

Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae

*Cristiane Alves de Carvalho, Mirian Virgínia Lourenço, Bianca Waléria Bertoni,
Suzelei de Castro França, Paulo Sérgio Pereira, Ana Lúcia Fachin,
Ana Maria Soares Pereira**

*Unidade de Biotecnologia, Universidade de Ribeirão Preto, Av Costábile Romano, 2201,
14096-900 Ribeirão Preto-SP, Brasil*

RESUMO: Muitas doenças e processos degenerativos estão associados à superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO) o que tem estimulado vários grupos de pesquisa a investigarem o potencial antioxidante de substâncias produzidas por diversas famílias da flora mundial. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante de extrato bruto hidroalcoólico de folhas de *Jacaranda decurrens* e de frações obtidas a partir desse extrato, pelo método espectrométrico de descoloração do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). A atividade antioxidante (91%) do extrato bruto e da fração Jd-2 foi semelhante à atividade obtida com o padrão rutina, na concentração de 1 mg/L (92,56%). A fração Jd-3 quando comparada com as outras frações apresentou maior atividade antioxidante em concentrações igual ou abaixo de 2,5 mg/L. A atividade antioxidante das amostras está relacionada à presença dos triterpenos ácidos ursólico e oleanólico presentes no extrato bruto e nas frações Jd-1 e Jd-2 e também a flavonóides glicosilados contidos na fração Jd-3. Este é o primeiro trabalho demonstrando a atividade antioxidante de extrato de folhas de *Jacaranda decurrens*.

Unitermos: *Jacaranda decurrens*, Bignoniaceae, planta medicinal, cerrado, antioxidante.

ABSTRACT: “Antioxidant activity of *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae”. Since many diseases and degenerative processes have been associated to the overproduction of reactive oxygen species (ROS) many research groups are motivated to investigate the antioxidant potential of substances produced by several families of the world flora. The aim of this work was to evaluate the antioxidant activity of crude hydroalcoholic extract of *Jacaranda decurrens* leaves and fractions obtained from that extract, using the free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) through spectrometric discoloration method. Results confirmed that either the crude extract or fractions of the extract presented antioxidant activity. The antioxidant activity (91%) demonstrated by the crude extract was equivalent to the antioxidant activity determined for fraction Jd-2 in the concentration of 10 mg/L, and similar to the activity showed by the standard rutin, in the concentration of 1 mg/L (92,56%). Fraction Jd-1 in the concentration of 10 mg/L and 5 mg showed 84% and 86% antioxidant activity, respectively. Those values are significantly different and inferior if compared to the standard rutin. Compared to the other fractions the Jd-3 presented higher antioxidant activity. The antioxidant potential of *Jacaranda decurrens* crude extracts and fractions Jd-1 and Jd-2 is probably related to the production of the triterpenes ursolic and oleanolic acids and also to the glycosylated flavonoids produced in the fraction Jd-3. This is the first report on the antioxidant activity of crude hydroalcoholic extract of *J. decurrens* leaves and fractions obtained from that extract.

Keywords: *Jacaranda decurrens*, Bignoniaceae, medicinal plant, cerrado, antioxidant.

INTRODUÇÃO

Muitas doenças e processos degenerativos têm sido associados com a superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais são formadas durante o metabolismo normal das células aeróbias ou podem ainda ser induzidas por processos físicos, reações químicas ou por xenobióticos (Hensley et al., 2000; Harman, 1992; Halliwell & Gutteridge, 1999; Sies, 1997).

Compostos derivados de plantas medicinais com atividade antioxidante têm sido isolados das mais diversas famílias de plantas (Couladis et al., 2002; Boudet, 2007; Razavi et al., 2008; Fonseca et al., 2009; Rebelo et al., 2009) e os compostos fenólicos são, por certo, as substâncias representativas desta atividade. Entretanto, outras classes de compostos como, por exemplo, os triterpenos, também podem atuar como agentes seqüestradores dos radicais livres (Moon et al., 2006; Somova et al., 2002).

