

Atividade antioxidante e toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera

PAULA, C.S.^{1,2}; CANTELI, V.C.D.¹; VERDAM, M.C.S.¹; KALEGARI, M.¹; CAMPOS, R.¹; HIROTA, B.C.K.¹; MIGUEL, O.G.M.¹; MIGUEL, M.D.¹

¹Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Av. Prof. Lothário Meissner, 632 – Jardim Botânico, CEP 80210-170, Curitiba, PR, Brasil. ²Autor para correspondência: e-mail: crisspaula@onda.com.br

RESUMO: *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera, açúcará ou espinho-de-agulha, pertence à família Asteraceae, a qual compreende muitas espécies com propriedades terapêuticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar extratos e frações de folhas e de cascas do caule de *D. tomentosum*, com relação as atividade antioxidante, citotóxica e hemolítica em testes *in vitro*. Todas as amostras apresentaram atividade antioxidante pelo método de inibição de DPPH, com destaque para a fração acetato de etila obtida das folhas cuja atividade foi comparável à dos padrões ácido ascórbico e rutina. Com relação à redução do complexo fosfomolibdênio, observou-se que esta mesma fração foi semelhante somente a rutina enquanto a fração obtida das cascas do caule apresentou resultado superior. Não foi observada atividade citotóxica e hemolítica frente aos modelos utilizados com os extratos e frações. Os resultados obtidos demonstram o potencial antioxidante da espécie sem apresentar toxicidade.

Palavras-chave: antioxidante, DPPH, fosfomolibdênio, hemolítica, Asteraceae.

ABSTRACT: Antioxidant activity and preliminary toxicity of the extracts and fractions obtained from the leaves and stem bark of *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera, which belongs to the Asteraceae family, is well known for having many species with therapeutic properties. The aim of this study was to evaluate the extracts and fractions from the leaves and stem bark of *D. tomentosum* with respect to the antioxidant, cytotoxic and hemolytic activity in *in vitro* tests. All samples showed antioxidant activity by the DPPH inhibition method, especially the ethyl acetate fraction obtained from the leaves, whose activity was comparable to that of standard ascorbic acid and rutin. Regarding the reduction of the phosphomolybdenum complex, we noted that this same fraction was only similar to rutin and the fraction obtained from the stem bark showed superior results. There was no cytotoxicity and hemolytic activity compared to the models used in the extracts and fractions. The results demonstrate the antioxidant potential of the species without showing toxicity.

Keywords: antioxidant, DPPH, phosphomolybdenum, hemolytic, Asteraceae.

INTRODUÇÃO

Dasyphyllum tomentosum (Spreng) Cabrera é conhecida popularmente por açúcará, agulheira, cambará-de-espinho, espinho-de-agulha, espinho-de-judeu, lavra-mão, sucará, goiapá (Fernandes & Ritter, 2009). É encontrada no sudeste e sul do Brasil, de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul e extremo nordeste da Argentina. Esta espécie arbórea pode atingir cerca de 10 m de altura, normalmente é encontrada nas bordas ou interior

de matas, floresce de março a agosto e frutifica de julho a outubro (Fernandes & Ritter, 2009). Pertence à família Asteraceae, muito conhecida por apresentar espécies com propriedades terapêuticas, cosméticas e aromáticas além de vários relatos na literatura sobre o uso medicinal como anti-helmíntico, anti-inflamatório, anti-hemorrágico, diurético, analgésico e antiespasmódico (Fabri et al., 2011). O chá preparado a partir de folhas e espinhos

de *D. brasiliensis* é usado na medicina tradicional no Brasil para o tratamento de doenças orais e de orofaringe (Castelucci et al., 2007).

Poucos estudos avaliando atividades biológicas foram realizados com espécies do gênero. O extrato aquoso e metanólico obtidos das folhas e espinhos de *D. brasiliensis* mostraram atividade anti-inflamatória sobre a peritonite aguda induzida por β -glucana e no edema de pata induzido por carragenina (Castelucci et al., 2007). Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *D. tomentosum* mostraram ausência de atividade inibitória frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* através da técnica de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (Paula et al, 2013).

