

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE *Annona muricata* L.

Marília L. A. da Costa^{1*}, Millena de A. Rodrigues¹, Izabelle de A. Menezes¹, Maria G. S. dos Santos¹, Anderson S. de Almeida², Jean T. C. Lima², Amanda L. Cunha³, Aldenir F. dos Santos⁴.

1. Estudante de Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Alagoas - UNEAL
2. Estudante de Química pela UNEAL
2. Mestranda pela Universidade Federal de Alagoas - UFAL
4. UNEAL- Centro Universitário CESMAC – Departamento de Química / Orientadora

Resumo:

O Brasil apresenta uma vasta biodiversidade, incluindo espécies com ações antioxidantes já comprovadas, por outrora, muitas ainda pouco estudadas, o que favorece a busca por antioxidantes nessas espécies. Desse modo, a espécie escolhida foi a *Annona muricata* L. conhecido popularmente como graviola. O presente trabalho objetivou analisar a atividade antioxidante da espécie *A. muricata* (folha e casca do caule), através da atividade sequestradora do radical livre - DPPH e por meio do método Folin-Ciocalteu. Na análise quantitativa pelo método de captura de radical livre DPPH, a casca do caule apresentou atividade antioxidante superior a 50% na concentração 500µg mL⁻¹ (de 70,51%). Enquanto no método Folin-Ciocalteu o resultado foi satisfatório ao obter nas folhas 0,376mg/EAG de extrato e na casca do caule um teor de fenóis de 0,385 mg/EAG. Logo evidencia-se que a graviola apresenta uma excelente atividade antioxidante o que favorece as indústrias farmacológicas.

Palavras-chave: Graviola; Estresse oxidativo; Radicais livres.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas - FAPEAL.

Introdução:

A busca por espécies vegetais que apresentam princípios bioativos tem sido crescente no Brasil, afim de minimizar casos de doenças crônicas e degenerativas decorrente ao acúmulo de oxidantes (SILVA e FERRARI, 2011). Conforme Denham Harman e através dos experimentos de Daniel Gilbert, além de vários outros estudos já comprovados, tem-se a teoria afirmando a participação e influência dos oxidantes sob o organismo humano no surgimento de doenças crônicas e degenerativas (SANTANA et al., 2010).

A produção continua de oxidantes no decurso dos processos metabólicos, fez com que o sistema desenvolvesse mecanismos de defesa antioxidantes, afim de impedir os danos e os níveis destes intracelulares. Os antioxidantes têm como função inibir ou reduzir as lesões celulares geradas pelos radicais livres, sendo definidos como aqueles que em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, consegue interceptar a oxidação de modo eficaz, impedindo danos aos lipídeos, nas bases de DNA, assim como nos aminoácidos das proteínas (VASCONCELOS et al., 2014).

Os antioxidantes classificam-se em dois sistemas, o enzimático e o não-enzimático. O sistema enzimático é constituído pelas enzimas geradas pelo próprio organismo, enquanto o não-enzimático é composto pelo grupo de vitaminas, as quais são adquiridas através da dieta alimentar (CRUZ et al., 2017).

Os antioxidantes presentes nos alimentos, apresentam baixo peso molecular, que através da ingestão destes, tornam-se capazes de auxiliarem as enzimas no processo de deterioração dos radicais, afim de reconstituir as membranas celulares danificadas (VASCONCELOS et al., 2014).

A espécie escolhida na presente pesquisa é a *Annona muricata* L. pertencente ao gênero *Annona*, popularmente conhecida como graviola, destacando predominância nos estados do Nordeste (Bahia, Ceará, Pernambuco e Alagoas). É uma espécie que apresenta propriedades medicinais tais como: anti-cancerígena, antibacteriana, antitumoral, anti-reumática, anti-inflamatória, calmante, diurética, inseticida, efeito imunossupressor, antiparasitário e entre outras ações. Além de ser indicada para disenteria, edema, febre, gripe, tosse, hipertensão, dor, emagrecimento, vermes intestinais, rins e etc (BENTO et al., 2016).

O presente trabalho teve como objetivo investigar as propriedades antioxidantes da *A. muricata* (folha e casca do caule), qualificando-as por meio da atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila-DPPH e através do método Folin-Ciocalteu.

Metodologia:

Método para análise quantitativa método DPPH

Houve a pesagem de 0,0025g do extrato etanólico vegetal, diluindo-o em 25ml de etanol. Essa mesma amostra foi dividida em seis béqueres de concentrações de 5, 10, 50, 125, 250 e 500µg/mL.

O teste ocorreu em triplicata, adicionando-se 1,0 mL de DPPH 0,3 Mm em etanol a 2,5 mL de solução da amostra, nas respectivas concentrações. Enquanto nos brancos (triplicata) adicionou-se 1,0 mL de etanol

mais a 2,5 mL de solução da amostra e para fazer o controle negativo, adicionou-se 1,0 mL de solução de DPPH 0,3 mM e 2,5 mL. Após o preparo das concentrações, as mesmas ficaram sem na ausência de luz, por 30 minutos. Após esse período, foram realizadas as leituras de absorbância em um espectrofotômetro UV-VIS no comprimento de onda igual 518nm. Os valores foram convertidos em atividade antioxidante, por meio da seguinte fórmula: $AAO\% = 100 - \frac{[ABSA - ABSB] \times 100}{ABSC}$ (MENSOR, 2001).

