

Artigo

Estudo Químico e Avaliação do Potencial Antioxidante do Alburno de *Vatairea guianensis* Aubl.

Souza, R. F.;* Silva, J. K. R.; Silva, G. A.; Arruda, A. C.; Silva, M. N.; Arruda, M. S. P.

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (5), 1893-1906. Data de publicação na Web: 15 de setembro de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

Chemical Study and Evaluation of the Antioxidant Potential of Sapwood of *Vatairea guianensis* Aubl.

Abstract: The chemical study of ethanol extract of sapwood of *Vatairea guianensis* Aubl. resulted in the isolation and structural identification of two compounds not previously described in the literature for the species, namely bolusanthol D and formononetin. In addition, other common compounds were identified, such as physcion, chrysophanol, betulinic acid, sitosterol and stigmaterol. The structural elucidation of substances was performed by spectroscopic data of ^1H and ^{13}C NMR and bidimensional techniques and comparison with the literature data. The ethanol extract of sapwood showed a significant antioxidant activity ($\text{EC}_{50} = 3.7 \pm 0.3 \mu\text{g mL}^{-1}$) by DPPH radical scavenging method in comparison to Trolox ($\text{EC}_{50} = 4.5 \pm 0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$). This work is the first describing on chemical studies and antioxidant potential of the sapwood to *V. guianensis*.

Keywords: *Vatairea guianensis*; isoflavonoids; anthraquinones; DPPH.

Resumo

O estudo químico do extrato etanólico do alburno de *Vatairea guianensis* Aubl. resultou no isolamento e identificação estrutural de dois compostos não descritos anteriormente na literatura para a espécie, denominados bolusantol D e formononetina. Além disso, foram identificados outros compostos comuns, tais como fisconina, crisofanol, ácido betulínico, sitosterol e estigmaterol. A elucidação das estruturas foi realizada através da análise espectroscópica de RMN ^1H e ^{13}C e técnicas bidimensionais, bem como comparação com os dados relatados na literatura. O extrato etanólico do alburno apresentou atividade significativa ($\text{CE}_{50} = 3,7 \pm 0,3 \mu\text{g.mL}^{-1}$) pelo método de sequestro de radicais de DPPH em comparação com Trolox ($\text{CE}_{50} = 4,5 \pm 0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Este trabalho é o primeiro descrevendo o estudo químico e o potencial antioxidante do alburno de *V. guianensis*.

Palavras-chave: *Vatairea guianensis*; isoflavonoides; antraquinonas; DPPH.

* Universidade do Estado do Pará, Departamento de Ciências Naturais, CEP 68860-000 Salvaterra-PA, Brasil.

✉ ronilson@uepa.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150110](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150110)

Estudo Químico e Avaliação do Potencial Antioxidante do Alburno de *Vatairea guianensis* Aubl.

Ronilson F. de Souza,^{a,*} Joyce Kelly R. da Silva,^b Geilson A. da Silva,^c
Alberto C. Arruda,^c Milton N. da Silva,^c Mara S. P. Arruda^c

^a Departamento de Ciências Naturais, Universidade do Estado do Pará, 68860-000 Salvaterra-PA, Brasil.

^b Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, 66075-970, Belém-PA, Brasil.

^c Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Pará, 66075-970 Belém-PA, Brasil.

* ronilson@uepa.br

Recebido em 22 de junho de 2015. Aceito para publicação em 15 de setembro de 2015

1. Introdução

2. Material e métodos

2.1. Instrumentação e procedimentos gerais

2.2. Material vegetal

2.3. Extração e isolamento

2.4. Atividade antioxidante

3. Resultados e Discussão

4. Conclusões

1. Introdução

O gênero *Vatairea* (Fabaceae) no Brasil pode ser encontrado nos domínios fitogeográficos Amazônico, Cerrado e Mata Atlântica. Este gênero inclui apenas sete espécies arbóreas: *V. erythrocarpa*, *V. fusca*, *V. guianensis*, *V. heteroptera*, *V. macrocarpa*, *V. paraensis* e *V. sericea*.¹ Dentre as espécies, *V. guianensis* Aubl., é uma planta medicinal nativa da Amazônia Oriental, mas não é endêmica do Brasil, com ampla distribuição nos Estados do Acre, Amazonas, Amapá,

Pará, Rondônia e Tocantins.^{1,2} Nestas regiões, é conhecida popularmente como “fava de impingem”, “faveira amarela” e “faveira grande do igapó”.³ Seus órgãos vegetais são popularmente usados por comunidades tradicionais da Amazônia para tratar diversos tipos de micoses.⁴

Estudos químicos anteriores dos metabólicos secundários de extratos das folhas, cerne, frutos e casca do caule de *V. guianensis*, revelaram a presença de antraquinonas, antronas, triterpenos e isoflavonas.⁵⁻⁹

Na literatura há apenas quatro trabalhos científicos reportando atividades biológicas para esta espécie. Um deles relata que o extrato etanólico das folhas apresentou relevante atividade antioxidante.⁵ O extrato hidroalcoólico dos frutos interferiu de maneira positiva no processo de cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos, diminuiu a intensidade da reação inflamatória e estimulou a síntese de colágeno, tendo apresentado baixa toxicidade aguda por via oral em camundongos.¹⁰ Além disso, apresentou ação antiparasitária *in vitro* sobre *Leishmania amazonensis*⁷ e atividade antibacteriana sobre cepas Gram-positivas (*Staphylococcus*

aureus e *Enterococcus faecalis*) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella sp.*).¹¹

Visando ampliar o conhecimento da composição química de espécies do gênero *Vatairea* que ocorrem na Amazônia, este trabalho descreve o isolamento e a identificação estrutural dos constituintes majoritários do extrato etanólico do alburno (zona normalmente mais clara e externa do tronco de plantas lenhosas, que transporta a seiva bruta das raízes para as folhas) de *V. guianensis* (Figura 1). Concomitante ao estudo fitoquímico foi investigada a atividade antioxidante do extrato bruto e de seus constituintes isolados.