Jacaranda decurrens Cham. é uma espécie endêmica do Cerrado, pertencente à família Bignoniaceae, encontrada nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (Mauro et al., 2007; Varanda et al., 1992). Tintura de raiz de *J. decurrens* é amplamente utilizada pela população como depurativo do sangue e também recomendada para o tratamento das afecções cutâneas e úlceras externas (Rodrigues & Carvalho, 2001). É possível que essas ações, preconizadas pelo saber popular, estejam relacionadas à atividade antioxidante dos compostos fenólicos e triterpenos presentes no extrato dessa espécie. De acordo com Varanda et al. (1992) o extrato hidroalcoólico de folhas de *Jacaranda decurrens* contém ácido ursólico, triterpeno com significativa atividade antimicrobiana, antiviral, hepatoprotetora, imunorreguladora e inibitória de células cancerígenas humanas (Hsu et al., 2004; Ma et al., 2005). Além desse triterpeno, Pereira et al., 2007 isolaram de extrato metanólico de folhas de *J. decurrens* o ácido oleanólico o qual apresenta significativa atividade antioxidante (Liu, 1995).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante de extrato hidroalcoólico de folhas de *J. decurrens* e de frações obtidas a partir desse extrato através do método espectrométrico de descoloração do DPPH.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Folhas de *J. decurrens* foram coletadas em outubro de 2005 no município de Altinópolis, Estado de São Paulo, Brasil. A localização geográfica da planta foi determinada por GPS (Global Positioning System) Lat. 21°03' N, Long. 47° 29' W, Alt. 604 m e uma exsiccata foi depositada no herbário da Universidade de Ribeirão Preto (*voucher* - HPM-763).

Preparação e caracterização dos extratos

Folhas secas e pulverizadas de *J. decurrens* (200 g) foram maceradas em 1 L de EtOH/H₂O (8:2 v/v) por 15 dias a 25 °C. O filtrado foi concentrado em rotoevaporador (Tecnal-TE-58) e liofilizado em liofilizador Flexi-Dry.

O extrato seco foi submetido à fracionamento em coluna cromatográfica de Sephadex LH20 (3x 64 cm), utilizando metanol como eluente. As frações foram submetidas à cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) e após a reunião das mesmas por semelhança do perfil cromatográfico obteve-se três frações (Jd-1, Jd-2 e Jd-3). Esses materiais foram analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação do perfil químico de triterpenos e flavonóides. As análises dos triterpenos foram realizadas utilizando-se como fase móvel MeOH:H₂O (ácido acético 0,1%), 85:15, a um fluxo

de 1.0 mL/min, detecção a 210 nm e os padrões utilizados foram ácidos ursólico e oleanólico. Para a detecção dos flavonóides foi utilizado como fase móvel o sistema eluente MeOH:H₂O em gradiente (0-30 min -10% MeOH/ 32-35 min-66-10% MeOH/ 35-40 min -10% MeOH), com fluxo de 1 mL/min e detecção a 330 nm.

Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada usando o método fotocolorimétrico do DPPH. Este método é baseado na redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) na presença de um antioxidante (AH) doador de um próton (H⁺) para a forma não radicalar (DPPH-H). (Koleva et al., 2002).

O potencial antioxidante foi avaliado utilizando-se solução estoque de DPPH 0,0004% e solução padrão de rutina (1 mg/mL) diluídas em metanol. As amostras testadas foram diluídas em metanol nas concentrações de 10, 5, 2,5, 1, 0,625, 0,312 e 0,156 mg/mL, incubadas por 15 min no escuro a 30 °C sob agitação e posteriormente realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 517 nm. A porcentagem de atividade antioxidante é dada pela fórmula $(A_o - A_i / A_o) \times 100$ onde A_o e A_i correspondem à absorbância da solução na ausência e na presença do extrato da planta. O experimento foi repetido três vezes e os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de separação de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A rutina foi selecionada como padrão de referência por ser considerada uma substância antioxidante capaz de inibir o sistema de peroxidação lipídica, dependente de ferro, e suprimir os estágios do processo de formação dos radicais livres como a produção do radical hidroxila na reação de Fenton e de radical peróxido (Morel et al., 1993).

