

Composição química, polifenóis totais, atividade antioxidante e citotóxica do extrato etanólico de frutos da *Vitex gardneriana* Schauer

Chemical composition, total polyphenols, antioxidant and cytotoxic activity of *Vitex gardneriana* Schauer's ethanolic fruit extract

Composición química, polifenoles totales, actividad antioxidante y citotóxica del extracto etanólico de frutas de *Vitex gardneriana* Schauer

Recebido: 22/02/2022 | Revisado: 02/03/2022 | Aceito: 17/03/2022 | Publicado: 25/03/2022

Benise Ferreira da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8747-2291>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
E-mail: benise.f.silva@hotmail.com

Sávio de Sousa Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7224-2816>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
E-mail: martinssavio2019@gmail.com

Maria Gleiciane de Queiroz Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6966-8840>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
E-mail: gleicianebio@hotmail.com

Antônio Mateus Gomes Pereira,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7421-8227>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
Universidade Estadual do Ceará – RENORBIO, Brasil
E-mail: mathewsgomes20@gmail.com

Jean Parcelli Costa do Vale

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5598-8886>
Universidade Estadual Vale do Acaraú, Brasil
E-mail: jeanparcellcostavale@gmail.com

Hélcio Silva Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5527-164X>
Universidade Estadual Vale do Acaraú, Brasil
E-mail: helciodossantos@gmail.com

Tigressa Helena Soares Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8044-3121>
Universidade Estadual Vale do Acaraú, Brasil
E-mail: thelenasr@yahoo.com.br

Magda Elisa Turini da Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3459-6482>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
E-mail: meturini@gmail.com

João Batista Cajazeiras

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6601-0891>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
E-mail: jcajazeiras@gmail.com

Francisco Flávio Vasconcelos Evaristo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1927-9828>
Centro Universitário Inta – UNINTA, Brasil
E-mail: ffvebio@gmail.com

Resumo

O presente trabalho avaliou a composição fitoquímica e as atividades antioxidantes e citotóxicas do extrato etanólico do fruto de *Vitex gardneriana* Schauer. Dessa forma, para responder os objetivos propostos no presente trabalho foram realizados testes fitoquímicos para detectar a presença de metabólitos secundários, através de testes qualitativos com formação de precipitados, detecção e identificação de compostos realizados por Cromatografia Líquida de Alta Performance, e quantificação de polifenóis totais utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. O ensaio antioxidante ocorreu pela determinação da captura de radicais livres (DPPH), já o teste de toxicidade executado foi o bioensaio de Artemia Salina. Quanto aos testes fitoquímicos revelaram a presença de alcalóides, saponinas, taninos, ácido clorogênico e polifenóis totais. Para o ensaio antioxidante, o extrato da fruta apresentou uma capacidade de captura do radical DPPH obrigatoriamente entre as concentrações de 500 a 3,9 µg mL⁻¹. Em relação ao ensaio de toxicidade, o

material testado não mostrou ação citotóxica em *Artemias salina*. Assim, é possível concluir que o extrato etanólico tem ação antioxidante, devido à presença dos seus constituintes químicos.

Palavras-chave: Ácido clorogénico; Antioxidante; Toxicidade; *Vitex*.

Abstract

The present work evaluated the phytochemical composition and the antioxidant and cytotoxic activities of the ethanolic extract of the fruit of *Vitex gardneriana* Schauer. Thus, to meet the objectives proposed in the present work, phytochemical tests were carried out to detect the presence of secondary metabolites, through qualitative tests with the formation of precipitates, detection and identification of compounds performed by High Performance Liquid Chromatography, and quantification of total polyphenols using the Folin-Ciocalteu reagent. The antioxidant assay was performed by determining the capture of free radicals (DPPH), and for the toxicity test performed, the bioassay with *Artemia Salina* was used. As for the phytochemical tests, they revealed the presence of alkaloids, saponins, tannins, chlorogenic acid and total polyphenols. For the antioxidant assay, the fruit extract showed a DPPH radical scavenging capacity between concentrations of 500 to 3.9 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Regarding the toxicity test, the material tested did not show cytotoxic action on *Artemias salina*. Thus, it is possible to conclude that the ethanol extract has antioxidant action, due to the presence of its chemical constituents.

Keywords: Chlorogenic acid; Antioxidant; Toxicity; *Vitex*.