Figura 1. Foto da espécie *Vatairea guianensis* Aubl.

Diversas técnicas têm sido utilizadas para detectar a capacidade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente ativas, na prevenção de doenças crônico-degenerativas.¹² Dentre estes métodos, destaca-se o de sequestro de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Neste trabalho, este foi o método escolhido, por ser muito utilizado para se determinar a atividade antioxidante de extratos, frações e

substâncias isoladas de plantas,¹³ sendo utilizado em quase 90% dos estudos de avaliação antioxidante, apresentando a vantagem de ser um método simples, rápido, econômico, preciso e altamente sensível.^{14,15}

Este ensaio baseia-se na transferência de elétrons, pela ação de compostos redutores de radicais livres. O DPPH, que apresenta coloração púrpura, é reduzido, ou seja, o elétron desemparelhado do nitrogênio se

2.3. Extração e isolamento

O alburno seco e pulverizado (1,3 kg) foi extraído com EtOH 95% v/v, fornecendo, após evaporação do solvente, 180,0 g do Extrato Etanólico Bruto (EEB). Uma porção de 40,0 g do EEB foi dissolvido em solução hidrometanólica (MeOH:H₂O 8:2) e submetido à partição com hexano e, posteriormente, com acetato de etila, dando origem a três frações: hexânica (1,5 g), acetato de etila (18,0 g) e hidrometanólica (16,0 g).

A fração hexânica (1,5 g) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando como eluentes misturas de hexano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se sete frações (A1–A7) (Figura 3). As frações foram monitoradas por CCDA e reveladas com VAS, NP/PEG e luz UV. A fração A2, após ser analisada por CCDA usando como revelador VAS, além dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C, possibilitou a identificação de uma mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol (100 mg). As frações A3, A4 e A7 continham substâncias majoritárias em mistura com outras minoritárias. Estas frações foram purificadas por recristalização com metanol, obtendo-se **1** (50 mg), **2** (50 mg) e **5** (20 mg), respectivamente. A fração A6 (200 mg) foi submetida ao fracionamento em CLAE semi-preparativo, no modo isocrático de eluição com água-acetonitrila (1:1), fluxo de 4,7 mL.min⁻¹, visualizado a 282

nm, usando uma coluna C₁₈ Gemini da Phenomenex® (250 × 10 mm, 10 μ, Å), resultando no isolamento das substâncias **3** (10 mg) e **4** (14 mg), que exibiram, no cromatograma, os picos majoritários nos tempos de retenção 7,2 min (**3**) e 9,8 min (**4**). As substâncias foram identificadas através da análise de métodos espectroscópicos usuais de RMN uni e bidimensionais e comparação com dados da literatura.

As raízes secas de *V. guianensis* foram pulverizadas e 1,0 g foi extraído com EtOH 95% v/v, fornecendo, após evaporação do solvente, 50 mg do extrato etanólico bruto. Em seguida, 10 mg deste extrato foi solubilizado em uma mistura de H₂O:ACN (2:8), e submetido à etapa de *clean-up* por extração em fase sólida (SPE), empregando-se cartucho Strata® C₁₈-E de fase reversa. Neste procedimento, o cartucho (50 mg de adsorvente) foi condicionado com 1,0 mL de acetonitrila seguido de 1,0 mL de água; a suspensão com o extrato foi introduzida no cartucho e eluída com 2,0 mL de H₂O:ACN (2:8), e em seguida foi filtrada utilizando-se filtro de seringa de nylon com porosidade 0,45 μm e diâmetro igual a 22 mm, e posteriormente analisada por CLAE, utilizando coluna C₁₈ e gradiente amplo composto por H₂O:ACN, variando linearmente de 5-100% o modificador orgânico, por 60 minutos, usando vazão de 1,0 mL por minuto e detector de absorvância operando em varredura de comprimento de onda de 200 a 400 nm.

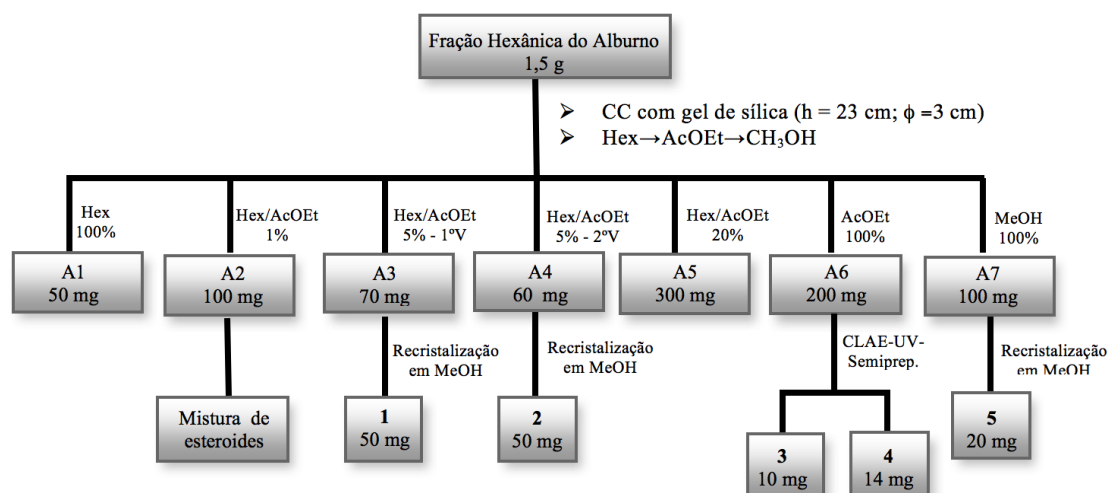


Figura 3. Fluxograma do fracionamento da fração hexânica obtida da partição líquido – líquido do extrato etanólico do alburno de *V. guianensis*

