegetais *S. velutina* e *S. rugosa* apresentam indícios de possuírem compostos químicos em suas estruturas que sejam benéficos à saúde e devido a isso, estão sendo alvo de pesquisas a fim de extrair determinados compostos que apresentem atividades de interesse medicinal. Alguns dos constituintes químicos já descritos por pertencer ao gênero *Senna* fazem com que suas espécies possuam os mais variados tipos de potenciais farmacológicos e dessa forma, atuando em diversas enfermidades (NOGUEIRA, 2009).

Muitas espécies de *Senna* já foram estudadas e descritas por apresentarem potencial antioxidante, são elas: *S. macranthera* (NOGUEIRA, 2009), *S. occidentalis* (LOMBARDO et al., 2009), espécies *Cassia* designadas como *Senna*: *Cassia fistula* (SUNIL et al., 1998 *apud* VIEGAS JUNIOR et al., 2006) e *Cassia siamea* (ALI et al., 1999 *apud* VIEGAS JUNIOR et al., 2006).

A atividade antioxidante é bastante descrita na literatura como um dos potenciais presentes em muitos representantes do gênero *Senna*. Esse potencial ocorre devido à presença de flavonoides e compostos fenólicos, sendo de grande interesse na medicina, pois minimizam os danos promovidos pela presença de radicais livres, consequentemente, pelo estresse oxidativo.

4.9 Compostos fenólicos – Flavonóides e Polifenóis

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que apresentam em sua estrutura hidroxilas e anéis aromáticos, na qual estão relacionados com o potencial antioxidante. Essas substâncias são muito encontradas em vegetais, onde são produzidos em suas estruturas, através do metabolismo secundário. Existem na natureza vários tipos de compostos fenólicos, dentre eles estão os flavonoides e os polifenóis (ANGELO & JORGE, 2006).

Os flavonoides são substâncias de origem natural, que possuem diversas propriedades farmacológicas, uma vez que são capazes de atuar sobre os sistemas biológicos. Apesar de sua síntese não ocorrer na espécie humana, apenas em vegetais, a dieta à base desses compostos auxiliam na diminuição da incidência de diversas doenças. Os flavonoides são considerados excelentes antioxidantes, uma vez que atuam como sequestradores de radicais ou como quelantes de metais (SOARES, 2002 *apud* MORAES & COLLA, 2006).

Os polifenóis são substâncias bioativas que compreendem o maior grupo de compostos dos vegetais. Os grupos são divididos de acordo com a estrutura química de suas substâncias e agrupados em classes, que apresentam diversas funções fisiológicas relacionadas à prevenção de doenças e também à elevada capacidade antioxidante. O consumo de frutas e hortaliças, na qual estão presentes esses compostos bioativos, pode prevenir diversas doenças, uma vez que eles estão diretamente associados a esses fatores. (FALLER & FIALHO, 2009).

A família Fabaceae possui muitas espécies e que possuem uma vasta riqueza de compostos químicos, apresentando importante atividade biológica. O gênero *Senna*, pertencente a essa família, representa elevada importância por possuir maior número de espécies entre a subfamília *Caesalpinioideae* (LEWIS & LIMA, 2005) e por apresentar elevada diversidade de substâncias bioativas, nas quais estão presentes compostos fenólicos e flavonoides (VIEGAS JUNIOR et al., 2006; SADO, 2009), responsáveis pela ação antioxidante.

Um estudo recente quantificou os teores de fenóis e flavonoides totais das espécies *Senna rugosa* e *Senna velutina* através de ensaios com o reagente Folin - Ciocalteu e cloreto de alumínio, respectivamente. O estudo mostrou a quantificação dos

compostos dos extratos etanólicos das raízes de *Senna rugosa* (EERSR) e *Senna velutina* (EERSV); os extratos etanólicos das folhas de *Senna rugosa* (EEFSR) e *Senna velutina* (EEFSV) e os extratos aquosos das raízes de *Senna rugosa* (EARSR) e *Senna velutina* (EARSV). Os valores obtidos mostraram que o EERSV apresentou os maiores teores de fenóis totais (556,0 ± 9,9 mg de ácido gálico / 100 g de extrato seco), enquanto em *Senna rugosa*, a maior quantidade foi observada no EEFSR (519,0 ± 2,3 mg de ácido gálico / 100 g de extrato seco). Os extratos aquosos apresentaram valores muito baixos, devido à molécula de água não possuir bom potencial de extração de compostos fenólicos. (EBERHARDT, 2012)

Na determinação de flavonoides totais no mesmo estudo, o EEFSR apresentou maiores quantidades do composto (83,0 ± 2,9 mg de quercetina / 100g extrato seco), enquanto para os demais extratos, foram observados valores parecidos entre si, mostrando que a diferença de solvente de extração não culmina em diferença nos teores de flavonoides das espécies (EBERHARDT, 2012).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coleta e identificação do material botânico

As folhas e raízes de *Senna rugosa* e *Senna velutina* foram coletadas no distrito de Itahum, município de Dourados, Mato Grosso do Sul. Nesta região é predominante a vegetação de cerrado. O local de coleta foi a Reserva Biológica da Fazenda Paraíso, que possui 302 ha e está localizada entre as coordenadas: latitude 21º 59` 41,8`` e longitude 55º 19`24,1``. As coletas foram realizadas no mês de março e início de abril, no mês de junho e ao final de novembro de 2011. O material botânico foi identificado e autenticado pela botânica professora Dra. Zefa Valdivina Pereira, da Universidade Federal da Grande Dourados. Todas as exsicatas encontram-se depositadas no museu de Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, com as numerações: *Senna rugosa* (nº 4664) e *Senna velutina* (nº 4665).