Resumen

El presente trabajo evaluó la composición fitoquímica y las actividades antioxidante y citotóxica del extracto etanólico del fruto de *Vitex gardneriana* Schauer. Así, para cumplir con los objetivos propuestos en el presente trabajo, se realizaron ensayos fitoquímicos para detectar la presencia de metabolitos secundarios, mediante ensayos cualitativos con formación de precipitados, detección e identificación de compuestos realizados por Cromatografía Líquida de Alta Resolución, y cuantificación de polifenoles mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu. El ensayo de antioxidantes se realizó mediante determinación de captura de radicales libres (DPPH), y para el ensayo de toxicidad realizado se utilizó el bioensayo con *Artemia Salina*. En cuanto a las pruebas fitoquímicas, revelaron la presencia de alcaloides, saponinas, taninos, ácido clorogénico y polifenoles totales. Para el ensayo de antioxidantes, el extracto de fruta mostró una capacidad de captación de radicales DPPH entre concentraciones de 500 a 3.9 $\mu\text{g mL}^{-1}$. En cuanto a la prueba de toxicidad, el material probado no mostró acción citotóxica sobre *Artemias salina*. Así, es posible concluir que el extracto etanólico posee acción antioxidante, debido a la presencia de sus constituyentes químicos.

Palabras clave: Ácido clorogénico; Antioxidante; Toxicidad; *Vitex*.

1. Introdução

A prática de utilizar as plantas não só como alimento, mas também como fonte terapêutica, sempre existiu na história da humanidade (Barreto et al., 2005). Assim, esse costume está atraindo cada vez mais os grupos científicos a fim de confirmar eficácia e proporcionar o uso seguro desses recursos naturais. Essa prática denomina-se fitoterapia, que está consolidada através da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares como recurso terapêutico de prevenção e tratamento de doenças (Neto et al., 2014).

Vitexgardneriana, popularmente conhecida como —jaramataia é uma árvore de pequeno porte com drupa comestível, encontrada nas margens de rios do sertão nordestino, utilizada no tratamento de doenças anti-inflamatórias (Barreto et al., 2005). Ainda, a literatura mostrou que partes desse arbusto, proporciona atividade antioxidante devido a ocorrência de compostos fenólicos em sua composição fitoquímica (De Moraes et al., 2020).

Os antioxidantes são quaisquer substâncias de origem endógena ou exógena (oriundos da alimentação) que, quando presente no organismo tem papel de proteger as células das ações dos radicais livres, como, por exemplo, impedindo o ataque sobre lipídios, aminoácidos, e as bases de DNA, evitando a formação de lesões, e assim retardando ou prevenindo o dano oxidativo (Sandim, 2014). Denominam-se radicais livres, moléculas altamente reativas que lesam as funções fisiológicas do organismo originando vários processos de doenças (Rocha, 2010).

Os compostos nitrogenados, compostos fenólicos e terpenos são metabólitos secundários e antioxidantes que podem agir diretamente no estresse oxidativo, atuando como mecanismo de defesa e consequentemente inibindo o dano celular de efeitos tóxicos ou apoptose. Dessa forma, contribuem positivamente na prevenção de doenças (Ferreira et al., 2016).

Nesse sentido, há alguns alimentos com propriedades nutricionais benéficas a saúde do corpo, que podem ser consumidos sem prescrição e/ou supervisão médica, denominados de alimentos funcionais. Esses alimentos devem manter o equilíbrio entre os antioxidantes e os radicais livres produzidos, reduzindo os riscos de diversas doenças e mantendo o bem-estar físico e mental, a exemplo, temos as frutas vermelhas que contém em suas propriedades compostos fenólicos (Sá-Barreto et al., 2008).

Apesar da existência de pesquisas comprovando o potencial anti-inflamatório, antinociceptivo, antimicrobiano, antibiofilme, antioxidante e anticolinesterásicas de *V. gardneriana* estudos que revelam a composição química, comprovam o potencial antioxidante e avaliam a toxicidade dos frutos da espécie *Vitexgardneriana* Schauer permanecem desconhecidos (De Moraes et al., 2020; Do Vale et al., 2019; Sá-Barreto et al., 2008).

2. Metodologia

2.1 Material Vegetal

Foram coletados 3kg de frutos da *Vitexgardneriana* Schauer, em estágio maduros, na Fazenda Experimental da Universidade Estadual Vale do Acaraú -UVA que está localizada a 11 km da sede do município de Sobral, as margens do Rio Acaraú (latitude Sul 03°37'15,34'' e Longitude West 40°80'41,36l). Uma excisata então foi identificada pelo Professor Dr. Elnatan Bezerra de Souza, e posteriormente depositada no Herbário Prof. Francisco José de Abreu Matos, situado na UVA, sob o N° 17.703.

