

1.06.01 – Química / Química Orgânica.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Peperomia quadrangularis*

Amanda Feitosa Cidade^{1,3}, Dhessi Rodrigues², Emelly B. S. Santos², Elza Paula Silva Rocha¹, Gabriela C. De Oliveira², Jamile Mariano Macedo¹, João Vitor Souza de Oliveira², Jonas Soares de Mesquita², Maria Vitória Dunice Pereira², Minelly Azevedo da Silva¹, Nilton Fagner de Araújo¹ e Rebeca da Costa Rodrigues².

¹ Pesquisadores do Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO;

² Estudantes de IC do Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO;

³ Orientadora - Instituto Federal de Rondônia Campus – Calama, Porto Velho/RO

Resumo:

A *Peperomia* é o segundo gênero mais diversificado de *Piperaceae*, com uma estimativa de 1.600 espécies e uma distribuição pantropical. *Peperomia quadrangularis* é uma espécie nativa da América do Sul e é cultivada para fins comerciais na Coreia, seu domínio de ocorrência no Brasil é na região Amazônica. Este estudo apresenta a atividade antioxidante do extrato bruto da folha da espécie *Peperomia quadrangularis* e teve como objetivo realizar a prospecção química e a atividade antioxidante do extrato, que foi avaliada por meio do método de sequestro de radicais livres usando 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). O extrato bruto das folhas da espécie *P. quadrangularis* apresentou potencial antioxidante pelo método DPPH.

Palavras-chave: *Piperaceae*; extrato; radicais livres.

Apoio financeiro: Instituto Federal de Rondônia – IFRO; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Introdução:

Os Antioxidantes são compostos capazes de combater radicais livres e são conhecidos por apresentar em sua última camada eletrônica elétrons não-emparelhados, essa característica lhes conferem uma alta reatividade promovida pela retirada de elétrons de outras moléculas, esse comportamento pode levar a modificações na estrutura molecular. Nesse experimento foi realizado o estudo das possíveis classes de substâncias (prospecção química) presentes no extrato bruto de *Peperomia quadrangularis* e a realização da atividade antioxidante.

As substâncias naturais com ação antioxidante são encontradas em plantas. Dependendo da estrutura química dos componentes bioativos e da concentração dos fitoquímicos (Melo *et al.*, 2006), diferentes extratos de frutas, ervas, especiarias e chás podem apresentar essa capacidade de inibir, prevenir ou retardar a ação dos radicais livres (Mariutti e Bragagnolo, 2007). Os recursos naturais, portanto, continuam sendo importantes fontes de substâncias e precursores com grande potencial terapêutico (Justo *et al.*, 2008).

Portanto, desenvolver pesquisas nessa área é contribuir significativamente para que se obtenha novos agentes antioxidantes naturais que possam ser utilizados tanto para fins industriais como terapêuticos. Ou seja, que se constituam em fontes alternativas ao uso de antioxidantes sintéticos, na conservação de alimentos, e como parte do sistema de defesa do organismo humano, na neutralização de agentes oxidantes e na redução do risco de várias doenças crônicas. Este trabalho teve como objetivo realizar testes para verificar a(s) possível(is) classes de substâncias, visando avaliar posteriormente sua atividade antioxidante.

Metodologia:

O material vegetal (folhas) de *P. quadrangularis* foi coletado no município de Colorado do Oeste – Rondônia, em maio (fim do inverno amazônico). A preparação dos extratos brutos e a atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica e Produtos Naturais do IFRO – Porto Velho/Calama.

A prospecção química visa verificar as possíveis classes de substâncias presentes no extrato, auxiliando futuramente no fracionamento cromatográfico. A análise foi realizada seguindo as orientações de (Barbosa, 2004) para a verificação da presença de Alcalóides, glicosídeos cardíacos, Catequinas, Flavonóides, Fenóis-Taninos, Saponinas, Triterpenóides, Atividade Antioxidante.