Uma investigação qualitativa preliminar do perfil químico de *D. tomentosum* apontou a presença de triterpenos e/ou esteroides, alcaloides, heterosídeos antocianícos, taninos e flavonoides (Paula et al, 2013). Este último grupo tem recebido atenção especial por apresentar uma gama de atividades farmacológicas no tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo como câncer, aterosclerose e inflamação (Ferreira & Matsubara, 1997). Neste contexto, as pesquisas que buscam extratos e substâncias naturais com potente atividade antioxidante sem apresentar toxicidade (Nunes et al., 2008) tornam-se fundamentais para o desenvolvimento de novos fármacos que serão utilizados na prevenção ou tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo, tornando-se importantes ferramentas nos ensaios preliminares.

A partir destas considerações, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o extrato etanólico e frações das folhas e casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng) Cabrera, com relação à atividade antioxidante através do modelo *in vitro* de capacidade sequestrante de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e redução do complexo fosfomolibdênio, além da atividade citotóxica frente *Artemia salina* e atividade hemolítica.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng) Cabrera foram coletadas no município de Curitiba Paraná em agosto de 2010. A espécie foi identificada no Museu Botânico Municipal da Prefeitura de Curitiba onde está depositada exsicata de número 54772.

Preparo dos extratos

As folhas e cascas do caule foram secas em temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas/martelo. O extrato bruto das folhas foi obtido a partir de 1,14 kg e o das cascas do caule a partir de 3,00 Kg do material vegetal em etanol, com a utilização do aparelho de Soxhlet. Este foi filtrado e concentrado através da eliminação do solvente por destilação em Soxhlet e mantido em banho-maria (65 °C) até remoção total. Os extratos brutos foram utilizados para a obtenção das frações por partição líquido/líquido com solventes de diferentes polaridades, na seguinte ordem: n-hexano, clorofórmio e acetato de etila. Cada fração obtida foi submetida à destilação, para remoção do solvente, sendo posteriormente mantidas em banho-maria (65 °C) até eliminação total. A partir dos extratos brutos (EB), frações hexano (FH), clorofórmio (FCL), acetato de etila (FAE) e hidroalcoólica residual (FR) das folhas e cascas do caule foram realizados os ensaios propostos.

Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Radical DPPH

O potencial de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) das amostras foi analisado espectrofotometricamente. Foram preparadas cinco soluções metanólicas das frações nas concentrações de 3,0 a 110 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, das quais 2,5 mL foram adicionadas a 1 mL de uma solução metanólica de DPPH na concentração de 0,03 $\text{mmol}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para as frações hexano foram utilizadas cinco soluções com concentrações entre 200 e 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Para cada amostra foi preparado um branco com 2,5 mL da solução e 1 mL de metanol para cada concentração. Paralelamente foi feito um controle com 2,5 mL de metanol e 1 mL de DPPH. Após trinta minutos de reação as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 518 nm, correspondente a absorção máxima do radical em estudo. Como padrões foram utilizados rutina e ácido ascórbico (Mensor et al., 2001).

A habilidade dos extratos em reduzir o radical foi calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ inibição de DPPH} = \frac{(A_c - A_a)}{A_c} \times 100$$

onde: A_c = Absorbância do controle negativo
 A_a = Absorbância da amostra

A partir das porcentagens de inibição de DPPH, por regressão linear foi possível calcular o CI_{50} , ou seja, a concentração da amostra que reduz 50% da concentração inicial de DPPH (concentração inibitória). Os valores de CI_{50} foram comparados segundo o método estatístico de Tukey ($p < 0,05$).

Avaliação da Atividade Antioxidante pela Redução do Complexo Fosfomolibdênio

O complexo fosfomolibdênio é formado pela reação da solução de fosfato de sódio (28 mL, 0,1 mol.L⁻¹) com solução de molibdato de amônio (12 mL, 0,03 mol. L⁻¹) e solução de ácido sulfúrico (20 mL, 3 mol.L⁻¹), em meio aquoso, sendo o volume final, ajustado com água destilada para 100 mL, possuindo coloração amarela, tornando-se verde à medida que se reduz (Prieto et al., 1999).

Os extratos brutos e frações foram levadas à secura em banho-maria (40°C), e a partir do material seco com concentração final de 200 µg.mL⁻¹, adicionou-se 0,3 mL a 3 mL de solução reagente do complexo fosfomolibdênio, em triplicata. Os tubos foram fechados e mantidos em banho-maria à 95°C por 90 min. Após resfriamento, foi realizada a leitura a 695 nm, em um espectrofotômetro UV-1601 Shimadzu® para obtenção das absorvâncias, usando 0,3 mL de metanol com 3 mL do reagente como branco. A capacidade antioxidante das amostras é expressa em relação à rutina (200 µg.mL⁻¹) usada como padrão, e ácido ascórbico (200 µg.mL⁻¹) que foi considerados como 100% de atividade antioxidante.