2.2 Preparação do extrato dos frutos

Os frutos seguiram imersos em uma solução de etanol 70%, na proporção de 2,5 g mL⁻¹, por um período de 15 dias. Em seguida, o material resultante foi submetido a um processo de filtração simples. A solução obtida posteriormente foi concentrada por rotoevaporação a vácuo a 60°C e liofilizada por 4 dias, resultando no extrato etanólico do fruto da *Vitexgardneriana* Schauer (EEFVG).

2.3 Composição fitoquímica

Para a realização das análises fitoquímicas foi preparada uma solução aquosa do EEFVG a 5 mg mL⁻¹, afim de verificar a presença de metabólitos secundários como alcalóides, taninos, flavonóides e saponinas, por meio de reações químicas que resultaram na formação precipitados (Silva, 2015; Simões, 2007).

Para a análise de ácidos fenólicos foi preparada uma solução do extrato a 1 mg mL⁻¹, em seguida foi filtrado em membrana de 0,45µm de tamanho de poro e analisados em sistema de cromatografia líquida. O perfil cromatográfico dos extratos foi obtido em sistema CLAE (Knauer, Berlim, Alemanha) equipado com uma bomba quaternária, amostrador, forno e detector de arranjo de diodo (DAD). Para separação dos constituintes químicos dos extratos, foi utilizada uma coluna cromatográfica analítica de fase estacionária C-18 (5 µm, 250 × 4,6 mm), volume de injeção de 20 µL e temperatura de forno de 35°C. Utilizou-se como fase móvel, solução aquosa de ácido fosfórico 0,1% m:v e metanol operando em modo gradiente de 20% de metanol a 100% em 25 minutos com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. A identificação dos compostos foi conduzida por comparação dos tempos de retenção (tR), e espectros de absorção do UV com padrões de fenólicos analisados nas mesmas condições cromatográficas.

Quanto a presença de polifenóis totais, o extrato foi preparado na concentração de 1 mg mL⁻¹, utilizando metanol 80%, visto que o EEFVG tem comportamento hidrofílico, facilitando sua dissolução. O ensaio foi realizado conforme relatado na literatura, em triplicata em n de 12 com o intuito de reduzir erros na realização do teste (Pires et al., 2017).

2.4 Atividade Antioxidante do EEFVG

Para a realização do teste de atividade antioxidante foi pesado 10mg de EEFVG e solubilizado em 10mL de metanol, resultando em uma solução com concentração de 1mg mL⁻¹. Posteriormente a solução preparada foi filtrada, devida a presença de partículas suspensas na solução.

A atividade antioxidante dos frutos foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)(Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995). Com algumas modificações propostas na literatura⁹. Uma solução metanólica contendo 0,16 mM de DPPH foi adicionado ao EEFVG em diferentes concentrações (de 500 a 3,9 µg mL⁻¹). Os dados obtidos foram comparados com o branco (mistura do EEFVG e metanol) e o controle do ensaio (apenas a solução 0,16 mM de DPPH). As amostras foram incubadas na ausência de luz a 25 °C durante 30 minutos e com o auxílio de um leitor de microplacas (BiochromAsys UVM 340) a densidade óptica foi mensurada a 517 nm. O ácido ascórbico na mesma concentração foi utilizado como controle positivo. Foi realizado em cinco placas de microtitulação de 96 poços, com n de 15. A porcentagem do efeito do sequestro do radical DPPH foi determinada através da seguinte equação:

$$\text{Sequestro de DPPH \%} = 1 - \frac{\text{D.O amostra} - \text{D.O branco}}{\text{D.O controle}} \times 100\%$$

2.5 Toxicidade sob náuplios *Artemias salina*

O ensaio foi realizado de acordo com a literatura com algumas adaptações (Meyer et al., 1982). Para tanto, cistos de *Artemia salina* foram eclodidos em água do mar (Camocim-CE) esterilizada e filtrada na proporção de 1:10 (água:cistos), em temperatura ambiente, aeração constante e sob luz por 48 h, tempo suficiente para eclosão dos cistos e obtenção dos náuplios. Para o ensaio foi preparada a solução teste, de EEFVG em água do mar esterilizada e filtrada, a uma concentração de 4mg mL⁻¹. Foram realizadas diluições seriadas na base dois para obtenção das concentrações: 2000, 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg mL⁻¹. O controle negativo foi feito com apenas água do mar esterilizada e filtrada, e o controle positivo para toxicidade foi feito com água do mar contendo dodecil sulfato de sódio (SDS) na concentração de 10mg mL⁻¹. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, em placas com 24 poços, de modo que em cada poço eram dispostos 10 náuplios de *Artemia salina*. A mortalidade foi avaliada com o auxílio de um microscópico estereoscópico através da contagem dos náuplios desprovidos de movimentos.

