

## Artigo

**Potencial antioxidante da fração fenólica de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. a partir de encapsulação em niossomas****Camilo, C. J.;**\* Nonato, C. F. A.; Damasceno, S. S.; Silva, A. R. A.;  
Pinheiro, P. G.; da Costa, J. G. M.*Rev. Virtual Quim.*, 2020, 12 (1), 13-24. Data de publicação na Web: 23 de janeiro de 2020<http://rvq.sbq.org.br>**Antioxidant potential of the phenolic fraction of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. from encapsulation in niosomes**

**Abstract:** The encapsulation of isolated compounds and fractions in niosomes favors the increase of the biological response even in low concentrations, considering that lipidic vesicles can be the alternative to the use of substances that have biological activity, but present high toxicity. Based on this, this work sought the development of niosomes containing a fraction rich in phenolic compounds obtained from the barks of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., in order to evaluate its antioxidant activity by different mechanisms of action and to compare them to the activity of the fraction alone. The niosomes were obtained by the lipidic film hydration method and the following physicochemical characteristics were evaluated: size, PDI, zeta potential and encapsulation efficiency. These analyzes were performed for a period of three months in order to evaluate the stability of the vesicle. The antioxidant tests performed were ABTS<sup>•+</sup>, Fe<sup>2+</sup> Chelating Agent, Deoxyribose. The niosomes obtained mean size of 84.07nm, PDI of 0.2, zeta potential of -50mV and encapsulation efficiency of 60 %. The antioxidant results showed efficiency of the sample for all evaluated antioxidant mechanisms, indicating that the phenolic fraction is more efficient when encapsulated in niosomes.


**Keywords:** Phenolic fraction; niosomes; antioxidant.

**Resumo**

A encapsulação de compostos isolados e frações em niossomas favorece o aumento da resposta biológica mesmo em baixas concentrações, sendo considerado que vesículas lipídicas podem ser uma alternativa a utilização de substâncias que possuem atividade biológica, porém apresentam alta toxicidade. Com base nisto este trabalho buscou o desenvolvimento de niossomas contendo uma fração rica em compostos fenólicos obtida das cascas de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., afim de avaliar sua atividade antioxidante por diferentes mecanismos de ação e compará-los a atividade da fração sozinha. Os niossomas foram obtidos pelo método de hidratação do filme lipídico e foram avaliados quanto as suas características físico-químicas: tamanho, PDI, potencial zeta e eficiência de encapsulamento. Estas análises foram realizadas por período de três meses afim de avaliar a estabilidade da vesícula. Os testes antioxidantes realizados foram ABTS<sup>•+</sup>, Quelante de Fe<sup>2+</sup>, Desoxirribose. Os niossomas obtiveram tamanho médio de 84,07nm, PDI de 0,2, potencial zeta de -50mV e eficiência de encapsulamento de 60 %. Os resultados antioxidantes mostraram eficiência da amostra para todos os mecanismo antioxidantes avaliados, indicando que a fração fenólica é mais eficiente quando encapsulada em niossomas.

**Palavras-chave:** Fração fenólica; niossomas; antioxidante.

\* Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Grupo de Catálise e Reatividade Química - GcAR, Avenida Lourival de Melo Mota s/nº, CEP 57072-970, Cidade Universitária, Maceió - AL, Brasil.

 [janainecamilo@hotmail.com](mailto:janainecamilo@hotmail.com)  
DOI: [10.21577/1984-6835.20200003](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200003)

## Potencial antioxidante da fração fenólica de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. a partir de encapsulação em niossomas

Cicera Janaine Camilo,<sup>a,\*</sup> Carla de Fatima Alves Nonato,<sup>b</sup> Sarah Soares Damasceno,<sup>c</sup> Angelo Roncalli Alves e Silva,<sup>d</sup> Patrícia Gonçalves Pinheiro,<sup>b</sup> José Galberto Martins da Costa<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Regional do Cariri, Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular, Departamento de Química Biológica, Rua Coronel Antônio Luíz 1161, Pimenta, CEP 63105-010, Crato-CE, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Regional do Cariri, Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, Departamento de Química Biológica, Rua Coronel Antônio Luíz 1161, Pimenta, CEP 63105-010, Crato-CE, Brasil.

<sup>c</sup> Instituto Federal do Sertão de Pernambuco, Rua Maria Luzia de Araújo Gomes Cabral 791, João de Deus, CEP 56316-686, Petrolina-PE, Brasil.

<sup>d</sup> Universidade de Fortaleza, Fundação Edson Queiroz, Divisão de Pesquisa Desenvolvimento e Inovação DPDI, Avenida Washington Soares 1321, Edson Queiroz, CEP 60811-905, Fortaleza-CE Brasil.

\*[janainecamilo@hotmail.com](mailto:janainecamilo@hotmail.com)

*Recebido em 11 de outubro de 2018. Aceito para publicação em 10 de dezembro de 2019*

### 1. Introdução

### 2. Material e Métodos

2.1. Solventes, reagentes e equipamentos

2.2. Material vegetal e identificação botânica

2.3. Obtenção da fração fenólica

2.4. Prospecção química

2.5. Formulação e caracterização do niossoma da fração fenólica do barbatimão

2.6. Caracterização das vesículas

2.7. Ensaio Antioxidantes

### 3. Resultados e Discussão

3.1. Fração fenólica e prospecção química

3.2. Caracterização das vesículas

3.3. Ensaio antioxidantes

### 4. Conclusão

## 1. Introdução

Antioxidantes naturais são normalmente encontrados em frutas, legumes e em algumas plantas utilizadas na medicina popular. Tais compostos atuam na redução de radicais livres, promovendo o equilíbrio entre antioxidante/oxidante no organismo humano. São considerados importantes na prevenção e tratamentos de doenças neurodegenerativas, podendo atuar junto às enzimas, como a superóxido dismutase e a catalase.<sup>1</sup> Os trabalhos que visam encontrar antioxidantes naturais têm crescido na busca de alternativa para substituição aos sintéticos, sendo que a escolha de plantas para obtenção desses compostos é baseada na diversidade de estruturas químicas que podem ser encontradas e pelo maior espectro de atividades biológicas relacionadas.<sup>2,3</sup>

O consumo de antioxidantes naturais está associado à diminuição dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis, somada à efetiva ação contra agentes oxidantes no organismo, dessa forma, é importante a descoberta de novas fontes naturais desses compostos.<sup>4</sup> As principais moléculas relacionadas a esta atividade são os compostos fenólicos. Tais substâncias atuam na eliminação de radicais livres agindo por diferentes mecanismos de ação, podendo atuar através da doação de elétrons, na quelação de metais de transição, impedindo a peroxidação lipídica, pela inibição de enzimas produtoras de radicais e desempenhar concomitantemente mais de uma dessas funções.<sup>5,6</sup>