Atividade hemolítica

Os extratos etanólico e frações das folhas e cascas do caule foram submetidos a dois ensaios de atividades hemolíticas. No primeiro ensaio foram utilizadas placas de ágar-sangue (Newprov®). As amostras foram preparadas a 1.000 µg.mL⁻¹ e impregnadas em discos estéreis nº 1 com 7 mm de diâmetro (Whatmann®). Discos impregnados com o solvente foram utilizados como controle negativo, e o Triton X-100 a 1.000 µg.mL⁻¹ como um controle positivo. Depois da evaporação dos solventes, os discos foram distribuídos nas placas, que foram incubadas a 36 °C por 24 horas. Após este período verificou-se a formação de halo de hemólise. Os halos foram então medidos e os resultados expressos como média dos halos encontrados em duplicata (Kalegari et al., 2011).

O segundo método seguiu metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2010) com adaptações. Para este método preparou-se, com sangue de carneiro desfibrinado (Newprov®), uma suspensão a 2% em tampão fosfato pH 7,4. As amostras (extratos e frações) 1000 µg.mL⁻¹ foram diluídas em etanol a 10% com NaCl a 0,9% e testado em concentrações de 1000, 500, 200 e 100 µg.mL⁻¹. Um volume de 1,0 mL da suspensão de sangue foi adicionado a cada tubo contendo as amostras que foram lentamente homogeneizadas, seguido de repouso por 30 minutos. Decorrido este tempo, foram homogeneizadas novamente e mantidas em repouso durante mais 150 minutos.

Subsequentemente, as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 3.000 rpm. A água destilada foi utilizada como controle positivo e tampão fosfato como controle negativo. O resultado foi descrito como presença ou ausência de hemólise baseado na tonalidade do sobrenadante após centrifugação. A presença de um precipitado de glóbulos vermelhos indicou resultado negativo.

Ensaio de toxicidade frente aos náuplios de *Artemia salina*

Para a análise foi utilizada a metodologia de Meyer et al. (1982) adaptada. Os cistos de *A. salina* foram incubados em água do mar artificial (35 g de sal marinho dissolvidos em 1000 mL de água destilada) na concentração de 0,5 mg.mL⁻¹. A cultura foi mantida sob aeração e agitação constantes, em uma temperatura entre 26 a 30 °C por 48 horas para a eclosão dos mesmos. Durante todo o processo foi mantida a iluminação de 20 W e o pH no período de 48 horas foi verificado e ajustado entre 8 a 9. Após a eclosão dos cistos, 10 larvas de *Artemia salina* foram transferidas para tubos contendo água artificial do mar, com três diferentes concentrações do extrato e frações obtidos das folhas de *D. tomentosum*: 10, 100 e 1000 µg.mL⁻¹, em triplicata. Foi utilizado sulfato de quinidina como controle positivo de toxicidade nas mesmas concentrações e a água do mar artificial como controle negativo. Os náuplios foram incubados por 24 horas, decorrido este período de contato os sobreviventes foram contados. Os dados foram analisados pelo método Probits e expressos como CL₅₀ (concentração letal média) e percentual de mortalidade. Foram consideradas tóxicas as substâncias quando a CL₅₀ foi menor que 1000 µg.mL⁻¹.

Análise estatística

Para análise estatística, foi utilizado o programa SISVAR 5.3 (Lima, 2011) e a comparação das médias realizada por meio do teste de Tukey com 5% de probabilidade.

RESULTADO E DISCUSSÃO

As quantidades de extrato e frações da planta testada necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% (CI₅₀) estão apresentadas na Tabela 1. Observa-se que a fração acetato de etila (FAE) obtida das folhas de *D. tomentosum* (CI₅₀=7,4±0,06 µg.mL⁻¹) mostrou-se comparável estatisticamente aos controles positivos rutina (CI₅₀=6,35±0,14 µg.mL⁻¹) e ácido ascórbico (CI₅₀=4,22±0,04 µg.mL⁻¹), enquanto a fração hexano apresentou o maior valor (CI₅₀=410,95±4,98 µg.mL⁻¹). Quando a casca do caule foi avaliada, a FAE (CI₅₀=8,32±0,15 µg.mL⁻¹) mostrou-se similar à

Rutina ($CI_{50}=6,35\pm 0,14 \mu\text{g.mL}^{-1}$), porém, diferente do ácido ascórbico ($CI_{50}=4,22\pm 0,04 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Além do excelente desempenho antioxidante da FAE, neste ensaio os extratos e todas as outras frações também foram capazes de reduzir o radical DPPH eficientemente. O método baseia-se na redução da solução metanólica de DPPH, um radical cromóforo que simula as EROs, na presença do antioxidante presente nas amostras que doa um hidrogênio ao radical, fazendo com que este se torne uma molécula estável (Conforti et al., 2002). Esta reação é visualizada pela alteração da coloração que passa de violácea ao amarelo e com decréscimo da absorvância (Mensor et al., 2001).

