

TEOR DE FENÓIS TOTAIS E PROPRIEDADE SEQUESTRANTE DE RADICAIS LIVRES DE *LACISTEMA PUBESCENS*

Josiane Mello da Silva¹, Renata de Freitas Mendes¹, Jéssica Leiras Mota Conegundes¹, Elita Scio¹

¹Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Bioquímica, ICB, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora

Resumo

Este estudo teve como objetivos avaliar o potencial antioxidante e determinar o teor de fenóis totais do extrato bruto metanólico e das partições hexânica, diclorometânica, em acetato de etila e hidrometanólica das folhas de *Lacistema pubescens*. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método do DPPH e todas as amostras foram efetivas em sequestrar o radical livre. A partição hidrometanólica foi a que apresentou a melhor atividade antioxidante e também o maior conteúdo de substâncias fenólicas. Estas, portanto, parecem ser as responsáveis pela atividade encontrada.

Palavras-chave: DPPH, fenóis totais, radicais livres

Introdução

Como parte de um programa que visa a bioprospecção da flora regional de Juiz de Fora – MG, a espécie *Lacistema pubescens*, família Lacistemataceae, foi submetida a vários ensaios biológicos. Considerando a possibilidade de contribuir para ampliar o conhecimento das propriedades farmacológicas desta espécie, objetivou-se avaliar *in vitro* seu potencial antioxidante e determinar os teores de fenóis totais.

Material e Métodos

As folhas secas (375 g) foram moídas e maceradas com metanol por cinco dias à temperatura ambiente. O extrato bruto metanólico (EBM), após remoção do solvente, foi ressuscitado em metanol-água (MeOH-H₂O 8:2) e particionado com hexano (PHEX), diclorometano (PDCM) e acetato de etila (PAcOEt). A partição remanescente foi denominada hidrometanólica (PHM). Todas as amostras foram concentradas utilizando um evaporador rotatório sob pressão reduzida e mantidas em frascos hermeticamente fechados sob refrigeração. O conteúdo de substâncias fenólicas em cada amostra foi determinado pelo método de Folin-Denis (DUH; YEN, 1997). Ácido tânico foi utilizado como padrão para a curva de calibração e os resultados foram expressos em mg/g de extrato em equivalentes de ácido tânico (EAT). A atividade antioxidante de radicais 2,2-difenil-1-picrilidrazina (DPPH) foi determinada de acordo com o método de Brand-Williams (GOVINDARAJAN et al., 2003). Ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo nas mesmas concentrações da amostra. Os resultados foram expressos em CI50, que é a concentração da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH, calculado pelo programa estatístico Grafit5.

Resultados e Discussão

O teor de fenóis e flavonoides e a atividade antioxidante utilizando o ensaio com o DPPH do EBM e partições das folhas de *L. pubescens* encontram-se na Tabela 1.

A formação de radicais livres é uma ação contínua e fisiológica, que desempenha funções biológicas essenciais no organismo (OKEZIE, 1998). Entretanto, seu excesso apresenta inúmeros efeitos prejudiciais, como peroxidação dos lipídeos de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, aos carboidratos e às moléculas de DNA. Desta forma, os radicais livres encontram-se relacionados com várias patologias, tais como: artrite, doenças cardíacas, catarata, disfunções cognitivas, câncer, AIDS, dentre outras, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (HUSAIN; CILLARD; CILLARD, 1987; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Pesquisas recentes mostraram que extratos de plantas podem exercer ação antioxidante sendo indicados para atenuar ou prevenir os efeitos deletérios do estresse oxidativo celular (BALESTRIN et al., 2008; RODRÍGUEZ et al., 2008). Dessa forma, existe um crescente interesse na busca de espécies vegetais que possam atuar no combate aos radicais livres.

Para avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método do DPPH, um teste colorimétrico, realizado em comprimento de onda de 515 nm. Após a adição do antioxidante, produz-se uma diminuição da absorvância pela redução dos antioxidantes devido à habilidade das substâncias antioxidantes em transferirem átomos de hidrogênio para os radicais DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Ao avaliar a capacidade de sequestrar o radical DPPH, pôde-se constatar que, comparados à substância de referência, o ácido ascórbico (CI₅₀ 1,5 µg/ml), os valores de CI₅₀ mais expressivos foram encontrados para PAcOEt (8,9 µg/ml) e PHM (1,8 µg/ml), ou seja, substâncias presentes nas partições com polaridade maior contribuíram mais para a capacidade sequestrante do radical DPPH. É importante ressaltar que a PHM apresentou um valor estatisticamente igual ao controle positivo do experimento, uma substância pura amplamente utilizada na medicina. Também uma relação entre a atividade antioxidante e a concentração de substâncias fenólicas pôde ser constatada, uma vez que a partição mais polar (PHM) foi a que apresentou os maiores teores de substâncias fenólicas e a que melhor sequestrou o radical DPPH. É sabido que antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais livres e, algumas vezes, como quelantes de metais (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

Tabela 1
Atividade antioxidante (DPPH) e teor de fenóis totais e flavonoides de *L. pubescens*

Amostras	DPPH CI ₅₀ (µg/mL) ^a	Fenóis totais (EAT em mg/g de extrato) ^a
EBM	14,3 ± 0,9	69,38 ± 0,3
PHEX	24,2 ± 1,1	66,53 ± 0,8
PDCM	14,6 ± 0,4	169,38 ± 0,5
PAcOEt	8,9 ± 0,1	123,36 ± 0,5
PHM	1,8 ± 0,8	283,61 ± 0,9
Ácido Ascórbico ^b	1,5 ± 0,1	

^aMédia dos resultados em triplicata ± desvio padrão; ^bsubstância de referência

Conclusão

L. pubescens apresentou um grande potencial antioxidante em processos envolvendo o sequestro de radicais livres, particularmente a partição mais polar (PHM), sendo possivelmente as substâncias fenólicas as responsáveis pela atividade encontrada. Cabe-se ressaltar que este é o primeiro relato de estudos químicos e biológicos para a espécie *L. pubescens*, a qual representa uma fonte promissora de fitoantioxidantes.

Referências

BALESTRIN, L. et al. 2008. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multiformis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, **18**(2): 230-235.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, **29**(1):113-126.

BRAND-WILLIAMNS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss Technology**, **28**(1): 28-30.

DUH, P. D.; YEN, G. C. 1997. Antioxidative activity of three herbal water extracts. **Food Chemistry**, **60** (1): 639-645.

GOVINDARAJAN, R. et al. 2003. Studies on the antioxidant activities of *desmodium gangeticum*, **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, **26**(10): 1424–1427.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of Flavonoids. **Phytochemistry**, **26**(9): 2489-2491.

OKEZIE, I. A. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. 1998. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, **75**(2): 199-212.

RODRÍGUEZ, M. et al. 2008. Antidiabetic and antiradical activities of plants from Venezuelan Amazon. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, **18**(3): 331-338.

SHAHIDI, F., JANITHA, P. K., WANASUNDARA, P. D. 1992. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, **32**(1): 67-103.