2.4. Atividade antioxidante

Para realização dos ensaios, preparou-se uma solução de DPPH ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) em metanol, com absorvância inicial de aproximadamente $0,62 \pm 0,02$ ($\lambda = 517 \text{ nm}$), à temperatura ambiente. Para o preparo da solução estoque, o extrato etanólico do alburno e as substâncias isoladas (**1-4**) foram solubilizados em metanol e colocados em ultrassom por 15 min. A mistura reacional foi composta por $1950 \mu\text{L}$ da solução do radical DPPH em $50 \mu\text{L}$ das amostras diluídas em diferentes concentrações. O extrato etanólico

do alburno e o padrão Trolox (ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Figura 4) foram testados nas concentrações de $8, 6, 4$ e $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto que as substâncias **1-4** foram testadas na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. No teste em branco, as amostras foram substituídas por metanol. A absorvância das amostras foi medida a 517 nm durante 60 min e o experimento foi realizado em triplicata. Os valores das absorvâncias foram convertidos para porcentagem de atividade antioxidante (% AA) usando a seguinte equação:

$$(\%) \text{ AA} = [1 - (\text{Abs}_A / \text{Abs}_B)] \times 100$$

Onde Abs_A e Abs_B , representam as absorvâncias da amostra e do controle (branco) no término da reação, respectivamente.⁵ A atividade de sequestro do radical DPPH também foi expressa por meio da concentração do extrato necessária

para reduzir a 50% do radical DPPH (CE_{50}) e os valores em ($\mu\text{g mL}^{-1}$) foram obtidos por regressão linear ($P < 0,05$) utilizando os valores de concentração das amostras versus a inibição, em intervalo linearmente proporcional.

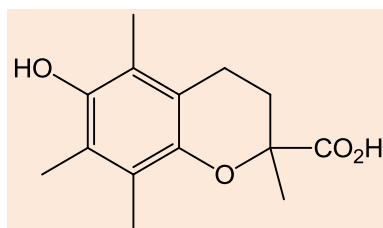


Figura 4. Estrutura do Trolox

3. Resultados e Discussão

O estudo químico do alburno de *V. guianensis* resultou no isolamento e na identificação estrutural das substâncias crisofanol (**1**),⁸ fisciona (**2**),⁸ formononetina (**3**),¹⁷ bolusantol D (**4**)¹⁸ e ácido betulínico (**5**)¹⁹ (Figura 5). Adicionalmente, foram identificados os esteroides sitosterol e

estigmasterol. As estruturas foram identificadas com base na análise dos dados espectrais de RMN ¹H e ¹³C, incluindo os experimentos bidimensionais COSY ¹Hx¹H (*Homonuclear Correlation Spectroscopy*), HETCOR (*Heteronuclear Correlation Spectroscopy*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*), além de comparação com dados disponíveis na literatura.

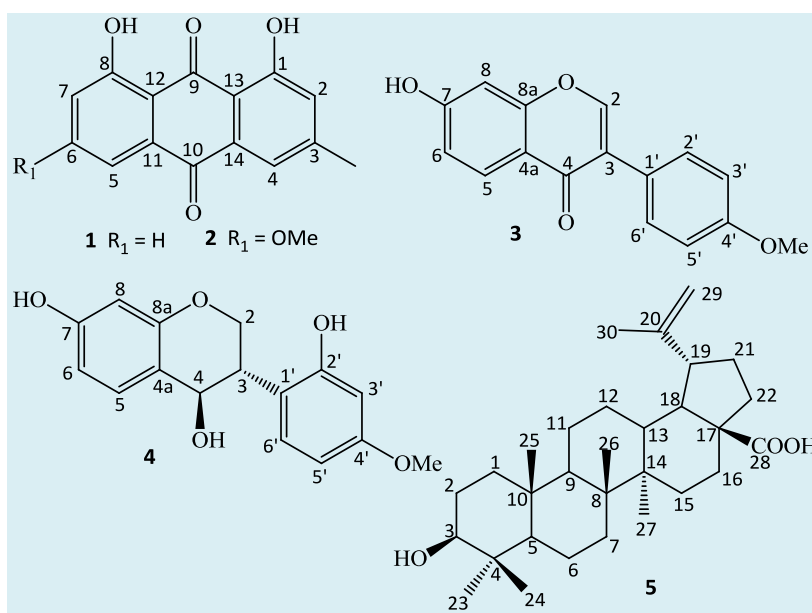


Figura 5. Estruturas das substâncias isoladas de alburno de *V. guianensis*

A substância **4** foi isolada na forma de um sólido amorfo marrom. O espectro de RMN de ¹H de **4** mostrou um par de duplo duplete em δ_H 3,58 (J 10,8 e 5,1 Hz, H-2 β) e 4,26 (J 16,0 e 10,8 Hz, H-2 α), um multiplete em δ_H 3,61 (H-3), além de um duplete em δ_H 5,50 (J 6,0 Hz, H-4). Estes sinais são característicos de um esqueleto de isoflavan-4-ol.²⁰ Esse espectro também apresentou sinais de

