Atividades antioxidantes e anticolinesterásicas do extrato das folhas de Jaramataia (*Vitex gardneriana* Schauer)**Antioxidant and anticholinesterase activities of Jaramataia (*Vitex gardneriana* Schauer) leaf extract**

DOI:10.34117/bjdv6n5-358

Recebimento dos originais: 19/04/2020

Aceitação para publicação: 19/05/2020

Selene Maia de Moraes

Doutora em Química pela University of London, UL, Inglaterra.

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus do Itaperi - Fortaleza, Ce

E-mail: selenemaiademoraes@gmail.com

Daniela Ribeiro Alves

Doutora em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus do Itaperi - Fortaleza, Ce

E-mail: alves.danielaribeiro@gmail.com

Lucas Soares Frota

Doutorando em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus do Itaperi - Fortaleza, Ce

E-mail: lucassfrota@gmail.com

Solange de Oliveira Pinheiro

Doutora em Química pela Universidade Federal do Ceará

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus do Itaperi - Fortaleza, Ce

E-mail: solangepin@gmail.com

Ana Carolina Silva e Silva

Graduanda em Química pela Universidade Estadual do Ceará

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus do Itaperi - Fortaleza, Ce

E-mail: carolinaana1310@gmail.com

Wildson Max Barbosa da Silva

Doutor em Biotecnologia pela Rede Nordeste de Biotecnologia

Instituição: Centro Universitário Christus - Unichristus

Endereço: Rua João Adolfo Gurgel, 133 - Fortaleza, Ce

E-mail: wmaxbs@hotmail.com

RESUMO

Vitex gardneriana Schauer é uma das poucas Verbenaceas arbóreas encontradas no sertão nordestino, conhecida popularmente como “jaramataia”, usada tradicionalmente por suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. O extrato etanólico das folhas foi submetido à caracterização fitoquímica, quantificação de fenóis e flavonoides, e determinação de atividade antiacetilcolinesterase. Na prospecção fitoquímica apresentaram-se fenóis, taninos, catequinas, saponinas e esteroides, apresentou valor relevante quanto às quantificações de fenóis e flavonoides, acentuada ação antioxidante e o extrato revelou importante atividade antiAcetilcolinesterase, revelando potencial ação contra a Doença de Alzheimer.

Palavras-chave: Jaramataia; DPPH; Acetilcolinesterase.**ABSTRACT**

Vitex gardneriana Schauer is one of the few trees Verbenaceas found in the northeastern hinterland, popularly known as "Jaramataia", traditionally used for its anti-inflammatory and analgesic properties. The ethanolic extract of the leaves was subjected to phytochemical characterization, quantification of phenols and flavonoids, and determination of antiacetylcholinesterase activity. Phytochemical prospecting showed phenols, tannins, catechins, saponins and steroids, presented a relevant value in terms of the quantification of phenols and flavonoids, a strong antioxidant action and the extract revealed an important antiacetylcholinesterase activity, revealing a potential action against Alzheimer's Disease.

Key words: Jaramataia; DPPH; Acetylcholinesterase.**1 INTRODUÇÃO**

O Brasil possui a maior diversidade genética em espécies de plantas no mundo, no entanto, menos de 10% foram avaliadas quanto as suas características biológicas e, menos de 5% foram submetidas a estudos fitoquímicos detalhados (LUNA et al.2005). Estudos recentes apontam as plantas como fonte para descoberta de novas substâncias biologicamente ativas (NEWMAN, 2012). Dentre as recentes estratégias utilizadas para o isolamento e identificação de substâncias com potencial de atividade biológica, a pesquisa por substâncias presentes em extratos e óleos de plantas se destaca como uma das mais importantes. O estudo biomonitorado enfatiza o conhecimento da estrutura dos constituintes químicos de uma espécie vegetal ou de microrganismo, com ênfase nas substâncias com atividade biológica ou farmacológica e não

somente com foco central ao isolamento e determinação estrutural, como na fitoquímica clássica (PINTO, *et al.*, 2002).

É sabido que a natureza provém diversas substâncias terapêuticas, as quais podem ser obtidas de micro-organismos, animais e plantas, presentes em diversos ecossistemas terrestres, aquáticos e aéreos (JABEEN *et al.*, 2014). *Vitex gardneriana Schauer* é uma das poucas Verbenaceae arbóreas encontradas no sertão nordestino, frequentemente às margens ou leito dos rios, como na ribanceira do rio Espinharas, na Paraíba, às margens do rio Moxotó, em Pernambuco, e em Taperuaba, no Ceará. O vulgo a tem como “jaramataia”, “jeremataia”, “girimato”, “tamanca” ou “tamanqueira”, servindo-se das cascas do seu caule marrom esverdeado para o preparo de chá, usado como abortivo e calmante, à semelhança do que acontece com outros representantes de *Vitex*, como *V. agnus-castus* (DRAGENDORFF, 1898) e *V. cannabifolia* (GOTO, 1957).