O extrato bruto hidroalcoólico de folhas de *Jacaranda decurrens* e a fração Jd-2 na concentração de 10 e 5 mg/L obtida a partir desse extrato apresentaram atividade antioxidante similar ao padrão rutina na concentração de 1 mg/L (91, 91 e 92,5%, respectivamente). A fração Jd-3, em relação ao extrato bruto e demais frações, apresentou maior atividade antioxidante em concentração igual ou inferiores a 2,5 mg/L (Tabela 1).

Análises realizadas em CLAE evidenciaram a presença dos triterpenos ácidos ursólico e oleanólico (tempo de retenção 16,6 e 17,4 min, respectivamente) no extrato bruto e nas frações Jd-1 e Jd-2 (Figuras 1A, B e C), e flavonóides na fração Jd-3 (Figura 2D). Os perfis cromatográficos do extrato bruto e da fração Jd-3 apresentaram absorbâncias no ultra-violeta características de flavonóides (Figura 3). Foi constatado a presença de seis flavonóides sendo dois com tempo de retenção em 22,1 e 29,4 min pertencentes ao grupo das flavonas e

quatro ao grupo dos flavonóis com tempo de retenção de 34,8,34,8,35,2 e 41,0.

A atividade antioxidante do extrato bruto e das frações Jd-1 e Jd-2 pode estar relacionada a presença dos ácidos ursólico e oleonólico. Recentemente foi comprovado que esses triterpenos apresentam atividade antioxidante não enzimática e que o ácido úrsólico também atua como inibidor da apoptose celular causada por hiperglicemia. (Aggarwal & Shishodia, 2006; Yin & Chan, 2007; Bai et al., 2007; Yang et al., 2007; Oh et al., 2007).

O perfil fitoquímico da fração Jd-3 mostrou que a mesma é rica em flavonóides glicosilados, portadores de grupos hidroxila fenólicos, que conferem a esses flavonóides um grande potencial terapêutico através da

ação inibidora da peroxidação de lipídios nos microsomas (Rios et al., 1992). Os flavonóides têm despertado grande interesse em decorrência de seu potencial antioxidante e por inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), além de reduzirem significativamente as tendências a doenças trombóticas (Pratt & Birac, 1979; Conforti et al., 2004; Sanchez-Perez et al., 2005). Atuam também como potentes depuradores de espécies ativas de oxigênio e queladores de metais e, portanto aumentam a capacidade de reação hepática, contribuem para a redução do dano oxidativo hepático e da formação de fibrose causada pela obstrução biliar (Peres et al., 2000). Estudos *in vitro* têm mostrado também que os flavonóides inibem fortemente a produção de óxido nítrico e do fator de necrose tumoral

Tabela 1. Comparação dos valores obtidos no teste de atividade antioxidante do extrato bruto hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* (EB) e frações desse extrato (Jd-1, Jd-2 e Jd-3) com o padrão rotina. Os valores são expressos em % de descoloração.

Amostras testadas	Concentrações em mg/mL							
	10	5	2,5	1,0	0,625	0,312	0,156	CV (%)
EB	91,0aA	78,0bD	62,0cC	48,0dB	20,0eB	10,0fB	1,2gC	5,04
Fração Jd-1	84,0aC	86,0aB	70,0bB	41,0cC	18,0dB	6,6eB	2,7Bf	4,51
Fração Jd -2	90,0aB	91,0aA	62,0bC	31,0cD	15,0dB	6,3eB	2,8fB	3,86
Fração Jd -3	74,0cD	83,0bC	87,0aA	89,0aA	89,0aA	81,0aA	41,0dA	1,78
Padrão rotina	-	-	-	92,5A	-	-	-	-
CV (%)	0,45	0,18	2,37	3,86	6,37	11,16	5,9	

CV= Coeficiente de variação, EB= Extrato bruto. Médias seguidas por letras distintas minúsculas na horizontal e maiúsculas na vertical deferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$), pelo teste de Scott-Knott.

pelas células de Kupffer quando estimuladas pela injúria (Kawada et al., 1998).

