



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – 2025

Avaliação do Perfil Fitoquímico e Atividade Biológica *in vitro* de *Pityrocarpa moniliformis*

Ketylen Nascimento de Souza¹; Douglas Oliveira Sampaio²; Clayton Queiroz Alves³

1. Ketylen Nascimento de Souza, PVIC/UEFS, FARMACIA, e-mail: ketylen05@gmail.com

2. Douglas Oliveira Sampaio, Programa de Pós Graduação de Recursos Genéticos Vegetais, e-mail: douglasquimicauefs@gmail.com

3. Clayton Queiroz Alves, DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS, e-mail: cqalves@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: *Pityrocarpa moniliformis*, fitoquímica; espécies medicinais.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins terapêuticos constitui uma das práticas mais antigas da humanidade, sendo incorporado aos saberes tradicionais de diferentes povos ao longo da história. Patrício *et al.* (2021) sugerem que essa prática pode ter se originado da observação empírica do comportamento de outros animais, que consumiam determinadas plantas em resposta a situações de injúria ou doença. Este conhecimento ancestral formou a base para a medicina tradicional e influenciou diretamente o desenvolvimento da farmacologia moderna. Assim, muitos dos medicamentos utilizados atualmente têm suas origens em produtos naturais ou foram desenvolvidos com base em compostos encontrados na natureza. Por exemplo, a aspirina, derivada do ácido salicílico encontrado na casca do salgueiro, e a penicilina, originada de um fungo.

Nesse aspecto, o interesse por produtos medicinais derivados de plantas vem aumentando significativamente em todo o mundo (Dutra *et al.*, 2016). Salienta-se que o Brasil apresenta protagonismo nessa área devido à sua biodiversidade, que é considerada a maior do mundo e responsável pelo isolamento de diversos princípios ativos. Santos *et al.* (2018) destacam que as plantas da Caatinga são amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais. No entanto, seu bioma é um dos menos estudados e mais degradados do Brasil, sofrendo com a escassez de pesquisas e com a intensa pressão antropogênica. Desse modo, este estudo propõe uma investigação do perfil fitoquímico e biológico *in vitro* do extrato metanólico de *P. moniliformis*. Dessarte, pretende-se isolar os constituintes químicos e identifica-los por meio de técnicas espectrofotométricas, além disso, pretende-se determinar *in vitro* a atividade biológica por meio dos testes de DPPH e *Artemia salina*.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA

As Flores de *Pityrocarpa moniliformis* foram coletadas no campus da UEFS, com identificação botânica confirmada por exsicata de número 10430 e código A74C1D5, conforme preconiza a legislação brasileira. O extrato metanólico foi obtido por maceração, seguido de filtração e concentração. Em seguida, o extrato bruto foi particionado em solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade (hexano,

clorofórmio e acetato de etila) e fracionado em colunas cromatográficas (sílica gel, C-18 ou Sephadex LH20). A atividade antioxidante foi avaliada pelo método de DPPH• adaptado de Malterud *et al.* (1993), usando Propilgalato como controle positivo. As amostras foram dissolvidas em metanol e incubadas com DPPH• em microplacas e a absorbância medida a 517 nm para calcular a porcentagem de sequestro do radical e determinar a CE₅₀ por regressão linear. A toxicidade frente a *Artemia salina* foi avaliada conforme Mayer *et al.* (1982), com náuplios expostos a diferentes concentrações de extratos. Após 24 horas, a sobrevivência foi registrada para calcular a porcentagem de letalidade (%LAS) e a Concentração Letal Média (CL₅₀) por análise Probit.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

A extração de material vegetal é essencial para determinar a composição química e obter insumos farmacêuticos ativos, sendo influenciada por fatores como tipo de material, método, solvente, clima, época de colheita e estabilidade dos compostos. No estudo, utilizou-se maceração com metanol, que facilita a liberação de metabólitos secundários e aumenta o rendimento do extrato bruto (Bubonja-Šonje *et al.*, 2020). A extração líquido-líquido permite concentrar ou isolar solutos, melhorando seletividade e sensibilidade. A fração hexânica apresentou maior rendimento, enquanto a clorofórmica, de polaridade intermediária, teve menor rendimento. Assim, o resultado indica maior concentração na flor de *P. moniliformis* de compostos apolares, tendo em vista que o hexano é eficiente na extração de compostos apolares como lipídios, ceras e algumas terpenoides, que são comuns em muitas plantas e são geralmente mais abundantes em comparação com compostos de polaridade intermediária ou alta (Nahar *et al.*, 2019).

