



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA – UNILAB
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO – PROGRAD
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – ICEN
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS DA NATUREZA E MATEMÁTICA -
CNeM**

FILOMENO DE JESUS

ANÁLISE FITOQUÍMICA DA BABOSA (*Aloe vera* (L.) Burm. f.)

ACARAPE-CE

2017

FILOMENO DE JESUS

ANÁLISE FITOQUÍMICA DA BABOSA (*Aloe vera* (L.) Burm. f.)

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática com habilitação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciado em Química

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca.

ACARAPE - CE

2017

FILOMENO DE JESUS

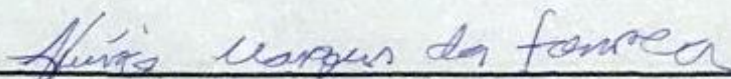
ANÁLISE FITOQUÍMICA DA BABOSA (*Aloe vera* (L.) Burm. f.)

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática com habilitação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciado em Química

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca.

Aprovado em: 12 / 12 / 2017

Banca Examinadora



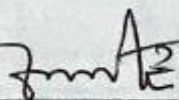
Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca [Orientador]

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB / ICEN



Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo [Examinadora 1]

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB - ICEN



Prof. Dr. José Berto Neto [Examinador 2]

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB / ICEN

FICHA CATALOGRAFIA

Dedico este trabalho a Deus por ter me guiado em todos os momentos que senti dificuldades. Aos meus Pais especialmente e todas minha família que sempre me incentivaram e me deram forças.

AGRADECIMENTO

A finalização desta monografia marca a primeira história importante da minha vida acadêmica e não seria possível sem a oportunidade, os ensinamentos, o apoio, carinho, amizade e dedicação de cada pessoa que sempre esteve presente durante toda a minha trajetória de estudo.

Primeiro ao meu Deus por ter me dado força, coragem e que sempre me ilumine nos caminhos da vida, o caminho dos sonhos e do meu futuro. Aos meus Deuses “UMA LISAN SURE LARIWUA” que me acompanharam até aqui e sempre me deram as forças.

Agradeço aos meus pais, Adão de Jesus e Valentina de Jesus, pelo imenso apoio, carinho, amor e compreensão nas certas dificuldades e tomadas de decisões na minha longa jornada.

Aos meus irmãos/as: Domingos e sua esposa Nina, minha irmã Angelina e seu marido Gil, minha irmã Juliana e seu marido José, minha irmã Filomena e seu marido Francisco, meus irmãos mais novos Thomas e Mateus, meus sobrinhos que não mencionaram um por um e todas famílias SURE LARIWUA e JENILARY que sempre me deram forças, apoio moral, dedicação até alcançar esta longa jornada.

À minha namorada muita querida Mariana de Fátima Soares por seu apoio, força e moral em todos os momentos de minha jornada. Ao meu primo Domingos dos Santos, amigo-irmão Marcos da Cruz, duas amigas-irmãs mais queridas Maria da Costa Belina e Virginia Cafasso Pinto que sempre me ajudaram e me apoiaram em todos os momentos. À pequena família no Brasil que me acompanhou durante a minha jornada acadêmica.

Ao Governo do Timor Leste, que me acompanhou e ajudou com apoio financeiro durante esta jornada. Ao Ministério Educação do Timor Leste junto com a parceria entre UNTL-UNILAB que me deram um rumo na vida profissional, o caminho dos sonhos e o desenvolvimento na vida acadêmica.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca que sempre me deu força, carinho, dedicação e conhecimento sob sua orientação.

Aos professores da Ciência da Natureza e Matemática que me deram apoio moral, dedicação e conhecimentos do início o final do curso.

Aos meus camaradas da Luta que durante toda minha pesquisa estiveram presentes: Octavio Lisboa, Blasco Quefi, Ramalho Ramos, Margareta do Carmo, Anita Juviana, Nércia Gutierrez Gusmão, Alice Joana e aos meus amigos nos diversos países da integração que não foram mencionados, mas estão no meu coração.

Aos técnicos de laboratório de química, que durante toda minha pesquisa estiveram sempre presentes e prestativos: Davino, Camila, Ethanielda e Ana Kátia.

A amiga irmã Amália e sua família que liberou a espécie vegetal para realizar a minha pesquisa.

E por fim, agradeço também aos amigos que me ajudaram e acompanharam o trabalho de forma direta ou indiretamente durante a minha trajetória acadêmica no Brasil que não foram mencionados.

OBRIGADO POR TUDO.

“Tudo é possível se você acreditar e correr atrás”

(Anno Sure)

RESUMO

A *Aloe vera* (L.) Burm. f. é uma planta que popularmente é denominada Babosa no Brasil. É um vegetal originário da África, utilizada por cultura antigas do mediterrâneo e do Egito devido às suas propriedades terapêuticas e medicinais e tem sido uma das plantas mais utilizadas na medicina popular tradicional no tratamento de diversos males. O intuito deste trabalho é realizar uma análise fitoquímica para que posteriormente se conheça os constituintes químicos de espécie e investigar suas propriedades biológicas através de atividade antioxidante e toxicidade para fins medicinais ou cosméticos. Para realização do estudo, foram feitas triagens fitoquímicas, avaliação do potencial antioxidante, pelo método de sequestro de radical DPPH. Foi realizada também um teste de toxicidade frente a larva de *Artemia salina*, onde os dados foram processados através de programa Probit. Os dados obtidos foram calculados para a dose letal em 50 % (DL₅₀) por meio de uma equação da reta, feita no Excel. A triagem fitoquímica preliminar revelou a presença de alcaloides, cumarinas, flavonoides, esteroides, terpenóides, e saponinas no extrato etanólico das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. Em relação a toxicidade frente *A. salina* foi apresentado uma dose letal 50% (DL₅₀) de 92,440 ppm em 24 horas e dose letal 50% (DL₅₀) 74,207 ppm em 48 horas. O que se caracterizou como altamente tóxico. No ensaio de sequestro do radical livre DPPH, das amostras obtidas pelo extrato etanólico das folhas de espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f. foi apresentado uma atividade antioxidante significativa, comparando com o padrão do ácido ascórbico. O extrato etanólico das folhas apresentou um IC₅₀ de 0,320 mg/mL. Devido à dificuldade em padronizar os resultados, o índice da atividade antioxidante (*AAI-Antioxidant Activity Index*) é um método para avaliar a eficiência do antioxidante em extrato de planta, considerando a concentração do DPPH e os valores de IC₅₀. O índice da atividade antioxidante obtidos do extrato etanólico das folhas apresentou uma atividade antioxidante muito forte com *AAI* equivalente a 2,215 mg/mL. Com os resultados encontrados durante a pesquisa, a espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f. se apresentou como um importante material para dar a continuidade a estudos fitoquímicos e análise bioquímica. Para a análise fitoquímica, foi possível se observar a presença da maioria das classes de metabolitos secundários, ação de antioxidantes e ação toxicológica.

Palavra-chave: Estudo fitoquímico, metabolitos secundários, *Aloe vera* (L.) Burm. f., teste de toxicidade

ABSTRACT

Aloe vera (L.) Burm. f. is a plant that is popularly called Babosa in Brazil. It is a origin of Africa, used by ancient culture of the mediterranean and Egypt due to the its therapeutic and medicinal properties et in been one of the plants most used in traditional folk medicine in the treatment of various evils. The purpose of this work is to perform a phytochemical analysis to later know the chemical constituents of the species and to investigate their biological properties through antioxidant activity and toxicity for medicinal or cosmetic purposes. For the accomplishment of the study, phytochemical screening, evaluation of the antiodant potential, by the DPPH radical sequestration method, were carried out. It was also conducted a toxicity test against larvae of *Artemia salina*, where the data were processed through the Probit program. The data obtained were calculated for the lethal dose in 50% (LD₅₀) by means of an equation of the line, made in Excel. Preliminary phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, coumarins, flavonoids, steroids, terpenoids, and saponins in ethanolic extract of leaves *Aloe vera* (L.) Burm. f.. A 50% lethal dose (LD₅₀) of 98,440 ppm in 24 hours and 50% lethal dose (LD₅₀) of 74,207 ppm in 48 hours was reported for *A. salina* toxicity. Which was characterized as highly toxic. In the free radical sequestration assay DPPH samples obtained by ethanolic extracts of leaves espécies *Aloe vera* (L.) Burm. f. showed a very significant antioxidant activity, comparing with the ascorbic acid standard. The ethanolic extract of the leaves showed IC₅₀ of 0,320 mg/mL. Due difficulty in standardizing the results, the antioxidant activity index (AAI- *Antioxidant activity Index*) is a method to evaluate the efficiency of the antioxidant plant extract of the leaves presented a very strong antioxidant activity with A considering the concentration of DPPH and IC₅₀ values. The index of the antioxidant activity obtained from dhe ethanolic extract of the leaves presented a very strong antioxidant activity with AAI equivalent to 2,215 mg/mL. With the results found during the research, the species *Aloe vera* (L.) Burm. f. presented as a importante material to give continuity to phytochemical studies and bioguided analysis. For the analysis phytochemistry, it was possible to observe the presence of most classes of secondary metabolites, action of antioxidants and toxicological action.