Há vários estudos demonstrando a atividade biológica e isolamento de substâncias presentes em diversas espécies de *Vitex*, entretanto nenhum estudo fitoquímico e de bioatividade com esta espécie foi desenvolvido anteriormente. Salvo uma abordagem realizada há cerca de três décadas passadas, demonstrando que o extrato etanólico das cascas do seu caule era desprovido de toxicidade para ratos e peixes (BARROS, 1970). Esta planta é usada tradicionalmente por suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas (SÁ-BARRETO *et al.*, 2008). As atividades antifúngicas dos compostos bioativos obtidos a partir de outras espécies de *Vitex* têm sido demonstradas (SATHIAMOORTHY *et al.*, 2007; ŠVECOVÁ *et al.*, 2013; ASDADI *et al.*, 2015).

Este trabalho teve como objetivo a prospecção fitoquímica do extrato etanólico extraído das folhas secas, adquiridas comercialmente, da *Vitex gardneriana Schauer* para identificação das classes de possíveis compostos, caracterização química, capacidade antioxidante, e a determinação de atividade inibitória frente à enzima AChE.

2 METODOLOGIA

2.1. PREPARAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DA PLANTA

As folhas da planta foram obtidas comercialmente e a preparação do extrato etanólico se deu da seguinte forma 20g das folhas da planta foram extraídas com 500 mL de etanol PA 96° GL, por maceração, durante sete dias, à temperatura ambiente, com agitação ocasional e concentrado em evaporador rotativo a sob pressão reduzida (40 rpm a 60°C).

2.2 TESTE FITOQUÍMICO

Através da análise do perfil fitoquímico do extrato alcoólico da planta, deve-se identificar quimicamente a presença dos metabólitos secundários, tais como:

Flavonóides, saponinas, fenóis, taninos, alcaloides, esteroides, entre outros metabólitos secundários. O extrato etanólico da planta foi analisado no laboratório de Química e Produtos Naturais da UECE para a realização das análises para identificação dos metabólitos secundários, possivelmente presentes na composição da planta. Os testes realizados serão para identificação de taninos, flavonoides, esteroides e triterpenos, alcaloides, saponinas e fenóis. A preparação e análise das amostras foram desenvolvidas segundo a descrição de Matos (1988).

2.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS

A determinação do teor de fenóis totais foi realizada por meio de espectroscopia na região do visível pelo método de Folin-Ciocalteu (SOUSA et al.,2007). Dissolveu-se 7,5 mg do extrato em metanol, que em seguida a solução foi transferida para um balão volumétrico de 25mL onde completou-se o volume final com MeOH. Foi agitada uma alíquota de 100 μ L dessa solução com 500 μ L de Folin-Ciocalteu por 30 segundos, em seguida acrescentado 6 mL de H₂O destilada e 2mL de Na₂CO₃ à 15%. A mistura novamente foi agitada por 1min e completado o volume para 10mL com H₂O destilada(1,4mL). Em espectrofotômetro UV-Vis foi determinada após 2h a absorbância das amostras em 750nm utilizando nas cubetas: 1^a cubeta contendo o branco (toda a mistura sem a amostra) e na 2^a cubeta contendo a amostra. A quantificação dos compostos fenólicos foi encontrada através de uma curva analítica de ácido gálico.

Determinação do teor de flavonóides

Realizou-se a quantificação do teor de flavonoides utilizando o reagente de complexação cloreto de alumínio. A leitura foi feita em espectrofotômetro, utilizando-se cloreto de alumínio a 2% em metanol. Se existir flavonóide no extrato o complexo flavonóide-Al absorve em comprimento de onda bem maior do que o flavonóide sem a presença do agente complexante. O extrato foi sujeito a determinação de flavonóides de acordo com a metodologia proposta por Funari e Ferro (2006). Uma solução-mãe foi preparada e colocada em um balão de fundo redondo por adição de a 1,2 mg de extrato e completando o volume até 10 ml com metanol (70%). 2 mL desta solução foi transferida para um outro frasco de 10 mL. 1 mL de cloreto de alumínio (AlCl₃) de cloreto de 15% adicionando-se, o volume foi completado até 10 ml com metanol (70%). A solução foi deixada em repouso durante 30 minutos e depois realizou-se a leitura espectrofotométrica a 425 nm.

2.4 INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi aferida em placas de 96 poços de fundo plano utilizando leitor Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software “Gen5 V2.04.11”, baseando-se na metodologia descrita por ELLMAN et al. (1961).

A porcentagem de inibição da acetilcolinesterase foi calculada através da comparação das velocidades de reação (hidrólise do substrato) das amostras em relação ao branco (considerada atividade total da AChE, 100%). O padrão utilizado como controle positivo é a fisostigmina.

