

Avaliação do efeito anti-radicalar (DPPH) de extratos e flavonóides de *Pfaffia townsendii*

Luna Fascina¹, Marcos José Salvador¹

¹Curso de Farmácia, DBV/IB/UNICAMP

INTRODUÇÃO

Os radicais livres são espécies altamente reativas e são produzidos pelos organismos ao longo dos processos oxidativos, como a respiração. Em sistemas biológicos, processos oxidativos podem ser associados ao metabolismo normal, como a síntese de leucotrienos e prostaglandinas, reações imunes em animais, produção do ânion superóxido e com a síntese de metabólitos secundários em plantas e microrganismos (MARRONI, 2002). Quando a produção de radicais livres supera a capacidade antioxidante de um sistema, as espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) podem reagir com proteínas, lipídeos e DNA, levando a um dano estrutural e/ou funcional nas enzimas, células e material genético (BARREIROS & DAVID, 2006). Sendo assim, patologias, incluindo o câncer, doenças vasculares, doença de Alzheimer e de Parkinson, e doenças inflamatórias e imunológicas, como artrite, alergia, asma e outras relacionadas com o processo de envelhecimento, apresentam, em pelo menos parte de sua etiologia, os efeitos danosos da produção de radicais livres em consequência do estresse oxidativo e da exposição à fumaça de cigarro, poluentes, substâncias químicas e toxinas ambientais (WU *et al.*, 2004). Assim métodos indiretos e diretos têm sido desenvolvidos para se avaliar o *status* antioxidante de diferentes amostras (produtos naturais, alimentos, fluidos biológicos etc), incluindo os ensaios ORAC; DPPH, beta-caroteno, por quimiluminescência, dentre outros (TOMEI *et al.*, 2007).

MÉTODOS

A capacidade antioxidante dos extratos, frações e substâncias isoladas foi mensurada utilizando-se o ensaio DPPH. O radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) é estável, de coloração púrpura, e quando reduzido, passa a ter coloração amarela. Neste ensaio avaliar-se-á a capacidade das amostras-teste e amostra-padrão de reduzir o radical DPPH. Para tanto, 1 mg das amostras (extratos, frações ou substâncias isoladas) foram dissolvidos em metanol (10 mL), obtendo-se uma solução estoque. Várias diluições foram preparadas (20 a 200 ppm) em metanol e para cada amostra (1mL) adicionou-se 2 mL de solução de DPPH (10 mg/mL). Decorridos 30min a absorbância foi medida em espectrofotômetro ($\lambda=517\text{nm}$) e a percentagem de atividade antiradical calculada (HUANG *et al.*, 2005; CUENDET *et al.*, 1997). Como controle positivo utilizou-se o flavonóide quercetina (40 ppm) e como controle negativo o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. O resultado foi dado pela IC₅₀, ou seja, a capacidade do extrato ou substância analisada de reduzir 50% do radical DPPH presente. O ensaio DPPH foi realizado tanto para os extratos, quanto para os flavonóides isolados (patuletina e rutina).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os flavonóides isolados tilirosídio (W9) e patuletina (W10) apresentaram atividade antioxidante correspondente a 4,19 e 0,78 TE Relativo respectivamente.

Tabela 1: Valores de concentração inibitória (IC₅₀) frente ao ensaio DPPH

Amostra	^a Inibição do radical DPPH IC ₅₀ (µg/mL) ^b
Ptpth	> 200
Ptpte	62,57 (10,01)
Fase Hexânica (Ptpte)	> 200
Fase CHCl ₂ (Ptpte)	45,62 (6,27)
Fase EtOH (Ptpte)	31,95 (7,72)
Fração 1 (Fase CHCl ₂)	209,50 (4,18)
Fração 2 (Fase CHCl ₂)	80,31 (2,85)
Fração 3 (Fase CHCl ₂)	43,41 (6,02)
Fração 4 (Fase CHCl ₂)	217,85 (4,52)
Fração 5 (Fase CHCl ₂)	149,77 (5,76)
Fração 6 (Fase CHCl ₂)	> 200
W9	4,87
W10	83,22
W9+W10	3,71
Quercetina*	13,06 (9,14)

^aDados expressos como média (coeficiente de variação) do ensaio em triplicata; ^bEnsaio de inibição do radical DPPH expresso em valores de IC₅₀ = Concentração que reduz em 50% o radical DPPH; *Controle positivo.

CONCLUSÃO

- Tanto o extrato bruto etanólico quanto suas fases etanólica e diclorometânica apresentaram atividade antioxidante.
- As frações 2 e 3 da fase diclorometânica apresentaram valores de IC₅₀ menores que 100, indicando alta atividade antioxidante.
- Atividade antioxidante foi evidenciada nos dois flavonóides isolados de *Pfaffia townsendii*.
- O valor de IC₅₀ obtido para o tilirosídio é menor que o encontrado para a quercetina (controle positivo), indicando alta atividade antioxidante.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Josafá C. de Siqueira (PUC-RJ) pela identificação do material vegetal e á FAPESP e FAEPEX-UNICAMP pelo apoio financeiro. Agradece-se também a FAPESP pela concessão de Bolsa de IC.