Keyword: phytochemical study, secondary metabolites, *Aloe vera* (L.) Burm. f., toxicity test.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01- Estrutura da (A) Barbalóina e (B) Isobarbalóina.....	20
FIGURA 02- Folhas de Babosa (<i>Aloe vera</i> (L) Burm. f.).....	21
FIGURA 03- Estabilização do radical livre DPPH.....	25
FIGURA 04- (A) Criação da Larvas de <i>Artemia salina</i> e (B) a contagem das larvas <i>Artemia salina</i>	31
FIGURA 05- Teste fitoquímico do extrato etanólico das folhas de Babosa.....	33
FIGURA 06- Teste Antioxidante do extrato etanólico das folhas de Babosa.....	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 01- Descrição do potencial antioxidante de acordo com o índice da atividade antioxidante.....	30
TABELA 02- Resultado da extração etanólico da folha de Babosa.....	32
TABELA 03- Resultado da identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de <i>Aloe vera</i> (L) Burm. f.....	33
TABELA 04- Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico da Babosa frente a <i>Artemia salina</i> de 24 horas.....	34
TABELA 05- Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico da Babosa frente a <i>Artemia salina</i> de 48 horas.....	35
TABELA 06- Atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de Babosa.....	37

LISTA DE GRÁFICOS

GRAFICO 01- Porcentagem de mortalidade de larvas <i>Artemia salina</i> em 24 horas na concentrações das amostras do extrato etanolico das folhas de babosa analisando por programa de Probit.....	35
GRAFICO 02- Porcentagem de mortalidade de larvas <i>Artemia salina</i> em 48 horas na concentrações das amostras do extrato etanolico das folhas de Babosa analisando por programa de Probit.....	36
GRAFICO 03- Porcentagem de inibição do Radical DPPH em relação das concentrações de amostra do extrato etanólico das folhas da Babosa.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
AAI	Antioxidant Activity Index
CE ₅₀	Concentração Eficiência 50%
CI ₅₀	Concentração Inibitória 50%
DL ₅₀	Dose Letal 50%
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ERO	Espécies Reativos de Oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
HCl	Ácido Clorídrico
LABioCN	Laboratório de Biotecnológica e Ciência Naturais
OMS	Organização Mundial da Saúde
R°	uma espécie Radical
TAS	Toxicidade contra a <i>Artemia Salina</i>
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNILAB	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo Geral.....	17
2.2. Objetivo Especifico.....	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1. Produtos Naturais.....	18
3.2. Babosa (<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.).....	18
3.3. Metabolitos secundários.....	21
3.4. Atividade de toxicidade.....	22
3.5. Atividade de antioxidante.....	23
3.6. DPPH (2,2-difenil-1-pierilhidrazila)	24
4. METODOLOGIA DE PESQUISA	27
4.1. Material Vegetal.....	27
4.2. Preparação dos extratos.....	27
4.3. Avaliação fitoquímica do extrato etanólico.....	27
4.4. Teste da atividade antioxidante.....	29
4.5. Teste de toxicidades frente as larvas <i>Artemia salina</i>	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1. Obtenção dos extratos.....	32
5.2. Identificação dos metabolitos secundários.....	32
5.3. Teste de toxidades frente as larvas <i>Artemia salina</i>	34
5.4. Análise de atividade antioxidante.....	36
6. CONCLUSÃO	39
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas como medicamento é, provavelmente, tão antigo quanto o aparecimento do próprio homem. A preocupação com a cura de doenças sempre se fez presentes ao longo da história da humanidade. No início da década de 1990, a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou que 65%-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como a única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AVELAR, 2016). Ao longo do tempo, têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existiram obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamento. Estes motivos, associados à fácil obtenção e à tradição do uso de plantas medicinais, contribuíram para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (JUNIOR e PINTO, 2005). Os cidadãos de baixo renda muito habituados com o uso de produtos naturais. Uma das plantas mais usada, na época foi a babosa (*Aloe vera* (L.) Burm f.). Os indígenas a utilizam como remédio e proteção do corpo.

Aloe vera (L.) Burm. f. é considerada uma espécie, biologicamente ativa, que vem sendo utilizada há muito tempo com finalidade terapêutica, devido às propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas. Seu princípio ativo está concentrado nas cascas e nas folhas (ALCÂNTARA *et al.*, 2014). A babosa é muito comum no Brasil quanto em outros países, como o Timor Leste, onde, popularmente, é utilizada na cicatrização de feridas, no tratamento de queimaduras, lavagem de cabelos dentre outros. Por esta planta já ter sido previamente testada, muitas pessoas a usam de modo inadequado e abusivo para a cura de males, principalmente pela população de baixa renda, que acredita na autossugestão e na esperança de cura, crenças estas que podem aliviar sintomas e induzir o paciente a desconsiderar sinais importantes, retardando o atendimento médico, levando a patologias graves, com consequências às vezes irremediáveis. O estudo desta planta e sua aplicabilidade para fins terapêuticos são de fundamental importância, principalmente para que se estabeleçam diferenças entre os benefícios e que não passem simplesmente de crenças (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010).

Atualmente a babosa é plantada em grande escala em diversos países, como México, EUA e China. Foi reconhecida pela Farmacopeia Britânica como droga oficial em 1932 sendo aceita também em diversas outras farmacopeias. Na indústria dos cosméticos e de produtos de higiene pessoal. A *Aloe* tem sido utilizado como material base na produção de cremes, loções,

sabonetes, xampus produtos de limpeza facial, entre outros, pois o gel é muito popular pela sua ação como hidratante (SILVA *et al.*, 2013).

Através deste estudo, o trabalho, poderá contribuir no ensino, pesquisa e extensão para o desenvolvimento científico do Brasil e Timor Leste. Além destes dados serem compartilhados na sociedade, sua importância também será contribuir para o conhecimento de forma interdisciplinar.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Realizar um estudo fitoquímico e investigar as suas propriedades biológicas através das atividades antioxidantes e toxicidade para fins medicinais e cosméticos.

2.2. Objetivo Especifico

- Fazer levantamento bibliográfico e criar um banco de dados com informações obtidas sobre a espécie estudada;
- Preparar o extrato etanólico das folhas *Aloe vera* (L.) Burm. f..
- Realizar a triagem fitoquímica nas amostras de casca das folhas para levantamento das classes de metabólitos secundários presentes na espécie;
- Investigar o potencial antioxidante pelo ensaio de sequestro de radical livre DPPH;
- Investigar o potencial toxicológico do extrato frente a larvas de *Artemia salina*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Produtos Naturais

A vida dos organismos vivos depende das transformações químicas executadas por seus metabolitos primários e secundários. A bioquímica investiga a química de produtos naturais e dos metabolitos primário, que produzem substâncias amplamente distribuídas nos seres vivos, como os aminoácidos, lipídeos, carboidratos e macromoléculas. Várias substâncias são extraídas dos vegetais, muitas delas são aplicadas na alimentação e na saúde (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010).

O estudo fitoquímico se dedica, principalmente, à caracterização estrutural, avaliação das propriedades e investigação Biosintética de produtos naturais, por rotas metabólicas secundárias dos organismos vivos (FILHO e BRAZ, 2009). Produtos naturais são abundantes e facilmente acessíveis e podem servir como matéria-prima para a preparação de novas moléculas com potencial biológico e aplicação na área de fármacos (AVELAR, 2016).

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias antioxidantes que atuam prevenindo os danos moleculares causados por espécies reativas de oxigênio (ERO). Os compostos fenólicos compreendem o principal grupo de compostos antioxidantes de origem vegetal, entre estes destacam-se também os flavonoides. Porém não só os flavonoides ou fenóis são considerados antioxidantes pois a estrutura química e a conjugação de suas ligações insaturadas podem também parcialmente definir esta propriedade. Os antioxidantes naturais são indicados para diminuir os efeitos deletérios do estresse e exercem ação antioxidante (NUNES *et al.*, 2008). Os flavonoides são compostos conhecidos por apresentarem propriedades antioxidante significativas e são amplamente distribuídos nas folhas, sementes, cascas e flores de plantas (FEREIRA *et al.*, 2015).

3.2. Babosa (*Aloe vera* (L) Burm. f.)

A *Aloe vera* (L.) Burm. f., é uma espécie de planta pertencente à família *Liliaceae*. Esta planta é nativa da África do Sul e foi introduzida no Brasil no início da colonização. Popularmente é chamada de babosa, *Aloe*, *Aloe-de-barbados* e *Aloe-decoração*. Possui aspecto de um cacto, de cor verde, com folhas espinhosas e suculentas, onde encontra-se uma substância gelatinosa que pode ser extraída. Apresenta no parênquima de suas folhas mucilagem com ação

cicatrizante, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e antivirótica proporcionadas pela presença de antraquinonas como aloenina, barbalóina e isobarbalóina em sua composição química (BURRATO, 2013).

