

ATIVIDADE FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DA FOLHA *ANNONA MURICATA L.* FRENTE AO RADICAL ABTS

Amanda Furtado LUNA(1); Tatiana Maria Barreto de FREITAS(2); Isnara Correia ALVES;(3) Clidia Eduarda Moreira PINTO(4); Emmanuel Wassermann Moraes e LUZ(5).

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Teresina - Zona Sul Av. Pedro Freitas, 1020, São Pedro cep. 64018-000, (86) 3211-6608, e-mail: mandinha_handebol@hotmail.com

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: naturitaty@hotmail.com

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: isnaracorreia@hotmail.com

(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: clidiaduda@hotmail.com

(5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: professorluz@gmail.com

RESUMO

Annona muricata L. é conhecida popularmente como a gravioleira, é uma árvore que faz parte da família das Annonaceae e tem sido utilizada amplamente pela medicina popular. Partindo desse princípio o objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação antioxidante da *A. muricata L.*, além de comparar estes efeitos frente ao teste ABTS e ainda confirmar os componentes químicos, através dos testes fitoquímicos específicos. Para analisar tais aspectos foram realizados os testes: ABTS, onde na verificação da atividade antioxidante, observou-se que o extrato alcoólico obteve um melhor resultado quando verificada a capacidade de reduzir o radical ABTS. E também foi realizado o teste fitoquímico, com o qual foi possível verificar que existe a presença de alguns metabólitos secundários como os taninos hidrolisáveis, alcalóides e saponinas. Diante dos resultados obtidos é possível dizer que a graviola tem potencial antioxidante em altas concentrações e a presença dos metabólitos secundários encontrados auxiliam no tratamento de algumas enfermidades, esses resultados adquiridos podem proporcionar a população, maiores informações a respeito dessa planta.

Palavras chaves: *Annona muricata L.*, antioxidante, fitoquímico.

1. INTRODUÇÃO

A gravioleira (*Annona muricata L.*) é uma das importantes frutíferas cultivadas no Nordeste Brasileiro sendo seus frutos utilizados *in natura* e na fabricação de suco, sorvetes, compotas, geléias e doces. Apesar da importância da graviola na fruticultura nordestina, conforme Pinto & Silva (1994), não existem variedades de gravioleiras que sejam portadoras de características botânicas geneticamente definidas. Esse autor revela que, nos principais países produtores (Venezuela, Porto Rico e Costa Rica), os inúmeros tipos de gravioleiras encontrados se diferenciam pela forma, sabor e consistência de seus frutos.



Figura 1: Graviola (*Annona muricata L.*)

Grande parte da população mundial faz uso da medicina complementar para cuidar de sua saúde e uma parte significativa dessa terapia tradicional envolve plantas, utilizadas particularmente sob a forma de chás e extratos. No Brasil, este costume não é diferente e a incorporação de plantas medicinais ao aparato terapêutico utilizado nas mais variadas doenças têm conquistado espaço cada vez maior.

Segundo a medicina popular, todas as partes da árvore da graviola são utilizadas na medicina natural, ou seja, cascas, raízes, folhas, flores e as sementes da fruta. Propriedades diferentes são atribuídas às diferentes partes da graviola. Atualmente, o chá da *Annona muricata L.* é utilizado pela população em geral, devido às suas propriedades terapêuticas, tais como, problemas do fígado e no combate ao catarro.

O crescente interesse pelos antioxidantes naturais de extratos de plantas é devido à sua baixa toxicidade em relação aos antioxidantes sintéticos. Extratos de frutas, vegetais, cereais e seus subprodutos industriais são ricos em antioxidante e têm demonstrado eficaz atividade antioxidante em sistemas modelos (WOLFE; WU; LIU, 2003; MANACH et al., 2004).

Os antioxidantes são substâncias que em baixas concentrações retarda ou previne a velocidade da oxidação (PIETTA, 2000; FERREIRA e MATSUBARA, 1997; HALLIWEL, 1995), através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais (PIETTA, 2000) prevenindo a formação de doenças, contribuindo, dessa maneira, para uma maior longevidade. Desta forma, torna-se essencial o equilíbrio entre os radicais livres e o sistema de defesa antioxidante (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

As características de um bom antioxidante são: presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo; e acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (MANACH et al., 2004).