Muitas pesquisas têm direcionado sua atenção para a encapsulação de compostos ou extratos, em vesículas lipídicas, tendo como foco a potencialização de atividades em sistemas biológicos, assim como a proteção da vesícula lipídica contra a degradação oxidativa.<sup>7</sup> Ensaio com o composto eugenol encapsulado em lipossomas mostraram que sua atividade de preservação contra agentes oxidantes em alimentos foi potencialmente maior quando comparado a atividade do composto sozinho. Desta forma, trabalhos que buscam testar atividade antioxidante de compostos naturais tem maior aplicabilidade a partir da sua encapsulação em vesículas lipídicas.<sup>8</sup>

As espécies do gênero *Stryphnodendron* são uma importante fonte de compostos fenólicos,

especialmente de taninos. Na medicina popular são indicadas para o tratamento de diferentes males tais como, inflamação, feridas, infecções por microrganismos e diarreia. Tais atividades estão relacionadas com a presença de compostos fenólicos presentes normalmente em suas cascas.<sup>9-11</sup>

Sabendo que os compostos fenólicos estão relacionados com a diminuição e o controle de espécies reativas no organismo, estudos que buscam potencializar a atividade desses compostos pela diminuição da sua concentração através da encapsulação em vesículas lipídicas, são extremamente importantes para o desenvolvimento de fitofármacos. Assim, esse trabalho buscou desenvolver um niossoma, que são vesículas lipídicas formadas a partir da automontagem de tensoativos não-iônicos por interações hidrofóbicas em meio aquoso,<sup>12</sup> contendo a fração fenólica da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* e analisar sua atividade antioxidante por diferentes mecanismos de ação, assim como verificar se há diferença na resposta antioxidante da fração livre em relação à encapsulada.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Solventes, reagentes e equipamentos

Todos os solventes e reagentes utilizados foram de pureza com grau analítico.

Acetona; Ácido acético; Ácido clorídrico; Ácido tiobarbitúrico (TBA), Ácido tricloro acético (TCA); ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)-ABTS; Água destilada; Álcool etílico 70 %; Álcool metílico PA; Cloreto férrico; Clorofórmio; Colesterol; Desoxirribose; Dragendorf; Éter de petróleo; Fenantrolina; Fosfatidilcolina; Fosfato de potássio mono e dibásico; Hidróxido de sódio; Peróxido de hidrogênio; Persulfato de potássio; Sulfato ferroso; 2-Amino-2-hidroximetil-propan-1,3-diol (TRIS-HCl); Tween 80. Balança analítica Shimadzu AUW220D; Banho ultrassônico Quimis 03350; Liofilizador K105; Evaporador rotatório Fisatam 805; Bomba de vácuo Solab SL60; Dessecador; Vortex Biomixer QL 901; sonicador UP 100 Hielscher; Espectrofotômetro UV/VIS T80; Zetasizer Nano; pHmetro T 1000; espectrofotômetro Elisa Kasuaki.

## 2.2. Material vegetal e identificação botânica

Cascas de *S. rotundifolium*, “barbatimão”, foram coletadas na Chapada do Araripe em área de Cerrado situada no sítio Barreiro Grande, numa elevação aproximada de 869 m de altitude, latitude de 07o81’S e longitude de 039o28’W, Crato, Ceará. Foram coletadas amostras de quatro espécimes com distância aproximada de 1 m<sup>2</sup>. As cascas foram selecionadas e em seguida mantidas em estufa a 60 oC por 24 horas para secagem.

Uma exsicata sob o número de registro # 33621 foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima do Departamento de Ciências Biológicas Universidade Regional do Cariri-URCA para fins de certificação da identificação botânica.

## 2.3. Obtenção da fração fenólica

Um total de 20 g de cascas secas e trituradas foram colocadas em contato com 50 mL de solução acetona: água (7:3), usando banho ultrassônico e aquecimento a 5° C, durante 30 min. Após esse período a solução foi filtrada e o procedimento repetido por três vezes. O resíduo sólido foi descartado e as fases líquidas reunidas e concentradas em evaporador rotatório até a completa evaporação da acetona. A fase aquosa foi particionada com éter de petróleo 20 mL (3x), seguida de destilação em evaporador rotatório e liofilização.

## 2.4. Prospecção química

Uma solução contendo 300 mg da fração fenólica foi diluída em 30 mL de etanol 70 %(v/v). Alíquotas contendo 3 mL desta solução foram submetidas a adição de FeCl<sub>3</sub> para identificação de compostos fenólicos totais. Os reagentes HCl e NaOH foram utilizados para a observação da mudança de cor e/ou formação de precipitado na amostra, indicando a classe de metabólito secundário presente.<sup>13</sup>

## 2.5. Formulação e caracterização do niossoma da fração fenólica do barbatimão

O niossoma foi preparado pelo método de hidratação do filme,<sup>14</sup> onde foram utilizados fosfatidilcolina de soja, tween 80 e colesterol para

obtenção do filme lipídico. Em seguida, foram diluídos em mistura de clorofórmio e etanol e transferido para um balão de fundo redondo. Posteriormente, o solvente foi evaporado com auxílio de bomba a vácuo até a obtenção de um filme uniforme. Após a formação do filme, o balão permaneceu em dessecador por 1 h para total retirada do solvente. Em seguida, o filme foi hidratado com solução fenólica na concentração de 0,2 mg.mL<sup>-1</sup> e agitada em vortex até o “desprendimento do filme” e formação das vesículas lipídicas. A solução final foi mantida em aparelho sonicator UP 100 Hielscher por 5 min com amplitude 60 Htz para obtenção dos niossomas.

## 2.6. Caracterização das vesículas

### 2.6.1. Tamanho médio, polidispersão e potencial zeta

Cada formulação do niossoma foi diluída em solução de Tampão Fosfato pH 6,5 e analisadas em potenciômetro *zeta*, para a medição do tamanho médio, da polidispersidade e do potencial *zeta* das vesículas.

### 2.6.2. Eficiência do encapsulamento

A eficiência do encapsulamento foi realizada por análise de espectrofotometria. O teor livre de compostos fenólicos foi obtido por centrifugação a 3000 rpm durante 60 minutos a 25 oC. O sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro e com comprimento de onda ajustado para 292 nm. A eficiência do encapsulamento foi definida pela Equação 1.

$$\text{Equação 1: } EE = \frac{CT - CL}{CT} \times 100$$

Onde: EE= Eficiência de encapsulamento; CT= Conteúdo Total; CL= Conteúdo Livre.