2.6 Análise Estatística

Todos os testes foram realizados em triplicatas e com nível de significância p<0,05 para atividade antioxidante e p<0,001 para toxicidade. Para os ensaios antioxidantes foram utilizados às médias e desvio padrão das triplicatas transcritos do programa Excel®, recurso do Microsoft Office 2010©. Para avaliação de polifenóis totais, foi utilizado o programa Excel© para cálculo de média das absorbâncias e montagem da curva padrão do ácido gálico. A diferença das médias e desvio padrão do teste de toxicidade foi verificada através da aplicação do teste One-way ANOVA com Bonferroni pós-teste, executados com o auxílio do programa GraphPadPrism versão 5.0 para Windows (San Diego, California, USA).

3. Resultados e Discussão

A identificação de metabólitos secundários é uma das etapas crucias em estudos químicos com vegetais ou seus subprodutos. O estudo fitoquímico feito com EEFVG mostrou a presença de alcalóides, apresentando resposta positiva em quatro tubos de ensaio, com a formação de precipitados e mudanças de coloração conforme evidenciado na Tabela 1.

Tabela 1 – Determinação da presença de alcalóides no EEFVG utilizando os reagentes de Dragendorff, Mayer, Bertrand, BouchardatSannenschein e Hager.

Classe	Reações	Resposta ^a
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	-
	Bertrand	+
	Bouchardat	+
	Sannenschein	+
	Hager	-

^a(+) resposta positiva; (-) resposta negativa. Fonte: Autoria própria (2019).

A presença de alcalóides pode conferir ao fruto atividade farmacológica como proteção contra radiação UV, proteção contra herbívoros, ação antimicrobiana, antioxidante e antimutagênica (Matsuoka et al., 2016).

Alguns estudos relatam que a ação antioxidante de alcalóides pode estar relacionada à atividade contra as principais ERO. A ação antimicrobiana também está descrita na literatura com uma significativa atividade frente às bactérias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, quando estudado com a família *Lameacea* (Goes et al., 2016; Magedans, 2017). Os alcalóides podem apresentar uma elevada toxicidade devido à presença de amina (Martins, 2012).

Mesmo havendo resultado positivo para alcalóides serão necessárias novas pesquisas que identifique quais os tipos desse metabólito estão presentes no EEFVG para que possam relacionar o seu potencial farmacológico e sua possível ação tóxica. Além disso, pesquisas que mostrem a ação antimicrobiana do EEFVG estão escassas, o que seria necessário essa investigação, visto que uma das funções dos alcalóides é combater bactérias patogênicas.

Para análise de taninos o EEFVG apresentou resposta positiva através da formação de um precipitado esverdeado nos tubos de ensaio com acetato de cobre e cloreto férrico. Assim como os alcalóides, os taninos são estudados como classe de compostos que atuam na proteção das plantas contra herbívoros e patógenos. Esses compostos pertencem ao grupo de polifenóis, sendo classificado em taninos hidrolisáveis e taninos condensados. A literatura mostra que a característica adstringente de diversos frutos é também uma de suas propriedades, além de que no organismo humano esses são utilizados como antioxidantes, antissépticos, cicatrizantes e vasoconstritores (De Brum et al., 2011).

A ação antioxidante dos taninos se deve a capacidade de quelar íons metais retardando a oxidação e inibindo a peroxidação lipídica (Rocha et al., 2011; Silva, 2015). Os taninos são solúveis em água e possuem a capacidade de combinar-se com proteínas e polissacarídeos, precipitando-as (Baxter et al., 1997; Castejon, 2011).

Portanto a presença de taninos no EEFVG pode ser justificada pelo fato desse composto ser solúvel em água. O que poderia indicar o possível tratamento de doenças relacionadas à saúde humana devido à proteção oriunda da complexação de proteínas e polissacarídeos. Embora o presente trabalho relate a pequena quantidade existente de polifenóis do tipo tanino, esse mesmo não especifica a sua classificação.