A capacidade antioxidante da FAE pelo método da redução do DPPH foi estatisticamente comparável ao ácido ascórbico e rutina, o que denota o potencial desta fração. O ácido ascórbico é uma substância de referência muito utilizado nas análises de atividade antioxidante pela capacidade de reduzir rapidamente o DPPH, e a rutina é um flavonol heterosídico derivado da quercetina (Negri

et al., 2009) com diversas atividades farmacológicas envolvendo EROs, entre elas a antioxidante. Estes compostos apresentam propriedades redutoras agindo na etapa inicial e na propagação do processo oxidativo (Sousa et al., 2007).

Ao realizar o mesmo ensaio da redução do DPPH, Afshar et al. (2011) observaram que os extratos metanólicos obtido das partes aéreas de *Artemisia scoparia* e *A. spicigera*, plantas da mesma família da *D. tomentosum*, também apresentaram resultados comparáveis ao padrão utilizados. Grassi-Zampieron et al. (2009), Fabri et al. (2011), Lima et al. (2006) também observaram atividades antioxidantes em outras espécies de Asteraceae confirmando desta forma o amplo uso popular desta família em patologias relacionadas à produção de EROs.

No presente estudo, outro ensaio utilizado para verificação da capacidade antioxidante dos extratos e frações foi o da complexação do fosfomolibdênio, que mede a capacidade antioxidante total, e cujos resultados estão apresentados na Tabela 2 e 3.

TABELA 1. Atividade antioxidante do extrato e frações das folhas e casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera, através da redução do radical DPPH

AMOSTRA	FOLHAS CI_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) \pm DP	CASCAS DO CAULE CI_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) \pm DP
EB	55,01 \pm 016 ^{a3}	65,43 \pm 1,62 ^{b4}
FH	410,95 \pm 1,98 ^{a4}	418,74 \pm 0,74 ^{b6}
FCL	58,56 \pm 0,41 ^{a3}	27,54 \pm 0,19 ^{b3}
FAE	7,40 \pm 0,06 ^{a1}	8,32 \pm 0,15 ^{b2w}
FR	28,52 \pm 0,44 ^{a2}	85,95 \pm 2,46 ^{b5}
RU	6,35 \pm 0,14 ^{a1}	6,35 \pm 0,14 ^{b1 b2}
Aca	4,22 \pm 0,04 ^{a1}	4,22 \pm 0,04 ^{b1}

CI – Concentração Inibitória, DP – Desvio padrão, EB - Extrato etanólico bruto, FH - Fração Hexânica, FCL – Fração clorofórmio, FAE - Fração acetato de etila, FR - Fração hidroalcoólica residual, RU - Rutina, Aca – Ácido Ascórbico. $CI_{50}\pm$ DP seguidos da mesma letra e número na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

TABELA 2. Atividade antioxidante dos extratos e frações das folhas e casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera, através da redução do complexo fosfomolibdênio em relação ao padrão rutina

AMOSTRA	FOLHAS AA% \pm DP	CASCAS DO CAULE AA% \pm DP
EB	58,13 \pm 1,32 ^{a1}	76,12 \pm 1,54 ^{b2b3}
FH	53,95 \pm 1,17 ^{a1}	62,48 \pm 1,68 ^{b2}
FCL	87,29 \pm 1,87 ^{a1}	88,99 \pm 1,10 ^{b3b4}
FAE	145,11 \pm 2,1 ^{a2}	139,85 \pm 1,55 ^{b5}
FR	65,89 \pm 1,29 ^{a1}	35,04 \pm 1,76 ^{b1}
RU	100 ^{a1a2}	100 ^{b4}

EB - Extrato etanólico bruto, FH - Fração Hexânica, FCL – Fração clorofórmio, FAE - Fração Acetato de etila, FR - Fração Hidroalcoólica Residual, RU - Rutina. AA% \pm DP = Atividade Antioxidante \pm Desvio padrão seguidos da mesma letra e número na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

De acordo com os resultados, quando se avalia a atividade antioxidante (AA) do extrato e frações das folhas, observa-se que comparado ao padrão rotina (considerando este padrão com 100% de AA) a FAE apresentou AA superior. Este resultado também é observado quando se analisa a FAE obtida das cascas do caule (Tabela 2).

