

**DOSEAMENTO DE POLIFENÓIS, FLAVONÓIDES E TANINOS NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE
CARINIANA DOMESTICA (MART.) MIERS**

**Determination of polyphenols, flavonoids and tannins in the crude extract and
fractions of *Cariniana domestica* (Mart.) Miers**

Vanessa Janovik¹, Aline Augusti Boligon¹, Andrieli Cassel Feltrin¹, Danielle Fontana Pereira²,
Janaina Kieling Frohlich³ e Margareth Linde Athayde⁴

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo realizar a avaliação do teor de polifenóis, flavonóides e taninos no extrato bruto e frações das cascas de *Cariniana domestica* (Mart.) Miers, visando comparar com as suas atividades antioxidantes. Os valores encontrados para polifenóis variaram de $54,6 \pm 0,333$ a $309,3 \pm 2,733$ miligramas de ácido pirogálico por grama de planta seca. Os valores encontrados para flavonóides variaram de $12 \pm 0,12$ a $14,18 \pm 0,1$ miligramas de rutina por grama de planta seca. Por fim, os valores encontrados para taninos $131 \pm 0,03$ a $149,7 \pm 0,22$ miligramas de ácido pirogálico por grama de planta seca. Estas concentrações indicam que *Cariniana domestica* possui um alto teor de substâncias com capacidade sequestrante de radicais livres, podendo ser estudada de maneira mais aprofundada quanto a um possível uso como antioxidante.

Palavras-chave: *Cariniana*, polifenóis, flavonóides, taninos

SUMMARY

This study aimed to make an assessment of the content of polyphenols, flavonoids and tannins in the crude extract and fractions from the bark of *Cariniana domestica* (Mart.) Miers, so as to compare them with their antioxidant activities. The values found for polyphenols ranged from 0.333 to $309.3 \pm 54.6 \pm 2.733$ milligrams of pyrogalllic acid per gram of dry plant. The values found for flavonoids ranged from 12 ± 0.12 to 14.18 ± 0.1 mg of rutin per gram of dry plant. Finally, the values found for tannins ranged from 131 ± 0.03 to 149.7 ± 0.22 milligrams of pyrogalllic acid per gram of dry plant. These findings indicate that *Cariniana domestica* has a high content of free radical scavengers and can be studied more thoroughly as a potential antioxidant agent.

Keywords: *Cariniana*, polyphenols, flavonoids, tannins

INTRODUÇÃO

A espécie *Cariniana domestica*, popularmente conhecida como jequitibá roxo, pertence à família Lecythidaceae, constituída de 25 gêneros e 400 espécies que se apresentam na forma de árvores de grande porte, com distribuição pantropical. Alguns constituintes com atividade farmacológica têm sido isolados de espécies desta família e, por isso, torna-se importante o desenvolvimento de estudos fitoquímicos e farmacológicos destas espécies¹.

Antigamente chamada *Couratari domestica*, é uma árvore alta e frondosa, possuindo folhas pecioladas, pergamentáceas, oblongas, crenado-serreadas e glabras. As flores são dispostas em

panículas terminais ou axiliares e fruto pixídio cilíndrico. Produz madeira branca própria para caixotaria e pasta para papel. O líber é branco e espesso, empregado em cordoaria, podendo servir para curtume².

O gênero *Cariniana* é pouco estudado. Alguns trabalhos relatam o isolamento de compostos triterpênicos e atividade antiinflamatória para *Cariniana rubra*^{3,4}. Para a espécie *Cariniana brasiliensis*, foi relatada atividade inibitória da enzima tirosinase⁵. Em 2006, o uso de *Cariniana estrellensis* é incluído em estudo de plantas utilizadas no Brasil como antifúngicas⁶.

Trabalho realizado no Departamento de Farmácia Industrial da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) / RS.

¹Aluna do curso de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM.

²Aluna de Doutorado em Farmacologia – Universidade Federal de Santa Catarina

³Aluna do Curso de Graduação em Farmácia da UFSM

⁴Prof. Adjunta da Universidade Federal de Santa Maria

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, entre outros, tem sido objeto de incessantes estudos, onde já foram comprovadas as ações farmacológicas através de testes pré-clínicos com animais. Muitas destas substâncias têm grandes possibilidades de futuramente serem utilizadas como agentes medicinais ⁷.

