



15° Congresso de Iniciação Científica

ESTUDO DA AÇÃO DE EXTRATOS DE GRAVIOLA (ANNONA MURICATA) SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉLULAS SADIAS E LINHAGENS TUMORAIS

Autor(es)

RENATA DÉDALO RIBEIRÃO DE FREITAS

Orientador(es)

Sandra Maria Boscolo Brienza

Apoio Financeiro

FAPIC

Evento

Inúmeras pesquisas têm relacionado os radicais livres como fator de grande importância em processos fisiopatológicos como câncer, lesões auto imunes, processos inflamatórios, doenças cardiovasculares, processos neurodegenerativos, doença de Parkinson, mal de Alzheimer entre outros (HALLIWELL & GUTERIDGGE, 1989; ARUOMA, 2003). Os organismos aeróbios possuem defesas antioxidantes que visam compensar os efeitos deletérios associados à constante formação dessas espécies reativas de oxigênio oriundas da presença e utilização do oxigênio nos seus tecidos (WILHELM FILHO et al., 2001). Além da proteção endógena contra o estresse oxidativo, a inclusão de antioxidantes vindos da dieta é de extrema importância, uma vez que o consumo de frutas e vegetais está relacionado com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres (POMPELLA, 1997). A atividade antioxidante dos vegetais deve-se a presença de compostos fenólicos, especialmente os flavonóides. Estudos revelam que uma dieta rica em polifenóis previne uma série de doenças. O interesse pelos antioxidantes naturais teve início diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT, BHA e t-BHQ (t-butil hidroquinona) sobre o peso do fígado e marcada proliferação do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN & PADILLA, 1993). Pesquisas indicam que a graviola possui um novo grupo de fitoquímicos denominados acetogeninas anonáceas. As acetogeninas anonáceas atuam através da depleção dos níveis de ATP ao inibir o complexo I na cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias, e inibindo a NADH oxidase do plasma de membranas principalmente de células tumorais (ALALI et al., 1999) uma vez que essas células possuem uma alta demanda de ATP (ZAFRA-POLO et al., 1996).

1. Introdução

Inúmeras pesquisas têm relacionado os radicais livres como fator de grande importância em processos fisiopatológicos como câncer, lesões auto imunes, processos inflamatórios, doenças cardiovasculares, processos neurodegenerativos, doença de Parkinson, mal de Alzheimer entre outros (HALLIWELL & GUTERIDGGE, 1989; ARUOMA, 2003). Os organismos aeróbios possuem defesas antioxidantes que visam compensar os efeitos deletérios associados à constante formação dessas espécies reativas de oxigênio oriundas da presença e utilização do oxigênio nos seus tecidos (WILHELM FILHO et al., 2001). Além da proteção endógena contra o estresse oxidativo, a inclusão de antioxidantes vindos da dieta é de extrema importância, uma vez que o consumo de frutas e vegetais está relacionado com a diminuição do risco do desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres (POMPELLA, 1997). A atividade antioxidante dos vegetais deve-se a presença de compostos fenólicos, especialmente os flavonóides. Estudos revelam que uma dieta rica em polifenóis previne uma série de doenças. O interesse pelos antioxidantes naturais teve início diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT, BHA e t-BHQ (t-butil hidroquinona) sobre o peso do fígado e marcada proliferação do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN & PADILLA, 1993). Pesquisas indicam que a graviola possui um novo grupo de fitoquímicos denominados acetogeninas anonáceas. As acetogeninas anonáceas atuam através da depleção dos níveis de ATP ao inibir o complexo I na cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias, e inibindo a NADH oxidase do plasma de membranas principalmente de células tumorais (ALALI et al., 1999) uma vez que essas células possuem uma alta demanda de ATP (ZAFRA-POLO et al., 1996).

2. Objetivos

Os objetivos específicos desse trabalho foram avaliar a capacidade antioxidante das frações isoladas dos extratos de graviola utilizando diferentes mecanismos de geração de radicais e técnicas que possibilitem caracterizar o mecanismo da capacidade antioxidante, tais como: determinação do conteúdo fenólico total; determinação do conteúdo flavonóides totais; determinação da decomposição do radical de DPPH e avaliação da potência redutora.

3. Desenvolvimento

Utilizaram-se a fração hidroalcoólica do extrato das folhas de graviola em concentrações distintas (dependendo do experimento realizado). 3.1 Determinação do conteúdo fenólico total: Determinou-se o conteúdo de compostos fenólicos através do reagente de Folin-Ciocalteu, como o equivalente em ácido gálico e a absorbância foi determinada a 725 nm. 3.2. Determinação do conteúdo de flavonóides totais. Determinou-se com a fixação com o cloreto de alumínio, utilizou-se a rutina como padrão e a quercetina. A absorbância foi determinada a 510 nm. 3.3. Cinética de decomposição do DPPH. Para o extrato hidroalcoólico de folhas de graviola o valor obtido de EC50 (concentração do extrato onde ocorre 50% da diminuição do DPPH) é de 2,0 mg/mL. O valor de EC50 calculado para o TROLOX é de 25 mg/ml, antioxidante clássico. O valor de EC50 é inversamente relacionado à capacidade antioxidante de um composto ou extrato. O EC50 obtido para o extrato (2,0 mg/mL) caracteriza um baixo potencial antioxidante quando comparado com o TROLOX (25 mg/mL ou 0,025 mg/mL). 3.6 Capacidade Redutora do Ferro: Em diferentes alíquotas do extrato da graviola, foram adicionados 0,5 mL de tampão fosfato 0,2 M pH 6,6 e ferrocianeto de potássio [K₂Fe(CN)₆] 1%. A mistura foi incubada por 20 minutos à 50°C. Após incubação, foi adicionado 0,5 mL de TCA 10% e a mistura foi centrifugada por 5 minutos em baixa velocidade (3000 rpm). Para leitura, retirou-se o sobrenadante da mistura (0,5 mL), adicionou-se 0,5 mL de água destilada mais 100 µL de FeCl₃ a 0,1%. A absorbância foi determinada a 700nm.