CONCLUSÃO

O extrato bruto hidroalcoólico de folhas de *Jacaranda decurrens*, bem como as frações obtidas desse extrato apresentaram atividade antioxidante semelhante ao padrão rotina, revelando ter potencial seqüestrador de ânions H^+ . Essa atividade correlacionada

à presença de triterpenos e flavonóides vem confirmar o potencial terapêutico da espécie e corroborar com dados de levantamento etnofarmacológico sobre a atividade depurativa e cicatrizante de *Jacaranda decurrens*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da FAPESP (05/04040-0) e da UNAERP.

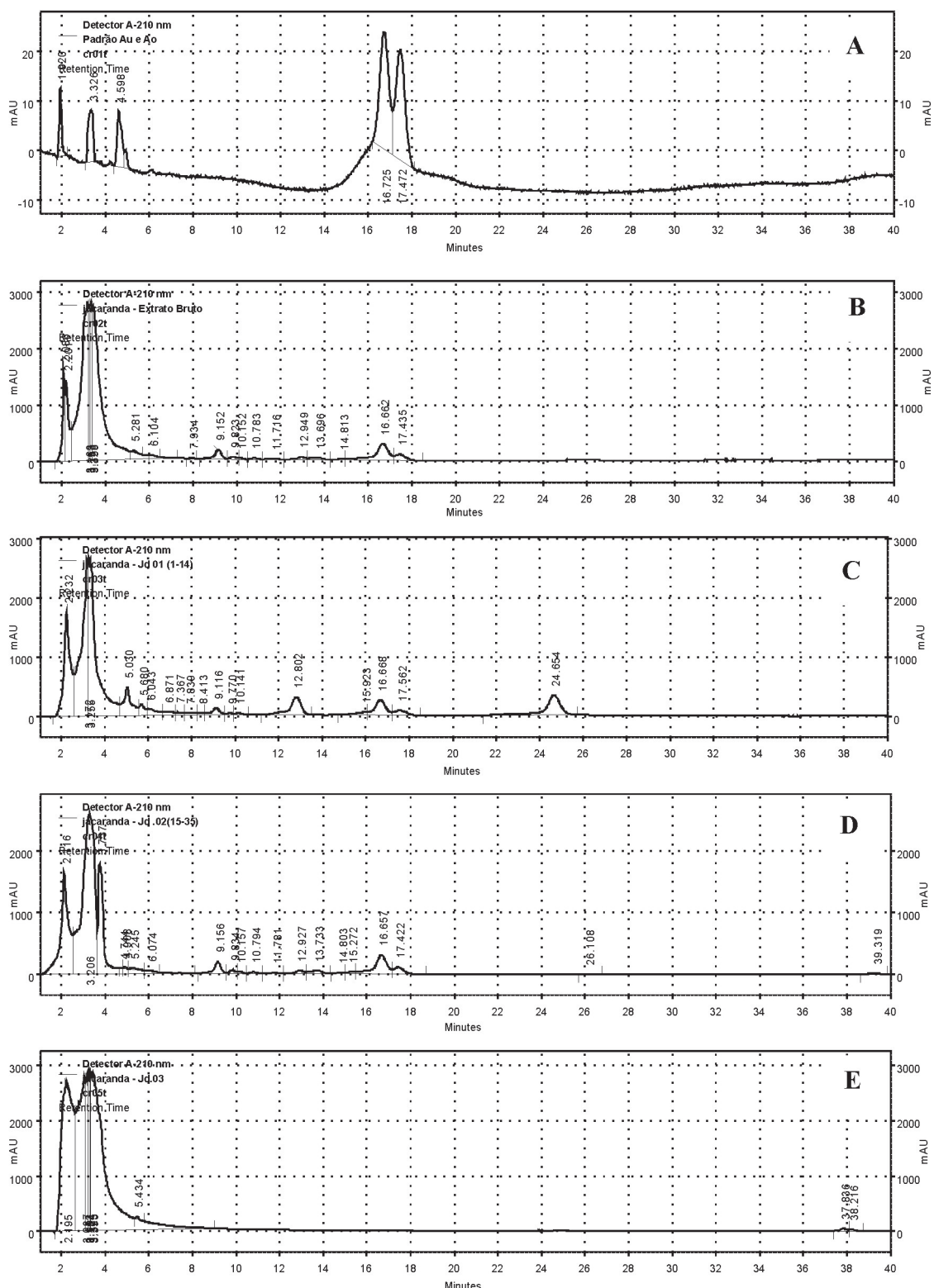


Figura 1. Cromatogramas (CLAE) dos padrões (A), extrato bruto (B) e frações Jd-1 (C), Jd-2 (D) e Jd-3 (E) mostrando o perfil químico de triterpenos a 210 nm.