5.2 Preparo do material vegetal colhido

O material vegetal de *S. rugosa* e *S. velutina* foram colhidos em campo e posteriormente tiveram suas folhas e raízes separadas e armazenadas em local arejado e longe da exposição ao sol, para que secassem em um período de 5 a 10 dias. O material foi triturado em pequenas partes em moinho de facas Marconi®. Cada extrato foi preparado adotando procedimentos já descritos na literatura com pequenas modificações e a comparação dos resultados foi feita com base no padrão de extração descrito por Adetutu *et al.* (2011). O cálculo do rendimento dos extratos foi obtido através da expressão:

Rendimento (%) = (massa do extrato/massa do material vegetal) x 100

5.3 Preparo do extrato etanólico das folhas

Para o preparo dos extratos etanólicos das folhas de *S. rugosa* e *S. velutina*, foram adicionados em dois erlenmeyers 100 g das folhas trituradas em 700 mL de etanol 95%, de acordo com a metodologia adotada por Adetutu et al (2011). Os vidros foram vedados com algodão e cobertos com papel alumínio para evitar alteração pela exposição à luz. Foram mantidos em ambiente escuro, à temperatura ambiente, durante sete dias. Após este período, foi realizada a filtração dos materiais com gase e algodão. Os líquidos obtidos dos extratos das folhas de *S. rugosa* e de *S. velutina*, foram rotoevaporados em um rotorevaporador Marconi® a uma temperatura de 40ºC e em seguida liofilizados em um liofilizador Liobras® a uma temperatura de -45ºC por vinte e quatro horas, a uma pressão de 50 mmHg. Os rendimentos dos extratos foram de 16,61% para a *Senna rugosa* e 29,91% para *Senna velutina*. Os extratos foram armazenados para posterior uso a – 20ºC.

5.4 Preparo do extrato etanólico das raízes

No preparo do extrato etanólico das raízes, estas foram previamente trituradas em um moinho de facas Marconi®. Após a trituração, foram utilizadas 100 g do pó das raízes de cada uma das espécies vegetais, dissolvidas em 800 mL de etanol 95%, seguindo a

metodologia descrita por Adetutu et al (2011). No processo de concentração, os vidros que continham os extratos de *S. rugosa* e os de *S. velutina* foram mantidos em banho maria Nova Ética® à 55ºC por um período de sete dias, necessários para a concentração do extrato através da evaporação lenta do etanol. Os foram rotoevaporados e liofilizados, sendo posteriormente pesado. O rendimento dos extratos foi calculado, obtendo os valores de 1% para *S. rugosa* e 32,05% para *S. velutina*. As amostras foram armazenadas a – 20ºC para posterior uso.

5.5 Preparo do extrato aquoso das raízes

Foram utilizadas 100 g das raízes secas de *S. rugosa* e *S. velutina* para o preparo do extrato. O procedimento de extração adotado foi a maceração, seguindo o método utilizado para preparo pelas populações usuárias, na qual foram adicionados 1000 mL de água destilada às raízes em dois vidros identificados e vedados com papel pardo, deixando por um período de três dias em ambiente protegido da luz e à temperatura ambiente. O período utilizado para maceração foi menor em relação aos extratos etanólicos, uma vez que a exposição do material vegetal em água por um tempo prolongado pode ocasionar problemas como fermentação e contaminação. Com isso, depois de decorrido os três dias para maceração, os extratos das raízes *S. rugosa* e *S. velutina* foram filtrados com gase e algodões e em seguida, congelados e armazenados para posterior uso a uma temperatura de – 20ºC. Ambos os extratos vegetais macerados apresentaram rendimento de 1,5%

5.6 Rendimento dos extratos vegetais

Tabela 1.: Materiais vegetais utilizados com seus respectivos métodos de extração, solventes e a porcentagem de rendimento obtida.

Material Vegetal	Parte do vegetal utilizada	Solvente de extração	Método de extração	Proporção (droga) vegetal:solvente	Rendimento
Senna rugosa	Folhas	Etanol 95%	Maceração (7 dias)	1:7	16,61%
Senna rugosa	Raízes	Etanol 95%	Maceração (7 dias)	1:8	1%
Senna rugosa	Raízes	Água destilada	Maceração (3 dias)	1:10	1,5%
Senna velutina	Folhas	Etanol 95%	Maceração (7 dias)	1:7	29,91%
Senna velutina	Raízes	Etanol 95%	Maceração (7 dias)	1:8	32,05%
Senna velutina	Raízes	Água destilada	Maceração (3 dias)	1:10	1,5%

5.7 Preparo das soluções estoque

O procedimento de preparo das soluções estoque utilizaram soluções dos extratos, dos padrões ácido ascórbico e BHT (20 mg/mL em etanol 80%) diluídos em etanol 80% nas concentrações finais de 0,1 a 1000 µg/mL. Uma alíquota de 200 µL das soluções foi misturada com 1800 µL de DPPH 0,1 mM em etanol 80%. O DPPH foi preparado partindo de 0,007 g do reagente, diluídos em 150 mL de etanol 80 %, em balão volumétrico, sendo homogeneizado constantemente.

5.8 Avaliação da atividade antioxidante pelo método de captação dos radicais livres DPPH

Um procedimento usual utilizado a fim de determinar a captação dos radicais livres de uma solução, é adotando o radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). O DPPH é uma solução composta por radicais livres estáveis (EMBRAPA, 2007). A presença dos radicais livres fornece condições para que o material em estudo consiga reagir esteoquiométricamente de forma a sequestrá-los, adquirindo sua forma estável e demonstrando seu potencial antioxidante frente aos radicais livres da solução. Consta na literatura que o método sofre influência do solvente da reação (OLIVEIRA et al., 2009).

O método é baseado na capacidade que uma determinada substância possui de sequestro deste radical, sendo capaz de reduzi-lo a hidrazina, que será obtida após a ação do antioxidante (ALVES et al., 2010). No ensaio, a solução é adicionada ao DPPH, que deve sequestrar os radicais livres fornecidos pela solução de DPPH (ROESLER et al., 2007).

A deslocalização do elétron livre se caracteriza por apresentar uma banda de absorção em etanol por volta de 520 nm e uma coloração violeta. Para que o composto de interesse atue no sequestro dos radicais, ele deve possuir a capacidade de doação de um átomo de hidrogênio. Quando o átomo recebe o elétron, ele dá origem à forma reduzida e, portanto, perde a coloração violeta e adquire coloração amarelo pálida em razão dos resíduos do grupo picril presentes na solução (MOLYNEUX, 2004) (Figura 5).