TABELA 1: Massa e rendimentos dos extratos e frações obtidos das flores da *P. moniliformis*

Codificação	Extrato	Massa (g)	Rendimento (%)
EB	Bruto	221,9	9,11
FH	Fração Hexânica	22,02	9,92
FC	Fração Clorofórmica	5,50	2,02
FA	Fração Acetato de Etila	9,63	4,33

A investigação fitoquímica e biológica de *Pityrocarpa moniliformis* visa avaliar seu potencial como fonte de compostos bioativos. Estudos anteriores de Silva (2013) e Rocha (2018) indicam que a espécie apresenta diversidade de metabólitos secundários, como fenóis, flavonoides, terpenos e saponinas, associados a atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica. A avaliação de toxicidade (CL₅₀) e a antioxidante (CE₅₀) indica quais frações concentram os compostos mais ativos, apontando candidatos para estudos futuros. A atividade antioxidante frente ao radical DPPH• foi avaliada utilizando diferentes concentrações do extrato e da fração. Para cada concentração, foi calculada a taxa inibição de radicais livres (%I) por meio da seguinte fórmula: %I = $100 \times \frac{\text{Absorbância do branco (DPPH• sem amostra)} - \text{Absorbância da amostra após 15 min}}{\text{Absorbância do branco (DPPH• sem amostra)}}$. Os valores obtidos de %I foram então plotados em função das concentrações testadas, permitindo o ajuste por regressão e a consequente determinação da CE₅₀, definida como a concentração necessária do extrato ou fração para sequestrar 50% dos radicais livres (Tabela 2). Compreende-se que quanto maior o valor de CE₅₀ menor a atividade da fração analisada, desse modo os resultados demonstram que a FA foi a mais ativa, e FC a menos ativa. No caso, de FA Sousa *et al.*, (2016), destacam que solventes mais polares, como o acetato de etila, tendem

a extrair uma variedade mais ampla de compostos antioxidantes, enquanto solventes menos polares, como o hexano, podem ser menos eficazes na extração desses compostos. O Teste utilizando o radical estável DPPH avalia a capacidade de doar hidrogênio. Sendo a acessibilidade estérica o fator determinante da reação, moléculas pequenas que têm melhor acesso ao sítio do radical podem apresentar uma maior atividade aparente quando comparada às moléculas maiores (Alves *et al.*, 2010). O EB também apresentou atividade considerável (0,75 mg/mL), sugerindo que compostos antioxidantes estão distribuídos na mistura inicial. Em contraste, a FH (1,16 mg/mL) e, principalmente, a FC (2,13 mg/mL) exibiram menor potencial antioxidante, sugerindo baixa contribuição de compostos ativos nessas fases. Dessa forma, a fração de acetato de etila concentrou os metabólitos com maior poder antioxidante, destacando-se como a mais promissora.

Tabela 2– Atividade *Artemia salina* e atividade antioxidante do extrato e frações de *Pityrocarpa moniliformis*

Amostra	DPPH• CE ₅₀ (mg/mL)	<i>Artemia salina</i> CL ₅₀ (mg/mL)
EB	0,75±0,009 ^a	1,90±0,739 ^a
FH	1,16±0,006 ^b	0,59±0,986 ^a
FC	2,13±0,099 ^c	0,45±1,968 ^a
FA	0,35±0,013 ^a	0,71±0,689 ^a

ANOVA. Amostras identificadas com mesma letra minúscula na mesma coluna não apresentam diferença estatística pelo Teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Teste realizado em triplicata. Resultados expressos em média ± desvio padrão

Para o ensaio de letalidade os valores de CL₅₀ foram obtidos por análise Probit, conforme Finney. Como não houve mortalidade no controle, não se aplicou a fórmula de correção %LAS, utilizando-se apenas $\% = (\text{Amostra/Controle}) \times 100$ (MEYER *et al.*, 1982). No ensaio de letalidade (Tabela 2) por sua vez, observou-se que a FC apresentou a maior toxicidade (CL₅₀= 0,45 mg/mL), seguida pela FH (CL₅₀= 0,59 mg/mL). Esses resultados sugerem que compostos apolares e de polaridade intermediária concentram maior ação tóxica inespecífica. O EB e a FA apresentaram valores mais altos (CL₅₀= 1,90 e 0,71 mg/mL, respectivamente), indicando toxicidade moderada. Dessa forma, embora a FA tenha mostrado a maior atividade antioxidante, sua toxicidade foi relativamente mais baixa em comparação às frações FH e FC, reforçando seu caráter promissor. Ademais, salienta-se de acordo com Clarkson *et al.*, (2004) extratos de plantas com um CL₅₀ superior a 1,0 mg/mL, são classificados como não tóxicos. Os extratos com CL₅₀ entre 0,5 e 1,0 mg/mL, são considerados de baixa toxicidade, enquanto aqueles na faixa de 0,1 a 0,5 mg/mL, são considerados moderadamente tóxicos. Em contraste, um CL₅₀ entre 0,05 e 0,1 mg/mL, revela um perfil altamente tóxico.