A *Aloe vera* (L.) Burm. f. é uma planta herbácea que cresce em qualquer tipo de solo, mas é melhor adaptada a solos leves e arenosos onde não exige muita água. Suas folhas são verdes, grossas, suculentas e medem de 30 a 60 cm de comprimento. Suas flores vistosas, apresentam tonalidade branco amarelada, em formato tubular. Na literatura é encontrada com as sinônimas: *Aloe barbadensis* mil, *Aloe barbadensis* var. *Chinensis* Haw., *Aloe perfoliata* var. *vera* L., *Aloe Chinensis* Bak. e *Aloe vera* var. *Chinensis* Berger. (LORENZI & MATOS, 2008; WHO, 1999).

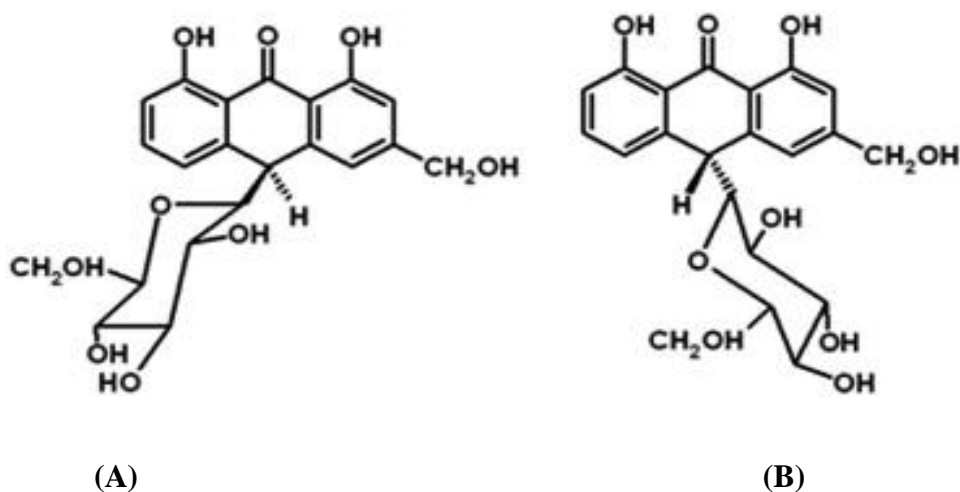
Estudos etnobotânicos conferem o nome *Aloe vera* (do latim *Aloe*, “amarga” e *vera*, “Verdadeira”) o significado de “planta original e de gosto amargo”. A Babosa é utilizada pelo homem há mais de 5.500 anos como planta medicinal, conforme registro em papiros egípcios datados de 3.500 anos A.C. Na cosmética foram encontrados registro na civilização árabe, grega, egípcia, romana, asiática e africana. Desta forma, percebe-se que o uso da babosa em produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentícios é crescente, pois é uma planta com diversos benefícios (SILVA, *et al.*, 2013). Devido ao seu poder hidratante a indústria de cosméticos e higiene pessoal faz amplo uso desta espécie em diversos tipos de formulações, como cremes, xampus e sabonetes. Em alguns países é incorporada a cremes de barbear com o objetivo de auxiliar na cicatrização dos cortes (FREITAS; RODRIGUES; GASPI, 2014).

A planta *Aloe vera* é uma erva medicinal importante e é vastamente utilizada na medicina popular tradicional, e contém mais de 500 espécies diferentes, mas apenas algumas são medicinalmente importantes. As espécies mais populares são: *Aloe Barbadensis* Miller (*Aloe vera*), *Aloe arborencens* e a *Aloe Chinensis*, entre estas, a *Aloe vera* é a planta de maior interesse, sendo considerada a espécie biologicamente mais ativa (BOZZI *et al.*, 2007; SINGH & SOOD, 2009).

A *A. vera* demora de quatro a cinco anos para atingir a maturidade e suas folhas podem ser divididas em duas partes. Da parte mais externa pode se extrair um suco, que quando concentrado e seco, recebe a denominação de *Aloe*. Esse suco flui espontaneamente das folhas cortadas e possui com marrom escuro, além de fortes odor e sabor muito amargo. É composto,

principalmente por derivados antracênicos sendo as aloínas (barbalóina e isobarbalóina) os mais conhecidos (FREITAS *et al.*, 2014) (FIGURA 1).

FIGURA 1. Estrutura da (A) Barbalóina e (B) Isobarbalóina



Fonte: URBINA; NOVA; URIBE, 2011.

Embora seu uso como planta fitoterápica na medicina popular seja conhecido há séculos, o registro da primeira utilização de caráter terapêutico é de 1697. O nome científico *A. vera* foi consagrado em 1720 por Carl von Linne, e em 1820 esta planta foi incluída na farmacopeia norte americana como cicatrizante e purgante (GODINHO, 2014). A *A. vera* tem sido estudada em tratamento cutâneos externos, porém o seu uso interno também já é bastante difundido (TOMASIN, 2010). Amplamente estudada e por isso sendo considerada uma das mais biologicamente ativas, com mais de 75 componentes com potencial de ação farmacêutica (SILVA *et al.*, 2013). Esta espécie é um dos produtos mais usados e os quais as populações fizeram usos de suas propriedades curativas sem o devido conhecimento científico. Por este motivo surgiu a preocupação dos profissionais que atuam nas áreas científicas sobre a incerteza da possível atuação do princípio ativo da planta na utilização para controle de patologias.

A classificação taxonômica da planta *Aloe vera*: **Reino-** Plantae; **Divisão-** magnoliophyta; **Classe-** Liliopsida; **Ordem-** Liliales; **Família-** Liliaceae; **Gênero:** *Aloe* L.; **Espécie:** *Aloe vera* (L.) Burm. f. (ALCANTARA *et al.*, 2014).

FIGURA 2. Folhas de Babosa (*Aloe vera* (L.) Burm f.)



Fonte: Autor, 2017.

3.3. Metabolitos secundários

Metabolitos secundários são substâncias produzidas em pequenas quantidades, e, em contraste com os primários, nem sempre estão considerados em funções vitais do vegetal ou mesmo presente em todas elas. Além disto, são conhecidos por serem sintetizados em tipos celulares especializados e em distintos estágios de desenvolvimento, tornando seu isolamento e purificação mais trabalhosos. Estes constituintes químicos são extremamente diversos. Cada família, gênero, e espécie produz uma categoria química característica ou uma mistura delas, e elas, por vezes, podem ser utilizados como caracteres taxonômicos na classificação da planta (SILVA, 2013).

De forma geral, os metabolitos secundários de uma planta que se encontrara em maior quantidade são isolados mais facilmente. Porém muitas vezes, a atividade antioxidante de um extrato ou fração de planta está atribuída aos metabolitos secundários que se encontram em menor proporção. A identificação de uma substância no extrato bruto, que pode ou não apresentar uma resposta similar em comparação a um controle positivo como a Quercetina, um flavonoide antioxidante potente amplamente distribuído em espécies vegetais. Estudos posteriores como partição e fracionamento são realizados a fim de separar e identificar a substância responsável pelas propriedades redutores, quer através de sequestro de radicais

livres, quer através da formação de quelatos com metais ou ainda por inibição de substâncias pró-oxidantes (ROLIM *et al.*, 2013).

Os metabólitos secundários, geralmente de estrutura complexa, baixo peso molecular, possuem atividades biológicas marcantes e, diferentemente dos metabólitos primários, apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (SILVA, 2016). O metabolismo representa o conjunto de reações químicas que está sempre ocorrendo em cada célula. Os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados recebem o nome de metabólitos, que por sua vez podem ser divididos em metabólitos primários e metabólitos secundários (SILVA, 2013).

A síntese de metabólitos secundários é influenciada por diversos fatores. Sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento; temperatura; disponibilidade hídrica; radiação ultravioleta; nutrientes; altitude; poluição atmosférica; indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos alteram a sua quantidade e, muitas vezes, até a natureza dos constituintes ativos presentes no tecido desses metabólitos, visto que, variações podem coordenar ou alterar a produção desses compostos (GOBO NETO e LOPES, 2007). Por isso, como e quando um vegetal é coletado é um dos fatores de maior importância para o estudo desses metabólitos, visto que, variações podem coordenar ou alterar a produção desses compostos (SILVA, 2013).

3.4. Atividade de toxicidade

Com o objetivo de estudar a toxicidade de novos produtos, muitos ensaios podem ser utilizados, sendo o mais acessível o teste da letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido por Meyer (1982) para detectar compostos bioativos em extrato vegetais.

O teste de toxicidade contra a *Artemia salina* (TAS) é um ensaio biológico considerado uma das ferramentas mais utilizadas para avaliação preliminar de toxicidade. Desta forma, *A. Salina* tem sido usada como organismo alvo para detectar compostos bioativos em extrato de plantas. Em geral, extratos de plantas e derivados com altas toxicidades contra a *A. salina* sugerem alto potencial para atividades biológicas, sendo, portanto, muito útil a utilização deste bioensaio, no direcionamento de estudos fitoquímicos, na busca de substâncias bioativas (AMARANTE *et al.*, 2011). As substâncias bioativas são quase sempre tóxicas em altas doses. Desta maneira, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido durante o fracionamento de extratos. Os cistos

de *A. salina* são de baixo custo e facilmente encontrados no comércio, além de permanecerem viáveis por anos no estudo seco (MOREIRA, 2014).