Os valores de AAO% e das concentrações foram relacionados utilizando o programa "Excel for Windows", obtendo-se, para cada planta, a equação da reta. A resolução desta equação (substituindo o valor de Y por 50) resultou no valor de CE₅₀, que é a concentração necessária para produzir metade (50%) de um efeito máximo estimado em 100% para o extrato da planta.

Teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu

Pesou-se 100mg de extrato etanólico e dissolução em metanol, transferindo-o para o balão volumétrico de 100mL, sendo completado o volume com metanol. Foi transferido para um balão volumétrico de 50mL, uma alíquota 7,5 ml, de modo que esta segunda solução teve seu volume completado também com metanol.

Em frasco âmbar adicionou-se uma alíquota de 100µL de extrato vegetal mais 500µL de Folin e 1ml de água destilada, todo o teste em triplicata, em seguida foram agitadas em um vortex por um minuto, logo após adicionou-se 2 mL de Na₂CO₃ A 15% e foi novamente agitado no vortex, por 30 segundos, sendo completado o volume em seguida, com 10 mL de água destilada. As concentrações ficaram no escuro por duas horas, após o tempo percorrido, realizou-se a leitura em um espectrofotômetro UV-Vis com o comprimento de onda de 750nm. Sendo zerado antes da leitura com o controle (branco), o qual conteve MeOH e todos os reagente, exceto o extrato vegetal.

Para a curva de calibração de ácido gálico, pesou-se 0,01g ácido gálico e em seguida foi diluído em 2 mL de MeOH. As diluições tiveram a mesma ordem que as de concentrações, sendo todas em triplicata para se obter a média e da absorbância para a construção da curva de calibração. A equação da curva de calibração do ácido gálico foi obtida pelo programa Excel for Windows.

Resultados e Discussão:

Resultados obtidos na análise quantitativa

Através do método de captura do radical livre DPPH, foi possível quantificar a atividade antioxidante percentual dos extratos etanólicos da espécie *A. muricata* (casca do caule e folha), a qual apresentou capacidade sequestradora do radical DPPH, tanto por parte da folha como da casca do caule, onde o R² da folha demonstrou um valor de 0,913, enquanto o R² da casca do caule foi de 0,816, evidenciando-se que os valores do R² da espécie *A. muricata* indicou uma ótima reprodutibilidade, por está acima de 0,8.

O resultado da amostra das folhas da espécie *A. muricata* foi considerado satisfatório, apesar de não ter alcançado 50% de atividade em sua maior concentração (500 µg/mL), a qual apresentou 27,21% de atividade antioxidante, porém foi um resultado superior ao compará-lo com o de Spera (2014), o qual obteve apenas no extrato etanólico da mesma parte e espécie pesquisada, uma atividade de 6,52%. Enquanto, a casca do caule da *A. muricata* apresentou uma excelente atividade de 41,79%, em sua concentração de 125 µg/mL, chegando a atingir em sua maior concentração (500µg/mL) um potencial antioxidante superior a 50% de atividade, de 70,51%.

Quantificação do teor de fenóis totais

Por meio do método Folin-ciocalteu e da análise espectrofotométrica, foi possível determinar o teor de fenóis totais do extrato vegetal *A. muricata*. onde foi construída uma curva de calibração de ácido gálico contra a interpolação das absorbâncias das amostras, obtendo-se a identificação de fenóis totais nas folhas de 0,376 mg/EAG de extrato, enquanto a casca da espécie *A. muricata* apresentou um ter de fenóis de 0,385 mg/EAG de extrato.

Conclusões:

Portanto, a espécie vegetal analisada foi a *Annona muricata* L. a qual apresentou uma excelente atividade antioxidante na captura do radical livre DPPH, obtendo resultados de seu R² superior a 0,8. Destacando o resultado da casca do caule da respectiva espécie, a qual teve uma atividade superior a 50% em sua concentração de 500µg/mL (70,51%). Além de apresentar um expressivo resultado na quantificação de fenóis totais, espécie que por ventura poderá apresentar sua contribuição nas indústrias farmacológicas, basta ter um incentivo maior para futuras investigações analíticas.

Referências bibliográficas

SILVA, W. J. M.; FERRARI, C. K. B. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol**, v. 14, n. 3, p. 441-451, 2011.

VASCONCELOS, T. B.; et al. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 16, n. 3, p. 213-9, 2014.

CRUZ, R. M; et al. Consumo de antioxidantes para práticas de exercícios físicos. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 5, p.199-202, 2017.

SANTANA, E. V. N.; et al. Potencial hipoglicemiante das plantas medicinais comercializadas na cidade de campina grande-: abordagens popular e científica. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 107-113, 2010.

BENTO, E. B.; et al. Estudo etnofarmacológico comparativo na região do Araripe da *Annona muricata* L. (Graviola). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 1, p. 9-19, 2016.

SPERA, K. D. **Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicação dos extratos de folhas e frutos de espécies da família annonaceae**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de mestre em Biociências (Área de conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica), Assis, 2014.