Ressalta-se assim, que os resultados obtidos revelaram que FA apresentou o melhor desempenho, com menor valor de CE₅₀ e toxicidade moderada, indicando maior seletividade e concentração de metabólitos bioativos, enquanto, FH e FC apresentaram o perfil menos promissor, caracterizado por baixa eficácia e elevada toxicidade. Esses resultados reforçam que a partição do extrato contribuiu para a concentração dos constituintes mais ativos na fração de acetato de etila, destacando-a como a mais relevante para estudos posteriores. No fracionamento por Cromatografia em Coluna da fração clorofórmica, que contém compostos de polaridade intermediária, obtiveram-se dez grupos distintos de eluato. O primeiro grupo, correspondente às frações 1 a 21, apresentou massa de aproximadamente 0,45 g; o segundo grupo, frações 22 a 38, teve massa de 0,41 g; o terceiro grupo, frações 39 a 45, apresentou 0,239 g; o quarto grupo, frações 46 a 63,

0,303 g; e o quinto grupo, frações 64 a 75, 0,205 g. O sexto grupo, frações 76 a 81, teve massa de 0,45 g; o sétimo grupo, frações 82 a 91, 0,837 g; o oitavo grupo, frações 92 a 108, 0,45 g; o nono grupo, frações 109 a 122, 0,456 g; e o décimo grupo, frações 123 a 134, 0,50 g.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante ao exposto, a investigação fitoquímica e biológica de *Pityrocarpa moniliformis* demonstrou que a extração por maceração com metanol, seguida de fracionamento por extração líquido-líquido e particionamento em coluna de topo aberto, foi eficiente na obtenção e concentração de metabólitos secundários. A fração de acetato de etila (FA) destacou-se como a mais promissora, apresentando o menor valor de CE₅₀ e toxicidade moderada, evidenciando maior seletividade e potencial farmacológico. Em contraste, as frações hexânica (FH) e clorofórmica (FC) apresentaram menor atividade antioxidante e maior toxicidade, sugerindo menor relevância biológica.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Clayton Q. et al. Methods for determination of *in vitro* antioxidant activity for extracts and organic compounds. 2010.
- BUBONJA-ŠONJE, Marina; KNEŽEVIĆ, Samira; ABRAM, Maja. Challenges to antimicrobial susceptibility
- CLARKSON, C.; MAHARAJ, V. J.; CORDIER, W.; STADLER, M.; JULIANO, S. A.; GRAY, A. I. *In vitro* antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalized in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 92, n. 2-3, p. 177-191, 2004.
- DUTRA, Rafael C. *et al.* Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drugdiscovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4-29, 2016.
- KAMIL HUSSAIN, Mohammad; SAQUIB, Mohammad; FAHEEM KHAN, Mohammad. Techniques for extraction, isolation, and standardization of bio-active compounds from medicinal plants. **Natural Bio-active Compounds: Volume 2: Chemistry, Pharmacology and Health Care Practices**, p. 179-200, 2019.
- MALTERUD, Karl Egil *et al.* Antioxidant and radical scavenging effects of anthraquinones and anthrones. **PHARMACOLOGY-BASEL-**, v. 47, p. 77-77, 1993.
- MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.
- NAHAR, Lutfun; SARKER, Satyajit D. **Chemistry for pharmacy students: general, organic and natural product chemistry**. John Wiley & Sons, 2019.
- PATRÍCIO, Karina Pavão *et al.* Medicinal plant use in primary health care: An integrative review. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 677-686, 2022.
- PEREIRA, M. de S. Manual técnico: conhecendo e produzindo sementes e mudas da caatinga. **Fortaleza: Associação Caatinga**, 2011.

ROCHA, Tamiris Alves et al. Evaluation of cytotoxic potential, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity of organic extracts of *Pityrocarpa moniliformis*. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 82, n. 3, p. 216-231, 2019.

SANTOS, Maria O. *et al.* Medicinal plants: Versatility and concordance of use in the Caatinga area, Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 2767-2779, 2018.

SOUSA, C., et al. (2016). Solvent Extraction Effects on Antioxidant Activity, Total Phenolics Content, and Pesticides Residues in Palm Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64(10), 2307-2315.