## 2.7. Ensaio Antioxidantes

Os ensaios antioxidantes realizados buscaram comparar a atividade da fração fenólica sozinha com a fração encapsulada em niossomas. Os três métodos utilizados demonstram alguns dos mecanismos em que as amostras podem agir como antioxidantes.

2.7.1. Ensaio antioxidante *in vitro* pela capacidade de sequestrar o radical ABTS<sup>•+</sup>.

Esta análise baseia-se na capacidade do analito em reduzir o ABTS<sup>•+</sup> (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) pela doação de um elétron ao radical, causando a descoloração da solução e consequente diminuição da absorvância em 734 nm. Para a realização do teste inicialmente foi preparada a solução de ABTS<sup>•+</sup> 7 mM que permaneceu durante 16 h ao abrigo da luz, após este período a solução foi estabilizada com solução tampão fosfato de potássio (pH 7,3). Em seguida, foram adicionadas 15 µL das diferentes concentrações dos niossomas (15 %, 30 % e 60 %, essas concentrações foram obtidas a partir da relação massa/volume entre o gel de carbopol e os niossomas) e da fração em 1985 µL da solução de ABTS<sup>•+</sup>. Após 5 min foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-Visível à 734 nm.<sup>15</sup> Para obtenção dos resultados em porcentagem de inibição foi empregado a Equação 2.

Equação 2: Atividade antioxidante =  $[(A_0 - A_x) / A_0] \times 100$

Onde: A<sub>0</sub> = Absorvância do controle ABTS;  
A<sub>x</sub> = absorvância da amostra

2.7.2. Ensaio antioxidante *in vitro* pela capacidade quelante de íons Fe<sup>2+</sup>

A técnica foi adaptada.<sup>16</sup> Foram preparadas soluções de fenantrolina 0,25 % m/v em etanol, FeSO<sub>4</sub> 2 mM aquosa e TRIS HCl 0,1 M (pH 7,4) aquosa e adicionadas nas amostras nas concentrações de 15 %, 30 %, 60 % e na fração. Todas as amostras foram incubadas, ao abrigo da luz, por um período de 5 min, em seguida procedeu-se a adição de 26 µL de fenantrolina 0,25 %. A absorvância foi medida em um Espectrofotômetro UV-Visível em 510 nm. A capacidade quelante das amostras foi expressa em porcentagem (%) conforme Equação 3.

Equação 3: Atividade antioxidante =  $100 - (A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / A_{\text{controle}} \times 100$

Onde: A<sub>amostra</sub> = Absorvância de cada amostra;  
A<sub>branco</sub> = Absorvância do branco das amostras;  
A<sub>controle</sub> = Absorvância do controle negativo.

2.7.3 Ensaio antioxidante *in vitro* pela degradação da desoxirribose

A técnica foi adaptada.<sup>16</sup> As soluções de FeSO<sub>4</sub> 1 mM, desoxirribose 20 mM, tampão fosfato de potássio 0,5 M (pH 7,5), peróxido de hidrogênio 10 mM, TCA 2,8 % e TBA 0,6 % (foram preparadas a partir da relação m/v em 100 mL de água destilada) em seguida foram adicionadas às amostras. Posteriormente, foram incubadas por período de 30 min à 37 °C, transcorrido esse tempo, todas as amostras receberam 800 µL de TCA, 400 µL de TBA e 500 µL de água, seguida de nova incubação por 20 min em banho fervente (100 °C). Realizou-se a leitura da absorvância em Espectrofotômetro de UV-Visível em 532 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de acordo com a Equação 3.

Equação 3: Atividade antioxidante =  $100 - (A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / A_{\text{controle}} \times 100$

Onde: A<sub>amostra</sub> = Absorvância de cada amostra;  
A<sub>branco</sub> = Absorvância do branco das amostras;  
A<sub>controle</sub> = Absorvância do controle negativo.

### Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no programa Prisma versão 6.0. Os valores foram expressos como média ± desvio-padrão, utilizando o teste ANOVA de uma via com correção de Greenhouse- Geisser, seguido do teste de múltiplas comparações. O intervalo de confiança foi de 0,05 (95 %).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Fração fenólica e prospecção química

O rendimento obtido da fração fenólica foi de 15,98 %, a comprovação da presença de classes de compostos fenólicos foi analisada qualitativamente pela prospecção química, como mostra a Tabela 1. Os resultados confirmam a presença das classes dos taninos, flavonoides e fenóis no geral.

A maior concentração de compostos fenólicos, dentre eles taninos, que ocorrem em espécies do gênero *Stryphnodendron* é no período de floração, onde as características climáticas são favoráveis a produção dessas substâncias.<sup>17</sup> Tendo em vista que a variação sazonal implica diretamente em sua con-

**Tabela 1.** Prospecção química da fração fenólica

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Fração fenólica	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-

1: Fenóis; 2:Taninos condensados; 3:Taninos pirogálicos; 4:antocianinas e antocianidinas; 5: Flavonas, flavonóis e xantona; 6: flavanonóis; 7: flavononas; 8: chalconas e auronas; 9: leucoantocianidinas; 10: catequinas;11 alcaloides. (+) presente e (-) ausente

centração, alguns parâmetros como a temperatura, a precipitação e a insolação são consideradas variáveis que podem contribuir para a maior diferença no conteúdo total desses compostos.<sup>18</sup>

Esses compostos são responsáveis por atividades, como a antioxidante, desempenhada pelas espécies de barbatimão, as quais podem ter um potencial de inibição de até 41, 91 % de radicais livres.<sup>19</sup> A capacidade antioxidante desses compostos é regulada por características da molécula, como número e posição dos grupos hidroxilas e posição da glicosilação. Geralmente, tais moléculas agem na retirada do oxigênio livre pela doação de um elétron, impedindo processos como a peroxidação lipídica, gerada pelos radicais superóxido e hidroxil.<sup>20,21</sup> A Figura 1 mostra a formação de um radical livre ABTS<sup>•+</sup> e sua inibição por um composto fenólico, através da doação de elétrons.