Atualmente existe uma série de métodos *in vitro* para avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais, tendo em vista a grande variedade de compostos com propriedades antioxidantes, além da complexidade quanto ao seu modo de combater os distintos radicais livres. Dentre os métodos descritos, os

ensaios de captura de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) e ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico)] utilizam espécies radicalares estáveis e a detecção do ponto final se realiza geralmente por absorvância, sendo muito empregados na determinação da atividade antioxidante de alimentos, bebidas e de plasma (LU e FOO, 2000).

A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou determinar a sua presença, quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse. A análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2001 E RODINEI 2008).

A caracterização dos principais grupos de substância vegetais de interesse tem sido conseguida pela realização de reações químicas que resultem no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado característico (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2001 E RODINEI, 2008).

Os metabólitos secundários são considerados como produtos de excreção vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes, propriedades biológicas. Os metabólitos secundários, por serem fatores de interação entre organismos, frequentemente, possuem atividades biológicas importantes. Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse deriva essencialmente do número elevado de substâncias farmacologicamente importantes (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2001), como é o caso dos alcalóides, saponinas, cumarinas, taninos, entre outros.

Os alcalóides são substâncias orgânicas nitrogenadas de origem natural, com caráter mais ou menos básico, de distribuição reduzida (BRUNETON, 1991). As cumarinas são largamente constituídas nos vegetais (STASI, 1995). As saponinas estabelecem um grupo próprio de heterosídeos. O seu nome origina-se da propriedade de formar soluções espumantes, quando dissolvidos e agitados em água, à semelhança do sabão, fazem emulsão óleo/água e exercem um efeito hemolítico (TESKE e TRENTINI, 1995). Os taninos são componentes vegetais que exercem a propriedade de precipitar proteínas, originado um efeito antimicrobiano e antifúngico, ajudando no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações (TESKE e TRRENTINI, 1995).

Reconhece-se dessa forma a importância do desenvolvimento de novos estudos com plantas medicinais, visando evidenciar sua propriedade terapêutica, podendo levar à produção de fármacos para uma melhor assistência a saúde e a preços mais acessíveis. Portanto, aliam-se as questões culturais, sociais e ecológicas à esfera econômica, visto que abre caminho para a descoberta de fármacos de origem vegetal (DI STASSI e HIRUMA-LIMA, 2002).

2. METODOLOGIA

2.1 Preparação dos extratos

Foram preparados dois extratos (um alcoólico e outro com acetato de etila) com concentrações variadas de 500 µg/mL, 1000 µg/mL, 1050 µg/mL, 2000 µg/mL, 4000 µg/mL e 8000 µg/mL para oss dois extratos.

2.2 Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS

2.2.1 Preparação do radical

O radical ABTS•+ foi formado pela reação de 2,45 mM de persulfato de potássio com 7 mM de 2,2 azino-bis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico), armazenado no escuro, à temperatura ambiente, durante 16 horas. Uma vez formado, o radical ABTS•+ foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorvância de 0,70 (±0,02) em comprimento de onda de 754 nm, a uma temperatura de equilíbrio de 30°. A absorvância será medida em espectrofotômetro no tempo de 7 minutos após a adição da amostra.

2.2.2 Determinação da atividade antioxidante total (AAT)

A partir do extrato obtido no item anterior, prepararam-se em tubos de ensaio, no mínimo, três diluições diferentes, em triplicata. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 40 µL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 1960 µL do radical ABTS•+ e homogeneizou em agitador de tubos. Realizou a leitura (734 nm) após 6, 10 e 20 minutos, da mistura e utilizou o álcool etílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. (RE et al.,1999).

2.3 Análise fitoquímica das folhas secas da *A. muricata* L.

A metodologia utilizada foi aplicada por SIMÕES, 1999. Onde é definido o procedimento para os Taninos, Alcalóides, Saponinas e Cumarinas voláteis.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise da Atividade Antioxidante

Segundo Arnao *et al* (1999), a estabilidade do radical ABTS depende da reação através da qual é gerado e do solvente em que é dissolvido.