Com relação às outras frações e EB obtidos das folhas observa-se que são estatisticamente similares ao padrão rotina. Analisando as amostras das cascas do caule, excetuando-se a FAE que apresenta atividade superior, somente a FCL demonstrou atividade estatisticamente similar a rotina (Tabela 2). Estas amostras demonstraram atividade antioxidante por redução do complexo fosfomolibdênio, ao adquirir a coloração verde característica. Comparando ao ácido ascórbico, nenhuma amostra apresentou atividade superior ou similar a este padrão (Tabela 3).

Os métodos utilizados neste estudo, com DPPH e fosfomolibdênio, para avaliação do potencial antioxidante dos extratos e frações das folhas e cascas do caule de *D. tomentosum* demonstraram alguns resultados concordantes entre si, sendo possível afirmar que a FAE apresenta capacidade antioxidante significativa em ambos, devido ao possível conteúdo em substâncias polifenólicas normalmente presentes nesta fração, e detectadas qualitativamente em análise preliminar por Paula et al. (2013). Nesta perspectiva, a similaridade entre a atividade antioxidante do ácido ascórbico e da rotina com as amostras confirmam que *D. tomentosum* constitui fonte promissora de antioxidantes.

Com relação aos resultados obtidos nos ensaios de atividade hemolítica, as amostras do extrato bruto e frações testadas não apresentaram atividade. No teste onde foi utilizada a suspensão de células sanguíneas não foi observada coloração vermelha nos sobrenadantes e todos os tubos apresentaram precipitado de células, demonstrando que as amostras testadas não promoveram a

hemólise. Estes resultados foram confirmados pelo método de difusão em ágar, em que não houve a formação do halo de hemólise com o uso das amostras, enquanto que o Triton X-100 (controle positivo) promoveu a formação de um halo de 2 cm.

A hemólise refere-se à lise ou ruptura das membranas das hemácias permitindo a liberação da hemoglobina para o plasma, tendo como consequência a hemoglobinemia. A quantidade de hemoglobina livre no plasma depende da capacidade e da velocidade de remoção do pigmento pelo organismo de cada indivíduo, sendo fisiológica a quantidade de 6 mg%. Quando este valor supera 100 mg% a hemoglobina passa a ser filtrada pelos rins e quando excessivamente alto (superiores a 3.000 mg%), pode promover lesão renal (Carvalho et al., 2007; Kalegari et al., 2011). A hemólise pode ocorrer como consequência de substâncias ou compostos utilizados como medicamentos ou presentes nas plantas. Desta forma, resultados negativos obtidos nestes modelos com o extrato e frações das folhas de *D. tomentosum* confirmam nenhuma toxicidade para membrana do eritrócito nos modelos utilizados.

Os resultados do ensaio de toxicidade frente aos náuplios de *A. salina* podem ser observados na Tabela 4. O controle positivo sulfato de quinidina apresentou CL_{50} de $50,12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ enquanto os resultados obtidos para o extrato e frações para a CL_{50} foram superiores a $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, demonstrando que não apresentaram toxicidade para a *Artemia salina*. Este ensaio biológico, usado para avaliar a toxicidade aguda, é considerado um ensaio preliminar no estudo de compostos com potenciais atividades biológicas. Resultados similares foram obtidos com o extrato etanólico de brotos de *Lychnophora staavioides* (Ferraz Filha et al., 2012), folhas de *Neurolaena lobata* (Mayorga et al., 2010) e raízes de *Parthenium hysterophorus* (Fernández-Calienes Valdés et al., 2009) também pertencentes à família Asteraceae.