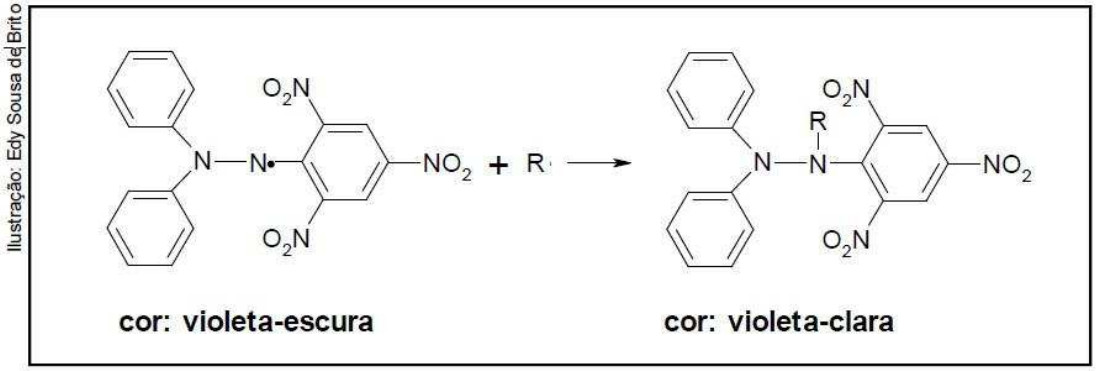


Figura 5. Estrutura química do DPPH com o ganho de um elétron, tornando-se hidrazina.

Para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos, foi utilizada a metodologia descrita por Blois (1958) e modificado pro Gupta e Gupta (2011) com pequenas alterações. As soluções foram submetidas separadamente, à capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Em síntese, as soluções dos extratos e dos padrões ácido ascórbico e BHT (20 mg/mL em etanol 80 %) foram diluídas em concentrações entre 0,1 – 1000 µg/mL. Alíquotas de 200 µL/mL foram misturadas em 1800 µL/mL de DPPH a 0,1 mM em etanol 80 %.

O ensaio foi acompanhado de soluções padrão, denominado branco, a fim de descontar a interferência da coloração do extrato na amostra. Essa solução foi preparada substituindo o DPPH pelo mesmo volume de etanol 80%. (Figura 7). Realizaram-se três ensaios independentes em duplicata.

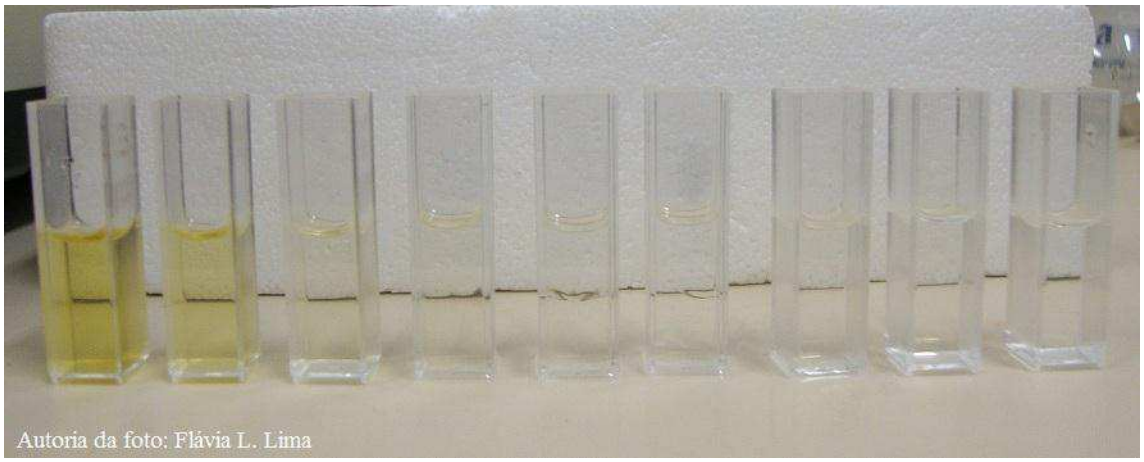


Figura 6. Soluções controle em diferentes concentrações de modo a descontar a possível interferência de coloração do extrato na amostra.

As soluções foram mantidas em repouso por 30 minutos em ambiente escuro e temperatura ambiente. Decorrido o tempo para a ocorrência da reação, foi realizada a leitura das soluções em um espectrofotômetro *PG Instruments Ltda*® a um comprimento de onda de 517 nm. A reação de captação dos radicais livres das amostras pode ser observada através da reação colorimétrica que ocorre. A solução inicial que contém apenas o DPPH apresenta coloração violeta e à medida que ocorre a captação dos radicais das amostras analisadas, a solução adquire coloração amarelada (Figura 8).

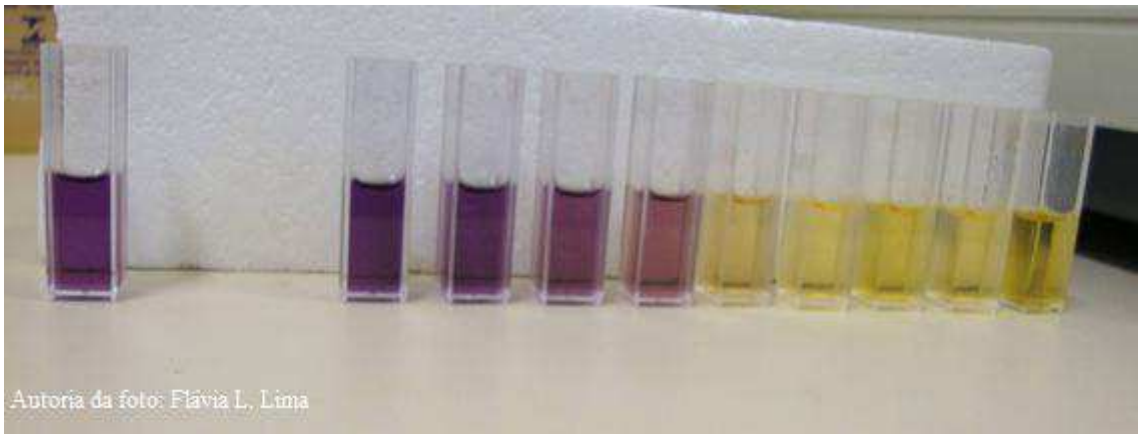


Figura 7. Descoloração do radical livre DPPH pela atividade antioxidante do ácido ascórbico.