Utilizou-se de dois extratos para a verificação da capacidade de redução do radical ABTS, os resultados foram demonstrados em porcentagens como mostrados nas Nos **Gráficos 1 e 2**. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle. A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH, conforme fórmula abaixo.

$$\% \text{ redução do ABTS} = (\text{Abscontrole} - \text{Absamostra}) / \text{Abscontrole} \times 100$$

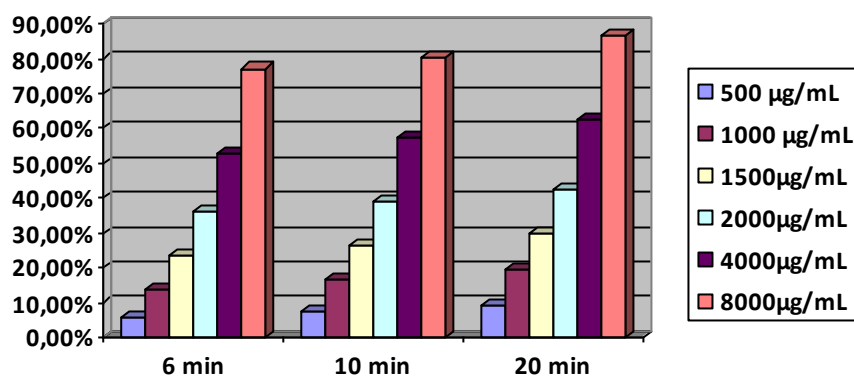


Gráfico 1. Representação da redução do radical a partir de suas concentrações para o extrato com acetato de etila

É possível verificar que a partir da concentração 4000 µg/mL é que o radical é reduzido em 50 %.

O extrato com acetato de etila mostrou, como esperado, que a maior concentração de 8000 µg/mL reduziu o radical em 86, 4% após os 20 minutos, resultando em quase total redução do radical.

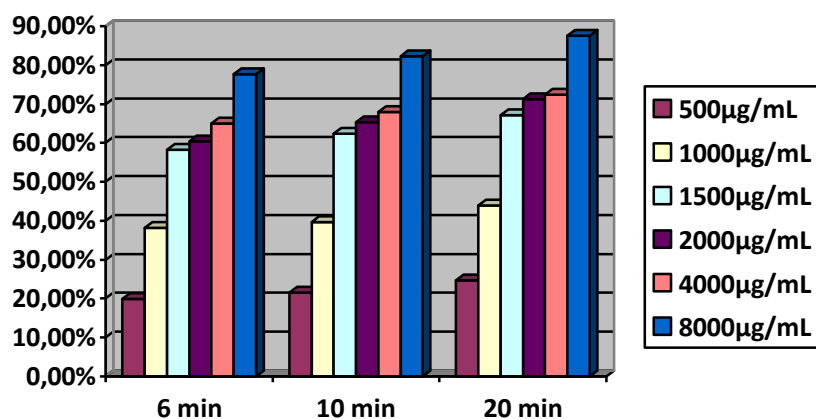


Gráfico 2. Representação da redução do radical a partir de suas concentrações para o extrato etanólico

A capacidade de reduzir o radical em 50 % no extrato etanólico é observada na concentração de 1500 µg/mL, ao contrário do outro extrato que reduziu em 4000 µg/mL.

O **gráfico 2** mostra que a concentração de 8000 µg/mL é bem maior quando comparados as outras concentrações. Quando correlacionados ao **Gráfico 1** verifica que a concentração de 8000 µg/mL do extrato etanólico mostra-se maior em todas os tempos, o que revela uma maior redução no radical, ou seja, 87,6 %. Essa maior redução do extrato etanólico é vista desde a menor concentração, pois para 500 µg/mL a redução foi de 24,7 %, enquanto que a mesma concentração para o extrato de acetato de etila que reduz 9,35% no tempo de 20 minutos.

O perfil fitoquímico é uma análise qualitativa que visa obter informações a respeito da presença de metabólitos secundários. Os resultados da caracterização fitoquímica dos três extratos analisados encontram-se na **Tabela 1** a seguir:

Tabela 1 – Resultado do perfil fitoquímico de folhas secas da graviroleira.