TABELA 3. Atividade antioxidante dos extratos e frações das folhas e casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera, através da redução do complexo fosfomolibdênio em relação ao padrão ácido ascórbico

AMOSTRA	FOLHAS AA%± DP	CASCAS DO CAULE AA%± DP
EB	18,08±1,69 ^{a1}	23,67±1,96 ^{b2b3}
FH	16,78±1,61 ^{a1}	19,43±1,76 ^{b2}
FCL	27,14±1,42 ^{a1}	27,67±1,2 ^{b1}
FAE	45,13±1,32 ^{a2}	43,49±1,71 ^{b4}
FR	20,49±1,02 ^{a1}	10,89±0,54 ^{b1}
AcA	100 ^{a3}	100 ^{b5}

EB - Extrato etanólico bruto, FH - Fração Hexânica, FCL – Fração clorofórmio, FAE - Fração Acetato de etila, FR - Fração Hidroalcoólica Residual, AcA - Ácido ascórbico. AA%±DP = Atividade Antioxidante± Desvio padrão seguidos da mesma letra e número na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

TABELA 4. Estimativa de CL₅₀ provocada pelos Extratos e Frações obtidas das folhas de *D. tomentosum* para náuplios de *A. salina*

AMOSTRA	CL ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	95% INTERVALO DE CONFIANÇA (µg.mL ⁻¹)
EB	> 1000	-
FH	> 1000	-
FCL	> 1000	-
FAE	> 1000	-
FR	> 1000	-
SULFATO DE QUINIDINA	50,12	35,8 – 70,16

EB - Extrato etanólico bruto, FH - Fração Hexânica, FCL – Fração clorofórmio, FAE – Fração acetato de etila, FR - Fração hidroalcoólica residual.

Os resultados obtidos nos ensaios de atividade antioxidante revelaram o potencial da espécie *D. tomentosum* como fonte de substâncias antioxidantes naturais que podem ser utilizadas como agentes promissores no sequestro de radicais livres e, conseqüentemente, no tratamento de doenças relacionadas. A ausência de toxicidade observada nos ensaios de atividade hemolítica e *Artemia salina* estimulam a realização de estudos adicionais para a determinação de propriedades terapêuticas desta espécie.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a CAPES/REUNI pelas bolsas de estudos e financiamento do projeto e ao Museu Botânico de Curitiba pela identificação da espécie.

REFERÊNCIA

AFSHAR, F.H. et al. Evaluation of antimalarial, free-radical-scavenging and insecticidal activities of *Artemisia scoparia* and *A. Spicigera*, Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 6, p. 986-990, 2011.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira volume 1 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 2010. 546p.

CARVALHO, E.B. et al. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.29, n.2, p. 149-152, 2007.

CASTELUCCI, S. et al. Anti-inflammatory activity of *Dasyphyllum brasiliensis* (Asteraceae) on acute peritonitis induced by beta-glucan from *Histoplasma capsulatum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 1, p. 192-8, 2007.

CONFORTI, F. et al. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra aerial part. **Fitoterapia**, v. 73, n. 6, p. 479-483, 2002.

FABRI, R.L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011.

FERNANDES, A.C.; RITTER, M.R. A família Asteraceae

no Morro Santana, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Brazilian Journal of Biosciences**, v. 7, n. 4, p. 395-439, 2009.

FERNÁNDEZ-CALIENES VALDÉS, A. et al. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 61, n. 3, p. 254-258, 2009.

FERRAZ FILHA, Z. S. et al. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) bioassay of extracts from *Lychnophoriopsis candelabrum* and different *Lychnophora* species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 358-361, 2012.

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.

GRASSI-ZAMPIERON, R.F.; VIEIRA, M.C.; SIQUEIRA, J.M. Atividade antioxidante e captora de radicais livres dos extratos de *Achyrocline alata* (Kunth.) DC. em comparação com extratos de *Achyrocline satuireioides* (Lam.) DC. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2B, p. 572-576, 2009.

KALEGARI, M. et al. Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch. (Connaraceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 635-642, 2011.

LIMA, A.R. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n. 4, p.531-536, 2006.

LIMA, C. P. et al. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Botanica Brasílica**, v.25, n. 2, p.331-336, 2011.

MAYORGA, P. et al. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.6, p.897-903, 2010.

MENSOR, L.L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoterapy Research**, v.15, p.127-130, 2001.

MEYER, B.N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, n.1, p.31-34, 1982.

NEGRI, M.L.S.; POSSAMAI, J.C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa -

- Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2b, p. 553-556, 2009.
- NUNES, X.P. et al. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, p. 718-723, 2008.
- PAULA, C. S. et al. Prospecção fitoquímica e avaliação preliminar da atividade antibacteriana dos extratos das folhas e casca do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Visão Acadêmica**, v.14, n.1, p. 4-12, 2013.
- PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v.269, p.337-341, 1999.
- SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.