átomos de hidrogênio aromático característicos de dois sistemas de *spins* AMX em δ_H 6,35 (d , J 2,4 Hz, 1H), 6,55 (dd , J 8,1 e 2,4 Hz, 1H) e 7,32 (d , J 8,1 Hz, 1H), e em δ_H 6,37 (d , J 2,4 Hz, 1H), 6,44 (dd , J 8,4 e 2,4 Hz, 1H) e 7,22 (d , J 8,4 Hz, 1H), indicando um anel A 7,4a,8a-trissubstituído e anel B 1',2',4'-trissubstituído ou 1',3',4'-trissubstituído. Todos os acoplamentos foram confirmados

pelo espectro de COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$. Pode ser observado ainda, um sinal simples de um grupo OMe em δ_{H} 3,74. O espectro de RMN ^{13}C apresentou dezesseis sinais, que corroborado pelos espectros de DEPT e HETCOR, permitiu inferir a presença de um grupo OMe ligado a anel aromático (δ_{C} 55,6), de doze carbonos aromáticos, e que, juntamente com os sinais de carbono oximetínico em δ_{C} 79,3 (C-4), de oximetilênico em δ_{C} 67,0 (C-2) e metínico em δ_{C} 40,3 (C-3), reforçam a indicação de que **4** tem um esqueleto do tipo isoflavan-4-ol.¹⁸

A definição de um dos conjuntos de sinais AMX [δ_{H} 6,37 (*d*, *J* 2,4 Hz), 6,44 (*dd*, *J* 8,4 e 2,4 Hz) e 7,22 (*d*, *J* 8,4 Hz)] para o anel B 1',2',4'-trissubstituído se deu pela correlação $^3J_{\text{C,H}}$ observada no espectro de HMBC (Tabela 1) entre o sinal atribuído a H-6' (δ_{H} 7,22, exibindo valor de *J* típico de acoplamento *orto*) e a C-3 (δ_{C} 40,3). A localização do grupo OMe em C-4' do anel B, foi deduzida pelo experimento de NOE-diff (*Nuclear Overhauser Effect Difference*), pois ao irradiar os hidrogênios do grupo OMe (δ_{H} 3,74), observou-se efeito NOE com os hidrogênios relacionados aos sinais em δ_{H} 6,44 (H-5')

6,37 (H-3'). Esta informação permitiu atribuir o sinal de carbono aromático oxidado em δ_{C} 162,0 a C-4' devido à correlação $^3J_{\text{C,H}}$ observada no espectro de HMBC, entre esse sinal e o do grupo OMe em δ_{H} 3,74. O espectro HMBC possibilitou também atribuir os sinais dos outros carbonos aromáticos oxidados devido às correlações $^{2,3}J_{\text{C,H}}$ observadas, conforme mostrado na Tabela 1 e na Figura 6. A estereoquímica relativa entre C-3 e C-4 foi proposta com base na análise das constantes de acoplamento entre H-3_{axial}/H-4_{axial} (*J* 6,0 Hz), H-2_{equatorial}/H-3_{axial} (*J* 5,1 Hz) e H-2_{axial}/H-3_{axial} (*J* 10,5 Hz), e estes valores são condizentes com uma relação *trans* entre os substituintes de C-3 e C-4.^{21,22} O conjunto desses dados espectrais, associado às informações disponíveis na literatura,¹⁸ permitiu elucidar a estrutura da substância **4**, como a *trans*-7,2'-diidróxi-4'-metoxi-isoflavan-4-ol, conhecida vulgarmente pelo nome de bokusantol D. Esta substância foi isolado da casca do caule de *Bolusanthus speciosus* (Fabaceae), no entanto, é relatada pela primeira vez no gênero *Vatairea*.

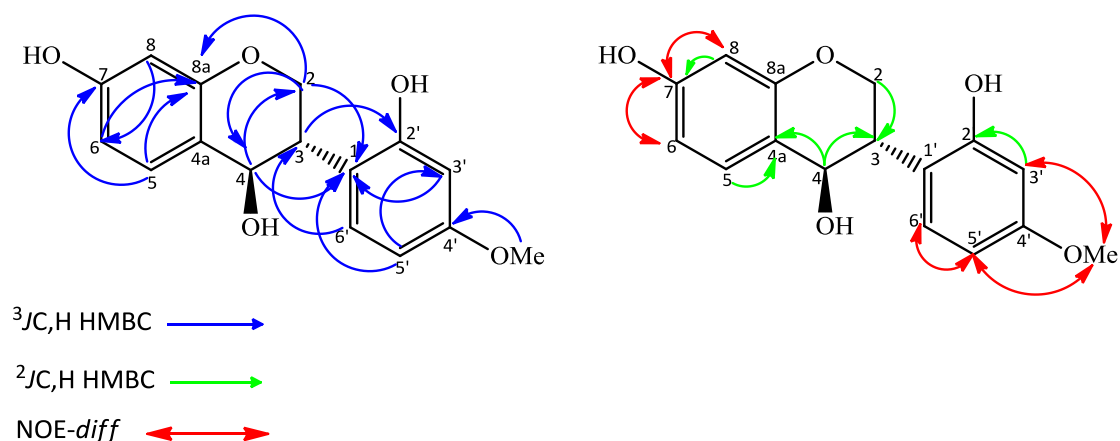


Figura 6. Correlações observadas nos espectros HMBC e NOE-diff para a substância **4**

Tabela 1. Dados de RMN uni e bidimensionais para **4** em acetona d_6 e comparação com dados da literatura para o bokusantol D

