

ANÁLISE COMPARATIVA DO EFEITO DE EXTRATOS DE *CITRULLUS LANATUS* E *CITRUS SINENSIS* NA PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO EM pH ÁCIDO E SUA CORRELAÇÃO COM NÍVEIS DE ÁCIDOS ORGÂNICOS E POLIFENÓIS

Maria Angélica S. S. Lima, Pablo G. Ferreira e Ione Salgado

INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

Agência Financiadora: CNPq

Palavras-chave: Óxido nítrico - Polifenóis - Ácidos orgânicos

Introdução

O efeito benéfico da ingestão do suco de frutas para a saúde humana tem sido atribuído às atividades antioxidantes de seus ácidos orgânicos e fenólicos. Estudos recentes têm revelado que estes compostos são capazes de estimular a redução de nitrito em meio ácido gerando o radical óxido nítrico (NO) com função protetora ao trato gastrointestinal. Esse trabalho mostrou que o suco de laranja tem maior atividade redutora de nitrito em meio ácido que o suco de melancia e possui maior quantidade de compostos fenólicos, sugerindo que o efeito benéfico dos sucos de frutas pode estar realmente relacionado à capacidade de seus ácidos orgânicos e fenólicos em estimular a produção de NO a partir da redução ácida de nitrito.

Objetivo

O presente projeto de pesquisa teve como objetivo identificar, por coeluição, os ácidos orgânicos, ácidos fenólicos e flavonóides presentes em extrato de *Citrullus* e correlacionar a presença destes compostos com a capacidade do extrato de converter nitrito em NO em meio ácido (pH 2,0); fazer a análise comparativa da capacidade dos extratos de *Citrullus* e de *Citrus* de converter nitrito em NO em meio ácido (pH 2,0), além de comparar o conteúdo de fenólicos totais de ambos os extratos.

Metodologia

Preparo dos extratos

Foram realizadas análises diretas. Os sucos de melancia (*Citrullus lanatus* var. *lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai.) e laranja (*Citrus sinensis*) foram armazenados a 4°C antes das análises. Estes foram centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado por uma membrana de filtro de 0,45µm (millipore) e aplicado diretamente no meio de reação.

Condições cromatográficas

A coeluição dos padrões de ácidos orgânicos, compostos fenólicos e flavonóides nas amostras do extrato de *Citrullus* e *Citrus* foi analisada por HPLC usando uma coluna C-18 de fase reversa (Shimadzu ODS). A fase móvel foi composta de água milli-Q e ácido fórmico 0,5% (A) e metanol e ácido fórmico 5% (B). A temperatura do forno da coluna foi de 32°C. O gradiente de metanol e ácido fórmico 5% foi aumentado gradualmente durante a corrida, sendo o fluxo do gradiente 0,9 mL/min. Os ácidos fenólicos e flavonóides foram analisados em comprimento de onda de 250 nm.

Determinação da concentração de NO com eletrodo específico

A concentração de NO do meio de reação e o efeito dos extratos na redução ácida do nitrito foram determinados utilizando-se um sistema detector de radicais, modelo Apollo 4000 da World Precision Instruments (WPI). O aparelho foi calibrado aplicando-se concentrações conhecidas de *S*-nitroso-*N*-acetilpenicilamina em CuCl₂ (0,1 M).