<i>Metabólito Secundário</i>	<i>Presença do constituinte químico</i>
Taninos	Positivo
Alcalóides	Positivo
Cumarinas Voláteis	Negativo
Saponinas	Positivo

Segundo Alice (1985), para a determinação de taninos a coloração azul indica provável presença de taninos hidrolisáveis e, a verde, de taninos condensados. Nesse caso, os extratos apresentaram somente taninos hidrolisáveis. Os alcalóides são presumíveis quando há evidência de uma leve turbidez ou precipitado o que foi visualizado no procedimento. Para as cumarinas voláteis o papel de filtro removido é examinado à luz

UV, sendo a fluorescência amarela indicativa da presença de cumarinas, esse metabólito não foi encontrado nos extratos apresentados. Já as saponinas é necessário à presença de espuma, esse aspecto foi confirmado.

Em síntese, a avaliação fitoquímica feita através da metodologia de SIMÕES, 1999 obteve-se resultados positivos com relação a presença de alguns metabólitos secundários, como: taninos hidrolisáveis, saponinas, e alcalóides.

A presença de metabólitos secundários na planta nos indica a presença de constituintes que podem ser utilizados em diversas enfermidades. Como é o caso dos alcalóides que devido a presença de nitrogênio a sua maioria apresentam propriedades essenciais e forte atividade fisiológica (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997). Algumas cumarinas apresentam efeito antipirético e inibidor da carcinogênese, enquanto outras reúnem um amplo espectro de ações farmacológicas (STASI, 1995). As plantas que possuem saponinas são empregadas também por sua ação mucolítica, diurética e depurativa (TESKE e TRENTINI, 1995). Os taninos exercem ação adstringente, anti-diarréica e anti-séptica (TESKE e TRENTINI, 1995).

CONCLUSÃO

A verificação da atividade antioxidante dos extratos alcoólicos e com acetato de etila mostrou que o extrato alcoólico obteve um melhor resultado quando é verificada a capacidade de reduzir o radical ABTS. Esse melhor resultado do extrato alcoólico pode ser explicado por apresentar maior quantidade de metabólitos secundários que o extrato com acetato de etila. É importante ressaltar que os metabólitos aqui estudados são apenas alguns de muitos outros existentes.

REFERENCIAS

ALICE, C.B.; SILVA, G. A. de A. B. e; SIQUEIRA, N. C. S.; MENTZ, L. A. **Levantamento fitoquímico de alguns vegetais utilizados na medicina popular do Rio Grande do Sul**, Caderno de Farmácia, v. 1, n. 2, p. 83-94, 1985.

ARNAO, M.B.O.; CANO, A.O; ACOSTA, M. Methods to measure the antioxidant activity in plant material: a comparative discussion. *Free Radical Research*, v.31, p.89-96, 1999.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**, Zaragoza, Espanha: Acribia, 1991. p. 544.

DI STASSI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2a edição, editora UNIFESP, SP, 2002.

FALKENBERG, M. B; SANTOS, R. I; SIMÕES, C. M. Introdução à Análise Fitoquímica. In: SIMÕES, C. et al. *Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento*. 3 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Da UFRGS/ Ed. Da UFSC, 2001. p. 165

FERREIRA, L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicaislivres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 43, n.1, p. 61-8, 1997.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v.49, p.1341 – 1348, 1995.

LU, Y.; FOO, L. Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food Chemistry**, v. 68, p. 81-85, 2000.

- MANACH,C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727-747, 2004.
- PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.
- PINTO, A. C. Q.; SILVA, E. M. *Graviola para exportação: aspectos técnicos da produção*. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 41p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 7).
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M; RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1231–1237.
- ROBBERS, J; SPEEDIE, M. K; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiocologia**. São Paulo: Premier, 1997.
- RODINEI M.G: Perfil fitoquímico de diferentes extratos de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire Erechim 2008.
- STASI, L. C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência. Um Guia de Estudo Interdisciplinar**. São Paulo: Unesp, 1995.
- TESKE, M; TRENTINI, A. M. **Herbarium, Compêndio de Fitoterapia**. 3ed. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1995.
- WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R. H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 609-614, 2003.
- SIMÕES, C.M.O., et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 819p., 1999.