3.5. Atividade de Antioxidante

Antioxidante é um composto que protege o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reação que podem causar oxidação excessiva. Evidências epidemiológicas crescentes do papel de alimentos antioxidantes na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (RUFINO *et al.*, 2007).

Os estudos que envolvem produtos naturais com potencial antioxidantes ganha em destaque nos últimos anos, principalmente pela elucidação dos efeitos nocivos do excesso de radicais livres no organismo humano (WEIGLA, *et al.*, 2016; FARBSTEIN *et al.*, 2010). Sabe-se que estes antioxidantes neutralizam os radicais livres, porém quando ocorre desequilíbrio entre a produção e a remoção destes radicais pelas defesas antioxidantes, surgem alterações funcionais que estão associados ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas como câncer, Alzheimer e doenças cardiometabólicas (CAROCHO *et al.*, 2013; PANZIERA *et al.*, 2011).

Um antioxidante pode ser caracterizado como uma substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada com um substrato oxidável, diminui, significativamente, a oxidação do referido substrato. Em conceitos atuais, pode ser definida como uma substância que previne ou prepara o dano oxidativo de uma determinada molécula-alvo (ORONIA; ESCRICHE, 2015). Nos últimos anos, os antioxidantes ganharam grande importância no tratamento ou prevenção de câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (HEPEL; ANDREESCU, (2015).

O termo antioxidante está relacionado a um conjunto heterogêneo de substâncias formados por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas, que bloqueiam o efeito dos radicais livres. E, encontram-se nas frutas e verduras que diariamente são consumidas e têm potencial de modificar o metabolismo humano de maneira favorável na prevenção do câncer ou doenças degenerativas. Atualmente, a determinação de antioxidante é realizada através do método de sequestro do radical (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) DPPH. Este ensaio baseia-se na medida de capacidade antioxidante de uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma

solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta para a amarela (QUEFI *et al.*, 2017).

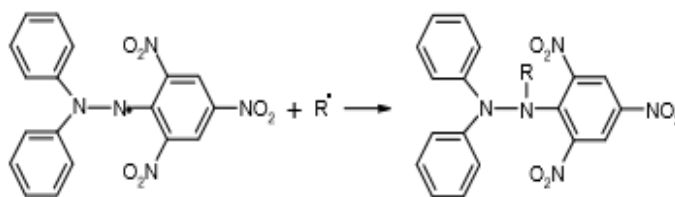
Vários métodos são utilizados para determinar atividades antioxidante em extratos e substâncias isolados; um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila- DPPH, de coloração púrpura que absorve a 515 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radical (R°), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional. Grande parte dos agentes antioxidante naturais são compostos fenólicos, que são amplamente distribuídos em plantas medicinais, as quais possuem em um ou mais órgãos, substâncias utilizadas com finalidade terapêutica, ou que sejam ponto de partida para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos (SOUSA, 2007).

Os organismos vivos possuem sistema antioxidantes endógenos para manter a formação de radicais livres em níveis toleráveis. Este sistema não são 100% eficientes, e quando os danos a biomoléculas são excessivos, pode haver alterações de funções e morte celular. Isso está relacionados com várias patologias, particularmente com as degenerativas associadas à idade, como doenças cardiovasculares, neuropatias e câncer. Por isso, o consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (WEILER *et al.*, 2010).

3.6. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico (PEREIRA, 2008). Um dos métodos mais utilizados, atualmente, para determinar a atividade antioxidante em extrato de plantas medicinais, consiste em avaliar a atividade sequestradora (**Figura 3**) do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) por antioxidante, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm.

FIGURA 3. Estabilização do radical livre DPPH



Fonte: (DIAS; SILVA; MACÊDO, 2012).

O princípio da análise do método de DPPH é a determinação espectrofotométrica da captura radical pelos antioxidantes, avaliando a capacidade de transferir elétrons/hidrogênio para estabilizar o radical livre DPPH, monitorando-se a descoloração da solução do radical. O radical livre DPPH apresenta em sua estrutura dois anéis aromáticos de seis membros, contendo átomos de C e H, e um anel picrilhidrazila, constituído por um anel aromático de seis membros ligado a três grupos nitro(NO₂) e uma hidrazila, em que o átomo de N ligado diretamente ao anel está com um elétron desemparelhado, o que caracteriza a espécie como um radical livre. Na reação de oxidação e redução entre o DPPH e a espécie antioxidante, o elétron desemparelhado do nitrogênio se emparelhado com o elétron cedido por uma coloração púrpura/ violeta com absorção máxima na região de 517 nm (515 a 528), tomando-se amarelo após receber o átomo de hidrogênio proveniente da espécie antioxidante, através de uma reação de oxirredução. O método envolvendo a captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) é uma determinação *in vitro* do potencial antioxidante de diferentes matrizes alimentares. O ensaio empregando o DPPH tem sido amplamente utilizado em diferentes amostras, tais como frutas, vegetais, plantas medicinais, ervas aromáticas, temperos, cereais, leguminosas, chás, folhas, cogumelos e algas, devidos à sua alta sensibilidade e facilidade de aplicação (BOROSKI *et al.*, 2015).

A molécula de DPPH é caracterizada como um radical livre estável em virtude da deslocalização de elétrons que confere a esta molécula uma coloração violeta. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de um determinado substrato em sequestrar o radical DPPH. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, este radical é reduzido com mudança simultânea na coloração de violeta a amarela pálido e o decaimento da absorbância é medido espectrofotometricamente. Este método é considerado, do ponto de vista metodológico, um dos

mais simples, precisos e produtivos na avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais e substâncias puras (ALVES e DAVID, 2010).

A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena (por ex., superóxido dismutase), ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Desta última destacam-se tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidante podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (SOUSA *et al.*, 2007). Os radicais livres e outros oxidantes, vem sendo considerados nos últimos anos como grandes causadores de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e diabetes mellitus tipo I. A produção de radicais livres ocorre naturalmente durante ações catalíticas de enzimas, no metabolismo celular ou pela exposição à fatores exógenos (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessário para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE₅₀), também chamada de concentração inibitória (CI₅₀). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE₅₀ e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA *et al.*, 2007).

4. METODOLOGIA DE PESQUISA

4.1. Material Vegetal

As folhas da espécie *Aloe Vera* (L.) Burn f. foram coletadas no mês de Janeiro de 2017 em parque Josué Castelo Branco no município de Redenção, na região de maciço de Baturité, no estado Ceará, Brasil, nas coordenadas 4°13'39" S e 38° 43'48" O e elevação 80 m. Posteriormente, foi adaptado o “**programa refflora**” como uma referência para identificar o nome científico da planta, onde foi encontrado com o código de barra **EAC0050925** na procedência Brasil, Ceará, Fortaleza. Horto de planta medicinais, Campus do Pici-UFC, Coletor Eloy, Y.R.G., s.n., Data de coleta 11/01/2012.

4.2. Preparação dos extratos

As folhas da espécie *Aloe Vera* (L.) Burn. f. foram submetidas ao processo de secagem em estufa com a temperatura 50 °C durante 7 dias e trituradas em liquidificador. Foram percolados com álcool etílico P.A. e deixou-se até 3 dias na temperatura ambiente. Logo após, o material foi filtrado em papel de filtro e a solução resultante foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida na temperatura de 50°C para obtenção do extrato etanólico bruto (MATOS, 2009) e (ARAUJO, 2012).

Os experimentos foram realizados no laboratório de biotecnologia e ciências naturais (LABioCN)/ Química Orgânica e Química Inorgânica da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Campus das Auroras.

4.3. Avaliação fitoquímica do extrato etanólico

Foi preparada uma solução estoque dos extratos etanólico das folhas de babosa (*Aloe Vera* (L) Burn f.). Pesou-se cerca de 0,04 g de extrato etanólico e dissolveu-se em solução hidroalcoólica (80 %). Foram realizados os seguintes testes abaixo de acordo com a metodologia adaptada por (COSTA, 2014); (VISHWAKARMA *et al.*, 2014); (SILVA *et al.*, 2016) e (MATOS, 2009).

4.3.1. Teste para identificação de alcaloides

Para a determinação qualitativa dos alcaloides, utilizou-se 2,0 mL da solução estoque, adicionou-se 2,0 mL de HCl (10 %) em banho-maria até fervura, durante 10 minutos. Após o resfriamento, filtrou-se com auxílio algodão para um béquer e transferiu-se 1 mL do ácido clorídrico para três tubos de ensaio que foram preparados. Adicionou-se no primeiro tubo o reagente de Mayer, no segundo tubo o reagente de Wagner e no terceiro tubo o reagente de Dragendorff. Verificou-se cada um dos tubos se a possível formação de precipitado ou turvação (respectivamente roxo a laranja, branco a creme e marrom) evidencia a possível presença dos mesmos.