Para determinar a porcentagem da atividade antioxidante, foi utilizada a seguinte fórmula, na qual apresenta absorbância (Abs) da solução, que contém a amostra de extrato adicionado à solução de DPPH, e Abs controle da solução, que contém apenas o DPPH:

Inibição do radical livre DPPH (%) = (1 - Abs amostra/Abs controle) x 100

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de plantas medicinais tem sido uma forma de medicina em crescente uso em decorrência de sua eficácia e baixo custo. A essa alternativa dá-se o nome de fitoterapia e os estudos químicos e farmacológicos tem comprovado cada vez mais a eficiência dessas plantas medicinais, empregadas na medicina popular, como fontes terapêuticas (CHECHINEL FILHO & YUNES, 1997). A etnofarmacologia auxiliou para a descoberta de substâncias naturais e contribuiu para o conhecimento da cura de muitas enfermidades a partir de substâncias naturais biologicamente ativas presentes em plantas (GYLLENHAAL, et al., 2012).

Embora muito utilizada, as plantas medicinais Brasileiras apresentam menos de 1 % de suas propriedades químicas e farmacológicas comprovadas cientificamente (CUNHA, 2005). As influências da mídia e da propaganda feita do uso seguro desses

medicamentos, por serem cem por cento naturais, iludem quanto ao uso desses compostos, não relatando a necessidade de estudos científicos acerca do mecanismo de ação e quanto aos efeitos tóxicos e colaterais do uso abusivo dos fitoterápicos (VIEGA JUNIOR et al, 2005). *Senna rugosa* e *Senna velutina* são duas espécies da família Fabaceae, com ampla distribuição e largamente utilizadas na medicina popular em doenças crônicas, em processos infecciosos e no tratamento a diversas enfermidades sem comprovação de suas propriedades terapêuticas através de estudos científicos.

Algumas espécies pertencentes ao gênero *Senna* apresentam ação antioxidante decorrentes dos compostos fenólicos e flavonoides presentes em suas estruturas. Com base nisso, buscou-se comprovar cientificamente a atividade antioxidante de *Senna rugosa* e *Senna velutina*, visto que seus compostos fenólicos tiveram seus valores mensurados e descritos na literatura por Eberhardt (2012).

Foram preparados diversos extratos empregando solventes como a água e etanol, utilizando a maceração como método de extração dos compostos químicos das espécies vegetais. Os maiores rendimentos obtidos em termo de massa de extrato seco foram aqueles que utilizaram os solventes etanol e água destilada aquecida. A extração a partir do etanol é utilizada como principal método de extração para preparo de extratos de origem vegetais já descritos, uma vez que se aproxima da técnica utilizada por populares para tinturas (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998).

Um dos métodos químicos bastante utilizados para avaliar a atividade antioxidante de extratos naturais é a partir de ensaios que utilizam a capacidade de captura do radical DPPH livre, presente em solução etanólica pelos compostos presentes no extrato. Este ensaio é muito empregado por fornecer resultados confiáveis de forma fácil e rápida (Adetutu et al., 2012).

Todos os extratos em estudo, tanto os aquosos quanto os etanólicos, apresentaram capacidade de captura dos radicais livres em solução de forma dose dependente. Os resultados obtidos, evidenciados na figura 8, mostram que o EEFSR e o EEFSV alcançaram atividade antioxidante máxima, comparável ao valor apresentado pelo padrão utilizado, ácido ascórbico, na concentração de 25 µg/mL.

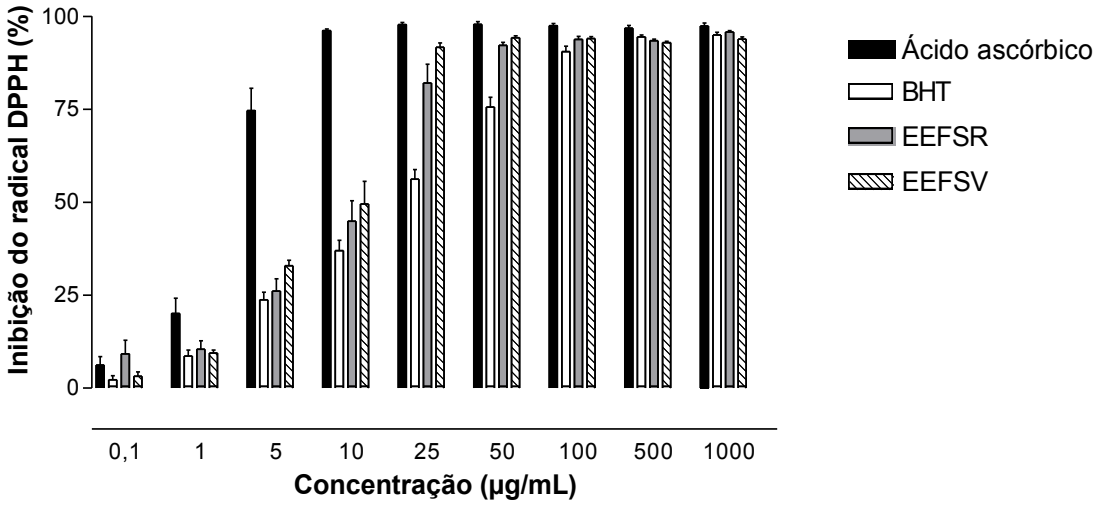


Figura 8: Inibição do DPPH pelo EEFSR, EEFSV, controles ácido ascórbico e BHT.