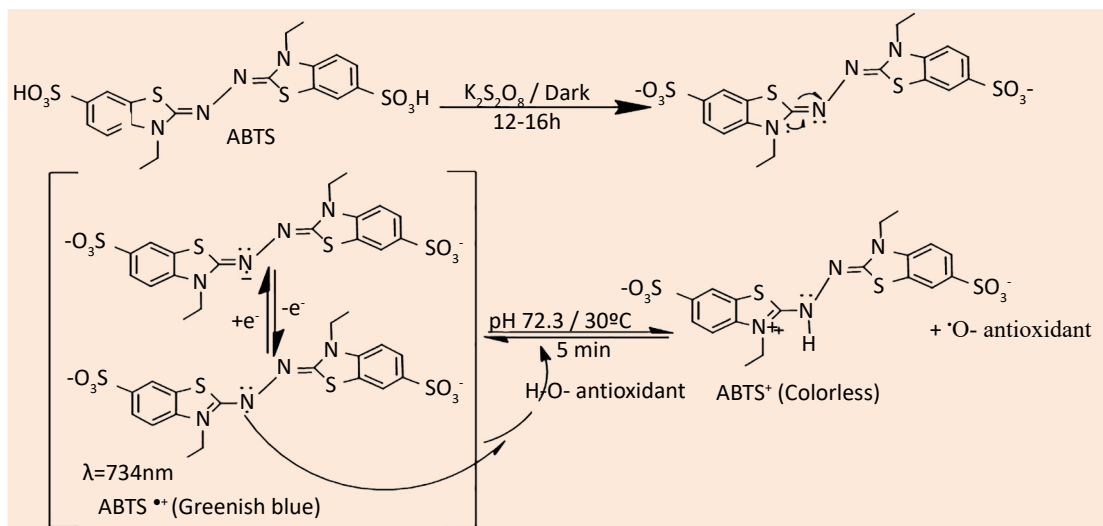
### 3.2. Caracterização das vesículas

#### 3.2.1. Tamanho médio, polidispersão e potencial zeta

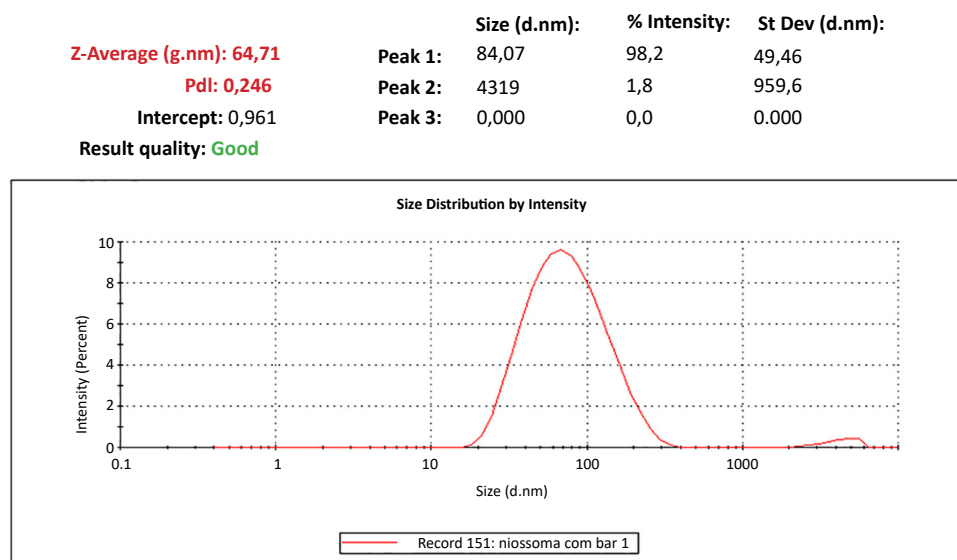
As vesículas apresentaram tamanho médio de 84,07 nm, com polidispersão (PDI) de 0,2,

indicando boa uniformidade entre as vesículas. Esses parâmetros foram avaliados repetidamente durante três meses, a fim de verificar se houve alterações significativas (Figura 2). A análise repetida é necessária para demonstrar a estabilidade da formulação, sendo que a alteração do tamanho pode influenciar em propriedades como a eficiência do sistema.<sup>24</sup> Em estudo anterior verificou-se que a estabilidade de lipossomas preparados com fosfatidilcolina se manteve por um período de 3 meses, sem alterações no tamanho, PDI e potencial zeta.<sup>25</sup>

Neste trabalho o valor de PDI indicou que a suspensão possui população única e homogênea, os valores de polidispersão estão relacionados à distribuição das partículas no meio. De acordo com Pando *et al.* (2015),<sup>26</sup> quando esses valores são maiores que 0,4 não são considerados bons, pois as vesículas não serão estreitas o suficiente para obter uniformidade. Já foi demonstrado que niossomas preparados pelo método de hidratação do filme geralmente possuem valores de PDI igual ou inferior a 0,2, o que indica que o método utilizado pode estar relacionado a este parâmetro.<sup>27,28</sup> Outro fator a ser considerado e que pode interferir no tamanho e valor de PDI das vesículas é o tempo de



**Figura 1.** Formação do radical ABTS<sup>•+</sup> pela ação do persulfato de potássio e sua redução produzida por um antioxidante natural. Adaptado de Huang et al. (2005)<sup>22</sup> e Van den Berg et al. (1999)<sup>23</sup>



**Figura 2.** Medição do tamanho dos niossomas. A distribuição é dada pelo valor polidispersão e potencial zeta

sonicação, sendo que quando o tempo aumenta as vesículas tendem a diminuir de tamanho, proporcionando distribuição mais uniforme.<sup>29</sup>

O valor do potencial zeta obtido neste trabalho foi de  $-50 \text{ mV} \pm 1,3$ , indicando a presença de partículas carregadas negativamente. O potencial zeta é uma excelente técnica para caracterizar e medir a estabilidade de sistemas coloidais. Quando os valores do potencial estão distantes de zero, seja positivamente ou negativamente significa que a estabilidade das vesículas é excelente, diminuindo a tendência de agregação.<sup>30,31</sup>

Manca *et al.*, (2014)<sup>32</sup> relacionaram o aumento de potencial negativo à composição lipídica, principalmente, por ácidos graxos que são carregados negativamente. Em outro trabalho verificou-se que vesículas preparadas sem a presença de surfactantes apresentam potencial zeta baixo, induzindo à baixa estabilidade física proporcionada pelo fenômeno da agregação, sendo ideal que as formulações tenham a presença tanto de fosfolipídios como a de surfactantes não iônicos.<sup>33</sup>

### 3.2.2. Eficiência da encapsulação

A eficiência de encapsulamento da fração fenólica em niossomas foi de 60 %. A concentração de substâncias hidrofílicas, como a fração fenólica, apresenta baixo teor de associação, sendo considerado valores ideais acima de 30 %.<sup>34</sup> De

modo geral, substâncias isoladas apresentam eficiência de encapsulamento maior, podendo apresentar valores de 94 % como relatado no trabalho de Caddeo *et al.*, (2018)<sup>35</sup> para o composto resveratrol.