4.3.2. Teste para identificação de Taninos e Fenóis

Colocou-se 2,0 mL da solução estoque em tubo de ensaio, adicionou-se 10 mL de água destilada. Filtraram-se e adicionaram-se duas gotas, utilizando a pipeta de Pasteur, da solução de cloreto férrico a 10%. A formação de cor verde, azul verde ou azul preto ou entre azul e vermelho em solução é indicativo a presença taninos e fenóis. A coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis, e a coloração verde a presença de taninos condensados.

4.3.3. Teste para identificação de flavonoides

Esta pesquisa baseou-se na modificação da estrutura do flavonoide em presença de ácido. Colocou-se em um tubo 2,0 mL do extrato etanólico, sendo adicionado duas gotas de acetato de chumbo a 10%. A presença de um precipitado corado indica positividade da reação.

4.3.4. Teste para identificação de Cumarinas

Em um tubo de ensaio colocou-se 2,0 mL da solução estoque, adicionou-se 2 mL de solução de NaOH 10%. Tampou-se com papel de filtro e examinou-se em luz UV. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

4.3.5. Teste para identificação de saponinas

Neste ensaio, adicionou-se 2,0 mL da solução estoque, em seguida 5,0 mL de água destilada e aqueceu-se em banho maria a 10 minutos. Após resfriamento, agitou-se vigorosamente, deixando em repouso por 20 minutos. Classifica-se a presença de saponinas pela formação de espumas persistente.

4.3.6. Teste para identificação de terpenóides

Em um tubo de ensaio, colocou-se 2 mL da solução estoque e adicionou-se 2 mL de clorofórmio e 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. A formação de cor marrom vermelho ou o surgimento de colorações que vão do azul ao verde indicam a presença desse metabolito. Assim indicando a presença de terpenóides.

4.3.7. Teste para identificação de esteróides

Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL da solução estoque e acrescentou-se 2 mL de clorofórmio e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, formação de cor marrom vermelho mutável ou o surgimento de coloração que vão do azul ao verde indicativo a presença desse metabolito. Assim indicando a presença de esteróides.

4.4. Teste de atividade Antioxidante

Na preparação da solução de DPPH e ensaio de avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH foi seguindo a metodologia adaptada por (SOUSA *et al.*, 2007); (RUFINO *et al.*, 2007); SCHERER e GODOY (2009); (ALVES *et al.*, 2010); (SILVA *et al.*, 2013); (BOROSKI *et al.*, 2015) e alguns modificações. Para preparar uma solução de DPPH a 60 µM ou 0,06 mM em Etanol, pesou-se 2,4 mg de DPPH e dissolveu-se em álcool etílico **P.A.** e completou-se o volume para 100 mL em um balão volumétrico, mantida sob refrigeração e protegida da Luz. Preparou-se as amostras, e foram solubilizados em Etanol e diluídas até as concentração 1,5; 1; 0,5; 0,25; 0,125 g.mL⁻¹. Nas concentrações preparadas foram adicionadas 2 mL da solução de DPPH 60 µM em temperatura ambiente, no escura, esperou-se até as reações ocorrem a 30 minutos. Após de esperar foi realizada a leitura de absorbância das amostra e do branco em espectrofotométrico modelo T80 UV/Vis utilizando comprimento de onda (λ) 520 nm. O solvente Etanol foi utilizado como branco. A solução etanólico de DPPH 60 µM e etanol foram usadas como controle negativo. De cada concentração realizou-se uma leitura em triplicata. A porcentagem de inibição ou atividade de eliminação de radicais livres foi calculada utilizando a seguintes fórmula:

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{(\text{Abs. DPPH} - \text{Abs. amostra})}{\text{Abs. DPPH}} \times 100$$

Onde,

Abs. DPPH = absorvância da solução etanólico do radical DPPH;

Abs. amostra = absorvância da amostra após 30 minutos de reação com a solução de DPPH.

O valor IC₅₀ (mg/mL) é a concentração necessário para inibir 50% do radical livre DPPH inicial, foi calculado através de regressão da reta do gráfico. Todas as reações foram realizadas em triplicata e o valor foi expresso como a média ± desvio padrão (r).

Devido à dificuldade em padronizar os resultados, o índice da atividade antioxidante (*AAI-Antioxidant Activity Index*) é um método para avaliar a eficiência do antioxidante em extrato de planta considerando a concentração do DPPH e os valores de IC₅₀. A índice de atividade antioxidante foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$AAI = \frac{[DPPH]_{total} (mg/mL)}{IC_{50} (mg/mL)}$$

Onde:

[DPPH]_{final} = concentração final da solução etanólico de DPPH;

IC₅₀ = concentração de extrato antioxidante necessária para inibir 50 % do radical DPPH.

Ambos expressos em mg/mL.

TABELA 1. Descrição do potencial antioxidante de acordo com o índice da atividade antioxidante.

AAI	Capacidade antioxidante
< 0,5	Fraco
0,5 a 1,0	Moderada
1,0 a 2,0	Forte
> 2,0	Muito Forte

Fonte: BOROSKI *et al.*, 2015.

4.5. Teste de toxicidades frente as larvas *Artemia salina*

A avaliação do teste de toxicidade dos extratos e frações foi realizado através do bioensaio com *Artemia salina*. Testada em sete concentrações diferentes (500; 250; 125; 62,50; 31,25; 15,62; 7,8; $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), dissolvidas em DMSO 1 % para calcular o DL_{50} . Inicialmente, pesou-se 60 g de sal de cozinha, que foram solubilizados em 2000 mL de água destilada. A solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e no preparo das demais diluição das amostras.

A solução foi transferida para um béquer de 200 mL e em seguida foram adicionados os ovos de *A. salina*. Os ovos foram incubados em temperatura 26-28 °C, com luz constante (fornecida por luminária de 75 W), durante 24 horas até os ovos eclodir. Pesou-se 17 mg do extrato etanólico e adicionou-se 17 mL de DMSO 1% e agitou-se em banho ultrassônico até solubilização. Preparou-se 24 tubos de ensaio, encheu-se 5 mL de solução *Artemia salina* para cada um dos tubos. Adicionou-se 5 mL da solução estoque de maior concentração até a menor concentração. Coletou-se as larvas *Artemias* utilizando pipeta plástica graduada para cada um dos tubos adicionou-se cerca de 10 larvas de *Artemias* com a idade 24 horas, a teste foi triplicata e fornecida por luminária de 75 W, fechou-se todas as coberturas com papel de alumínio durante 24 horas. Os resultados foram coletados em duas análises: 24 horas em primeira análise e 48 horas na segunda análise. A metodologia foi adaptada por: (AMARANTE *et al.*, 2011), (SIQUEIRA *et al.*, 2014), e algumas modificações.

FIGURA 4. (A) Criação da Larvas de *Artemia salina* e (B) a contagens das larvas *Artemia salina*.

(A) Criação da Larvas de *Artemia salina*

(B) a contagem das larvas *Artemia salina*



Fonte: Autor, 2017.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Obtenção dos extratos

O material vegetal secas das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. foi macerado em etanol por período 3 dias. Segue o resultado na **Tabela 02**.

TABELA 2. Resultado da extração etanólico da folha de Babosa.

Material vegetal seco	Solvente	Massa obtida do extrato (g)	Rendimento do extrato (%)
381,57 g	Etanol. P.A.	24,5	6,4

Fonte: Autor, 2017.

Através do extrato etanólico das folhas de *Aloe vera* (L) Burn. f. obtidos, foram realizados os testes fitoquímicos, testes antioxidante, teste de toxicidade.

5.2. Identificação dos metabólitos secundários

Através do extrato obtido foram realizados os testes de fitoquímicos com solução de reagentes específicos descrito na metodologia para a identificação dos metabólitos secundários presentes na amostra. As análises fitoquímicas fornecem informações sobre a presença de metabólitos secundário em planta (ALMEIDA *et al.*, 2015). Os resultados obtidos estão descrito na **Tabela 03. E**, na **Figura 05**.

TABELA 3. Resultado da identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f.