2.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi aferida em placas de 96 poços de fundo plano utilizando leitor Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software “Gen5 V2.04.11”, baseando-se na metodologia descrita por Wang (2017). Em placas de 96 poços, foram utilizadas as seguintes soluções por poço: 180 µL de solução metanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), 20 µL da amostra de extrato dissolvida em metanol e diluída 10 vezes para obter concentração final de 0,2 mg.mL⁻¹. A porcentagem de inibição (PI%) foi calculada através da comparação das velocidades de reação das amostras em relação aos controles. O padrão utilizado como controle positivo é a quercetina. A amostra foi analisada em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas de jaramataia, detectaram a presença de fenóis, flavonoides, taninos, catequinas, saponinas e esteroides. Para a quantificação de fenóis e flavonoides, o extrato etanólico dessa espécie apresentou altos valores deste metabólito. Os resultados das quantificações de teor de fenóis e flavonoides totais, atividade antioxidante e atividade antiacetilcolinesterásica estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de fenóis e flavonoides totais, atividade antioxidante (CI50) e inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase (IC50) de *Vitex gardneriana*.

	<i>Fenóis mgEAG/g</i>	<i>Flavonóides mgEQ/g</i>	<i>DPPH CI50 µg/ml</i>	<i>AchE CI50µg/ml</i>
EEFJ	100,52±3,77	89,24±0,13	24,19±0,68	15,87±0,00
Quercetina	-	-	1,05±0,55	-
Fisostigmina	-	-	-	1,15±0,55

(EEFJ) Extrato etanólico das folhas da Jaramataia; (AG)-mg equivalente de gálico por grama de extrato; (QE) mg equivalente de quercetina por grama de extrato, (DPPH)2,2-difenil-1-picrilidrazilo; AChE- anticolinesterase.

Os teores de compostos fenólicos do extrato etanólico das folhas de jaramataia neste estudo foram maiores do que os obtidos por MONTEIRO et al., 2015, que, ao avaliarem o extrato etanólico e aquoso das folhas, o teor de compostos fenólicos foi de 77,94 mg EAG/g e 92,85 mg EAG/g, respectivamente. Esta diferença apresentada poderá estar correlacionada a fatores intrínsecos e extrínsecos, como meio ambiente, clima e topografia, além do tipo de solvente e método de extração utilizado (CRUZ-SILVA et al.; 2016).

Observado a ligação direta entre compostos fenóis e ação antioxidante, a amostra foi submetida a determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH, que se baseia na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante, o DPPH que possui cor púrpura é reduzido ficando com coloração amarela (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; NASCIMENTO et al, 2011).

Com ênfase na atividade antioxidante, pode-se notar que o extrato etanólico de jaramataia apresentou atividade sequestradora de radicais livres. Tal fato confirma dados da literatura que afirma que a atividade antioxidante está diretamente correlacionada aos teores de compostos fenólicos (MORAIS et al, 2012; VALE et al., 2017; ALVES et al., 2017; PEDRO, 2008). Os dados apresentados em relação a atividade anticolinesterásica, apresentaram-se promissores quando comparada ao padrão fisostigmina, como visualizado na tabela 01. Outros trabalhos indicam que o extrato apresentou um bom valor de inibição (PENIDO et al, 2017). Segundo Pedro (2008) a inibição da enzima acetilcolinesterase, pode estar vinculada a flavonoides, ou compostos semelhantes como é o caso da epigallocatequina.

4 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste estudo mostram que o extrato etanólico de jaramataia possui atividades antioxidante e anticolinesterásica. As atividades apresentadas podem estar

relacionadas à presença de substâncias fenólicas nos extratos. Estudos estão sendo realizados para o isolamento dos constituintes químicos desta espécie para determinação dos compostos responsáveis pelas atividades biológicas dos extratos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Profa. Marta Rosany Dutra Almeida pela doação do material vegetal estudado. À Universidade Estadual do Ceará pelas instalações para realizar este trabalho. À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) para concessão de bolsas de doutorado e a Reitoria de Extensão da Universidade Estadual do Ceará (PROEX-UECE) por bolsas de iniciação científica.

REFERENCIAL

ALVES, D.R.; MORAIS, S.M.; TOMIOTTO-PELLISSIER, F.; MIRANDA-SAPLA, M.M.; VASCONCELOS, F.R.; SILVA, I.N.G.; SOUSA, H.A.; ASSOLINI, J.P.; CONCHON-COSTA, I.; PAVANELLI, W.R.; FREIRE, F.C.O. Flavonoid composition and biological activities of ethanol extracts of *Caryocar coriaceum* Wittm., a native plant from Caatinga Biome. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2017

ASDADI, A. et al. Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, v. 25, n. 4, p. e118-e127, 2015.