Método DPPH

A atividade antioxidante foi realizada seguindo as orientações de (Scherer & Godoy, 2009). Após o preparo da solução metanólica de DPPH (0,06 mM), foi adicionado 3,9mL da solução metanólica a 0,1mL do extrato bruto nas concentrações de (250; 500; 750 e 1000µg.mL⁻¹). Como controle negativo foi utilizado 0,1mL de MeOH e 3,9mL da solução de DPPH, para o controle positivo foi utilizado butilhidroxitolueno (BHT) em diferentes concentrações (50; 100; 150; 200; e 250µg.mL⁻¹) e quercetina (50; 100; 150; 200 µg.mL⁻¹). As soluções foram acondicionadas por 60 min em uma câmara escura a temperatura ambiente e depois procedidas às leituras das absorbâncias no espectrofotômetro no comprimento de onda de 517nm (análises realizadas em triplicata). A

atividade antioxidante foi avaliada pela capacidade das substâncias presentes na amostra captarem o radical livre DPPH. As atividades sequestrantes de DPPH das concentrações testadas foram expressas em porcentagem, a partir da seguinte fórmula:

$$I (\%) = [(Abs_0 - Abs_1)/Abs_0] \times 100; Abs_0 \text{ é a absorbância do branco e } Abs_1 \text{ é a absorbância da amostra.}$$

A CE₅₀ (quantidade suficiente para 50% de inibição) foi calculada através da equação da reta obtida da curva de calibração (concentração versus o índice DPPH correspondente). A ação antioxidante do extrato foi expressa no Índice de Atividade Antioxidante (IAA) pela fórmula:

$$IAA = m_{DPPH}(\mu\text{g mL}^{-1})$$

$$CE_{50}(\mu\text{g mL}^{-1})$$

m_{DPPH} = massa do DPPH

CE₅₀ = concentração efetiva

Método FRAP

A atividade antioxidante pelo método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) foi realizada seguindo as orientações de (Brito, Morais, Sampaio, & Saura-calixto, 2006). As soluções foram preparadas e usadas imediatamente. Foram preparadas as amostras do extrato bruto das folhas de *Peperomia quadrangularis* e dos controles positivos BHT e quercetina nas concentrações de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, o solvente metanol foi utilizado como solvente. As amostras foram mantidas em ambiente escuro. Alíquotas de 90 μL de cada amostra foram transferidas para tubos de ensaio em triplicata. Depois foi acrescentado 270 μL de água destilada e 2,7 mL do reagente de FRAP. As amostras foram homogeneizadas com o uso do agitador e mantidas em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Depois foram realizadas as leituras das absorbâncias em comprimento de onda de 595 nm.

Resultados e Discussão:

Triagem Fitoquímica

O resultado da triagem do extrato bruto demonstrou a presença das seguintes classes de substâncias (Tabela 1).

Tabela 1. Triagem fitoquímica do extrato bruto de *Peperomia quadrangularis*.

Alcaloides	Presença ou Ausência	Coloração
Reagente de Mayer	Negativo	
Reagente de Wagner	Negativo	
Reagente de Dragendorff	Negativo	
Glicosídeos Cardiotônicos		
Reagente de Kedde	Negativo	
Catequinas	Negativo	
Flavonoides	Positivo	Rosa
Fenóis e Taninos		
Fenóis	Positivo	Vermelho
Taninos Hidrolisáveis	Negativo	
Taninos Condensados	Negativo	
Saponinas	Negativo	
Triterpenoides	Positivo	Laranja

O estudo químico dos constituintes fixos da espécie *Peperomia quadrangularis* ainda não foi realizado. Porém, alguns estudos com outras espécies de *Peperomia* revelaram a presença de lignanas, secolignanas, compostos fenólicos prenilados e cromenos. (Souto, 2015; Gutierrez, Yamaguchi, de Moraes, Jeffrey, & Kato, 2016)

Atividade Antioxidante Método DPPH

Preparou-se uma curva analítica de DPPH nas concentrações: 250; 500; 750 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, obtendo a equação de regressão linear $y = 0,0132x + 0,0036$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9995$.

O valor correspondente à metade da absorbância da solução de DPPH puro (0,06 mM) foi substituído na equação do DPPH, para encontrar a concentração em μM de DPPH, correspondente a 50% da concentração inicial do radical e, em seguida, transformado para g de DPPH pela Equação:

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

A concentração do DPPH utilizada foi de 23,66 $\mu g \cdot mL^{-1}$ para uma solução de 0,06 Mm. A avaliação da atividade antioxidante revelou que o IAA do extrato bruto das folhas praticamente iguala-se ao controle positivo BHT e a quercetina (Tabela 2).

