

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO
TOTAL DE FENÓIS E FLAVONÓIDES DAS FOLHAS DE *GARCINIA BRASILIENSIS***

FLÁVIA VIANA SANTA-CECILIA¹, LISSARA APARECIDA DE SOUZA FREITAS², CLAUDIA
QUINTINO DA ROCHA³, CLARICE DE CARVALHO VELOSO⁴, MARCELO HENRIQUE DOS
SANTOS⁵

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a atividade antioxidante do extrato etanólico da espécie *Garcinia brasiliensis*, popularmente conhecida como “bacuri”, nativa da região amazônica e cultivada em todo o território brasileiro, através de vários modelos *in vitro* como atividade seqüestrante de radicais DPPH, poder redutor e determinação do conteúdo de compostos fenólicos e flavonóides totais. A porcentagem de atividade seqüestrante máxima do extrato etanólico na dose de 200 µg/mL no ensaio de DPPH foi de 89% com um IC₅₀ de 24 µg/mL. O extrato na dose de 3,125µg/mL também apresentou um alto poder redutor de 81% comparado com o padrão de ácido ascórbico (100%), apresentando IC₅₀ de 23 µg/mL. A quantidade de fenólicos totais no extrato foi de 355 mg de ácido gálico / g de extrato e a quantidade de flavonóides totais foi de 242 mg de quercetina/ g de extrato. O extrato etanólico das folhas de *G. brasiliensis* apresentou significativa atividade antioxidante em estudos *in vitro*, podendo representar uma nova fonte no desenvolvimento de antioxidantes naturais.

Palavras-chaves: *Garcinia brasiliensis*, DPPH, poder redutor, fenóis, flavonóides.

INTRODUÇÃO

Processos oxidativos são parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. No organismo, encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. No entanto, seu excesso apresenta efeitos prejudiciais, tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA. Os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas que atualmente tem conquistado um grande espaço na pesquisa científica (FILHO, 1998). Entre esses estudos estão a pesquisa pela atividade antioxidante de extratos e compostos isolados, justificados pelo número de patologias em que radicais livres estão envolvidos tais como diabetes, câncer, artrite reumatóide, algumas doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, como mal de Alzheimer e Parkinson, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (BARREIROS et al, 2006; BARROS et al, 2006). Os antioxidantes atuam de diversas formas impedindo a formação de radicais livres e exercem uma importante função no controle de algumas doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Assim sendo, a pesquisa de antioxidantes de origem natural, principalmente daqueles isolados de plantas medicinais tem despertado grande atenção por parte dos pesquisadores e vem se desenvolvendo muito nos últimos anos. A espécie *Garcinia brasiliensis*, popularmente conhecida como “bacuri”, é nativa da região amazônica e cultivada em todo o território brasileiro. Na medicina popular as folhas são usadas no tratamento de feridas, úlcera gástrica e infecção urinária (CORREA, 1978). Neste trabalho procurou-se determinar a atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *G.*

¹ Mestranda em Ciências Farmacêuticas, UNIFAL-MG, flascecilia@hotmail.com

² Bolsista de Iniciação Científica em Química, UNIFAL-MG, lissaratgp@hotmail.com

³ Doutoranda em Química, UNESP, claudiaqrocha@hotmail.com

⁴ Mestranda em Ciências Farmacêuticas, UNIFAL-MG, claricevel@hotmail.com

⁵ Professor Adjunto, UNIFAL-MG, marcelo_hs@yahoo.com.br

brasiliensis através dos ensaios *in vitro* de: poder redutor, poder sequestrante de DPPH e determinação do conteúdo de fenólicos e flavonóides totais.

MATERIAL E MÉTODOS

1) Coleta e obtenção do extrato

As folhas de *G. brasiliensis* foram coletadas na Universidade Federal de Viçosa-MG, secas à temperatura ambiente, moídas e em seguida, submetidas à extração em temperatura ambiente com etanol. Após a remoção do solvente o extrato foi liofilizado. A partir deste extrato realizou-se os testes para avaliação da atividade antioxidante.

2) Teste do radical DPPH

A medida da atividade sequestrante de radicais DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Yen et al. 2005. Adicionaram-se 4,0 mL da solução das amostras a serem testadas a 1,0 mL de solução do radical DPPH (0,5 mM). A mistura foi agitada vigorosamente e mantida em repouso, sob proteção de luz, por 30 minutos. Logo após, foram lidas as absorbâncias a 517 nm em espectrofotômetro UV/Vis. O cálculo da capacidade sequestrante (CS) seguiu a equação $\% CS = \frac{A_{\text{controle negativo}} - A_{\text{amostra}} \times 100}{A_{\text{controle negativo}}}$. O controle positivo utilizado foi o ácido ascórbico.

3) Teste do poder redutor

A medida do poder redutor foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Yildirim et al. 2001. A uma alíquota de 1,0 mL da amostra foi adicionado: 2,5 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 2,5 mL de $K_3[Fe(CN)_6]$ (1%). A mistura foi incubada em banho-maria a 50°C por 30 minutos. Uma porção de 2,5 mL de ácido tricloroacético (10%) foi adicionada à solução no tubo de ensaio, com posterior agitação. Em seguida, centrifugar-se-á a solução a 3000 por 10 min. Uma quantidade de 2,5 mL da mistura foi pipetada e transferida para outro tubo de ensaio, no qual foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de $FeCl_3$ (0,1%). A leitura da absorbância foi realizada a 700 nm em espectrofotômetro UV/Vis. O controle positivo utilizado foi o ácido ascórbico.