Nos ensaios realizados com os extratos etanólicos das raízes, evidencia-se através da figura 9, que o potencial do EERSV apresenta valores comparáveis ao padrão ácido ascórbico na concentração de 25 µg/mL. Já o EERSR apresenta perfil antioxidante comparável com o do padrão BHT, alcançando sua atividade máxima na concentração de 500 µg/mL

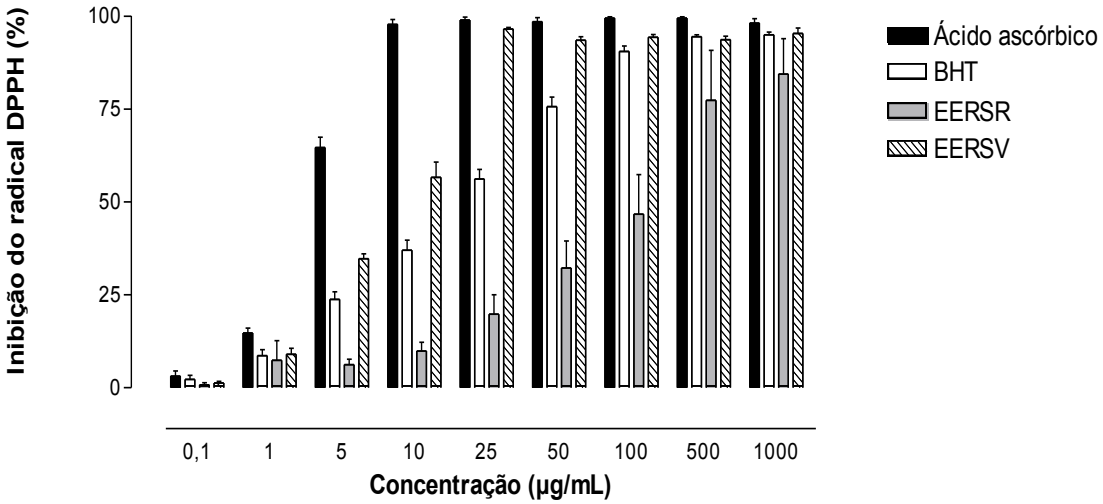


Figura 9: Inibição do DPPH pelo EERSR, EERSV, controles ácido ascórbico e BHT.

Os potenciais antioxidantes testados a partir da extração dos princípios ativos das raízes dos vegetais utilizando água destilada apresentaram ações antioxidantes comparáveis ao do padrão BHT. O EARSV atingiu sua atividade máxima na concentração de 500 µg/mL, enquanto EARSR alcançou a atividade máxima na concentração de 1000 µg/mL, como mostra a Figura 10.

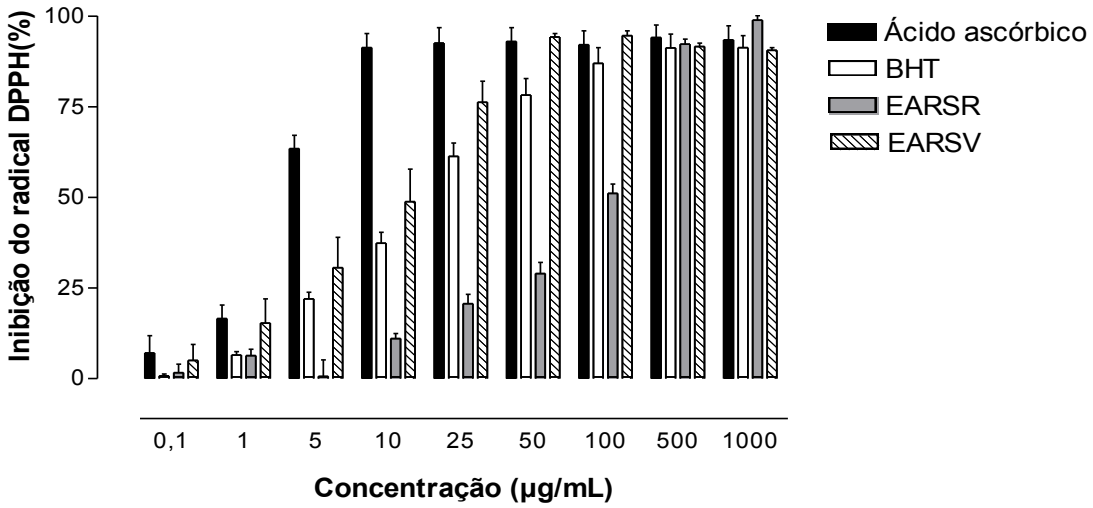


Figura 10. Inibição do DPPH pelos EARSR, EARSV, controles ácido ascórbico e BHT.

A diferença nas concentrações de atividade máxima observadas nos resultados pode ser explicada devido à cinética diferenciada de alguns compostos quando reagem com o DPPH. A aplicação de solventes de extração diferentes para o preparo dos extratos não culminou em diferenças na atividade antioxidante.

Os potenciais antioxidantes dos extratos vegetais determinados a partir do sequestro dos radicais livres são expressos através da concentração final dos extratos necessários para inibir a oxidação do radical DPPH em 50 % (IC_{50}). A reação entre os extratos e o DPPH ocorre somente se o extrato apresentar atividade antioxidante. Essa reação é facilmente observada, uma vez que ocorre a mudança da coloração da solução de violeta para amarelo. A porcentagem de descoloração evidencia o potencial de sequestro dos radicais livres da amostra e consequentemente, sua atividade antioxidante.

Dentre os fatores que podem interferir na capacidade antioxidante, estão a técnica de extração e o solvente utilizado. Estudos apontam que os métodos adotados e

as características hidrofóbicas ou hidrofílicas dos antioxidantes testados interferem na quantidade de fenóis totais e na capacidade antioxidante do vegetal (ROESLER et al., 2007).

Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 2 e evidenciam que, apesar dos solventes não exercerem diferenças na extração dos compostos, o extrato etanólico das folhas de *Senna rugosa* (EEFSR) apresentou maior atividade antioxidantes devido ao menor valor de IC_{50} atingido (10,5 ± 2,6 µg/mL) quando comparado ao extrato de sua raiz (IC_{50} de 73,0 ± 8,0). Esses valores podem estar relacionados ao fato das folhas de *Senna rugosa* apresentarem maiores quantidades de fenóis totais, uma vez que os compostos fenólicos são os principais compostos relatados por conferir ação antioxidante.

Nos extratos de *Senna velutina*, diferentemente do que ocorreu em *Senna rugosa*, não ocorreram diferenças na atividade antioxidante apresentadas pelos extratos das folhas (EEFSV IC_{50} de 7,9 ± 0,9 µg/mL) e raízes (EERSV IC_{50} de 6,9 ± 0,6 e EARSV IC_{50} de 9,9 ± 4,0 µg/mL).

Embora alguns estudos indiquem que o solvente etanol é capaz de extrair maiores quantidades de compostos fenólicos, resultando na maior capacidade de sequestro dos radicais (ROESLER et al., 2007), os dados experimentais evidenciaram que tanto os extratos etanólicos, quanto os aquosos, mostraram-se eficazes na extração dos compostos, não exercendo variação na captura dos radicais livres da solução.