Posição	δ_H	$^{18}\delta_H$	δ_C	$^{18}\delta_C$	HMBC ^a	COSY	NOE-diff
2	(β) 3,58 (<i>dd, J</i> 10,5 e 5,1)	3,59 (<i>dd, J</i> 9,8 e 10,2)			C-2, C-3, C-4, C-1'	H-2 α , H-3	
	(α) 4,26 (<i>dd, J</i> 15,3 e 10,5)	4,28 (<i>dd, J</i> 6,1 e 9,8)	67,0	66,5	C-3, C-4, C-8a	H-2 β , H-3	H-3
3	3,61 (<i>m</i>)	3,61 (<i>ddd, J</i> 5,7; 6,1 e 10,2)	40,3	39,9	C-1', C-2'	H-4, H-2 α	
4	5,50 (<i>d, J</i> 6,0)	5,52 (<i>d, J</i> 5,7)	79,3	79,1	C-1', C-2, C-3, C-4a, C-5, C-8a	H-3	H-3
4a			112,7	111,9			
5	7,32 (<i>d, J</i> 8,1)	7,34 (<i>d, J</i> 8,4)	133,0	132,2	C-4, C-7, C-8a	H-6	H-6
6	6,55 (<i>dd, J</i> 8,1 e 2,4)	6,57, (<i>dd, J</i> 2,4 e 8,4)	110,4	110,0	C-4a, C-8	H-5	H-5, OH-7
7			159,6	159,1			
8	6,35 (<i>d, J</i> 2,4)	6,36 (<i>d, J</i> 2,4)	103,8	103,4	C-6, C-7, C-8a		
8a			157,6	157,0			
1'			120,3	119,8			
2'			161,7	161,3			
3'	6,37 (<i>d, J</i> 2,4)	6,39 (<i>d, J</i> 2,3)	97,0	96,7	C-1', C-2', C-4'		
4'			162,0	161,7			
5'	6,44 (<i>dd, J</i> 8,4 e 2,4)	6,46 (<i>dd, J</i> 2,3 e 8,4)	106,7	106,4	C-1', C-3'	H-5'	H-6', OMe-4'
6'	7,22 (<i>d, J</i> 8,4)	7,24 (<i>d, J</i> 8,4)	125,8	125,4	C-3, C-2'	H-6'	H-5'
OMe-4'	3,74 (<i>s</i>)	3,76 (<i>s</i>)	55,6	54,9			H-3', H-5'
OH-7	8,66 (<i>s</i>)				C-6, C-8		H-6, H-8

^aCorrelação heteronuclear de hidrogênio (1H) e carbono (^{13}C) via acoplamento à longa distância ($^2J_{C,H}$ e $^3J_{C,H}$)

A comparação dos dados RMN 1H e ^{13}C de **1** e **2** com os da literatura ⁸ permitiu identificar a estrutura de **1** como sendo 1,8-di-hidróxi-3-metilantraquinona (crisofanol) e

de **(2)** como 1,8-di-hidróxi-3-metil-6-metoxiantraquinona (fisciona). A substância **3**, isolada na forma de cristais amarelos claros, foi identificada como um

isoflavonoide com base nos sinais característicos observados nos espectros de RMN ^1H , em δ_{H} 7,84 (s, H-2) e ^{13}C , em δ_{C} 152,4 (C-2). O espectro de RMN de ^{13}C de **3** exibiu quatorze sinais referentes aos dezesseis carbonos da estrutura da substância e as atribuições foram feitas pelo espectro HMBC. O conjunto desses dados, associado às informações disponíveis na literatura,¹⁷ permitiu identificar a substância **3** como 7-hidróxi-4'-metóxi-isoflavona, conhecida como formononetina. A identificação do ácido betulínico (**5**) foi realizada através dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C e comparação com os dados da literatura.¹⁹ A análise da mistura de esteroides, por RMN ^1H e ^{13}C , e comparação com dados da literatura^{23,24} mostrou a presença de sitosterol e estigmasterol.

O isolamento das antraquinonas **1** e **2** já havia sido relatado na literatura em estudos anteriores, a partir dos frutos⁸, das cascas do caule⁹ de *V. guianensis*, assim como o ácido betulínico (**5**), o qual foi isolado das folhas desta espécie.⁵ Por outro lado, a isoflavona **3** está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Vatairea*. O isolamento das antraquinonas **1** e **2** é um fato importante, pois como esta classe de substância ocorre comumente em espécies do gênero *Vatairea*,²⁵ pode ser considerada como um marcador químico do gênero.

A produção de metabólitos secundários é o resultado de complexas interações entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação.²⁶ Entretanto, a maioria dos

mecanismos destes processos permanecem ainda desconhecidos.²⁷ Cada um desses processos é comandado por genes e será influenciado por três fatores principais: hereditariedade, estágio de desenvolvimento e ambiente no qual as plantas estão se desenvolvendo.²⁸

Em várias espécies vegetais, o local de biossíntese está restrito a um órgão, enquanto que os produtos são acumulados em toda planta ou em órgãos diferentes, por meio de um sistema de transporte intercelular.²⁹ Nos estudos realizados com a espécie *V. guianensis*, observa-se claramente uma diferenciação no armazenamento dos metabólitos nos diferentes órgãos da planta. Por exemplo, são encontrados nas folhas dessa espécie, triterpenos e isoflavonas,⁵ enquanto que no alburno foram isoladas antraquinonas e derivados isoflavanoídicos diferentes daqueles presentes nas folhas.