4) Determinação dos compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenóis totais foi determinada utilizando a técnica de Folin-Ciocalteu et al. 1927. Em 0,5 mL das amostras foram adicionados 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu 10% e 2 mL Na_2CO_3 4%. Após 2 hs de incubação a 25 ° C, a absorbância foi medida em 750 nm e comparada com uma curva de calibração de ácido gálico. Os compostos fenólicos totais foram determinados como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico / g de extrato) e os valores foram apresentados como média de análise em triplicata.

5) Determinação de flavonóides totais

O teor de flavonóides totais foi determinada por Kalia et al. 2008. Em 0,5 mL das amostras foram adicionados 1,5 mL de etanol, 0,1 ml de $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 10% e 0,1 mL de acetato de potássio 1M e o volume foi completado para 5,0 mL com H_2O . Após 30 min, realizou-se a leitura a 425 nm e comparada com uma curva de calibração de quercetina. Os compostos flavonóides foram determinados como equivalentes de quercetina (mg de quercetina / g de extrato) e os valores foram apresentados como média de análise em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem de atividade seqüestrante máxima do extrato etanólico (200 µg/mL) no ensaio de DPPH foi de 89% (figura 1), um resultado significativo, comparado com o padrão de ácido ascórbico (96%), sendo que 24 µg/mL é a concentração do extrato necessária para atingir 50% de atividade seqüestrante de radicais DPPH (IC₅₀).

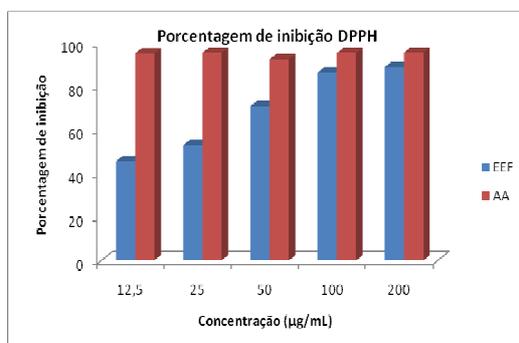


Figura 1- Porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato etanólico das folhas de *G. brasiliensis* (EEF) e pelo padrão ácido ascórbico (AA).

O extrato (3,125µg/mL) também apresentou um alto poder redutor (81%) de acordo com o padrão de ácido ascórbico (100%) (figura 2), sendo que 23 µg/mL é a concentração do extrato necessária para atingir 50% do poder redutor dos constituintes químicos (IC₅₀), indicando sua habilidade em doar elétrons e reagir com radicais livres para convertê-los a produtos mais estáveis.

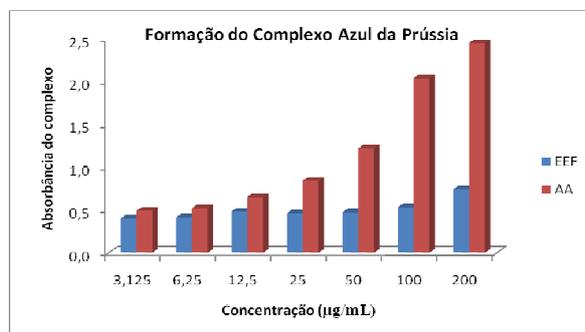


Figura 2- Poder redutor do extrato etanólico das folhas de *G. brasiliensis* (EEF) e do padrão ácido ascórbico (AA).

A quantidade de fenólicos totais no extrato foi de 355 mg de ácido gálico / g de extrato. A atividade antioxidante desses compostos é principalmente devido as suas propriedades redutoras e estrutura. A quantidade de flavonóides totais foi de 242 mg de quercetina/ g de extrato, revelando um importante papel na saúde humana ao minimizar a peroxidação lipídica e o efeito dos radicais livres.

CONCLUSÃO

O extrato etanólico das folhas de *G. brasiliensis* apresentou significativa atividade antioxidante em estudos *in vitro*, sugerindo atuação como seqüestrante ou por meio da redução de radicais livres, o que pode contribuir para prevenção ou redução do desenvolvimento de patologias associadas ao estresse oxidativo. Assim, o extrato ou seus componentes químicos isolados poderão representar uma nova fonte no desenvolvimento de antioxidantes naturais.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e a defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.113-123, jan./fev. 2006.

BARROS, M. P.; BRIGAGAO, R. P. L.; MATTEI, R. Métodos de avaliação da capacidade antioxidante de princípios ativos aplicados na profilaxia de doenças neurodegenerativas In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 21, p.237-261.2006.

CORREA, M. P., Dicionário das Plantas Úteis do Brasil. **Imprensa Nacional**, 232, 1926-1978.

FILHO, V. C. Estratégias para Obtenção de Compostos Farmocologicamente Ativos a partir de Plantas Mediciniais. Conceitos sobre Modificação Estrutural para Otimização da Atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, 1998.

FOLIN, C.; CIOCALTEU, V. Tyrosine and tryptophan determination in proteins. **J Biol Chem**, v.73, p.627-650, 1927.

KALIA, K.; SHARMA K.; SINGH H. P.; SINGH B. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 56, 10129-10134. 2008.

YEN, W. J. et al. Antioxidant properties of roasted coffee residues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 7, p. 2658- 2663. 2005.

YILDIRIM, A., M. OKTAY AND V. BILALOGLU. The antioxidant activity of the leaves of *Cydonia vulgaris*. **Turk. J. Med. Sci.**, 31, 23-27. 2001.