A atividade antioxidante usualmente apresentada pelos vegetais está ligada não só a quantidade de compostos fenólicos presentes, como também ao sinergismo que pode vir a acontecer entre os constituintes químicos presentes nas espécies (HAIDA et al., 2012).

Tabela 2. Percentual de atividade máxima de *S. rugosa* e *S. velutina* comparados aos antioxidantes padrões, BHT e ácido ascórbico, em suas respectivas concentrações.

Extratos	IC 50	Atividade máxima	
		%	µg/mL
Vita ácido ascórbico	2,5 ± 0,2	95,1 ± 1,3	10
BHT	20,1 ± 3,0	94,9 ± 1,4	500
Extrato etanólico de folha de *S. rugosa* (SRFE)	10,5 ± 2,6	82,0 ± 5,0	25
Extrato etanólico de folha de *S. velutina* (SVFE)	7,9 ± 0,9	91,6 ± 1,2	25
Extrato etanólico de raíz de *S. rugosa* (SRRE)	73,0 ± 8,0	99,4 ± 0,5	1000
Extrato etanólico de raíz de *S. velutina* (SVRE)	6,9 ± 0,6	96,4 ± 0,4	25
Extrato aquoso de raíz de *S. rugosa* (SRRA)	126,2 ± 30,0	90,1 ± 0,7	500
Extrato aquoso de raíz de *S. velutina* (SVRA)	9,9 ± 4,0	91,3 ± 0,6	500

Os dados apresentam a média ± erro padrão da média (EPM). Os experimentos de captação dos radicais livres do DPPH foram realizados em duplicatas e estão expressos em valores de IC 50 e % de inibição máxima de DPPH ± EPM da média de diferentes concentrações dos extratos (em µg/mL), sendo n=2 para ensaios com SRRE, n=3 para SRFE, SRRA, SVFE, SVRA e SVRE; e n=12 para Ácido ascórbico e BHT.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos com os experimentos mostraram que os extratos de *S. rugosa* e *S. velutina* apresentam atividade antioxidante, apresentando significativo potencial de sequestro dos radicais livres presentes em solução. Contudo, os extratos SVFE, SVRE e

SRFE apresentaram valores semelhantes ao do padrão ácido ascórbico, demonstrando que em baixas concentrações, conseguem atuar como antioxidantes potentes. Apesar de não apresentarem potenciais tão elevados quanto os outros extratos, SRRA, SRRE e SVRA apresentaram atividade semelhante ao BHT. Com isso, é possível concluir que, o método de extração, o solvente, o teor de compostos fenólicos, também contribuem com a expressão da atividade antioxidante da planta. A eficiência na captação dos radicais livres fornece condições para o combate ao estresse oxidativo e desta forma, *S. rugosa* e *S. velutina* podem ser aliadas na prevenção e/ou tratamento de doenças desencadeadas a partir do estresse oxidativo. Estudos futuros podem ser desenvolvidos a fim de analisar o potencial dessas espécies no tratamento a outras doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como as degenerativas, neurológicas e pulmonares.

8 REFERÊNCIAS

ADETUTU, A. MORGAN, W. A; CORCORAN, O. **Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation activity of crude extracts of Bridelia ferruginea leaf, a wound-healing plant of Nigeria**. Journal of Ethnopharmacology, v. 133, n. 1, p. 116-119, 2011.

ALVES, Clayton Q.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.; BAHIA, Marcus V.; AGUIAR, Rosane M. **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro de substratos orgânicos**. Química Nova, Salvador, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. **Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão**. Revista Instituto Adolfo Lutz, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. **Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo**. Química Nova, Salvador, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BERTOLDI, Michele Corrêa. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*).** 2006. 116p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C.; **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** LWT – Food Science and Technology, França, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRITO, Naira J.N**. Benefícios dos antioxidantes naturais no estresse oxidativo**. FACIDER Revista Científica, v. 1, n.1, 2012.

CARVALHO, Ana Paula G. de Oliveira; SILVA, Claudia Inês da; AUGUSTO, TSolange Cristina. **Visitantes florais e polinização de Senna rugosa (G. Don) H.S. Irwin & Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae)**. Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia. Disponível em <http://www.seb-ecologia.org.br/viiceb/resumos/284a.pdf>, acesso em 20 de Agosto de 2012.

CECHINEL FILHO, Valdir; YUNES, Rosendo A. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade**. Química Nova, v. 21, n. 1, 1998.

CERQUEIRA, Fernanda Menezes; MEDEIROS Marisa H. G. de. **Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas.** Química Nova. São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

COSTA, Itayguara Ribeiro da; ARAÚJO, Francisca Soares de; LIMA-VERDE, Luiz Wilson. **Flora e aspectos auto-ecológicos de um encrave de cerrado na chapada do Araripe, Nordeste do Brasil**. Acta Botanica Brasilica, v. 18, n. 4, p. 759-770, 2004.

CUNHA, A.; **Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes ativos e fitoterapia**. Ed. 1 Siesalq, São Paulo, 2005.

EBERHARDT, Glaucia Neves. **Atividade Antioxidante, antidiabética e antimicrobiana de** *Senna rugosa* **(G. Don) H.S. Irwin & Barneby (1982) E** *Senna velutina* **(Vogel) H.S. Irwin & Barneby (1982).** 2012, 92 p., Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade Federal da Grande Dourados.

FALLER, Ana Luísa Kremer; FIALHO, Eliane. **Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil**. Revista de Saúde Pública, ed. 43, n. 2, p. 211-218, 2009.

FENNER, Raquel; BETTI, Andresa Heemann; MENTZ, Lilian Auler; RATES, Stela Maris Kuze. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 3, 2006.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. **Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo**. Revista da Associação médica Brasileira, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, David Fernando Gouveia; MORAIS, João Victor Silva; SILVA, Hugo Amadeu de; CHAVES, Stanyslau de Queiroz Cavalcanti; CARVALHO, Josabete Salgueiro Bezerra da. **Estudo morfológico da família Fabaceae**. In: XII Jornada de ensino, pesquisa e extensão – JEPEX, Recife: UFRPE, 2012. Disponível em <http://pt.scribd.com/doc/120150976/Fabaceae>. Acesso em: 19 de Março de 2013.