Apesar de não ser possível identificar o órgão responsável pela biossíntese dessas substâncias, pode-se pelo menos especular que as antraquinonas sejam biossintetizadas nas raízes e transportadas para o alburno, cerne,⁷ frutos⁸ e casca do caule.⁹ Os padrões isolados do alburno, crisofanol (**1**) e fisciona (**2**), foram analisados por CLAE e comparados, nas mesmas condições cromatográficas, com o extrato bruto das raízes (Figura 7). Com base nos espectros na luz ultravioleta (Figura 8) dos picos de tempo de retenção igual foi possível concluir que as antraquinonas **1** e **2** estão de fato presentes nas raízes de *V. guianensis*.

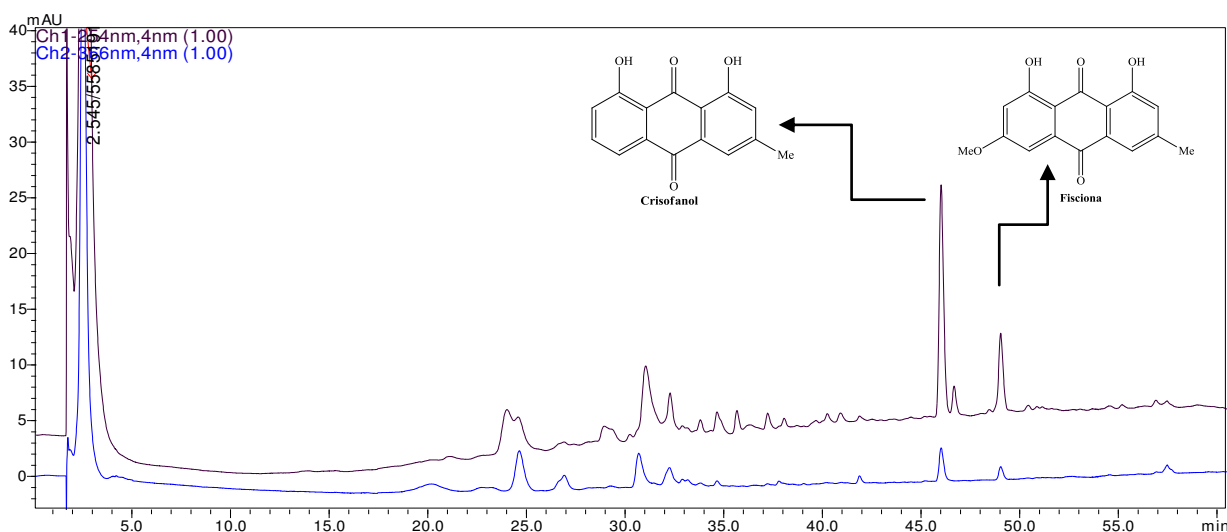


Figura 7. Cromatograma obtido via CLAE-UV, do extrato em etanol das raízes de *V. guianensis*, no modo gradiente de ampla extensão, $\lambda = 254$ e 366 nm

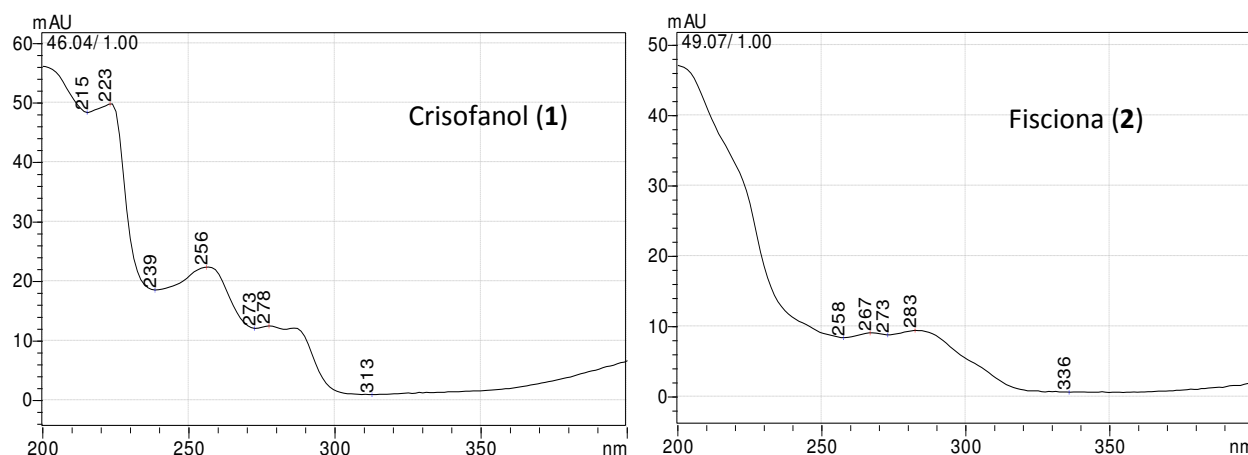


Figura 8. Espectro de UV de **1** e **2**, λ_{max}/nm ($H_2O:ACN$)

A avaliação da atividade sequestradora do radical DPPH do EEB do alburno de *V. guianensis* e do Trolox está apresentada na

Figura 9. Para a faixa de concentração testada ($8 - 2 \mu g mL^{-1}$) os percentuais variaram de 87,8% a 28,8%.