Resultados

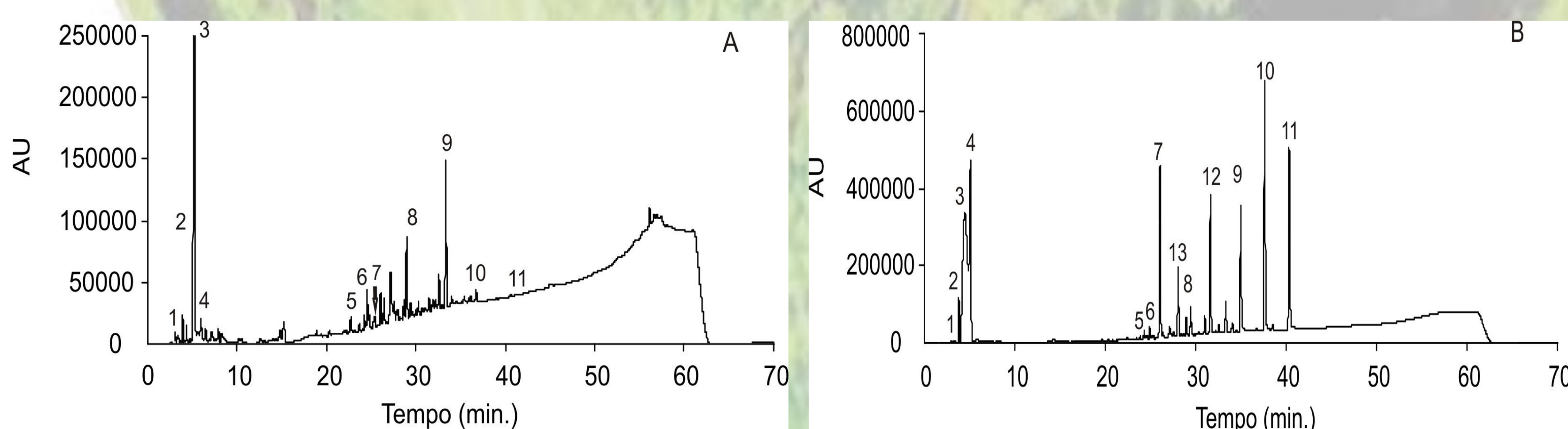


Figura 1. HPLC do extrato de *Citrus* mostrando os ácidos orgânicos, os ácidos fenólicos e os flavonóides, sendo o cromatograma A correspondente ao extrato puro e o cromatograma B, ao extrato com as coeluições dos padrões isolados. Análise a 250 nm (1- Ácido tartárico; 2- Ácido ascórbico; 3- Ácido cítrico; 4- Ácido málico; 5- Ácido clorogênico; 6- Epigallocatequina; 7- Epicatequina galato; 8- Miricetina; 9- Hesperetina; 10- Quercetina; 11-Kaempferol; 12- Ácido ferrúlico; 13- Ácido cafeico).

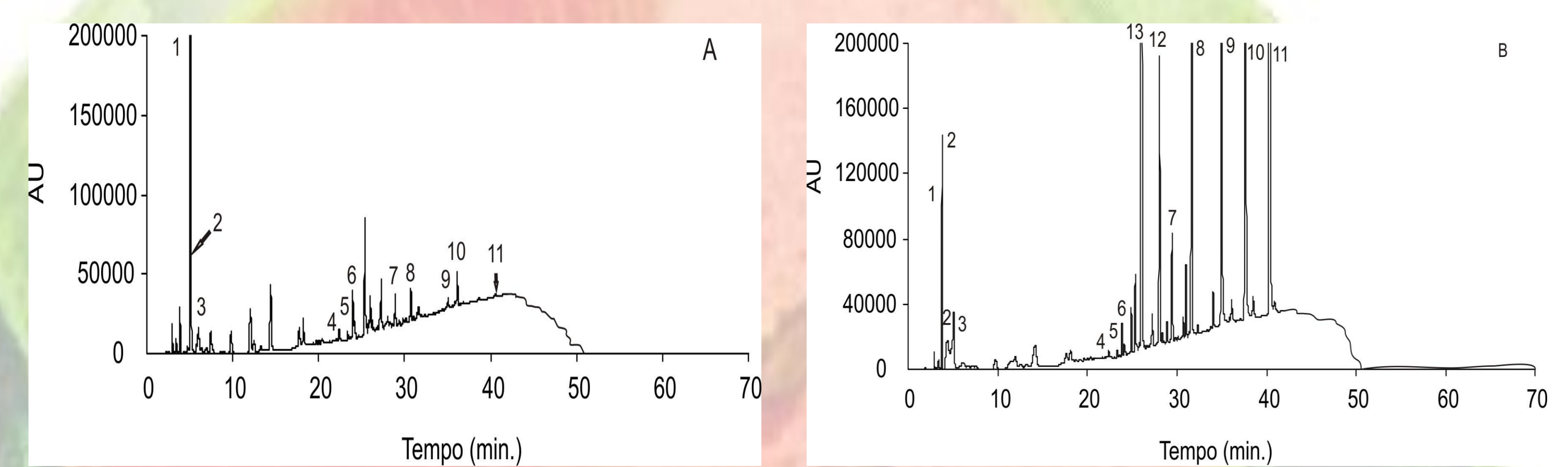


Figura 2. HPLC do extrato de *Citrullus* mostrando os ácidos orgânicos, os ácidos fenólicos e os flavonóides, sendo o cromatograma A correspondente ao extrato puro e o cromatograma B, ao extrato com as coeluições dos padrões isolados. Análise a 250 nm (1- Ácido ascórbico; 2- Ácido cítrico; 3- Ácido málico; 4- Ácido hidroxibenzoico; 5- Ácido cafeico; 6- Epicatequina galato; 7- Ácido *p*-coumárico; 8- Miricetina; 9- Hesperetina; 10- Quercetina; 11-Kaempferol; 12- Ácido ferrúlico; 13- Epigallocatequina).