GARCIA-RODRÍGUEZ, Rosa Virginia; ZAVALA-SÁNCHES, Miguel A.; SUSUNAGA NOTARIO, Ana del C.; PÉREZ-GUTIÉRREZ, Salud. **Anti-inflammatory evaluation and antioxidant potential of *Senna crotalarioides* and *Penstemonroseus***. Boletín Latino americano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas, Santigo, Chile, v. 10, n. 1, p. 23-29, Janeiro 2011.

GUARIM NETO, Germano; MORAIS, Ronan Gil de. **Recursos medicionais de espécies do cerrado de Mato Grosso: Um estudo Bibliográfico**. Acta Botanica Brasilica, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

GYLLENHAAL, C.; KADUSHIN, M. R.; SOUTHAVONG, B.; SYDARA, K. BOUAMANIVONG, S.; XAIUVEU, M.; XUAN, L. T.; HIEP, N. T.; HUNG, N. V.; LOC, P. K.; DAC, L. X., BICH, T, Q.; CUONG, N. M.; LY, H. M.; ZHANG, H. J.; FRANZBLAU, S. G.; XIE, H.; RILEY, M. C.; ELKINGTON, B. G.; BGUYEN, H. T., WALLER, D. P.; MA, C. Y.; TAMEZ, P.; TAN, G. T.; PEZZUTO, J. M.; SOEJARTO, D. D. **Ethnobotanical approach versus random approach in the search for new bioactive compounds: Support of a hypothesis**. Pharmaceutical Biology, v. 50, p. 275-279, 2012.

GUPTA, Deepika; GUPTA, Rajinder K. **Bioprotective properties of Dragon's blood resin: In vitro evaluation of antioxidante activity and antimicrobial activity**. BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 11, n. 11, 2011.

HAIDA, Kimiyo Shimomura, HAAS, Jucelaine; LIMA, Deison S. de; HAIDA, Karina Y.; SILVA, Fábio J. da; LIMANA, Simone; RODRIGUES, Rausbleni Taila. **Atividade antioxidante e compostos fenólicos de** *Maytenus ilicifolia* **e** *Maytenus aquifolium***.** Revista saúde e pesquisa, v. 5, n.2, p. 360-368, Maio/Agosto, 2012.

HUANG, Dejian; OU, Boxin; PRIOR, Ronald L. **The Chemistry behind antioxindat capacity assays.**Journal of agricultural and food chemisty. Singapura, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IGLESIAS, Jacqueline de Oliveira; JUNQUEIRA, Daniela Inácio; RANDO, Juliana Gastaldelo; MOURA, Tânia Maria. **Listagem das Leguminosae – *Caesalpinioideae* no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Goiás, Brasil**. Brazilian Journal of Biosciences, Porto Alegre, v. 0, n. 4, p. 421-427, 2011.

LEWIS, G. P; LIMA, M. P. **Pseudopiptadenia Rauschert no Brasil**. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 30, p. 43-67, 2005.

LIMA, Alessandro de. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (Caryocar brasiliense, Camb)**, 2008, 182 p. Tese (Doutorado em Bromatologia)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LOMBARDO, M.; KIYOTA, S.; KANEKO, T. M.; **Aspectos étnicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae)**. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2009.

MACIEL, Maria Aparecida M.; Pinto, Angelo C.; VEIGA JUNIOR, Valdir F. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares**. Química Nova, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MANELA-AZULAY, MANDARIM-DE-LACERDA; Carlos A.; PEREZ, Maurício de A.; FILGUEIRA, Absalom L.; CUZZI, Tullia. **Vitamina C***. Anais Brasileiro de Dermatologia, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 265-274, Maio-Junho, 2003.

MARTINS, I. S., **Requerimentos de energia e nutrientes da população brasileira**. Revista Saúde Pública, São Paulo, v. 13 (Supl. 1), p. 1-10, 1979.

MASOKO, P.; GOLOLO S. S.; MOKGOTHO, M. P.; ELOFF, J. N.; HOWARD, R. I; MAMPURU, L. J. **Evaluation of antioxidant, antibacterial, and antiproliferative activities of the acetone extract of the roots of** *Senna Italica* **(Fabaceae)**. The African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines, South Africa, v. 7, n. 2, p. 138-148, 2010.

MELO, Enayde de Almeida; MACIEL, Maria Inês S.; LIMA, Vera Lúcia A. G. de; NASCIMENTO, Rosilda, Josefa do Nascimento. **Capacidade antioxidante de frutas**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 44, n. 2, Abr./Jun. 2008.

MELO, Enayde de Almeida; MACIEL, Maria Inês S.; LIMA, Vera Lúcia A. G.; LEAL; Fernanda L. L.; CAETANO, Ana Carla da S.; NASCIMENTO, Rosilda J. **Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas**. Ciência e Tecnologia de alimentos, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644, Jul./Set. 2006.

MELO, Enayde de Almeida; MACIEL, Maria Inês S.; LIMA, Vera Lúcia A. G. de; ARAÚJO, Cristiane R. de; **Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas.** Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 67-72, Jan./Mar. 2008.

MIYASHIRO, Carla Adriana Hartman Vieira. **Avaliação da atividade antioxidante e antiinflamatória do flavonóide rutina e derivados contendo metal de transição**. 2010. 82 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Farmácia) – Universidade Bandeirante de São Paulo. 2010.

MOLYNEUX, P. **The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.** The Songklanakarin Journal of Science and Technology., v. 26, n.2, p. 211-219, 2004.

MORAES, Fernanda P; COLLA, Luciane M. **Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições, legislação e benefícios à saúde**. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 2, n. 2, p. 109-122, 2006.

NOGUEIRA, Lyvia Guarize. ***Senna macranthera*: Constituição química e atividades biológicas**, 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas na área de genética e biotecnologia)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

OLIVEIRA, Alane C. de; VALENTIM, Iara B.; GOULART, Marília O.; SILVA, Cícero Alexandre; BECHARA, Etelvino José H.; TREVISAM. Maria T. S. **Fontes Naturais de antioxidantes.** Química nova, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, Melissa dos Santos*;* DORS, Giniani Carla; SOUZA-SOARES, Leonor A. de; BADIALE-FURLONG, Eliana. **Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais**. Alimentos e Nutrição: Brazilian Journal of food and nutrition, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 267-275, jul. /set. 2007.