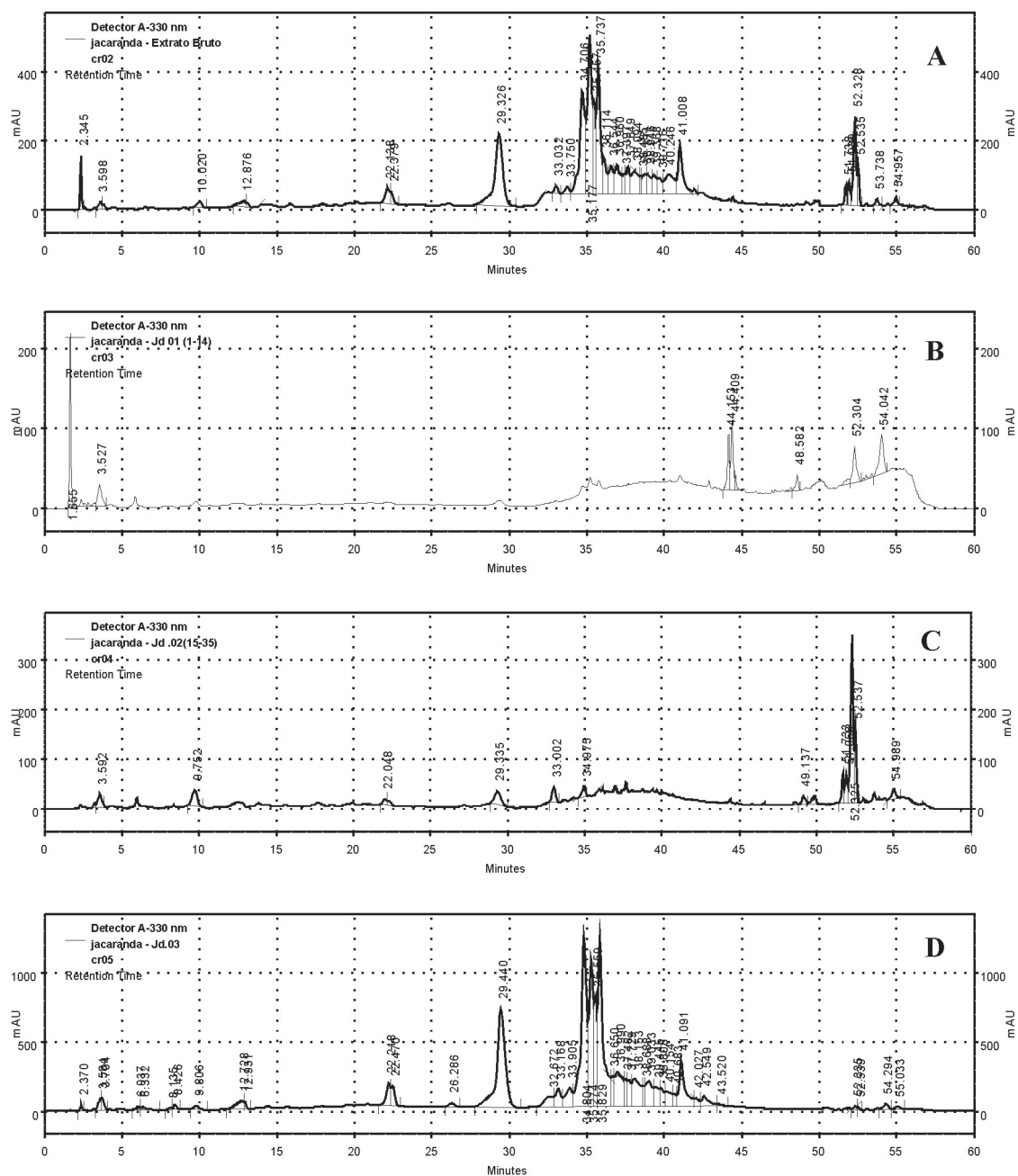


Figura 2. Cromatogramas (CLAE) do extrato bruto (A) e das frações Jd-1 (B), Jd-2 (C) e Jd-3 (D) mostrando o perfil químico de flavonóides a 330 nm..