4. Resultados

Na determinação do conteúdo fenólico total observou-se que a concentração de 1,0 mg/mL apresentou 0,143 mg/mL de compostos fenólicos, o que representa cerca de 14%. Na determinação do conteúdo de

flavonóides totais utilizou-se os tipos rutina e quercetina. Apresentou 2,3% de flavonóides do tipo rutina, porém teve presença quase insignificante de flavonóides do tipo quercetina. DPPH é realizada através de medidas espectrofotométricas do consumo do radical, na presença de substâncias antioxidantes. Essa metodologia permite avaliar a capacidade dos componentes do extrato em doar elétrons ou hidrogênios, agindo portanto como antioxidantes. O valor baixo do EC50 observado demonstra um baixo potencial para doação de hidrogênios ou elétrons. Para confirmar esse processo foi avaliada a potência redutora do extrato. O extrato hidroalcoólico apresentou ainda capacidade redutora, ou seja capacidade relativa de doar elétrons significativa, mesmo em baixas concentrações.

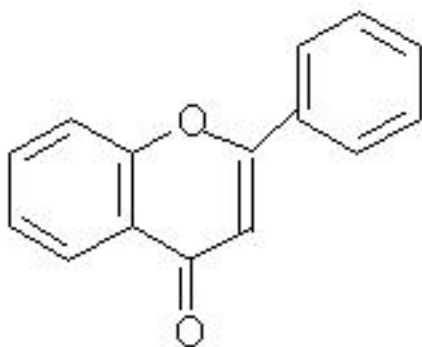
5. Considerações Finais

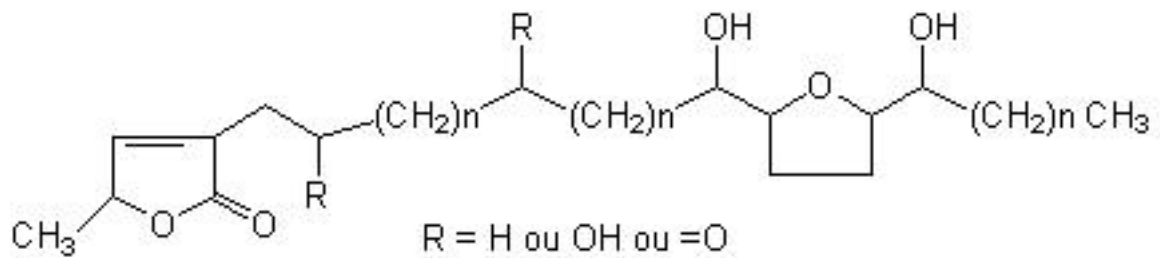
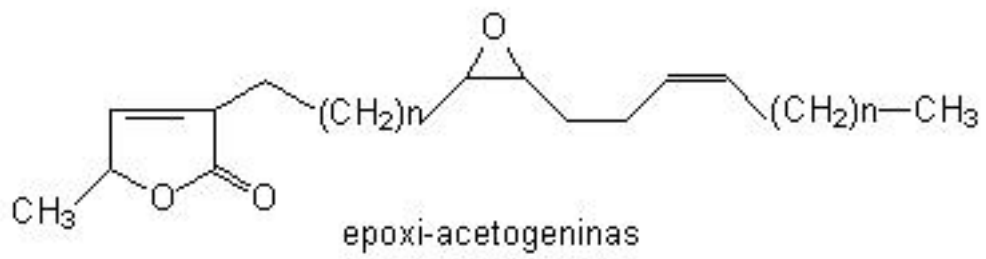
Dessa forma, pode-se concluir que o mecanismo pelo qual os principais componentes do extrato hidroalcoólico de folhas de graviola atuam como antioxidante é doando elétrons. O mecanismo antioxidante bem caracterizado de redução dos radicais livres formados pela doação de hidrogênios é uma característica dos flavonóides e como o extrato apresentou uma quantidade muito pequena desses compostos (2,3%) pode-se concluir que os principais componentes do extrato de graviola, que são as acetogeninas não atuam como antioxidantes pela doação de hidrogênios.

Referências Bibliográficas

ALALI, F. Q. et al. Annonaceous acetogenins: recent progress. *J. Nat. Prod.* 62 (3):504-540, 1999.
ARUOMA, O.I. Methodological considerations for characterizing potencial antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research.* 523-524: 9-20, 2003.
DURÁN, R.M.; PADILLA, R.B. Actividad antioxidant de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites.*, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.
HALLIWELL, B & GUTTERIDGE. *Free radicals in biology and medicine.* New York: Oxford University. 1999.
POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *International Journal of vitamin and nutrition Research.*,67(5): 289-297, 1997.
WILHELM FILHO, D. et al. Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: Importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R. A., CALIXTO, J. B. (editores). *Plantas Mediciniais: sob a ótica da química medicinal moderna.* Argos Editora. p. 319-334, 2001.

Anexos





SOLAMINA - mono THF acetogenina dihidroxilada