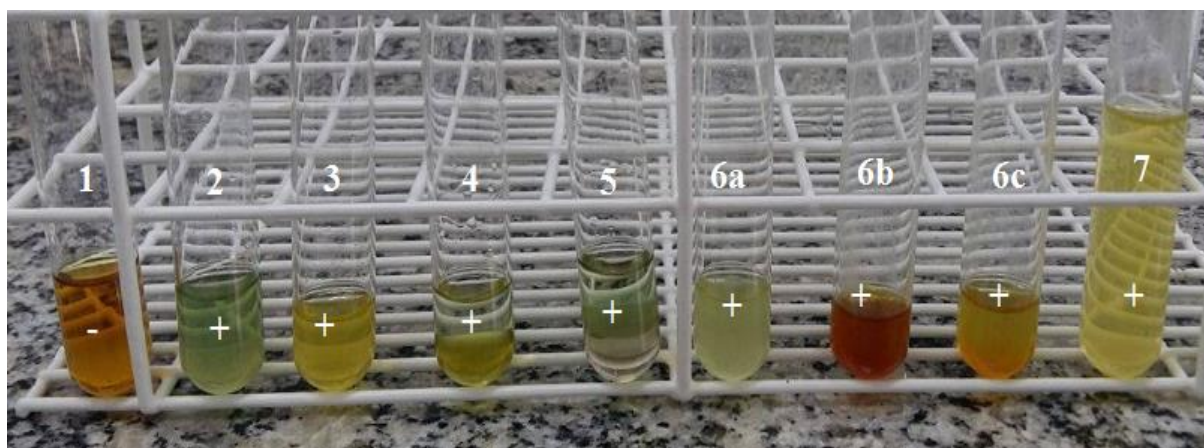
Metabólitos secundários	Reagentes	Extrato etanólico das folhas
	Reagente Mayer	+
Alcaloides	Reagente Dragendorff	+
	Reagente Wagner	+
Taninos e Fenóis	Cloreto Férrico 10%	-
Flavonoides	Shinoda	+
Cumarinas	Hidróxido de sódio 10%	+
Saponinas	-	+
Terpenóides	Salkowski	+
Esteróides	Salkowski	+

Obs.: + (positivo), - (negativo) indicam presença ou ausência do fitoquímico, respectivamente.

Fonte: Autor, 2017.

A realização dos testes fitoquímicos foram concretizados a partir do extrato das folhas de Babosa (*Aloe vera* (L.) Burm. f.), estes testes utilizados para a caracterização dos metabólitos secundários.

FIGURA 5. Teste fitoquímico do extrato etanólico das folhas de Babosa.



Fonte: Autor, 2017.

1. Taninos e Fenóis, 2. Flavonoides, 3. Cumarinas, 4. Terpenóides, 5. Esteroides, 6. Alcaloides (a. Mayer, b. Wagner, c. Dragendorff) e 7. Saponinas.

De acordo com os resultados obtidos, percebeu-se a presença de muitos metabolitos secundários foram positivos e apenas taninos e fenóis foram ausentes nas folhas da espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f. Os metabolitos secundários presentes no extrato etanólico das folhas são alcaloides, flavonóides, cumarinas, terpenóides, esteroides e saponinas, enquanto os taninos e fenóis deram negativo no presente teste. Com essas presenças de metabolitos secundários, assim sinaliza potencial para atividade antioxidante e demais testes biológicos (FERNANDES *et al.*, 2017). A ausência de taninos e fenóis pode ser justificada em folhas pela parte da planta utilizados nos estudos, não sendo comum a presença desses compostos em folhas (LIMA *et al.*, 2013).

5.3. Teste de toxidades frente as larvas *Artemia salina*

A partir de pesquisa na literatura foi possível estabelecer um sistema de criação do microcrustáceo *A. salina* no laboratório. Esse sistema mostrou-se adequado para produzir artêmias em estágio de metanauplius para serem usados no bioensaio. O custo do sistema de criação do microcrustáceo pode ser considerado baixa, pois utilizou-se uma lâmpada de 75 W, sal de cozinha, além do equipamento para medir a temperatura. (SIQUEIRA *et al.*, 2014).

Segundo Amarante (2011) para o cálculo da DL₅₀ foi utilizado o método GraphPadPrism 5, e considerou-se baixa toxicidade quando a dose letal 50% (DL₅₀) for superior a 500 µg.mL⁻¹, moderadamente tóxico quando a dose letal 50% (DL₅₀) estiver entre 100 a 500 µg.mL⁻¹ e muito tóxico quando a DL₅₀ for inferior 100 µg.mL⁻¹.

TABELA 4. Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico da Babosa frente a *Artemia salina* em 24 horas.

Concentração(ppm)	Total Larvas	Larvas Mortas	% Mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	30	30	100	
250	30	26	86,666	
125	30	15	50	
62,5	30	8	26,666	98,440
31,2	30	4	13,333	
15,6	30	3	10	
7,8	30	0	0	
Controle	30	0	0	

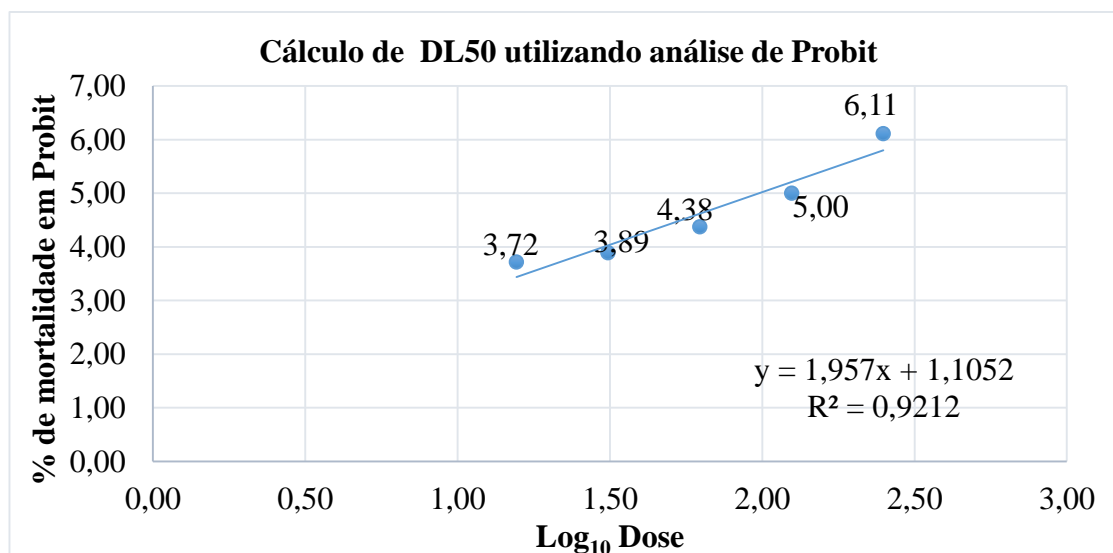
Fonte: Autor, 2017.

TABELA 5. Resultado do teste toxicidade do extrato etanólico da Babosa frente a *Artemia salina* em 48 horas.

Concentração(ppm)	Total Larvas	Larvas Mortas	% Mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	30	30	100	
250	30	30	100	
125	30	18	60	
62,5	30	14	46,666	
31,2	30	9	30	74,207
15,6	30	5	16,666	
7,8	30	3	10	
Controle	30	0	0	

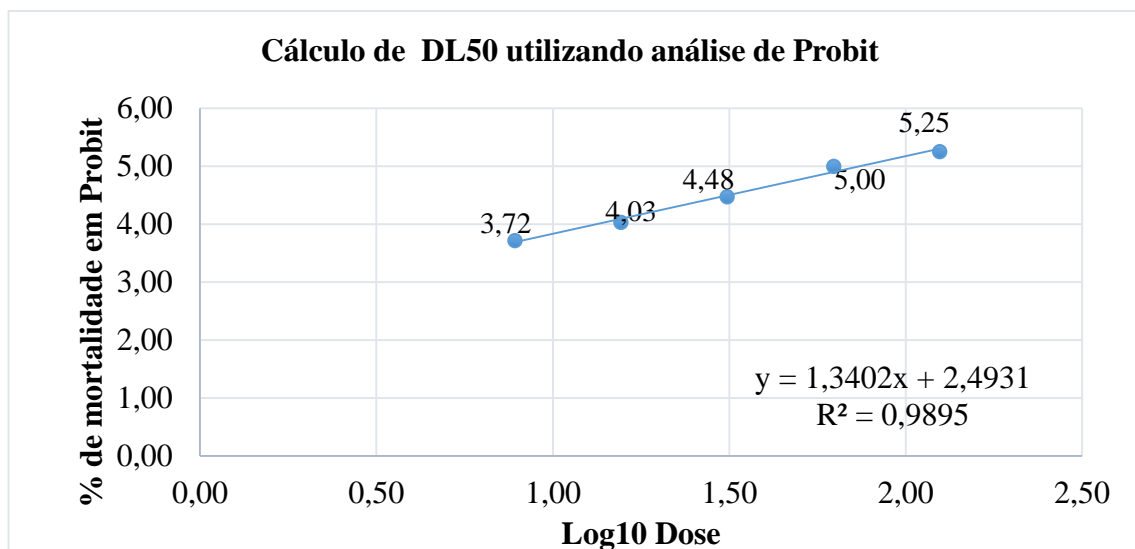
Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 1. Porcentagem de mortalidade de larvas *Artemia salina* de 24 horas nas concentrações das amostras do extrato etanolico das folhas de Babosa analisando por programa de Probit Analises.



Fonte: Autor, 2017.

GRÁFICO 2. Porcentagem de mortalidade de larvas de *Artemia salina* de 48 horas nas concentrações das amostras do extrato etanólico das folhas de Babosa analisando por programa de Probit Analises.



Fonte: Autor, 2017

De acordo com os resultados obtidos de testes toxicidades do extrato etanólico das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm f. frente *A. Salina*, obteve-se um resultado muito significativo, onde Dose Letal 50% (DL₅₀) 98,440 ppm na 24 horas e Dose Letal 50% (DL₅₀) 74,207 ppm em 48 horas. Segundo Amarante *et al.*, (2011) os resultados foram altamente toxico para o extrato etanólico.