De acordo com alguns autores, o oxigênio molecular e seus radicais são os reagentes mais importantes na bioquímica dos radicais livres nas células aeróbicas. O termo “espécies reativas de oxigênio” (ERO) inclui os radicais livres contendo oxigênio, como o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (HO), o radical peroxila (ROO) e espécies não radiculares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singlete (1O_2), os quais são frequentemente gerados como subprodutos de reações biológicas ou por fatores exógenos ^{8,9}.

Estas espécies reativas de oxigênio podem causar um grande número de distúrbios celulares ao reagir com lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos, e estão envolvidas tanto no processo de envelhecimento, como também em muitas complicações biológicas, incluindo inflamação crônica, problemas respiratórios, doenças neurodegenerativas, doenças auto-imunes, carcinogênese e mutagênese ⁸⁻¹¹.

As substâncias com núcleo fenólico, como tocoferóis, flavonóides e ácidos fenólicos, apresentam destaque especial como antioxidantes, por atuarem como eficientes captadores de espécies reativas de oxigênio ¹⁰.

Os taninos são componentes polifenólicos encontrados nas plantas. Tais compostos são responsáveis pela adstringência das plantas ¹². Dividem-se em dois grupos: as proantocianidinas, que são os taninos condensados, responsáveis pelas características atribuídas a estas substâncias, como adstringência e precipitação de proteínas, e os taninos hidrolisáveis. Os taninos condensados são polímeros de flavan-3-ol ou flavan-3,4-diol, apresentando uma rica diversidade estrutural. O método da vanilina baseia-se na reação da vanilina com os taninos condensados, com a formação de complexos coloridos ¹³.

Os flavonóides possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar sobre os diversos sistemas biológicos. As propriedades antioxidantes dos flavonóides podem ser benéficas à saúde, por prevenirem a oxidação de LDLs, por exemplo ¹⁴. A maioria dos flavonóides possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Nos compostos tricíclicos, as unidades são chamadas núcleos A, B e C, e os átomos de carbono recebem a numeração com números ordinários para os núcleos A e C e os mesmos números seguidos de uma linha para o núcleo B ¹⁵. O método utilizado para a quantificação de flavonóides totais baseia-se na propriedade do cátion alumínio de formar complexos estáveis com flavonóides, ocorrendo, na análise espectrofotométrica, um deslocamento para maiores comprimentos de onda e uma intensificação de suas absorções.

Desta forma, é possível determinar a quantidade de flavonóides na amostra, evitando-se a interferência de outras classes de substâncias fenólicas, principalmente a dos ácidos fenólicos ¹³.

O objetivo deste trabalho foi determinar o conteúdo de polifenóis totais, flavonóides e taninos condensados no extrato bruto e frações das cascas de *Cariniana domestica*, visando comparar com as atividades antioxidantes já avaliadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e extração do material vegetal:

As cascas de *Cariniana domestica* foram coletadas no município de Tangará da Serra, no estado do Mato Grosso do Sul e trazidas para o Laboratório de Fitoquímica, onde foram devidamente armazenadas. O material testemunho está depositado no herbário do Departamento de Biologia da UFSM, catalogado sob o número de registro SMDDB 11818.

O material vegetal foi seco ao ar livre, moído e triturado. O extrato foi obtido através da maceração hidroalcolólica (EtOH:H₂O 7:3, v/v) do material que foi colocado em recipiente fechado e recoberto com o solvente; o macerado foi submetido a agitações manuais diárias, por um período de sete dias. Ao fim desse período, o conteúdo foi filtrado em algodão, seguindo-se a concentração em evaporador rotatório, a temperatura inferior a 40°C. Após a eliminação do etanol, o extrato bruto foi particionado através da extração seqüencial utilizando solventes de polaridade crescente: diclorometano (CH₂Cl₂), acetato de etila (AcOEt) e n-butanol (n-BuOH).

Determinação de polifenóis:

A determinação de conteúdos fenólicos totais foi realizada pelo método do Folin-Ciocalteu ¹⁶ na concentração de 150 µg/mL para as frações e o extrato bruto. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 730 nm, em triplicata. O conteúdo de polifenóis totais foi expresso em miligramas equivalentes de ácido pirogálico por grama de planta seca. A equação obtida para a curva padrão do ácido pirogálico foi $y = 34.443x - 0.0942$ ($r = 0.9994$).