Os ensaios realizados no EEFVG mostraram resultados negativos para flavonóides, visto que os tubos não apresentaram reação exotérmica, como o tubo de ensaio contendo o controle positivo para flavonóides. Os flavonóides destacam-se entre o grupo de compostos fenólicos, que contém atividade antioxidante devido à capacidade de neutralização de radicais livres pela sua propriedade de óxido-redução (Sumere et al., 2018). Consequentemente possui propriedades anticarcinogênicas, antiinflamatórias, antialérgica, antiulcerogênica, antivirais (Silva et al., 2010). Mesmo não havendo resultados satisfatórios, pode-se sugerir que não necessariamente esse composto esteja ausente, podendo está apresentado em baixas concentrações, o que dificulta no processo de detecção.

Quanto à presença de saponinas, após 10 minutos de teste o EEFVG apresentou resposta positiva para saponinas, com persistência de espuma, quando comparado com a amostra controle. A presença de saponinas tem sido associada às atividades hemolítica, antiviral, antiinflamatória (Godinho et al., 2016). São compostos que apresentam características detergente e surfactantes, reduzindo a tensão superficial de soluções. Na indústria é utilizado para produção de diversos produtos, como alimentos e cosméticos (Pan et al., 2012). Além disso, estudos revelam a sua ação antioxidante no organismo humano devido o bloqueio da absorção de colesterol. Isso ocorre por que esse composto se liga aos sais biliares e colesterol no tubo digestivo, impedindo sua absorção (Man et al., 2010).

A partir da comparação do perfil cromatográfico de padrões comerciais de ácidos fenólicos e flavonóides com análise do extrato foi possível a identificação do ácido clorogênico.

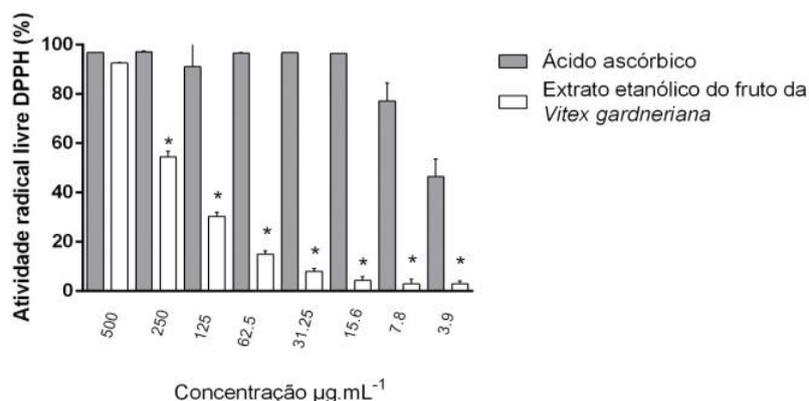
A literatura relata uma gama de estudos que demonstram efeitos benéficos do ácido clorogênico na saúde humana, como ação antioxidante, combatendo o desenvolvimento de doenças ateroscleróticas e diabetes. Além dos mais, pode-se afirmar que todos os metabólitos estudados ajudam na proteção do organismo frente ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como dislipidemias, aterosclerose, colesterol alto, entre outros. Visto que, elevadas concentrações de colesterol total aumentam a probabilidade de doenças cardiovasculares (Bergmann et al., 2011; Mosca et al., 2017).

Devido à presença de alcalóides no fruto e já relatada anteriormente que esse composto pode ter ação tóxica, se fez necessário a avaliação citotóxica do EEFVG. Essa avaliação é necessária devida o potencial nocivo de substâncias que podem causar danos à saúde humana.

Quanto ao ensaio de polifenóis totais uma curva de calibração do ácido gálico foi necessária. A equação da curva encontrada foi $y=0,030x - 0,009$ e o coeficiente de correlação $R^2= 0,994$, comprovando a correlação positiva. O EEFVG na concentração 1 mg mL^{-1} resultou em $5,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de polifenóis totais, correspondendo a 0,5% da concentração total da amostra analisada. A quantidade de polifenóis totais encontrada no EEFVG é considerada pequena, em comparação com a obtida em outros frutos tropicais (Lima et al., 2013). Nesse sentido, a atividade antioxidante do fruto pode não estar relacionada ao teor de polifenóis, visto que esse tem se destacado como antioxidante devido sua capacidade de quelar metais e ser rápido doadores de elétrons (Titton; Schumacher; Dani, 2014).