5.4. Análise de atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante utilizada foi o método DPPH, que é rápido, simples e sensível. Esse método é baseado na captura dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por antioxidante. O radical livre reage com doadores de hidrogênio, na presença de substância antioxidante, e este doadores recebem H⁺, sendo então reduzidos (SILVA *et al.*, 2013).

Quando uma determinada substancia que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, este radical é reduzido com mudança simultânea na coloração de violeta a amarela pálido e o decaimento da absorbância é medido espectrofotometricamente (ALVES *et al.*, 2010). A porcentagem de atividade antioxidante

(%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessário para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente CE_{50} , também chamada de concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA, 2007). E, quanto maior a concentração da amostra e menor a absorvância, maior o consumo de DPPH (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

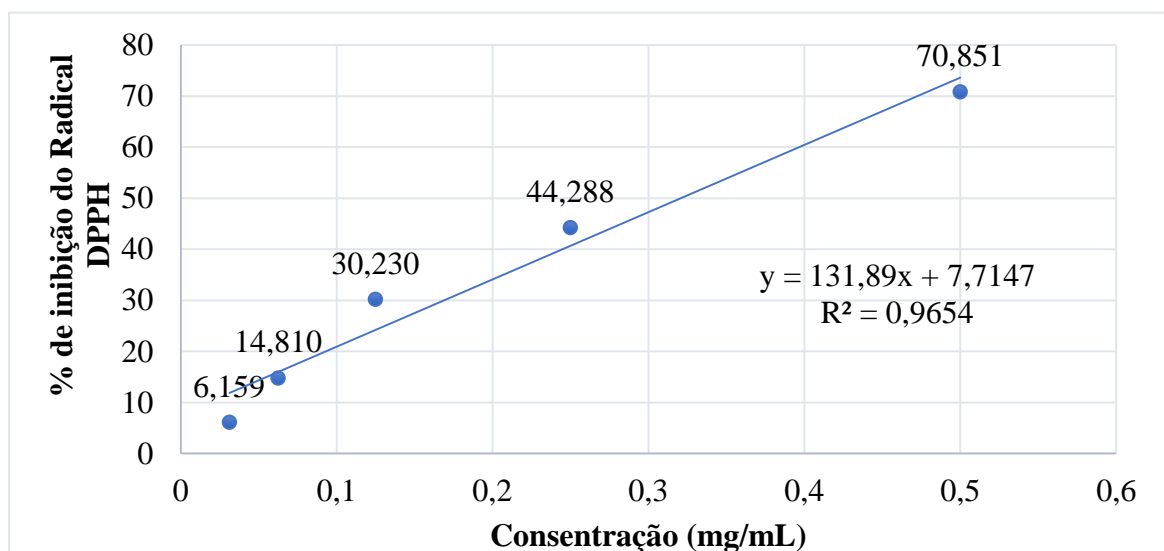
TABELA 6. Atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de Babosa

Concentração (mg/mL)	% Inib.	Abs.			Abs. total x,y,z	r	IC ₅₀ (mg/mL)
		x	y	z			
1,5	70,851	0,205	0,207	0,208	0,207	± 0,0015	0,320
1	44,288	0,392	0,395	0,398	0,395	± 0,0030	
0,5	30,230	0,491	0,496	0,497	0,495	± 0,0032	
0,25	14,810	0,597	0,609	0,606	0,604	± 0,0062	
0,125	6,159	0,663	0,665	0,668	0,665	± 0,0025	
DPPH		0,709					

Obs.: % inibição; Abs. x, y, z (Absorbância das amostras); Absorbância total.

Fonte: Autor, 2017.

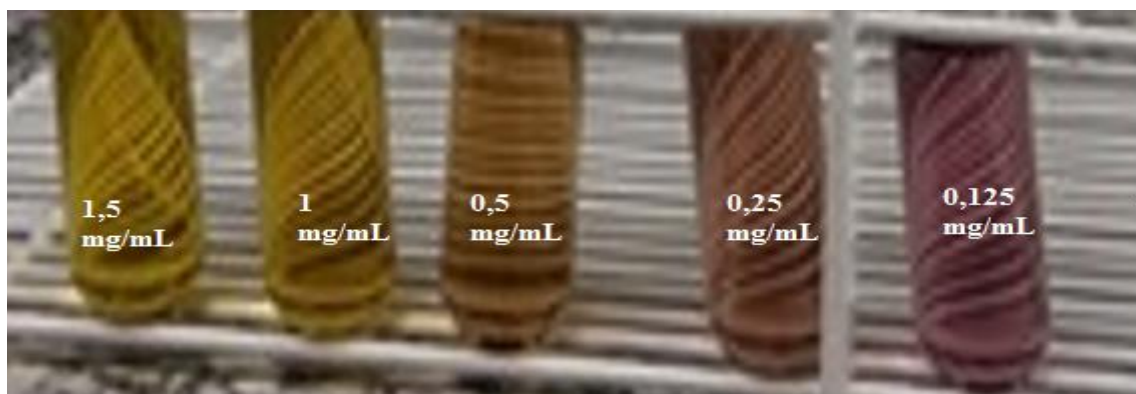
GRÁFICO 3. Porcentagem de inibição do Radical DPPH em relação das concentrações de amostra do extrato etanólico das folhas da Babosa.



Fonte: Autor, 2017.

Os valores de IC_{50} podem ser obtidos através da equação da reta: $y = 131,89x + 7,7147$, em que y corresponde ao eixo referente a % de inibição de DPPH e o eixo x à concentração do extrato. Como o IC_{50} representa a concentração de extrato necessária para inibir 50% do radical DPPH, substituiu-se o eixo $y=50$ na equação da reta. Desta forma $50 = 131,89x + 7,7147$. Portanto, $x = 0,320$ mg/mL (BOROSKI *et al.*, 2015). Devido à dificuldade em padronizar os resultados, o índice da atividade antioxidante (*AAI-Antioxidant Activity Index*) é um método para avaliar a eficiência do antioxidante em extrato de planta considerando a concentração do DPPH e os valores de IC_{50} . O índice da atividade antioxidante obtidos do extrato etanólico das folhas apresentou suas atividades antioxidantes muito fortes com *AAI*: 2,215 mg/mL (BOROSKI *et al.*, 2015).

FIGURA 6. Atividade Antioxidante do extrato etanólico das folhas de babosa avaliado pelo método de DPPH.



Fonte: Autor, 2017.

A coloração da solução de DPPH em contato com as amostras em testes passa da coloração roxa intensa para amarela. E a intensidade da cor varia de acordo com a concentração. (REZENDE, 2010). A figura apresenta os resultados de potencial de antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Aloe vera* (L) Burm. f., onde apresenta a sua atividade antioxidante muito significativa. Assim sinaliza, é possível realizar os demais testes biológicos.

6. CONCLUSÃO

A espécie vegetal babosa (*Aloe vera* (L.) Burm. f.) apresentou os resultados bastante razoável para a pesquisa. Onde, a planta mostrou a presença da maioria das classes dos metabolitos secundários, ação de antioxidantes e ação de toxicidade.

A triagem fitoquímicas preliminar revelou a presença de alcaloides, cumarinas, flavonoides, esteroides, terpenóides, e saponinas em extrato das folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. devido a presença de fitoquímicas ativos, a planta pode ser utilizada medicamente no futuro. A toxicidade do extrato etanólico das folhas de espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f. apresentou atividade altamente tóxica. E o ensaio do sequestro de radicais livres de DPPH das amostras obtidas para o extrato etanólico das folhas de espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f. apresentou atividade antioxidante muita significativa de acordo com a padronização de índice de atividade antioxidante. O extrato etanólico das folhas apresentou suas atividades antioxidantes muito forte.

Com os resultados encontrados durante a pesquisa, a espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f. apresentaram a presença de compostos de finalidade terapêuticos, que pode se tornar importante para dar a continuidade dos estudos no futuro para melhoramentos de novos produtos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, J. Raulino, *et al.* **Aplicação clínica do uso de Aloe vera e relatos de toxidade.** Nutrivisa- Revista de nutrição e Vigilância em Saúde, vol. 1, núm. 3. Artigo de revisão. Fortaleza- CE. 2014.
- ALMEIDA, H. M., *et al.* **Análise fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos da entrecasca e da folha de *Pseudobombax marginatum* (St. Hill) Rob.** 5º Encontro Regional de Química & 4º Encontro Nacional de Química. Vol.3, n.1, 2015. ISSN: 2318-4043.
- ALVES, C. Q. e DAVID, J. M. **Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos.** *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 10. 2202-2210, 2010.
- AMARANTE, C. B., *et al.* **Estudo fitoquímica biomonitorado pelos ensaios de toxicidades frente à *Artemia Salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*).** *Acta Amazonica*. Vol.41(3) 2011: 431-434
- ARAUJO, Thiago A. de Sousa. **Atividade antioxidante de plantas medicinais da caatinga e mata atlântica: aspectos etnobotânicos e ecológicos.** Recife, 2012.
- AVELAR, Deusielly da Silva. **Atividade antioxidante e isolamento de flavonóides glicosilados de *Waltheria ferruginea*.** Natal- RN. 2016
- BOROSKI, Marcela. *et al.* **Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticos.** Editora; Appris. 1ª Ed. Curitiba – PR, 2015.
- BOZZI, A; *et al.* **Quality and authenticity of comercial aloe vera gel powders.** *Food Chemistry*. Pg. 20-30.2007.
- BURRATO, A. P. **Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólicos de babosa (*Aloe vera*).** Florianópolis, SC. 2013.
- CAROCHO, M.; PEREIRA, I. C. F. R. **A review on antioxidants, prooxidants and related controvers: Natural and sinthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives.** *Food and Chemical toxicology*, v. 51, p. 15-25, 2013.
- COSTA, P. L. C. **Documentação química e farmacológica de *Handroanthus ochraceus* (Cham) Mattos, *BIGNONIACRAE*.** Piauí- PI. 2014.
- DIAS, D. Mayara Oliveira; SILVA, A. Raquel Araújo; MACÊDO, A. Angélica Mathias. **Atividade antioxidante *in vitro*, do extrato etanólico do gel da *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller).** VII CONNEPI@2012. ISBN 978-85-62830-10-5.