Mokhtar *et al.*, (2008)<sup>36</sup> mostraram que a eficiência de encapsulamento de substâncias está relacionada à estrutura química do surfactante, tendo a classe dos *spans*, que são surfactantes não iônicos, a maior capacidade de aprisionamento, a qual pode estar relacionada ao tamanho do grupo cabeça dessas moléculas. Um dos requisitos para melhorar a eficiência de encapsulamento é a organização da membrana através da adição de componentes como o colesterol, sendo que o aumento na concentração deste aditivo proporciona uma eficiência de encapsulamento maior, devido à sua capacidade de tornar a membrana mais compacta e menos fluída.<sup>37</sup>

Os surfactantes que possuem equilíbrio hidrofílico-lipofílico mais alto apresentam eficiência de encapsulamento maior, sendo que a classe dos polissorbatos demonstram maior afinidade com substâncias hidrofílicas principalmente por serem da mesma natureza, proporcionando maior interação com a substância encapsulada.<sup>38</sup> Outro fator a ser avaliado é a razão molar entre os componentes da formulação, sendo que esta proporção é essencial para determinação da eficiência de encapsulamento e também de tamanho e potencial zeta da amostra.<sup>39</sup>

### 3.3. Ensaio antioxidantes

#### 3.3.1. Capacidade da redução do radical ABTS<sup>•+</sup>

Antioxidantes são descritos como substâncias que em baixas concentrações possuem capacidade de diminuir ou impedir o processo de oxidação por diferentes mecanismos de ação. A atividade antioxidante da amostra pelo sequestro do radical livre ABTS<sup>•+</sup> mostrou que os niossomas testados possuem atividade estatisticamente significativa (Figura 3). Foi observado que as três concentrações obtiveram potencial de sequestro maior que 50 %, sendo que os niossomas na concentração de 60 % obteve valor maior que 90 % de redução do radical ABTS<sup>•+</sup>.

A análise estatística mostrou ainda que a encapsulação da fração em niossomas promove aumento na atividade redutora do radical ABTS<sup>•+</sup>, com uma diferença significativa para as três concentrações dos niossomas em relação a fração não encapsulada. Desta forma pode-se afirmar que os niossomas enriquecidos com compostos fenólicos tem capacidade de aumentar doação de elétrons pela amostra, neutralizando o radical livre ABTS<sup>•+</sup>.

Formulações que possuem atividade antioxidante são importantes no auxílio ao tratamento e prevenção de diversas enfermidades, especialmente aquelas relacionadas ao estresse oxidativo, dentre elas podem ser destacadas: diabetes, *Alzheimer*, câncer, infecções por microrganismos, entre outras. Na terapia popular

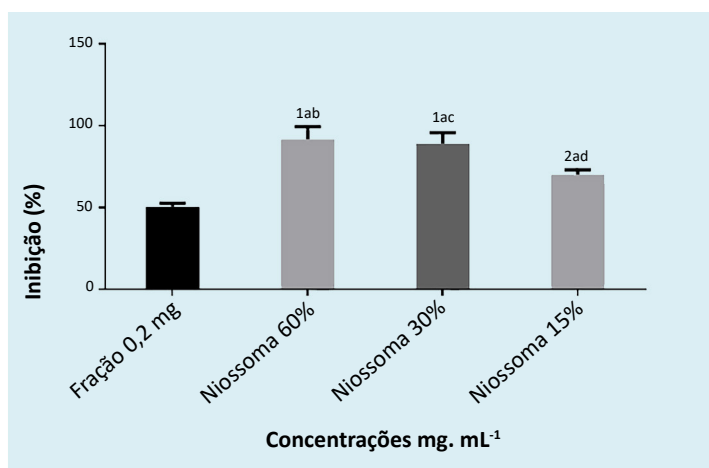
as plantas medicinais são utilizadas como remédio contra tais enfermidades, sendo que estudos científicos apontam que espécies com atividade antioxidante estão relacionadas com a diminuição dessas patologias, tendo como principais agentes os compostos fenólicos.<sup>40-43</sup>

#### 3.3.2. Capacidade quelante de íons Fe<sup>2+</sup>

Agentes quelantes são utilizados na eliminação de substâncias, como metais, no organismo. O teste quelante está baseado na capacidade da amostra em inibir a formação do complexo Fe<sup>2+</sup> + Fenantrolina, através de um complexo formado entre a amostra e o íon Fe<sup>2+</sup>, impedindo reações de Fenton.<sup>44</sup> O presente trabalho relata, pela primeira vez, a avaliação da capacidade quelante da fração fenólica de *S. rotundifolium*, como também trata dos primeiros resultados de tal atividade a partir da encapsulação desta fração em niossomas.

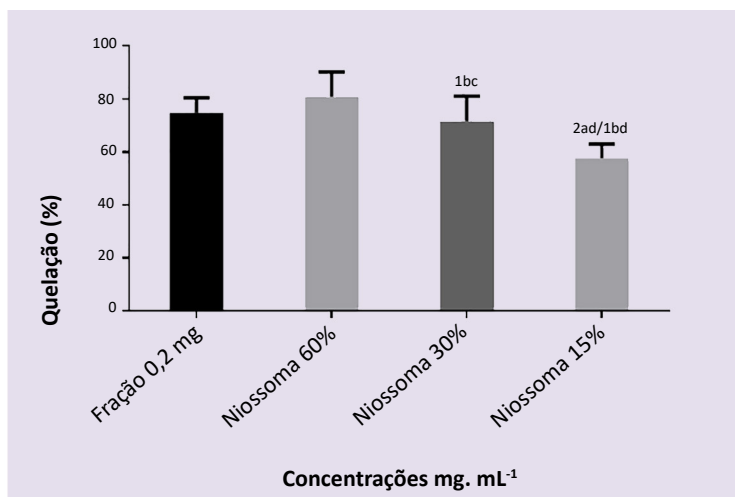
Os resultados mostraram que as amostras obtiveram efeito quelante, tendo diferenças significativas na concentração de 30 % dos niossomas em relação à fração. Na Figura 4 é mostrado que o efeito quelante da amostra foi dependente da concentração, sendo que quanto maior a concentração dos niossomas, melhor o resultado observado.