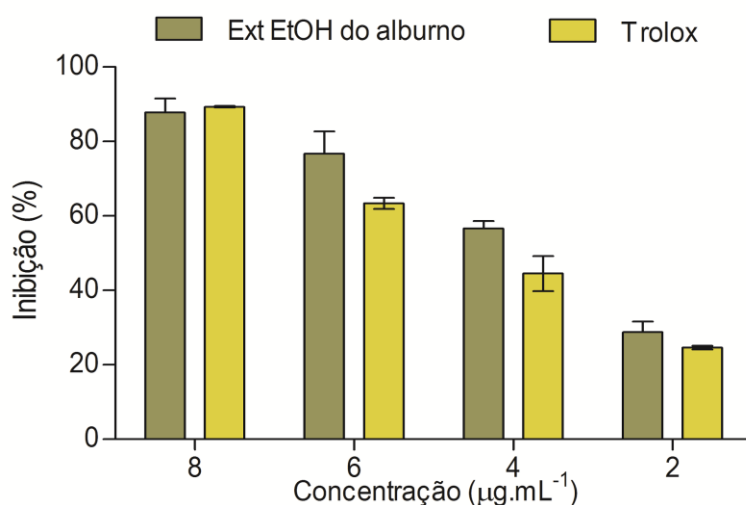


Figura 9. Porcentagem de inibição do radical DPPH provocado pelo extrato etanólico de alburno de *V. guianensis* e do controle positivo (Trolox)

A partir da curva de inibição obtida por regressão linear dos valores de concentração do radical DPPH e de suas absorvâncias a 517 nm, foi possível determinar a concentração efetiva CE_{50} (concentração efetiva capaz de reduzir o radical DPPH em 50%).⁵ Considerando-se que quanto menor é o valor de CE_{50} , maior é a capacidade antioxidante, os resultados confirmam que o EEB do alburno apresenta maior poder antioxidante ($CE_{50} = 3,7 \pm 0,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) quando comparado ao controle positivo Trolox ($CE_{50} = 4,5 \pm 0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$), e também ao extrato etanólico das folhas desta espécie ($CE_{50} = 6,2 \mu\text{g mL}^{-1}$).⁵ Este resultado qualifica-o como um extrato de alta capacidade de sequestrar radicais livres, inclusive apresentando valor de CE_{50} menor do que mostrado por diversas plantas, reconhecidamente fortes antioxidantes, como a erva-mate, $CE_{50} = 252,0 \mu\text{g mL}^{-1}$,³⁰ e o chá verde, $CE_{50} = 140,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.³¹

A atividade antioxidante de extratos de plantas é atribuída principalmente à presença de compostos fenólicos,³² como flavonoides e antraquinonas, os quais foram isolados da espécie em estudo. No entanto, as antraquinonas crisofanol (**1**) e fisciona (**2**) foram inativas, e este resultado corrobora os dados apresentados por Krenn *et al.*³³ Enquanto a isoflavona (**3**) e o isoflavan-4-ol

(**4**), na concentração máxima testada de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, apresentaram taxa de sequestro de radicais DPPH inferiores a 50%, inviabilizando a determinação da CE_{50} .

4. Conclusões

O estudo fitoquímico do alburno de *V. guianensis* conduziu ao isolamento de metabólitos secundários pertencentes à classe dos isoflavonoides, antraquinonas, esteroides e triterpenos, e está de acordo com as características químicas do gênero. As substâncias formononetina (**3**) e bolusantol D (**4**) foram previamente reportados para espécies de Fabaceae, porém este se constitui no primeiro relato da ocorrência no gênero *Vatairea*.

Os constituintes identificados no alburno foram diferentes dos presentes nas folhas, confirmando a importância de investigação de todos os órgãos da planta.

O extrato etanólico do alburno apresentou alta capacidade de sequestro do radical DPPH, o que reforça o potencial químico e biológico da espécie.

Ressalta-se ainda que pela primeira vez

está sendo relatado o estudo químico e a avaliação do potencial antioxidante do alburno de *V. guianensis*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de estudo concedida. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro.

Referências Bibliográficas

¹ Cardoso, D. B. O. S. *Vatairea* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB23208>>. Acessado em: 1 novembro 2014.

² Forzza, R. C.; Leitman, P.; *Angiospermas*. In.: Forzza, R. C. ed.; Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010, vol. 2.

³ Corrêa, M. P.; *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, vol.6, Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1982.

⁴ Santos, J. F. L.; Pagani, E.; Ramos, J.; Rodrigues, E.; Observations on the therapeutic practices of riverine communities of the Unini River, AM, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* **2012**, *142*, 515. [CrossRef] [PubMed]

⁵ Souza, R. F.; Marinho, V. H. S.; Silva, G. A.; Costa-Jr, L. M.; Silva, J. K. R.; Bastos, G. N. T.; Arruda, A. C.; Silva, M. N.; Arruda, M. S.P.; New isoflavones from the Leaves of *Vatairea guianensis* Aublé. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2013**, *24*, 1857. [CrossRef]

⁶ Ottobelli, I.; Facundo, V. A.; Stabile, R. G.; Zuliane, J.; Frota, D. B.; Badra, L. C.; Ottobelli, R. M.; Brasil, H. O. B.; Tomé, J. C. L.; Macedo, S. R. A.; Luz, C. C.; Silva-Jardim, I.; Estudo fitoquímico e atividade leishmanicida de *Vatairea guianensis* Aublet (Fabaceae). *Revista de Patologia Tropical* **2009**, *38*, 1319. [Link]

⁷ Simatupang, M. H.; Dietrichs, H. H.; Gottwal, H.; Über die hautreizenden Stoffe in *Vatairea guianensis* Holsforschung **1967**, *21*, 87. [Link]

⁸ Ottobelli, I.; Facundo, V. A.; Zuliani, J.; Luz, C. C.; Brasil, H. O. B.; Militão, J. S. L. T.; Braz-Filho, R. Estudo químico de duas plantas medicinais da Amazônia: *Philodendron scabrum* k. Krause (Araceae) e *Vatairea guianensis* aubl. (Fabaceae). *Acta Amazônica* **2011**, *3*, 393. [CrossRef]