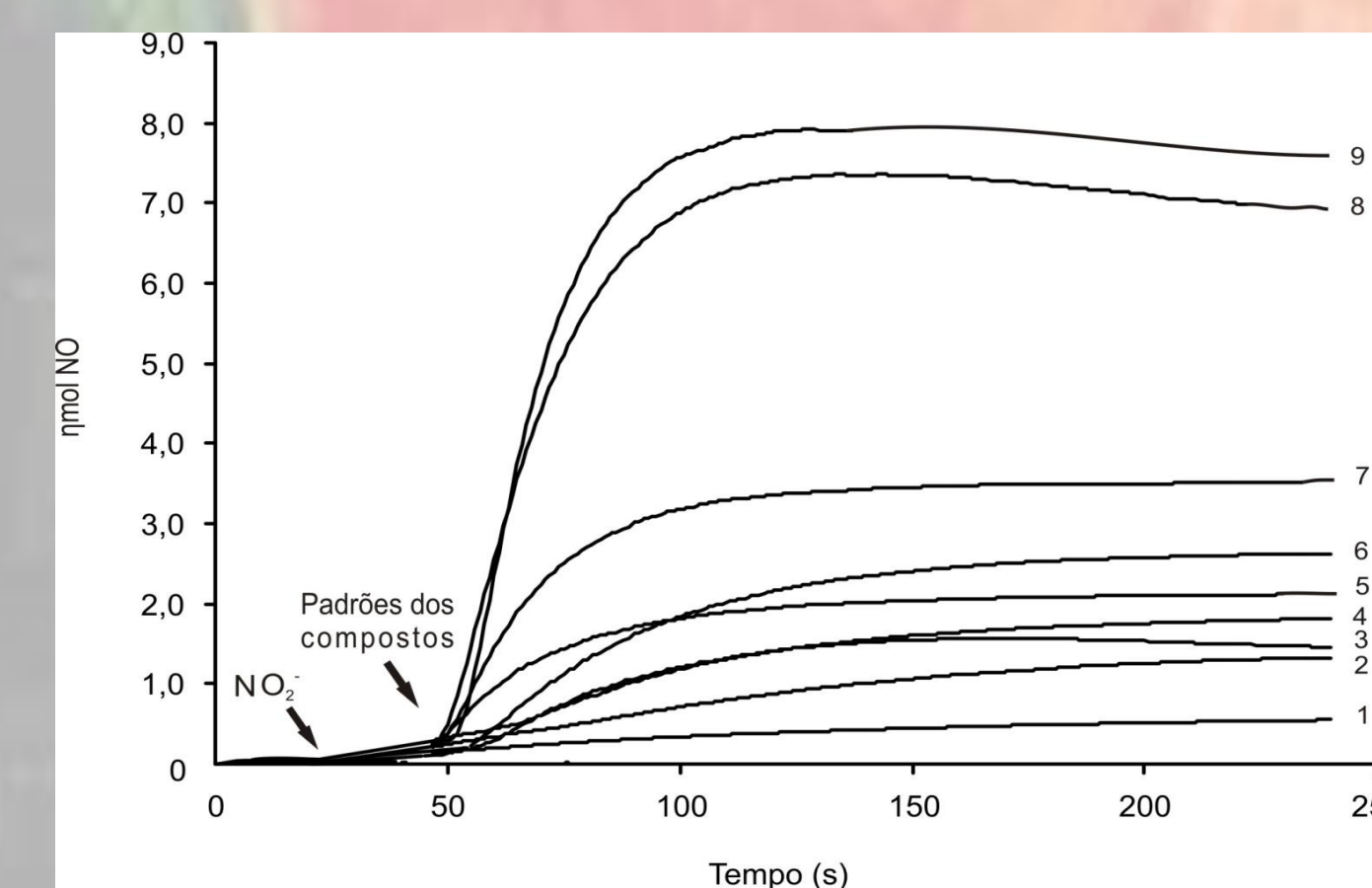


Figura 3. Efeito de ácidos fenólicos e flavonóides na redução ácida de nitrito, determinada por analisador eletroquímico de radicais livres. Nitrito 50 µM e padrões dos compostos (1- Controle; 2- Kaempferol; 3- Hesperetina; 4- Ácido siríngico; 5- Epicatequina; 6- Ácido clorogênico; 7- Epicatequina galato; 8- Miricetina; 9- Epigallocatequina) foram adicionados a um meio de reação contendo 0,1M de KCl/HCl em pH 2,0.