Doseamento de flavonóides:

A determinação do teor de flavonóides foi realizado segundo o método descrito por Woisky e Salatino ¹⁷. A 1 mL de uma solução da amostra (150 µg/mL) das frações e extrato bruto de *Cariniana domestica*, foram adicionados 0,5 mL de uma solução de AlCl₃ 2%. Após 15 minutos, as absorbâncias foram lidas em 420 nm. Os testes foram realizados em triplicata e para o cálculo do doseamento de flavonóides utilizou-se a curva padrão de rutina ($Y = 20,394x - 0,2033$ ($r = 0,9997$)). Os teores de flavonóides foram determinados em miligrama de rutina por grama de planta seca.

Doseamento de taninos condensados:

A determinação do teor de taninos condensados foi realizada segundo método da vanilina modificado de Burns¹⁸. A 0,1 mL de amostra (25 mg/mL) foram adicionados 0,9 mL de metanol, 2,5 mL de solução A (HCl 8% em metanol) e 2,5 mL de solução B (vanilina 1% em metanol). A mistura foi aquecida a 60°C durante 10 minutos e a seguir, foi efetuada a leitura das absorbâncias em 730 nm. Os testes foram realizados em triplicata e para o cálculo do doseamento de taninos utilizou-se a curva padrão de ácido pirogálico ($Y = 0,0423x + 0,1362$ ($r=0,9924$)). Os teores de taninos condensados foram determinados em miligrama de pirogalol por grama de planta seca.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A tabela 1 fornece os resultados obtidos para as três

determinações. Os resultados indicam que o conteúdo de polifenóis seguiu a ordem AcOEt > EB > n-BuOH > CH Cl₂. Estes valores eram esperados devido a ordem crescente de polaridade utilizada para o fracionamento do extrato aquoso. Tal relação de teor de polifenóis e polaridade está bem documentada¹⁹⁻²¹. Em relação a atividade antioxidante, os valores mais altos de polifenóis na fração AcOEt se relacionam com os resultados mais altos de inibição do radical DPPH. O fração n-BuOH, entretanto, apresentou teor de polifenóis um pouco abaixo do esperado, levando-se em conta sua alta polaridade. Isto pode ocorrer devido aos totais de conteúdo fenólico baseados em certos padrões, como ácido gálico, epicatequina, epigallocatequina, pirogalol, catequina e quercetina, dentre outros, poderem subestimar ou superestimar o valor total de conteúdo fenólico descrito para uma determinada espécie, levando a diferentes interpretações de resultados¹⁶.

Tabela 1 – Doseamento de polifenóis totais, flavonóides e taninos condensados no extrato bruto e nas frações das cascas de *Cariniana domestica*.

Fração	Polifenóis(mg/g)	Flavonóides (mg/g)	Taninos condensados (mg/g)
F-CH Cl ₂	54,6 ± 0,333	12,0 ± 0,12	136,3 ± 0,05
F-AcOEt ^{2,2}	309,3 ± 2,733	13,98 ± 0,09	131 ± 0,03
F-n-BuOH	132,2 ± 1,966	14,18 ± 0,1	149,7 ± 0,22
EB	268 ± 3,266	13,69 ± 0,05	138,2 ± 1,85

Para o teor de flavonóides, os resultados seguiram a ordem n-BuOH > AcOEt > EB > CH Cl₂, demonstrando maior presença destes compostos na fração mais polar das cascas de *Cariniana domestica*. O método de Woisky e Salatino¹⁷ permite realizar um doseamento específico para flavonóides, sem interferência de outros compostos fenólicos. Neste caso, o teor de flavonóides está apropriadamente mais elevado na fração butanólica, de maior polaridade.

Para o teor de taninos condensados, a ordem de valores seguiu a ordem n-BuOH > EB > AcOEt > CH Cl₂ indicando a maior concentração deste grupo de compostos fenólicos na fração n-BuOH. Os valores de taninos mostraram-se bastante altos em geral para o extrato bruto e frações, já que estes compostos encontram-se sabidamente em altas concentrações nas cascas das plantas, atuando como substâncias de defesa contra agressores. Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de moléstias tais como diarreias, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, queimaduras e problemas renais. A capacidade de precipitar proteínas é a base do seu mecanismo de ação desejado, como por exemplo, como anti-séptico, formando um complexo tanino-proteína ou polissacarídeo sobre tecidos

danificados, impedindo o desenvolvimento de microorganismos²².

A atividade antioxidante, de modo geral, se deve a presença de compostos fenólicos. Para alguns compostos fenólicos, como ácido clorogênico, ácido caféico, ácido ferúlico e seus ésteres com esteróis e triterpenos, já tem sido relatada tal atividade. Essas evidências têm sugerido que doenças causadas pelas reações oxidativas em sistemas biológicos podem ser retardadas pela ingestão de antioxidantes naturais encontrados em plantas e na dieta^{23,24}.