O resultado observado pode estar relacionado à grande quantidade de hidroxilas presentes nos taninos, que foram identificados anteriormente na prospecção química. É importante ressaltar que o ferro, embora seja um elemento essencial para sobrevivência, em alta concentração no organismo



**Figura 3.** Porcentagem de inibição do radical ABTS<sup>•+</sup> da fração fenólica e dos niossomas nas concentrações de 15 %, 30 % e 60 %. Os valores foram expressos como média ± desvio padrão, com  $p < 0,05$  (ANOVA e teste de Tukey). Fração (a), niossoma 60 % (b), niossoma 30 % (c) e niossoma 15 % (d). Os números 1-4 expressam a significância entre as frações na mesma concentração





**Figura 4.** Porcentagem de quelação de íons  $\text{Fe}^{2+}$  pela fração fenólica sozinha obtida da espécie *S. rotundifolium*, e encapsulada em niossomas nas concentrações de 15 %, 30 % e 60 %. Os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Fração (a), niossoma 60 % (b), niossoma 30 % (c) e niossoma 15 % (d). Os números 1-4 expressam a significância entre as frações na mesma concentração. 1:  $p < 0,05$ , 2:  $p < 0,01$ , 3:  $p < 0,001$  e 4:  $p < 0,0001$ , (ANOVA e teste de Tukey)

pode levar à produção excessiva de espécies reativas do oxigênio, sendo a principal delas o radical hidroxila. Uma alternativa para o controle na produção desses radicais é uma alimentação rica em compostos fenólicos, que por sua vez são considerados eficientes no sequestro do ferro livre.

Os antioxidantes, por exemplo, os compostos fenólicos, podem agir como primários onde atuam na neutralização dos radicais livres impedido a formação e propagação de reações em cadeia oxidativa, ou secundários, atuando na inibição da formação do radical e desta forma suprimindo o dano oxidativo.<sup>45</sup> Dessa forma é pertinente dizer que a fração sozinha, assim como encapsulada pode agir como antioxidante primário e/ou secundário.

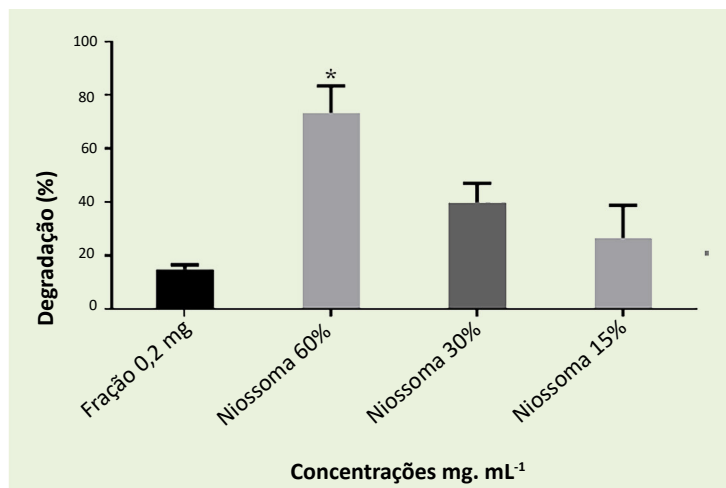
### 3.3.3. Capacidade de impedir a degradação da desoxirribose

O radical hidroxila é uma das classes de radicais mais reativos, tendo suas principais ações danosas em proteínas, membranas lipídicas e na molécula de DNA. A capacidade de uma substância impedir a degradação da desoxirribose pode estar relacionada a inativação do radical  $\text{OH}^*$ , que é originalmente formado a partir de reações de Fenton ou reações de Haber-Weiss.<sup>46</sup> Sem a presença do antioxidante, o radical  $\text{OH}^*$  promove o rompimento do anel cíclico da desoxirribose, ocasionando a produção malondialdeído (MDA), que combinado ao ácido tiobarbitúrico (TBA) gera

um cromóforo de coloração róseo que pode ser absorvido a um comprimento de onda de 530 nm em espectrofotômetro.

A análise da degradação da desoxirribose é um teste que pode possibilitar a avaliação da capacidade de uma amostra antioxidante em agir como doador de elétrons ou átomos de hidrogênio, promovendo o bloqueio dos precursores do radical  $\text{OH}^*$ , assim como, analisar a capacidade da amostra em impedir a ação do ferro sobre o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ambos os mecanismos resultam no impedimento da degradação da desoxirribose.<sup>47</sup>

Em relação a este ensaio, os resultados mostraram uma baixa capacidade de sequestro do radical  $\text{OH}^*$  e/ou inibição do ferro pelas amostras, com diferença significativa para todas as concentrações dos niossomas em relação à fração (Figura 5). De modo geral as amostras apresentaram poder de inibição menor que 50 %, com exceção para o niossoma a 60 %. A capacidade de proteção da desoxirribose pelas amostras está relacionada ao conteúdo encapsulado e a concentração da fração utilizada para a formulação, uma vez que a atividade observada para os niossomas foi significativa nas três concentrações em relação à fração sozinha. Outro fator que contribui para o resultado é o conteúdo total de compostos fenólicos presentes na fração, sendo que a atividade antioxidante desses compostos está relacionada à sua concentração e às estruturas químicas.



**Figura 5.** Porcentagem de inibição da degradação da desoxirribose pela fração fenólica sozinha obtida da espécie *S. rotundifolium*, e encapsulada em niossomas nas concentrações de 15 %, 30 % e 60 %. Os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão, com  $p < 0,05$  (ANOVA e teste de Tukey)

#### 4. Conclusão

A formulação obtida da fração fenólica de espécie *S. rotundifolium* apresentou compostos fenólicos totais, assim como, classes de flavonoides. Obteve ainda características ideais para realização dos ensaios antioxidantes, assim como estabilidade física por um período de três meses. Os niossomas ricos em compostos fenólicos atuaram como bons antioxidantes nos três mecanismos avaliados, tendo como melhor resposta para os testes ABTS. Todas as concentrações dos niossomas obtiveram melhores resultados em comparação com a fração não encapsulada. Esta análise demonstra que compostos encapsulados em niossomas tendem a aumentar sua atividade antioxidante. Com isso, são necessários novos estudos que possam ajustar os parâmetros de encapsulamento para obtenção de melhores resultados.

#### Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Oliveira, V. B.; Zuchetto, M.; Paula, C. S.; Verdam, M. C. S.; Campos, R.; Duarte, A. F. S.; Miguel, M. D.; Miguel, O. G. Avaliação do potencial antioxidante frente à oxidação lipídica e da toxicidade preliminar do extrato e frações obtidas das frondes de *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2015**, *17*, 614. [[CrossRef](#)]

<sup>2</sup> Scotti, L.; Scotti, M. T.; Cardoso, C.; Pauletti, P.; Castro-gamboa, I.; Bolzani, V. S.; Velasco, M. V. R.; Menezes, C. M. S.; Ferreira, E. I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **2007**, *43*, 153. [[Link](#)]

<sup>3</sup> Del ré, P. V.; Jorge, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2012**, *14*, 389. [[CrossRef](#)]

<sup>4</sup> Viana, M. M. S.; Carlos, L. A.; Silva, E. C.; Pereira, S. M. F.; Oliveira, D. B.; Assis, M. L. V. Composição fitoquímica e potencial antioxidante de hortaliças não convencionais. *Horticultura Brasileira* **2015**, *33*, 504. [[CrossRef](#)].

<sup>5</sup> Novaes, G. M.; Silva, M. J. D.; Achkar, M. T.; Vilegas, W. Compostos antioxidantes e sua importância nos organismos. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde* **2013**, *11*, 535. [[Link](#)]

<sup>6</sup> Angelo, P. M.; Jorge, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz* **2007**, *66*, 1. [[Link](#)]

<sup>7</sup> Durand, E.; Delavault, A.; Bourliou, C.; Lecomte, J.; Baréa, B.; Espinoza, M. C. F.; Decker, E. A.; Salaun, F. M.; Kergourlay, G.; Villeneuve, P. Eleostearic phospholipids as probes to evaluate antioxidants efficiency against liposomes oxidation. *Chemistry and Physics of Lipids* **2017**, *209*, 19. [[CrossRef](#)]

<sup>8</sup> Cui, H.; Yuan, L.; Li, W.; Lin, L. Antioxidant property of SiO<sub>2</sub>-eugenol liposome loaded nanofibrous membranes on beef. *Food Packaging and Shelf Life* **2017**, *11*, 49. [[CrossRef](#)]

- <sup>9</sup> Macêdo, D. G.; Ribeiro, D. A.; Coutinho, H. D. M.; Menezes, I. R. A.; Souza, M. M. A. Práticas terapêuticas tradicionais: uso e conhecimento de plantas do cerrado no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* **2015**, *14*, 491. [[Link](#)]
- <sup>10</sup> De Oliveira, D. R.; Ferreira Júnior, W. S.; Bitu, V. C. N.; Pinheiro, P. G.; Menezes, C. D. A.; Brito Júnior, F. E.; Albuquerque, U. P.; Kerntopf, M. R.; Coutinho, H. D. M.; Fachinnetto, R.; Menezes, I. R. A. Ethnopharmacological study of *Stryphnodendron rotundifolium* in two communities in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2014**, *24*, 124. [[CrossRef](#)]
- <sup>11</sup> Ribeiro, D. A.; de Oliveira, L. G. S.; de Macêdo, D. G.; de Menezes, I. R. A.; da Costa, J. G. M.; da Silva, M. A. P.; Lacerda, S. R.; Souza, M. M. A. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* **2014**, *155*, 1522. [[CrossRef](#)]
- <sup>12</sup> Gutiérrez, G.; Matos, M.; Barrero, P.; Pando, D.; Iglesias, O.; Pazos, C. Iron-entrapped niosomes and their potential application for yogurt fortification. *LWT - Food Science and Technology* **2016**, *74*, 550. [[CrossRef](#)]
- <sup>13</sup> Matos, F. J. A.; *Introdução A Fitoquímica Experimental*. 2a ed. Edições Ufc: Fortaleza, 1997.
- <sup>14</sup> Abaee, A. Madadlou, A. Niosome-loaded cold-set whey protein hydrogels. *Food Chemistry* **2016**, *196*, 106. [[CrossRef](#)]
- <sup>15</sup> Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Morais, S. M.; Sampaio, C. G.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS\*. Comunicado técnico, Embrapa: Fortaleza, 2007.
- <sup>16</sup> Puntel, R. L.; Nogueira, C. W.; Rocha, J. B. T.; Krebs cycle intermediates modulate thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain *in vitro*. *Neurochemical Research* **2005**, *30*, 225. [[CrossRef](#)]
- <sup>17</sup> Santos, S. C.; Costa, W. F.; Batista, F.; Santos, L. R.; Ferri, P. H.; Ferreira, H. D.; Seraphin, J. C. Seasonal variation in the content of tannins in barks of barbatimão species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **2006**, *16*, 552. [[CrossRef](#)]
- <sup>18</sup> Castro, A. H. F.; de Alvarenga, A. A.; Barbosa, J. P. R. A. D.; Mansur, T. O. F.; de Paula, A. C. C. F. Seasonal patterns of phenylalanine ammonia-lyase activity and total phenol and tannin contents in *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. *Ciência Florestal* **2017**, *27*, 1037. [[CrossRef](#)]
- <sup>19</sup> Lins neto, J. R.; Uchôa, A. D. A.; de Moura, P. A.; Bezerra filho, C. M.; Tenório, J. C. G.; da Silva, A. G.; Ximenes, R. M.; da Silva, M. V.; Correia, M. T. S. Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora. *Journal of Medicinal Plants Research* **2016**, *10*, 409. [[CrossRef](#)]
- <sup>20</sup> Martínez-Flórez, S.; González-Gallego, J.; Culebras, J. M.; Tuñón, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria* **2002**, *17*, 271. [[Link](#)]
- <sup>21</sup> Behling, E. B.; Sendão, M. C.; Francescato, H. D. C.; Antunes, L. M. G.; Bianchi, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. *Alimento e nutrição* **2004**, *15*, 285. [[Link](#)]
- <sup>22</sup> Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L. The chemistry Behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 1841. [[CrossRef](#)]
- <sup>23</sup> Van den Berg, R.; Haenen G. R. M. M.; van den Berg, H.; Bast, A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry* **1999**, *66*, 511. [[CrossRef](#)]
- <sup>24</sup> Junyaprasert, V. B.; Singhsa, P.; Jintapattanakit, A. Influence of chemical penetration enhancers on skin permeability of ellagic acid-loaded niosomes. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2013**, *8*, 110. [[CrossRef](#)]
- <sup>25</sup> Guldiken, B.; Gibis, M.; Boyacioglu, D.; Capanoglu, E.; Weiss, J. Physical and chemical stability of anthocyanin-rich black carrot extract-loaded liposomes during storage. *Food Research International* **2018**, *108*, 491. [[CrossRef](#)]
- <sup>26</sup> Pando, D.; Matos, M.; Gutiérrez, G.; Pazos, C. Formulation of resveratrol entrapped niosomes for topical use. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2015**, *128*, 398. [[CrossRef](#)]
- <sup>27</sup> Hong, M.; Zhu, S.; Jiang, Y.; Tang, G.; Pei, Y. Efficient tumor targeting of hydroxycamptothecin loaded PEGylated niosomes modified with transferrin. *Journal of Controlled Release* **2009**, *133*, 96. [[CrossRef](#)]
- <sup>28</sup> Singh, S.; Parashar, P.; Kanoujia, J.; Singh, I.; Saha, S.; Saraf, S. A. Transdermal potential and anti-gout efficacy of Febuxostat from niosomal gel. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2017**, *39*, 348. [[CrossRef](#)]
- <sup>29</sup> Pando, D.; Gutiérrez, G.; Coca, J.; Pazos, C. Preparation and characterization of niosomes containing resveratrol. *Journal of Food Engineering* **2013**, *117*, 227. [[CrossRef](#)]