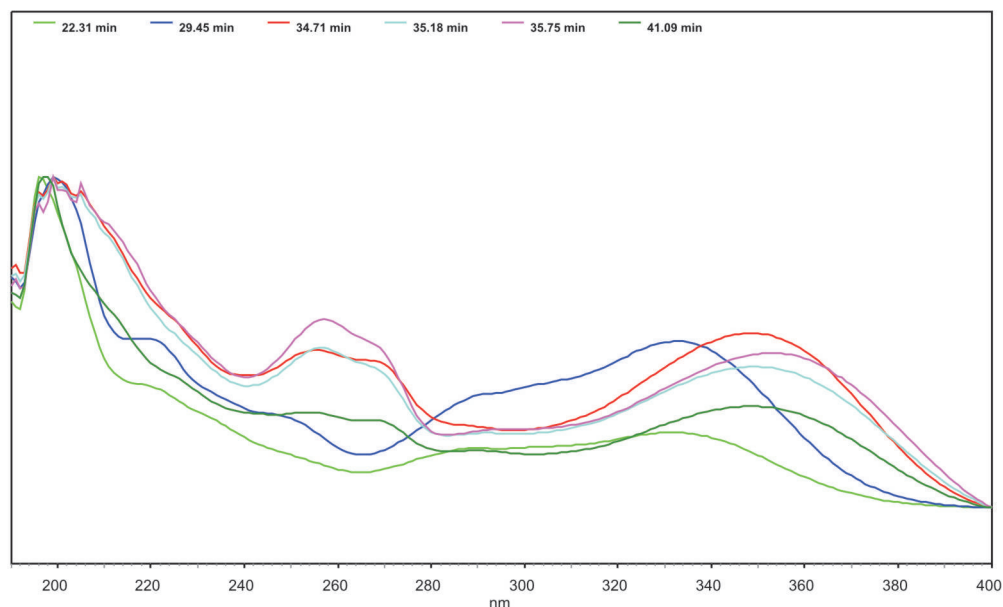


Figura 3. Espectros no ultravioleta dos seis flavonóides detectados na fração Jd-3.