CONCLUSÃO

Finalmente, cabe ressaltar que no presente estudo a espécie *Cariniana domestica* apresentou elevados teores de compostos fenólicos totais, flavonóides e taninos condensados, relacionando-se com suas atividades antioxidantes já estudadas. A elucidação das estruturas químicas dos principais compostos da espécie poderá ser direcionada a partir dos resultados deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carvalho MG; Javier RV; Oliveira LF; Bezerra FB. Triterpenos isolados de *Eschweilera longipes* MIERS, Química Nova, 1998; 21(6).
2. Pio Corrêa M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Vol 4. Ministério da Agricultura, IBDF. Rio de Janeiro, 1969.
3. Lima E; Sousa Filho PT; Bastida J; Schmeda-Hirschmann G. Saponins from *Cariniana rubra* (Lecythidaceae). Bol. Soc. Chil. Quím. 2002; v. 47 n. 4.
4. Santos EN. Triagem farmacológica de plantas medicinais usadas popularmente em Mato Grosso como anti-inflamatórias e validação pré-clínica de *Cariniana rubra* Gardner ex Miers (Jequitibá-vermelho) como anti inflamatória. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Mato Grosso, 2000.
5. Baurin N; Arnoult E; Scior QT; Bernard P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. Journal of Ethnopharmacology, 2002; v. 82, p. 155 -158.
6. Fenner R; Heemann AB; Mentz LA; Rates SMK. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2006; vol. 42, n. 3, jul./set.
7. Cechinel Filho V; Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos para otimização da atividade. Química Nova, 1997; v.21 n.1, p 99-105.
8. Gyamfi MA; Yonamine M; Aniya Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana. *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. Gen. Pharmacol. 1999; 32: 661-667.
9. Gülçin I; Oktay M; Kirecci E; Küfrevioğlu OI. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L) seed extracts. Food Chem. 2003; 83: 371-382.
10. Al-Mamary M; Al-Meerri A; Al-Habori M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of Honey. Nutr. Res. 2002; 22: 1041-1047.
11. Chanwitheesuk A; Teerawutgulrag A; Rakariyatham N. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. Food Chem. 2005; 92: 491-497.
12. Pansera MR et al. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no nordeste do Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Farmacognosia, jan.-jun. 2003; V. 13, n. 1, p. 17-22.
13. Funari CS; Ferro OV. Análise de Própolis. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, jan.-mar. 2006; 26(1): 171-178.
14. Araújo PWB; Quintans Júnior JL; Vasconcelos HD; Almeida JGS. *Flavonóides e Hipertensão*. Revista Brasileira de Hipertensão 2005; 12(3): 188-189.
15. Zuanazzi JA; Montanha JA. Flavonóides in Simões CMO et al. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento .2004; Porto Alegre, Florianópolis: UFRGS, UFSC.
16. Chandra S; Meija EG. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. J. Agric Food Chemistry, 2004.
17. Woisky RG; Salatino A. Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal Apicultural Research, 1998; 37 (2): 99-105.
18. Burns RE. Method for estimation of tannin in grain sorghum. Agronomy Journal, 1971; 63: 511-512.
19. Tung YT; Wu JH; Kuo YH; Chang, S. T. Antioxidant activities of natural phenolic compounds from *Acacia confusa* bark. Bioresource Technology, 2007; 98(5): 1120-1123.
20. Schubert A; Pereira DF; Zanin FF; Alves SH; Beck RCR; Athayde ML. Comparison of antioxidant activities and total phenolic and methylxanthine contents between the unripe fruit and leaves of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. Die Pharmazie, 2007.
21. Tukmen N; Sari F; Velioglu YS. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chem, 2006; 99: 835-841.
22. Haslam E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. Journal of Natural Products, 1999; v. 59, p.205-215.
23. Simões CMO. (Organizador) et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Revista e ampliada, Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2004; p.13 -16.
24. Boligon AA, Magoga BR, Feltrin AC, Janovik V, Athayde ML. Potencial antioxidante in vitro, conteúdo de fenóis e flavonóides nos ramos de *Scutia buxifolia* Reissek. Revista Saúde. In press 2009.

Endereço para correspondência:

Vanessa Janovik

Rua João Goulart, 535, apto 404.

CEP: 97105-220, Santa Maria – RS – Brasil.

Fone: (55) 91656523.

E-mail: angiewish@hotmail.com