

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO E FRAÇÕES APOLARES DAS FLORES DE *Leandra aurea*

Karen Lorraine Oliveira Cruz (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Mirelli Bianchin (Co-Orientadora), Silvana Maria de Oliveira (Orientadora), e-mail: smoliveira@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá /Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra 10000003 - Químicas Dos Produtos Naturais 10601058

Palavras-chave: Antioxidante, fenólicos, Melastomataceae.

Resumo

Esse trabalho teve como objetivo determinar os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais, e investigar o potencial antioxidante do extrato bruto (EB) e das frações apolares das flores de *Leandra aurea* utilizando os métodos DPPH, ABTS e de redução do ferro (FRAP). O EB apresentou 425,10±6,65 mg de EAG/g de fenólicos totais e 89,13±1,45 mg de EQ/g de flavonoides totais e também exibiu maior capacidade em capturar os radicais DPPH e ABTS que as ambas as frações. Entre as frações não houve diferença estatística ($p>0,05$), porém a fração hexânica apresentou maior teor de flavonoides totais (74%) e a fração clorofórmica apresentou 31% mais compostos fenólicos.

Introdução

Os antioxidantes possuem um papel fundamental na saúde e têm sido alvo de diversos estudos por estarem associados a diminuição do desenvolvimento de doenças e processos degenerativos, como câncer. Nesse cenário as plantas apresentam-se como excelente fonte dessas biosubstâncias. Diversos estudos revelaram o potencial químico da família Melastomataceae (CUNHA et al., 2019), porém muitas espécies permanecem pouco exploradas quimicamente, incluindo *Leandra aurea*. Esta espécie foi recentemente reclassificada como *Miconia auricoma* (MICHELANGELO et al., 2019). Para *L. aurea*, até o momento não há relatos de estudos químicos e farmacológicos. Em trabalho anterior de nosso grupo de pesquisa, relatamos o isolamento de substâncias com promissora atividade biológica, como a flavanona mateucinol, e os triterpenos 3-*epi* ursólico e pomólico, além da atividade antiproliferativa frente a células tumorais humanas do extrato e frações apolares. Considerando o interesse crescente por substâncias naturais antioxidantes, esse trabalho visou avaliar o potencial antioxidante e determinar os teores de flavonoides e compostos fenólicos do extrato bruto e das frações apolares das flores de *L. aurea*.

Materiais e métodos

- **Preparo e fracionamento do extrato bruto:** A espécie *L. aurea* foi coletada no Parque Estadual do Guartelá (Tibagi-PR). As flores, previamente secas e moídas (150 g), foram submetidas à maceração com metanol (9 vezes de 1 L) para a obtenção do extrato bruto (EB- 41,85 g). Parte do EB (37,30 g) foi solubilizado em MeOH:H₂O (1:1) e particionado com solventes orgânicos de diferentes polaridades. Deste processo foram obtidas as frações hexânica (FH- 2,08 g), clorofórmica (FC- 2,44 g), acetato de etila (FAC- 7,05 g) e a remanescente hidrometanólica (FHM- 25,53 g).

- **Teor de compostos fenólicos e flavonoides totais:** Para o EB e frações FC e FH, os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999) utilizando ácido gálico como padrão, e através do método colorimétrico com cloreto de alumínio (PARK et al., 1995), respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g de amostra) e miligrama de equivalente de quercetina (mg EQ/ g de amostra).

- **Determinação da atividade antioxidante in vitro:** O potencial antioxidante do EB e frações foi determinado utilizando uma combinação dos métodos: captura do radical DPPH (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) e ABTS (RE et al., 1999) e redução do ferro pelo ensaio de FRAP (KUKIC et al., 2008).

- **Análises estatísticas:** Os dados obtidos foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e pelo teste de Tukey com nível de significância de 95% ($p < 0,05$) utilizando o software Statistica™ 7 (Statsoft, Tulsa, EUA).

Resultados e discussão

O extrato bruto das flores de *Leandra aurea* (EB), a fração hexânica (FH) e clorofórmica (FC) foram avaliados quanto ao potencial antioxidante por diferentes métodos e os resultados estão expostos na Tabela 1.

Tabela 1- Atividade antioxidante do EB e frações FH e FC de *L. aurea*.

Atividade antioxidante		EB	FH	FC
Fenólicos totais (mg de EAG/g)		425,10±6,65 ^a	114,01±13,75 ^b	166,20±8,27 ^c
Flavonoides totais (mg de EQ/g)		89,13±1,45 ^a	42,74±0,58 ^b	24,78±0,97 ^c
DPPH	IC ₅₀ (µg/mL)	44,86±1,03	-	-
	%AA	89,09±1,13	-	-
	(µmol de TEAC/g)	5739,40±10,40 ^a	968,2±3,8 ^b	828,3±2,3 ^c
ABTS (µmol de TEAC/g)		4699,43±128,94 ^a	1248,36±15,23 ^b	1216,69±33,95 ^b
FRAP (mmol de Fe ²⁺ /g)		112,87±6,20 ^a	48,94±2,92 ^b	44,64±1,35 ^b

EAG: Equivalente em ácido gálico; EQ: Equivalente em quercetina; TEAC: Equivalente ao Trolox; FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power, IC₅₀: quantidade necessária de amostra para reduzir 50% da atividade do radical, AA%: porcentagem de inibição da atividade antioxidante. Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). EB: Extrato bruto; FH: fração hexânica; FC: fração clorofórmica.