- <sup>30</sup> Marianecchi, C.; Rinaldi, F.; Mastriota, M.; Pieretti S.; Trapasso, E.; Paolino, D.; Carafa, M. Anti-inflammatory activity of novel ammonium glycyrrhizinate/niosomes delivery system: Human and murine models. *Journal of Controlled Release* **2012**, *164*, 17. [[CrossRef](#)]
- <sup>31</sup> Tavano, L.; Rossi, C. O.; Picci, N.; Muzzalupo, R. Spontaneous temperature-sensitive Pluronic® based niosomes: Triggered drug release using mild hyperthermia. *International Journal of Pharmaceutics* **2016**, *511*, 703. [[CrossRef](#)]
- <sup>32</sup> Manca, M. L.; Manconi, M.; Nacher, A.; Carbone, C.; Valenti, D.; Maccion, A. M.; Sinico, C.; Fadda, A. M. Development of novel diolein–niosomes for cutaneous delivery of tretinoin: Influence of formulation and *in vitro* assessment. *International Journal of Pharmaceutics* **2014**, *477*, 176. [[CrossRef](#)]
- <sup>33</sup> Maestrelli, F.; Mura, P.; González-Rodríguez, M. L.; Cózar-Bernal, M. J.; Rabasco, A. M.; Mannelli, L. D. C.; Ghelardini, C. Calcium alginate microspheres containing metformin hydrochloride niosomes and chitosomes aimed for oral therapy of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Pharmaceutics* **2017**, *530*, 430. [[CrossRef](#)]
- <sup>34</sup> Borin, D. B.; Mezzomo, N. J.; Vaucher, R. A.; do Carmo, G.; Rodrigues Junior, L. C.; Sulczewski, F. B.; Schwertz, C. I.; Mendes, R. E.; Damiani, A. P.; de Andrade, V. M.; Rech, V. C.; Boeck, C. R. Production, characterization and toxicology assay of creatine pegylated nanoliposome with polysorbate 80 for brain delivery. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* **2018**, *90*, 2317. [[CrossRef](#)]
- <sup>35</sup> Caddeo, C.; Pucci, L.; Gabriele, M.; Carbone, C.; Fernández-Busquets, X.; Valenti, D.; Pons, R.; Vassallo, A.; Fadda, A. M.; Manconi, M. Stability, biocompatibility and antioxidant activity of PEG-modified liposomes containing resveratrol. *International Journal of Pharmaceutics* **2018**, *538*, 40. [[CrossRef](#)]
- <sup>36</sup> Mokhtar, M.; Sammour, O. A.; Hammad, M. A.; Megrab, N. A. Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes. *International Journal of Pharmaceutics* **2008**, *361*, 104. [[CrossRef](#)]
- <sup>37</sup> Hao, Y.; Zhao, F.; Li, N.; Yang, Y.; Li, K. Studies on a high encapsulation of colchicine by a niosome system. *International Journal of Pharmaceutics* **2002**, *244*, 73. [[CrossRef](#)]
- <sup>38</sup> Ibrahim, M. M.; Shehata, T. M. Tramadol HCl encapsulated niosomes for extended analgesic effect following oral administration. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **2018**, *46*, 14. [[CrossRef](#)]
- <sup>39</sup> Alam, M. D. S.; Ahad, A.; Abidin, L.; Aqil, M.; Mir, S. R.; Mujeeb, M. Embelin-loaded oral niosomes ameliorate streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2018**, *97*, 1514. [[CrossRef](#)]
- <sup>40</sup> Shori, A. B. Screening of antidiabetic and antioxidant activities of medicinal plants. *Journal of Integrative Medicine* **2015**, *13*, 297. [[CrossRef](#)]
- <sup>41</sup> Praud, D.; Parpinel, M.; Serafini, M.; Bellocco, R.; Tavani, A.; Lagiou, P.; Vecchia, C. L.; Rossi, M. Non-enzymatic antioxidant capacity and risk of gastric cancer. *Cancer Epidemiology* **2015**, *39*, 340. [[CrossRef](#)]
- <sup>42</sup> Stanković, N.; Mihajilov-Krstev, T.; Zlatković, B.; Stankov-Jovanović, V.; Mitić, V.; Jović, J.; Comić, L.; Kocić, B.; Bernstein, N. Antibacterial and Antioxidant Activity of Traditional Medicinal Plants from the Balkan Peninsula. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* **2016**, *78*, 21. [[CrossRef](#)]
- <sup>43</sup> Li, Q.; Tu, Y.; Zhu, C.; Luo, W.; Huang, W.; Liu, W.; Li, Y. Cholinesterase,  $\beta$ -amyloid aggregation inhibitory and antioxidant capacities of Chinese medicinal plants. *Industrial Crops and Products* **2017**, *108*, 512. [[CrossRef](#)]
- <sup>44</sup> Branco, E. M.; *-Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, 2010.* [[Link](#)]
- <sup>45</sup> Loganayaki, N.; Manian, S. *In vitro* antioxidant properties of indigenous underutilized fruits. *Food Science and Biotechnology* **2010**, *19*, 725. [[Link](#)]
- <sup>46</sup> Ferreira, A. L. A.; Matsubara, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira* **1997**, *43*, 61. [[CrossRef](#)]
- <sup>47</sup> Filgueiras, C. T.; Soares, A. L.; Shimokomaki, M.; Ida, E. I.; Casagrande, R. Avaliação da atividade antioxidante do ácido fítico de germe de milho. *Química Nova* **2009**, *32*, 1787. [[CrossRef](#)]