⁹ Piedade, L. R.; Wolter Filho, W. Antraquinonas de *Vatairea guianensis* Aubl. (Fabaceae). *Acta Amazônica* **1988**, *18*, 185. [Link]

¹⁰ Silva, C. T. L.; Medeiros, B. J. S.; Santos, K. C.; Pereira Filho, R.; Albuquerque Jr, R. L. C.; Sousa, P. J. C.; Carvalho, J. C. T. Topical healing activity of the hydroethanolic extract from the seeds of *Vatairea guianensis* (aublet). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **2011**, *8*, 7. [Link]

¹¹ Silva, C. T. L.; Mendonça, L. C.; Monteiro, M. C.; Carvalho, J. C. T. Antimicrobial activity of extracts obtained from the seeds of *Vatairea guianensis* (Aublet). *Boletim latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas* **2011**, *10*, 462. [Link]

¹² Alves, C. Q.; David, J. M.; David, J. P.; Bahia, M. V.; Aguiar, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. *Química Nova* **2010**, *10*, 2202. [CrossRef]

¹³ Amić, D.; Davidović-Amić, D.; Beslo, D.; Trinajstić, N. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatian Chemical Acta* **2003**, *18*, 61. [Link]

¹⁴ Moon, J. K.; Shibamoto, T. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, *5*, 1666. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵ Oliveira, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* **2015**, *1*, 44. [Link]

¹⁶ 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 Farmacia* **2011**, *4*, 332. [Link]
- ¹⁷ Yahara, S.; Ogata, T.; Saijo, R.; Konishi, R.; Yamahara, J.; Miyahara, K.; Nohara, T. Isoflavan and related compounds from *Dalbergia odorifera*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1989**, *37*, 987. [CrossRef]
- ¹⁸ Bojase, B.; Wanjala, C. C. W.; Majinda, R. R. T. Two new isoflavanoids from *Bolusanthus speciosus*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* **2001**, *15*, 136. [Link]
- ¹⁹ Habila, J. D.; Ndukwe, G. I.; Amupitan, J. O.; Nok, A. J.; Mikhail, S. A.; Ladan, Z. 3 β -hydroxyllup-20(29)-em-28-oic acid: Structural elucidation, *Candidosis* and mold inhibition evaluation. *Journal of Medicinal Plants Research* **2010**, *4*, 1947. [CrossRef]
- ²⁰ Ahmed, M.; Khaleduzzaman, M.; Islam, S. M. Isoflavan-4-ol, dihydrochalcone and chalcone derivatives from *Polygonum lapathifolium*. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2010. [CrossRef]
- ²¹ Celoy, R. M.; VanEtten, H. D.; (+)-Pisatin biosynthesis: From (-) enantiomeric intermediates via an achiral 7,2'-dihydroxy-4',5'-methylenedioxyisoflav-3-ene. *Phytochemistry* **2014**, *98*, 127. [CrossRef] [PubMed]
- ²² Won, D.; Shin, B.; Kang, S.; Hur, H.; Kim, M.; Han, J. Absolute configurations of isoflavan-4-ol stereoisomers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 1957. [CrossRef] [PubMed]
- ²³ Ahmed, W.; Ahmad, Z.; Malik, A. Stigmasteryl galactoside from *Rhynchosia minima*. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 4039. [CrossRef]
- ²⁴ Nes, W. D.; Norton, R. A.; Benson, M. Carbon-13 NRM studies on sitosterol biosynthesized from [¹³C]mevalonates. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 811. [CrossRef]
- ²⁵ Formiga, M. D.; Gottlieb, O. R.; Mendes, P. H.; Koketsu, M.; Almeida, M. E. L.; Pereira, M. O. S.; Magalhães, M. T. Constituents of Brazilian Leguminosae. *Phytochemistry* **1975**, *14*, 828. [CrossRef]
- ²⁶ Wink, M.; *Physiology of secondary product formation in plants*. In: Secondary products from plant tissue culture; Charlwood, B. V.; Rhodes, M. J. C.; eds., Clarendon Press: Oxford, 23-41, 1990.
- ²⁷ Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (org.); *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6a. ed., Ed. da UFRGS: Porto Alegre, 2010. 1102 p
- ²⁸ Robbers, J. E.; Speedie, M. K.; Tyler, V. E.; *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Williams & Wilkins: Baltimore, 1996.
- ²⁹ Santos, R. I.; *Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários*. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*, 5a. ed., Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004, 1102p.
- ³⁰ Berté, K. A. S.; Beux, M. R.; Spada, P. K. W. D. S.; Salvador, M.; Hoffmann-Ribani, R. Chemical composition and antioxidant activity of yerba-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., aquifoliaceae) extract as obtained by spray drying. *Journal Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59*, 5527. [CrossRef] [PubMed]
- ³¹ Morais, S. M.; Cavalcanti, E. S. B.; Costa, S. M. O.; Aguiar, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **2009**, *19*, 320. [CrossRef]
- ³² Jayaprakasha, G. K.; Negi, P. S.; Jena, B. S.; Rao, L. J. M.; Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* **2007**, *20*, 336. [CrossRef]
- ³³ Krenn, L.; Presser, A.; Pradhan, R.; Bahr, B.; Paper, D. H.; Mayer, K. K.; Kopp, B. Sulfemodin 8-O-beta-D-glucoside, a new sulfated anthraquinone glycoside, and antioxidant phenolic compounds from *Rheum emodi*. *Journal of Natural Products* **2003**, *66*, 1107. [CrossRef] [PubMed]