Método FRAP

A curva de calibração do método FRAP foi preparada com a solução de sulfato ferroso nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 μM . As leituras das absorbâncias foram plotadas no eixo Y e as concentrações de sulfato ferroso no eixo X, obtendo-se a Equação da reta $y = 0,0007x - 0,0283$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9996$.

Os valores médios das absorbâncias das amostras foram substituídos na equação de regressão linear obtida, para se determinar a capacidade das amostras em reduzir o Fe^{3+} presente na solução a Fe^{2+} , e o resultado equivalente a concentração em μM de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. Posteriormente, o valor encontrado foi convertido em mg de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ /extrato, e o resultado final expresso em mg de Fe^{2+} / extrato (Tabela 2). O extrato bruto das folhas apresentou o maior potencial antioxidante.

Tabela 2. Resultados da atividade antioxidante de *Peperomia quadrangularis*

AMOSTRAS	Método DPPH			Método FRAP
	Inibição (%) ± DP	CE50 ± DP ($\mu g \cdot mL^{-1}$)	IAA	(mg de Fe^{2+} / grama de extrato) ± DP
Extrato Bruto das folhas de <i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	91,13 ± 0,09	10,81 ± 0,040	2,17	41,30 ± 2,71
BHT	68,48 ± 1,09	4,19 ± 0,046	5,64	126,59 ± 1,93
Quercetina	95,45 ± 0,55	2,03 ± 0,032	11,65	167,85 ± 2,86

DP (desvio padrão); IAA (Índice de Atividade Antioxidante); BHT (butilhidroxitolueno); Concentrações para determinar o percentual de inibição (%): Extrato Bruto (500 $\mu g/mL$); BHT (250 $\mu g/mL$); Quercetina (200 $\mu g/mL$)

Conclusão:

Os testes indicaram que o extrato bruto das folhas de *Peperomia quadrangularis* apresentou potencial antioxidante pelo método DPPH, isso pode ser justificado pela possível presença de compostos fenólicos que foram identificados na triagem fitoquímica do extrato bruto. Futuramente objetiva-se avaliar o efeito das condições climáticas na composição das frações dos extratos, isolar os constituintes fixos dos extratos das espécies para reproduzir os experimentos.

Referências bibliográficas:

- BRITO, E. S. DE, MORAIS, S. M. DE, SAMPAIO, C. D. G., & SAURA-CALIXTO, F. D. (2006). **on line**, 3–6.
- BARBOSA, W.L.R. 2004. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais, Belém – PA. Disponível em: http://www.ebah.com.br/content/ABAAej_QAA/manual-fitoquimica Acesso realizado em: 09 de novembro de 2011, às 19h18min.
- GUTIERREZ, Y. V., YAMAGUCHI, L. F., DE MORAES, M. M., JEFFREY, C. S., & KATO, M. J. (2016). Natural products from *Peperomia*: occurrence, biogenesis and bioactivity. **Phytochemistry Reviews**, 15(6), 1009–1033. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9461-5>
- JUSTO, O. R.; MORAES, A. M.; BARRETO, G. P. M.; MERCADANTE, A. Z.; VIEIRA e ROSA, P. T. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Quim. Nova**, Vol. 31, No. 7, 1699-1705, 2008.
- MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Braz. J. Food Technol.**, v. 10, n. 2, p. 96-103, abr./jun. 2007.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

SCHERER, R., & GODOY, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, 112(3), 654–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>

SOUTO A.L. (2015). **Análise Metabolômica de Peperomia obtusifolia** (L.) A. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos - UFPB. Orientador: Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho. Coorientador: Prof. Dr. Josean Fachine Tavares. João Pessoa – PB. Disponível em: <http://tede.biblioteca.ufpb.br/handle/tede/8052>. Acesso realizado em: 27 de setembro de 2017, às 18h 21min

SAMAIN, Marie-Stéphanie et al. Is morphology telling the truth about the evolution of the species rich genus *Peperomia* (Piperaceae)? *Plant Systematics and Evolution*, v. 278, n. 1-2, p. 1, 2009.

HAN, Kyung-Sook et al. First report of *Myrothecium roridum* causing leaf and stem rot disease on *Peperomia quadrangularis* in Korea. *Mycobiology*, v. 42, n. 2, p. 203-205, 2014.