Para o ensaio antioxidante a partir das análises feitas em triplicatas com o extrato, observou-se que o mesmo apresentou capacidade em sequestrar o radical DPPH em todas as concentrações testadas, com uma porcentagem de inibição variando aproximadamente entre 98 a 5%. Quanto ao controle positivo utilizado, ácido ascórbico, esse em geral, realizou uma atividade antioxidante de 100% para todas as concentrações, exceto as de 7,8 e $3,9 \mu\text{g mL}^{-1}$, como identificado na Figura 1.

Figura 1 – Atividade antioxidante do EEFVG pelo ensaio de DPPH.



*em relação controle positivo, quando $p < 0,05$. Fonte: Autoria própria (2019).

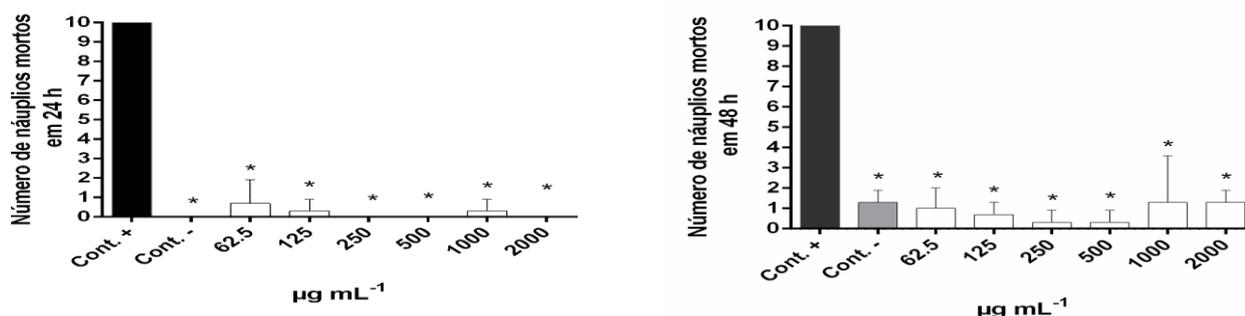
Com base nas análises do ensaio antioxidante, pôde-se observar que o EEFVG na concentração de $500\mu\text{g mL}^{-1}$ obteve um maior percentual de inibição de oxidação, aproximadamente a 98% quando comparado ao controle positivo, ácido ascórbico. Além disso, a capacidade de sequestro de radicais livres esteve presente em todas as concentrações, inclusive nas menores.

Isso ocorre devido o EEFVG apresentar concentrações de compostos fitoquímicos. Visto que a presença de metabólitos secundários está inteiramente relacionada ao potencial antioxidante, trazendo benefícios a saúde, inibindo o risco de doenças cardiovasculares e diversas patologias crônico-degenerativas, como diabetes, cânceres e processos inflamatórios (Mortensen & Nordestgaard, 2020; Neto et al., 2014). Assim confirmando que o fruto em questão contém antioxidantes que reduzem os radicais livres em concentrações e capacidades diferentes.

Nos testes para a verificação de toxicidade do EEFVG foi observado a presença de náuplios de *Artemiasalina* mortos nos poços de placas de polietileno, nos tempos de 24 e 48 horas de ensaios. Para auxiliar na verificação da ausência de mobilidade dos náuplios foi utilizado um microscópico estereoscópico. Após a conclusão dos ensaios observou-se que o EEFVG não apresentou toxicidade sob náuplios de artemias, mesmo nas concentrações que levaram a mortalidade de alguns náuplios. Uma vez que na literatura é considerado tóxica aquela substância que apresenta LC_{50} abaixo de $1.000\mu\text{g.mL}^{-1}$, que não foi o caso dessa amostra, pois quando testado concentrações abaixo que $1.000\mu\text{g.mL}^{-1}$ não foi observado a morte de 50% dos organismos-teste durante os tempos de 24 e 48 horas (McLaughlin; Chang; Smith, 1991; Meyer et al., 1982). Quanto aos grupos controles, SDS (controle positivo), na concentração de 10mg.mL^{-1} matou todos os náuplios logo nas primeiras 24 horas de contato, já nos poços com somente solução salina (controle negativo) verificou-se a mortalidade de apenas dois náuplios no tempo de 48 horas, como evidenciado na Figura 2.