O extrato bruto das flores de *L. aurea* apresentou maior teor de fenólicos totais (425,10 ± 6,65 mg de EAG/g) e flavonoides totais (89,13±1,45 mg de EQ/ g) comparado as frações (Tabela 1). Entre as frações, elas diferiram

estatisticamente entre si ($p < 0,05$) no teor de compostos fenólicos totais e no teor de flavonoides totais, sendo que FC apresentou aproximadamente 31% mais fenólicos que FH. Entretanto FH apresentou superioridade no teor de flavonoides (74%). Em comparação aos estudos com espécies do mesmo gênero, o teor de fenólicos totais para o EB foi superior ao do extrato das folhas de *M. albicans* ($70,04 \pm 0,12$ mg EAG/ g de extrato) (PIERONI et al., 2011). O EB apresentou IC_{50} de $44,86 \mu\text{g/mL}$, resultado semelhante ao relatado por Pieroni (2011) para folhas de *M. albicans* ($49,45 \mu\text{g/mL}$) e AA% de $89,09 \pm 1,13\%$, estabelecendo-o como um forte antioxidante de acordo com a classificação de Melo et al. (2008). Nos ensaios utilizando o radical DPPH, a FH apresentou maior capacidade de capturar esse radical que FC ($p < 0,05$), porém o extrato bruto (EB) exibiu valores 6 vezes maiores do que FH. A superioridade do potencial antioxidante do EB em relação às frações também foi observada no ensaio de FRAP. EB exibiu uma capacidade de quelar o ferro 58% maior que FH e FC. As frações diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$) nesse e no ensaio de ABTS. A diferença na atividade antioxidante do EB em relação às frações pode estar relacionada a composição química do extrato, o qual é um concentrado dos compostos presentes em todas as frações, incluindo as frações FAc e FHM, as quais são ricas em compostos flavonoídicos e fenólicos, principalmente glicosilados, que podem contribuir positivamente para a atividade antioxidante. Entretanto, as frações apresentaram potencial antioxidante, possivelmente atribuído à presença de compostos previamente isolados dessas frações, como por exemplo a flavanona mateucinol. A atividade antioxidante do extrato e frações foram comparadas aos antioxidantes sintéticos BHA e BHT (PEREIRA et al., 2017), e o extrato apresentou atividade superior ao BHT ($3806,77 \pm 73,53 \mu\text{mol/g}$ de Trolox) no ensaio de ABTS, e valor inferior a ambos antioxidantes sintéticos no ensaio de FRAP (BHT - $2310,11 \pm 70,59 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, BHA - $2717,79 \pm 171,46 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$). Quanto às frações, ambas apresentaram potencial antioxidante inferior comparado às substâncias sintéticas. Recentemente o nosso grupo de pesquisa investigou o potencial antiproliferativo das flores de *L. aurea*, e verificou que o EB inibiu cerca de 90% da proliferação das células tumorais de glioma e mama e a FH exibiu moderada atividade para mama e glioma. Esses resultados podem estar relacionados ao potencial antioxidante observado.

Conclusões

Os resultados obtidos indicam que a espécie *L. aurea* apresentou elevado teor de compostos fenólicos e expressiva atividade no sequestro de radicais livres nos ensaios *in vitro*, podendo ser considerada uma fonte de compostos com aplicação futura no tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

Agradecimentos

Fundação Araucária, CNPq e FitoSín.

Referências

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft Und-Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

CORRÊA, J.G.S.; BIANCHIN, M.; LOPES, A.P.; SILVA, E.; AMES, F.Q.; POMINI, A.M.; CARPES, S.T.; RINALDI, J.C.; MELO, R. C.; KIOSHIMA, E. S.; BERSANI-AMADO, C.A.; PILAU, E. J.; CARVALHO, J.E.; RUIZ, A.L.T. G.; VISENTAINER, J.V.; SANTIN, S.M.O. Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.273, 2021.

CUNHA, G.O.; DA CRUZ, D.C.; MENEZES, A.C. An overview of *Miconia* genus: chemical constituents and biological activities. *Pharmacognosy Reviews*, v. 13, p.77–88, 2019.

KUKIC, J.; POPOVIC, V.; PETROVIC, S.; MUCAJI, P.; CIRIC, A.; STOJKOVIC, D.; SOKOVIC, M. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chemistry**, v.107, p. 861-868, 2008.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade Antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, 2008.

MICHELANGELI, F. A.; GOLDENBERG, R.; ALMEDA, F.; JUDD, W. S.; BECQUER, E. R.; OCAMPO, G.; IONTA, G. I.; JR, J. D. S.; MAJURE, L. C.; PENNEYS, D. S. Nomenclatural novelties in *Miconia* (Melastomataceae: Miconieae). **Brittonia** v.71, p. 82–121, 2019.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; SATO, H. H.; CONTADO, J. L. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.38, p. 1235-1259, 1995.

PEREIRA, D.; PINHEIRO, R. S.; HELDT, L. F. S.; MOURA, C.; BIANCHIN, M.; ALMEIDA, J. F.; REIS, A. S.; RIBEIRO, I. S.; HAMINIUK, C. W. I.; CARPES, S.T. Rosemary as natural antioxidant to prevent oxidation in chicken burgers. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 37, p. 17-23, 2017.

PIERONI, L. G., REZENDE, F. M., XIMENES, V. F., DOKKEDAL, A. L. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. **Molecules**. v. 16, p. 9439 – 9450, 2011.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals Biology and Medicinal**, v.26, p.1231-1237, 1999.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.