Barros, G.S.G.; Matos, F.J.A.; Vieira, J.E.V.; Souza, M.P. & Medeiros, M.C. 1970.

BIEBER, L.W.; SANT'ANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from Northeast Brazil. *J. Ethnopharmacol*, v. 97, p. 199-206, 2005.

BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

CRAGG, Gordon M.; NEWMAN, David J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

CRUZ-SILVA, S.C.B.; MATIAS, R.; BONO, J.A.M.; SANTOS, K.S.; LUDWIG, J. Antifungal potential of extracts and fractions of *Randianitida* leaves on soybean pathogens and their phytochemistry. **Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 594 – 602, 2016.

DO VALE, J.P.C.; GONÇALVES, F.B.; SILVA, P.T.; BANDEIRA, P.N.; TEIXEIRA, E.H.; VASCONCELOS, M.A.; SAMPAIO, A.H.; SAKER-SAMPAIO, S.; BRAZ-FILHO, R.;

SANTOS, H.S. Isolation and antioxidant activity of chemical constituents from *Vitex gardneriana* Schauer. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 6, p. 1806-1811, 2017.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

ELLMAN, G. L.; COURTENEY, D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95. 1961.

FERREIRA, Luciane Ouriques. A emergência da medicina tradicional indígena no campo das políticas públicas. **Hist. ciênc. saúde-Manguinhos**, v. 20, n. 1, p. 203-219, 2013.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: < <http://floradobrasil.jbrj.go.v.br/> >. (Accessed: 27 December 2016).

FUNARI, C.S.; FERRO, V.O. Análise de própolis, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n.1, p.171-178, 2006

LIMA, C.T. & FRANÇA, F. 2009. Flora da Bahia: *Vitex Tour. ex. L. Lamiaceae. Sitientibus* LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.AC.; Pharmacological screening of some Brazilian plants. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** 22:116-122.

MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 1st ed. Fortaleza: Edições UFC, 1988.

MONTEIRO, L.C.C.F.; ARAUJO, E.I.M.; OLIVEIRA, A.M.S.; ALVES, L.A.; BERTINI, L.M. Atividade antioxidante, teor de fenóis e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* de *Vitex gardneriana* Schauer. **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 292-300, 2015.

MORAIS, S.M; LIMA, K.S.B.; SIQUEIRA, S.M.C.; CAVALCANTI, E.S.B.; SOUZA, M.S.T.; MENEZES, J.E.S.A.; TREVISAN, M.T.S. Correlation between the anti-radical, anti-acetylcholinesterase activities and phenolic content of some extracts of live herbal pharmacies in the Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 575-582, 2013.

NASCIMENTO, J.C.; LAGE, L.F.O.; CAMARGOS, C.R.D.; AMARAL, J.C.; COSTA, L.M.; SOUSA, A.N.; OLIVEIRA, F.Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

Naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

NEWMAN, D.J.; CRAGG G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **J. Nat. Prod.**, v. 75, p. 311–335, 2012.

PEDRO, M. M. Pesquisa de actividade inibitória da enzima acetilcolinesterase em extratos aquosos de várias plantas usadas como infusões: identificação de compostos com maior actividade inibitória. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado académico em Bioquímica) - Universidade de Lisboa, 2008. Disponível em: < <http://repositorio.ul.pt/bitstream> >. Acesso em: 30 ago 2018.

PENIDO, A.B., DE MORAIS, S.M., RIBEIRO, A.B., ALVES, D.R., RODRIGUES, A.L.M., DOS SANTOS, L.H.; DE MENEZES, J.E.S.A. Medicinal plants from northeastern Brazil against Alzheimer's disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017. PINTO A.C., SILVA D.H.S., BOLZANI V.S., LOPES N.P., EPIFANIA R.A. Produtos

SÁ-BARRETO, Livia CL et al. Avaliação Preliminar da Atividade Biológica e Toxicidade Aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). Lat. Am. J. Pharm, v. 27, n. 6, p. 909-13, 2008.

SATHIAMOORTHY, B. et al. New antifungal flavonoid glycoside from *Vitex negundo*. Bioorganic & medicinal chemistry letters, v. 17, n. 1, p. 239-242, 2007.

Série Ciências Biológicas 9: 225:244

SOUSA CM, SILVA HRE, VIEIRA-Jr GM, AYRES MCC, COSTA CLS, ARAÚJO DS, CAVALCANTE LCD, BARROS EDS, ARAÚJO PBM, BRANDÃO MS, CHAVES MH 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quim Nova30: 351-355.

ŠVECOVÁ, E. et al. Antifungal activity of *Vitex agnus-castus* extract against *Pythium ultimum* in tomato. Crop Protection, v. 43, p. 223-230, 2013.