OLIVEIRA, Alane Cabral de; VALENTIM, Iara B.; GOULART, Marília O. F; SILVA, Cícero A.; BECHARA, Etelvino J. H.; TREVISAN, Maria Teresa S. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes**. Química Nova, Maceió-AL, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PAULA, Orlando Cavalari de; OLIVEIRA, Denise Maria Trombert. **Morfoanatomia do fruto e semente de Senna rugosa (G. Don) Irwin & Barneby (Fabaceae, Caesalpinioideae)**. Resumo do 56º Congresso Nacional de Botânica (em CD). Sociedade Botânica do Brasil, Out. 2005.

PEDROSO, H.L., ROCHA-FILHO, L.C., LOMÔNACO, C. **Phenotypic variation of Brazilian Savannah plants in response to environmental heterogeneity ecosistemas.** Revista Ecossistemas, Minas Gerais, v. 19, n. 1, p. 24-36**, 2**010.

RAMALHO, Valéria Cristina; JORGE, Neuza. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. Química Nova, São José do Rio Preto, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RODRIGUES, Rodrigo Schütz; FLORES, Andréia Silva; MIOTTO, Sílvia Teresinha Sfoggia and BAPTISTA, Luís Rios de Moura. O gênero Senna (Leguminosae, Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Botânica Brasilica. [online], vol.19, n.1, p. 1-16, 2005.

RODRIGUES, Valéria E. Gomes; CARVALHO, Douglas Antônio de. L**evantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio**

Grande - Minas Gerais. Ciência e Agrotecnologia., Lavras, v. 25, n. 1, p. 102-123, jan./fev., 2001.

ROESLER, Roberta; MALTA, Luciana G.; CARRACO, Luciana Cristina; HOLANDA, Roseane B.; SOUSA, Clélia A. S.; PASTORE, Glaucia Maria. **Atividade antioxidante de frutas do cerrado**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, Janeiro/Mar. 2007.

RUFINO, Maria do Socorro Moura; ALVES, Ricardo E.; BRITO, Edy S. de.; MORAIS, Selene M. de; SAMAPAIO, Caroline de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; SAURA-CALIXTO, Fulgencio Diego. **Metodologia científica: Determinação da aticidade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: EMBRAPA, 2007. 4p. (EMBRAPA. Comunicado Técnico, 127).

SACKHEIM, George I.; LEHMAN, Dennis, D. **Química e Bioquímica para Ciências Biomédicas**. 8. ed.Tamboré: Manole. 2001. 644p.

SADO, Monaly. **Efeito do 2,4-D na calogênese de *Senna spectabilis* (DC) Irwin et Barn (Leguminosae) e seus compostos de reserva**. 2009. 90 p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade vegetal e meio ambiente)- Instituto de Botânica da Secretaria do meio ambiente, São Paulo, 2009.

SAIKI, Patrícia Thieme Onofri; SILVA, Bethayne; LOMÔNACO, Cecília. **Expressão de caracteres reprodutivos e vegetativos de Senna velutina (Vogel) H. S. Irwin & Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae) em dois ambientes distintos de cerrado**. Revista Brasileira de Botânica, v. 31, n. 2, p. 363-369, Abril-Junho, 2008.

SALVADOR, Mirian; HENRIQUES, João A. P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: Ed. ULBRA, 2004. 204p.

SILVA, Cláudia Inês da. **Distribuição espaço-temporal de recursos florais utilizados por espécies de Xylocopa (Hymenoptera, Apidae) e interação com plantas do cerrado sentido restrito no Triângulo Mineiro**, 2009, 151 p. Tese (Doutorado em Ecologia e conservação de recursos naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

SILVA, Dulce Helena Siqueira; VIEGAS JR, Claudio; SANTOS, Luciana de Avila; CASTRO-GAMBOA, Ian; CAVALHEIRO, Alberto Jose; BOLZANI, Vanderlan da Silva; DE CASTRO, Newton Goncalves; PIVATTO, Marcos; YOUNG, Maria Claudia Marx; ROCHA, Monica Santos; FRAGA, Carlos Alberto Manssour; BARREIRO, Eliezer Jesus. **Espectalina, cassina e análogos semissintéticos como potenciais candidatos a fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer**. Revista Virtual de Química, v. 2, p. 38-46, 2010.

SILVA, Francisco A. M.; BORGES, M. Fernanda M.; FERREIRA, Margarida A. **Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante**. Química nova, v. 22, n.1, 1999.

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso; COSTA, Renata Silva; SANTANA, Andréa dos Santos; KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. **Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, Jul./ Set. 2010.

SOARES, Sérgio Eduardo**. Ácidos fenólicos como antioxidantes**. Revista Nutrição, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, Janeiro/Abril 2002.

SOUZA, André Lopes de; SOARES, Yndiara Kássia da Cunha; SOUSA, Fernando Pereira de; SOUSA, Andressa Maria Lopes de; SOUSA, Bruno Alexis Lopes de**. Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso do orégano: *Origanunvulgare* L.**, 2010. Disponível em <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/view/719/0> Acesso em 1º de Maio de 2012.

SOUZA, Vinicius C.; LORENZI, Harri. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora Brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005**.**

VASCONCELOS, Sandra M. L.; GOULART, Marília O. F.; MOURA, José Benedito de F.; BENFATO, Mara da S.; MANDREDINI, Vanusa; KUBOTA, Lauro T. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo**

em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. Química Nova, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VIEGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. **Plantas medicinais: Cura segura?**. Química nova, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIEGAS JUNIOR, C.; REZENDE, A.; SILVA. D. H. S., CASTRO-CAMBÔA, I., BOLZANI V. S. **Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia***. Química Nova, v. 29, n. 6, p. 1279-1286, 2006.

VIRTUOSO, Suzane. **Estudo fitoquímico e biológico das cascas de Erythina velutina Willd. –FABACEAE (LEGUMINOSAE – PAPILIONOIDEAE)**, 2005, 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

ZECCA, Adriana G. D. **Botânica agrícola**. Disponível em <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABPMwAK/apostila-completa-sistematica-vegetal>. Acesso em 25 Jun. 2011.