A metodologia empregada para toxicidade foi escolhida devido ser de baixo custo, rápida, confiável, útil e versátil. Além de que a literatura mostra que esse tipo de teste está sendo cada vez mais utilizado em atividades biológicas, confirmando sua sensibilidade e versatilidade (Hyacienth et al., 2015; McLaughlin; Chang; Smith, 1991; Pan et al., 2012).

Figura 2 – Representação da viabilidade dos náuplios de *Artemia salina* quando submetidos à ação do EEFVG nos tempos de 24 e 48 horas.



SDS a 10mg.mL^{-1} (■), solução salina (■), substância teste (□). *em relação controle positivo e # controle negativo, quando $p < 0,001$.
Fonte: Autoria própria (2019).

Os ensaios realizados na busca de compostos fitoquímicos no EEFVG mostraram que o fruto detém a presença de compostos fenólicos confirmando pela presença de taninos e ácido clorogênico, além de compostos nitrogenados como alcalóides. Dessa forma, a presença de uma ou a associação entre essas classes podem estar conferindo ao fruto seu potencial antioxidante.

4. Conclusão

Os ensaios realizados na busca de compostos fitoquímicos no EEFVG mostraram que a espécie possui polifenóis, confirmando a presença de taninos, além de compostos nitrogenados como alcalóides e terpenos como saponina. A presença de uma ou a associação entre essas classes podem estar conferindo ao fruto seu potencial antioxidante. As concentrações analisadas de EEFVG não apresentam toxicidade. Portanto o conhecimento das propriedades antioxidantes e citotóxicas do fruto da *Vitexgardneriana*Schauer pode estimular e direcionar a continuidade de novas pesquisas, para assim sugerir o consumo desse fruto como alimento funcional.

Com a atividade bromatologica elucidada, sugere-se que o fruto de *Vitex gardenariana* Schauer, seja explorado no âmbito da indústria alimentícia e farmacêutica, por apresentar benefícios a saúde. Podendo ter seu potencial tecnológico explorado e avaliado seu efeito *in vivo*, assim como a criação de um subproduto patenteável com antioxidante e funcional.

Agradecimentos

Centro Universitário INTA – UNINTA, Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Referências

- Barreto, L. C. L., Xavier, H. S., Barbosa-Filho, J. M., & Braz-Filho, R. (2005). Ecdisteróide e iridóide glicosilado de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15, 51-54.
- Baxter, N. J., Lilley, T. H., Haslam, E., & Williamson, M. P. (1997). Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry*, 36(18), 5566-5577.
- Bergmann, M. L. D. A., Bergmann, G. G., Halpern, R., Rech, R. R., Constanzi, C. B., & Alli, L. R. (2011). Colesterol total e fatores associados: estudo de base escolar no sul do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 97(1), 17-25.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Castejon, F. V. (2011) Taninos e saponinas. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Recuperado em 13 agosto, 2019, de https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011_Fernanda_Castejon_1c.pdf.
- De Brum, T. F., Zadra, M., Froeder, A. L. F., Boligon, A. A., Frohlich, J. K., & Athayde, M. L. (2011). Análise fitoquímica das folhas de *Vitex megapotamica* (sprengel) moldenke. *Saúde (Santa Maria)*, 37(2), 101-106.
- De Moraes, S. M., Alves, D. R., Frota, L. S., Pinheiro, S. D. O. P., Silva, A. C., & da Silva, W. M. B. (2020). Atividades antioxidantes e anticolinesterásicas do extrato das folhas de Jaramataia (*Vitex gardneriana* Schauer). *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 28802-28810.
- Do Vale, J. P. C., de Freitas Ribeiro, L. H., de Vasconcelos, M. A., Sá-Firmino, N. C., Pereira, A. L., do Nascimento, M. F., ... & Teixeira, E. H. (2019). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of *Vitex gardneriana* schauer leaves's essential oil. *Microbial pathogenesis*, 135, 103608.
- Ferrera, T. S., Heldwein, A. B., Dos Santos, C. O., Somavilla, J. C., & Sautter, C. K. (2016). Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-mate sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18, 588-596.
- Godinho, C. S., da Silva, C. M., Mendes, C. S. O., Ferreira, P. R. B., & de Oliveira, D. A. (2015). Estudo fitoquímico de espécies arbóreas do cerrado. *Revista Multitexto*, 3(2), 64-70.
- Hyacient, D. C. (2015). Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* Maas. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, 5(4), 4-7.
- Lima, C. A. D., Faleiro, F. G., Junqueira, N. T. V., Cohen, K. D. O., & Guimarães, T. G. (2013). Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35, 565-570.
- Magedans, V. S. Y (2017). *Metabolismo do alcaloide antioxidante braquicerina de Psychotria brachyceras Müll. Arg. sob estresse de calor*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil. Recuperado em português 23, junho, 2020 de <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/170190>.
- Man, S., Gao, W., Zhang, Y., Huang, L., & Liu, C. (2010). Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*, 81(7), 703-714.