REFERÊNCIAS

- Aggarwal BB, Shishodia S 2006. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 71: 1397-1421.
- Bai X, Qui A, Guan J 2007. Antioxidant and protective effect of an oleanolic acid-enriched extract of *A. deliciosa* root on carbon tetrachloride induced rat liver injury. *Asia Pac J Clin Nutr* 16 Suppl 1: 169-173.
- Boudet AM 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry* 68: 22-24.
- Conforti F, Statti G, Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M 2004. Antioxidant and cytotoxic activities of *Retama raetam* subsp. *gussonei*. *Phytother Res* 18: 585-587.
- Couladis M, Baziou P, Verykokidou E, Loukis A 2002. Antioxidant activity of polyphenols from *Hypericum triquetrifolium* Turra. *Phytother Res* 16: 769-770.
- Fonseca AM, Bizerra AMC, Souza JSN, Monte FJQ, Oliveira MCF, Mattos MC, Cordel GA, Braz-Filho R, Lemos TLG 2009. Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). *Rev Bras Farmacogn* 19: 193-198.
- Halliwell, B, Gutteridge JMC 1999. *Free radicals in biology and medicine*. 3 ed. New York: Oxford University Press.
- Harman D 1992. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 275: 257-266.
- Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd R 2000. A reactive oxygen species, cell signaling and cell injury. *Free Radical Bio Med* 28: 1456-1462.
- Hsu Y, Kuo PL, Lin CC 2004. Proliferative inhibition, cell-cycle dysregulation, and induction of apoptosis by ursolic acid in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Life Sci* 75: 2303-2316.
- Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T 1998. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and *N*-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupfer cells. *Hepatology* 27: 1265-1274.
- Koleva II, Beek Van T, Linssen JPH, Groot A, Evstatieva LN 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Analysis* 13: 8-17.
- Liu J 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J Ethnopharmacol* 49: 57-68.
- Ma C, Cai SQ, Cui JR, Wang RQ, Tu PF, Hatorri M, Daneshtalab M 2005. The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives. *Eur J Med Chem* 40: 582-589.
- Mauro C, Pereira AMS, Silva CP, Missima J, Ohnuki T, Rinaldi RB 2007. Estudo anatômico das espécies de cerrado *Ane-mopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza (catuaba), *Zeyheria montana* Mart. (bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba) - Bignoniaceae. *Rev Bras Farmacogn* 17: 262-265.
- Moon HI, Kim EJ, Lee HK, Chung JH 2006. The effect of sativan from *Viola vercunda* A. Gray on the expressions of matrix metalloproteinase-1 cause by ultraviolet irradiated cultured of primary human skin fibroblasts. *J Ethnopharmacol* 104: 12-17.
- Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Padeloup N, Brissot P, Cillard P, Cillard J 1993. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol* 45: 13-19.
- Oh CJ, Kil IS, Park CI, Yang CH, Park JW 2007. Ursolic acid regulates high glucose-induced apoptosis. *Free Radical Res* 41: 638-644.
- Pereira AMS, Lourenço MV, Malosso MG, Bertoni BW, Ming

- CM, Guerreiro CPV, Pereira JO, França SC 2007. *Jacarana decurrens* In: *Recursos genéticos conservação de plantas medicinais do cerrado*. Ed. Ana Maria Soares Pereira. Legis Summa: Ribeirão Preto-SP, 360 p.
- Peres W, Tuñón MJ, Collado PS, Herrmann S, Marroni N, Gallego JG 2000. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J Hepatol* 33: 742-750.
- Pratt DE, Birac PM 1979. Source of antioxidant activity in soybeans. *J Food Sci* 44: 1720-1722.
- Razavi SM, Nazemiyeh H, Hajiboland R, Kumarasamy Y, Delazar A, Nahar L, Sarker SD 2008. Coumarins from the aerial parts of *Prangos uloptera* (Apiaceae). *Rev Bras Farmacogn* 18: 1-5.
- Rebelo MM, Silva JKR, Andrade EHA, Maia JGS 2009. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. *Rev Bras Farmacogn* 19: 230-235.
- Rios JL, Mañez S, Paya M, Alcaraz MJ 1992. Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis javalambrensis*. *Phytochemistry* 31: 1947-1950.
- Rodrigues VEG, Carvalho DA 2001. *Plantas medicinais no domínio dos cerrados*. Editora UFLA, Universidade Federal de Lavras.
- Sanchez-Perez Y, Carrasco-Legleu C, Garcia-Guellar C, Hernández-García S, Salcido-Neyoy M, Aleman-Lazarini L, Villa-Trevino S 2005. Oxidative stress in carcinogenesis. Correlation between lipid peroxidation and induction of preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 217: 25-32.
- Sies H 1997. *Antioxidants in disease mechanisms and therapy*. Advances in Pharmacology 38, Academic Press, p. 707.
- Somova L, Shode FO, Ramnanan P, Nadar A 2002. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *J Ethnopharmacol* 84: 299-305.
- Varanda EM, Zuniga GE, Salatino A, Roque NF, Corcuera LJ 1992. Effect of ursolic acid from epicular waxes of *Jacarana decurrens* on *Schizaphis graminum*. *J Nat Prod* 55: 800-803.
- Yang ZG, Li HR, Lu SG, Wang J, Daikonya A, Kitanaka S 2007. Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and their nitric oxide production-inhibitory and DPPH radical-scavenging activities. *Chem Pharm Bull* 55: 15-18.
- Yin MC, Chan KC 2007. Nonenzymatic antioxidative and antiglycative effects of oleanolic acid and ursolic acid. *J Agric Food Chem* 55: 7177-7181.