- FARBSTEIN, D.; KOZAK-BLICKSTEIN, A.; LEVY, A. P. **Antioxidant vitamins and their use in preventing cardiovascular disease.** *Molecules*, v. 15, p. 8098-8110, 2010.
- FEITOSA, C. Mendes. **ANTIOXIDANTES: aspectos químicos, farmacológicos e terapêuticos.** Editora Átomo. 2017.
- FEREIRA, R. Q. *et al.* **Electrochemical quantification of the structure/antioxidant activity relationship of flavonoid.** *Eletrochimica Acta*, v.163, p. 161-166, 2015.
- FERNANDES, O.L.G. *et al.* **Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antioxidantes do extrato etanólico da espécie *Plumeria rubra* L. na região do maciço de Baturité-CE.** 3º simpósio Nordeste de Química. Campina grande-PB, 2017.
- FILHO, Raimundo Braz. **Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente.** *Química Nova*, Vol. 33, Nº 1, p. 229-239, 2009.
- FREITAS, V. S.; RODRIGUES, R. A. F.; GASPI, F. O. G. **Propriedades farmacológicas da *Aloe vera* (L.) Burm. f. Ver. Bras. PI. Med., Campinas, v. 16, p.299-307.** 2014.
- GOBBO NETO, L.; LOPES. N. P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabolitos secundários.** *Química nova*, Vol. 30, No. 2, 374-381, Ribeiro Preto- SP, Brasil, 2007.
- GODINHO, Joana Ferreira. **Hidrogéis de Celulose Bacteriana incorporados com frações de *Aloe vera*.** Dissertação submetida ao programa de Pós- Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de mestre em engenharia Química. Florianópolis. 2014.
- HEPEL, M.; ANDREESCU, S. **Oxidative stress and human health.** In: HEPEL, M; ANDREESCU, S. (Ed). **Oxidative stress: diagnostics, preventions and therapy.** Vol. 2. Washington: american Chemical society, 2015, p.1-33. (ACS symposium Series).
- JUNIOR, V. F. V. e PINTO, A. C. **Plantas medicinais: Cura segura? Química nova**, Vol. 28, No. 3, 519-528, 2005.
- LIMA, W. Q. F. *et al.* **Avaliação fitoquímica e antioxidante de plantas medicinais do Norte do Mato Grosso.** FACIDER- Revista Científico. .2, n. 2 , (2013).
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil-Nativas e exóticas.** 2. Ed. São Paulo: instituto Plantarum, 2008. 244p.
- MATOS, F.J. De Abreu. **Introdução à fitoquímica Experimental.** 3 ed./ Francisco José de Abreu Matos. - Fortaleza: Edições UFC. Fortaleza- CE. 2009.
- MOREIRA, Bruno Oliveira. **Estudo químico e avaliação das atividades biológicas de *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae) e quantificação dos bioativos de *Cenostigma***

macrophyllum (Leguminosae). Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Química Orgânica. Salvador- BA, 2014

NASCIMENTO, J. C., *et al.* **Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extrato de folhas da *Bauhinia variegata* L.** *Ver. Bras. Farm.* 92 (4): 327-332, 2011.

NASCIMENTO, J. C., *et al.* **Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos *Bauhinia variegata* L.** *Revista brasileira de farmácia (RBF)*, artigo original. Belo Horizonte-MG, Brasil 2011.

ORONIA, M.; ESCRIFE, I. **Antioxidants: characterization, natural cources, extractions and analysis.** *Food Research international*, v.74, p.10-36,2015.

PANZIERA, F. B. *et al.*, **Avaliação da ingestão de minerais antioxidantes em idosos.** *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 14, n 1, p. 49-58, 2011.

PEREIRA, V. Junior. **Ácido ascórbico-características, mecanismos de atuação e aplicação na indústria de alimentos.** Pelotas, 2008. 39f. Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Bacharelado em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

QUEFI, B., *et al.* **Análise da atividade antioxidante do extrato etanólico da espécie vegetal (*allium sativum* L.).** 57º Congresso Brasileiro de Química “*megatendência: desafios e oportunidades para o futuro da Química*”. Centro de eventos da FAURGS. Gramado/RS, 2017.

REZENDE, Larissa Cavalcante. **Avaliação da atividade antioxidante e composição químicos de seis frutas tropicais consumidas na Bahia.** Tese apresentada ao programa de Pós- Graduação em Química, Área de concentração Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisitos parcial para a obtenção do grau de Doutorado em Química – Área: Química Orgânica. Salvador 2010.

ROLIM, T.L. *et al.* **Constituintes químicos e atividades antioxidantes de *byrsonima gardneriana* (malpighiaceae).** *Química nova*, v. 36, n. 4, p. 524-527, 2013

RUFINO, M. S. M., *et al.* **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado técnico online 127. Fortaleza –CE, 2007. ISSN: 1679-5535.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. **Antioxidante Activity Index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method.** *Food Chemistry*, v. 112, n. 3, p. 654-658, 2009.

- SILVA, A. Cristina da Oliveira, LIMA, R. A. **Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L.** Santa Maria, 2016.
- SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco- Uma inovação no controle de fitopatógenos.** Universidade Federal de Pernambuco, Centro de ciências biológicas, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia. Dissertação de Mestrado. Recife, 2013.
- SILVA, D. Nileidi, *et al.* ***Aloe Vera: Extrato a base de seu Gel e Usos.*** VII Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial (VII EEPA). UNESPAR, Paraná-PR. 2013.
- SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. **Triagem fitoquímica de planta de cerrado, da área de proteção ambiente municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão.** **SCIENTIA PLENA** Vol. 6, Num. 2, 2010.
- SINGH, B. & SOOD, N. **Significance of explant preparation and sizing in *Aloe vera* L.** A highly eficiente method for in vitro multiple shoot induction. *Sci. Hortic.* 2009
- SIQUEIRA, Monica P., *et al.* **Atividades de extratos, frações e substâncias isolados de espécie de Piperaceae do Estado do Rio de Janeiro.** Boletim Informativo Geum, v. 5, n. 2, p. 35-43, Rio de Janeiro, 2014. ISSN: 2237-7387(impresso).
- SOUSA, Cleyton Marcos de M., *et al.* **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** Departamento de Química, universidade Federal do Piauí, 64049-550, Teresina - PI, Brasil. *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 2, 351-355, 2007.
- TOMASIN, R. **Efeitos Terapêuticos do homogeneizado de *Aloe vera* e mel sobre o crescimento e atividade celular do Carcinossarcoma de walker 256.** Dissertação apresentada ao instituto de Biologia para obtenção do Título de mestre em Biologia Funcional e Molecular, na área de Fisiologia. Campinas, 2010.
- URBINA, L. A. L.; NOVA. C. M.; URIBE, L. D. M. **Estabilizacion Del Gel *Aloe Barbadensis* Miller Y Disminución De Su Concentracion Por Adsorcion Em Columna Com Carbón Activado.** *REVISTA ION*, [S. 1], v. 24, n. 1, ago. 2011. ISSN 2145-8480.
- VISHWAKARMA, Subash, *et al.* **Comparative study of Qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of *Mentha arvensis*, *Elettaria cardamomum* and *Allium porrum*.** Maduravoyal, chennai-95, India, 2014.
- WEIGLA, S. *et al.*, **Synthesis and axidative stability of phenolic antioxidants immobilized by cellulose nanocrystals.** *Polymer Degradation and stability*, v. 128, p. 253-259, 2016.

WEILER, C. B., *et al.* **Potencial antioxidante in vitro das folhas de *Ipomoea cairica* L. Sweet.** Saúde (santa maria), v 36, n.2, p.55-62, 2010. Universidade federal de Santa Maria, RS. ISSN: 2236-5843.

WHO, World Health Organization. **WHO monograph on selected medicinal plants.** vol. 1. Geneva: WHO Publications.1999.