- Martins, C. M. (2012). *Estudo químico, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e análise do óleo essencial da espécie kielmeyera coriacea Mart. & Zucc (Pau-Santo) do cerrado*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, MG, Brasil. Recuperado em português 18, abril, 2020 de <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/17354/1/d.pdf>.
- Matsuoka, E., Matsubara, T., Takahashi, I., Murano, H., & Hara, M. (2016). The isoquinoline alkaloid sanguinarine which inhibits chaperone activity enhances the production of heat shock proteins in Arabidopsis. *Plant Biotechnology*, 33(5), 409-413.
- McLaughlin, J. L., Chang, C. J., & Smith, D. L. (1991). Bench-top bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. *Studies in natural products chemistry*, 9, 383-409.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. J., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.
- Mortensen, M. B., & Nordestgaard, B. G. (2020). Elevated LDL cholesterol and increased risk of myocardial infarction and atherosclerotic cardiovascular disease in individuals aged 70–100 years: a contemporary primary prevention cohort. *The Lancet*, 396(10263), 1644-1652.
- Mosca, S. S., Sanches, R. A., & Comune, A. C. (2017). A importância dos antioxidantes na 22 neutralização dos radicais livres: uma revisão. *Revista Saúde em Foco*, 563-574.
- Neto, S. J., Bezerra, C. R. M., Fernandes, N. P., Medeiros, R. M., Nova, A. R. M. V., & Pinto, D. S. (2014). A fitoterapia como terapêutica complementar no tratamento do Alzheimer. *Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança-Dez*.12(2).
- Pan, Z. H., Li, Y., Liu, J. L., Ning, D. S., Li, D. P., Wu, X. D., & Wen, Y. X. (2012). A cytotoxic cardenolide and a saponin from the rhizomes of *Tupistra chinensis*. *Fitoterapia*, 83(8), 1489-1493.
- Pires, J., Torres, P. B., Santos, D. Y. A. C., & Chow, F. (2017). Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. *Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo*, 1-5.
- Rocha, S. A. (2010) *Antioxidante em vegetais pós-colheira de origem orgânica*. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, SP, Brasil. Recuperado em português de 20, abril, 2020, de https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/102605/rocha_sa_dr_botib.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Rocha, W. S., Lopes, R. M., Silva, D. B. D., Vieira, R. F., Silva, J. P. D., & Agostini-Costa, T. D. S. (2011). Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, 1215-1221.
- Sá-Barreto, L. C., Cunha-Filho, M. S. S., Souza, I. A., & Xavier, H. S. (2008). Avaliação preliminar da atividade biológica e toxicidade aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). *Lat. Am. J. Pharm*, 27(6), 909-13.
- Sandim, T. A. (2014). *Análise fitoquímica e avaliação do efeito antioxidante do extrato metanólico das flores de Alternanthera paronichioides*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS, Brasil. Recuperado em português de 12, junho, 2019 de <https://site.ucdb.br/public/md-dissertacoes/15627-analise-fitoquimica-e-avaliacao-do-efeito-antioxidante-do-extrato-metanolico-das-flores-de-alternanthera-paronichioides.pdf>.
- Silva, M. L. C., Costa, R. S., dos Santos Santana, A., & Koblitz, M. G. B. (2010). Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(3), 669-681.
- Silva, M. O. (2015). *Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (Psidium guajava)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil. Recuperado em português de 8, março, 2020 de <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/256725>.
- Simões, C.M.O. (2007). *Farmacognosia: da planta ao medicamento* (6.ed). Porto Alegre, RS. Editora da UFRGS.
- Sumere, B. R., de Souza, M. C., Dos Santos, M. P., Bezerra, R. M. N., da Cunha, D. T., Martinez, J., & Rostagno, M. A. (2018). Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 48, 151-162.
- Titton, N. F., Schumacher, A. B., & Dani, C. (2014). Estudo comparativo da quantidade de polifenóis totais e da atividade antioxidante em diferentes chocolates: ao leite, meio amargo, amargo e de soja. *Ciência em movimento*, 16(33), 77-84.