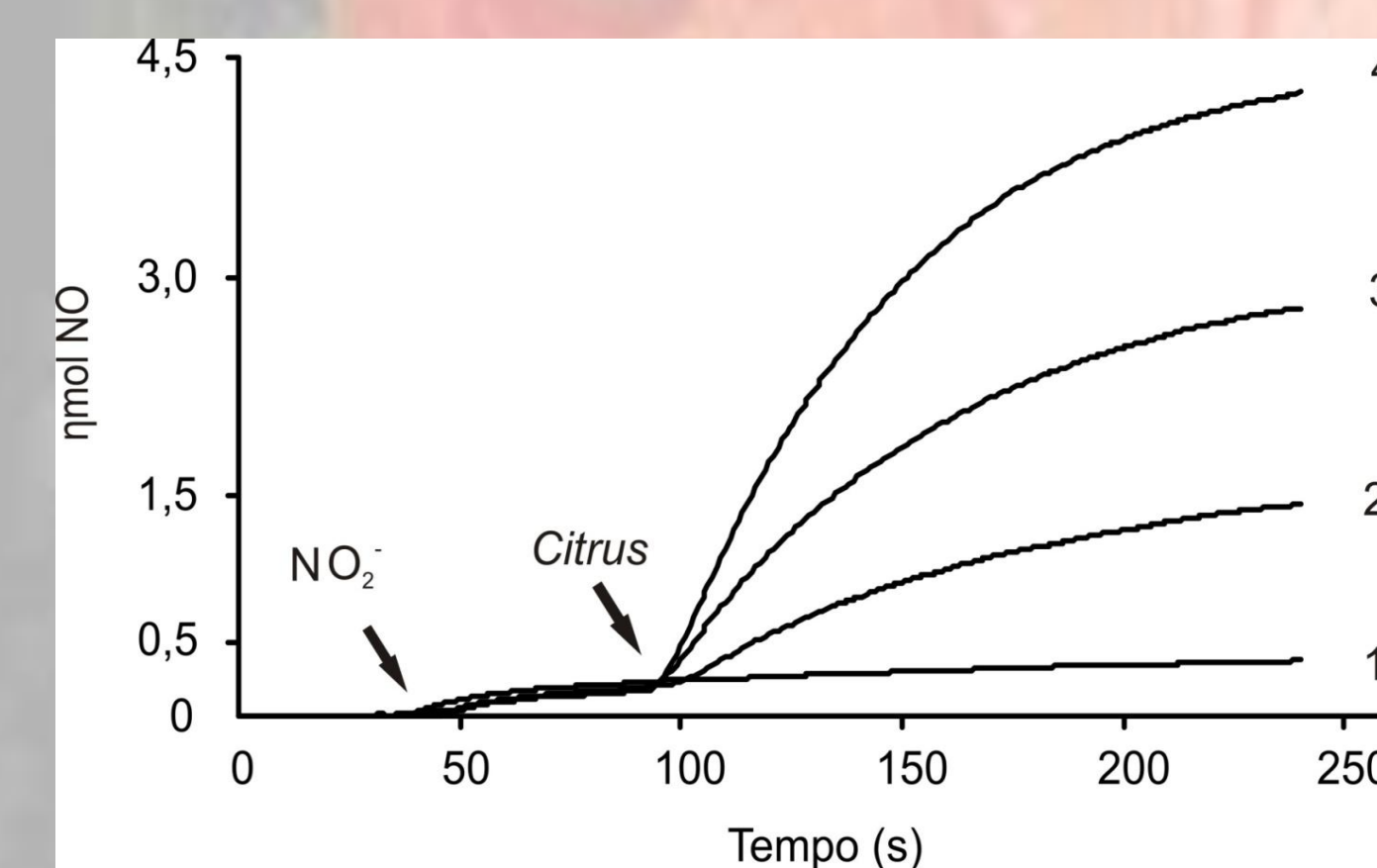


Figura 4. Efeito do extrato de *Citrus* na redução ácida de nitrito, determinada pelo analisador eletroquímico de radicais livres. Nitrito 50 µM e diferentes volumes de extrato de *Citrus* (1- Controle; 2- *Citrus* 2,5 µL; 3- *Citrus* 10 µL; 4- *Citrus* 20 µL) foram adicionados a um meio de reação contendo 0,1 M de KCl/HCl em pH 2,0.

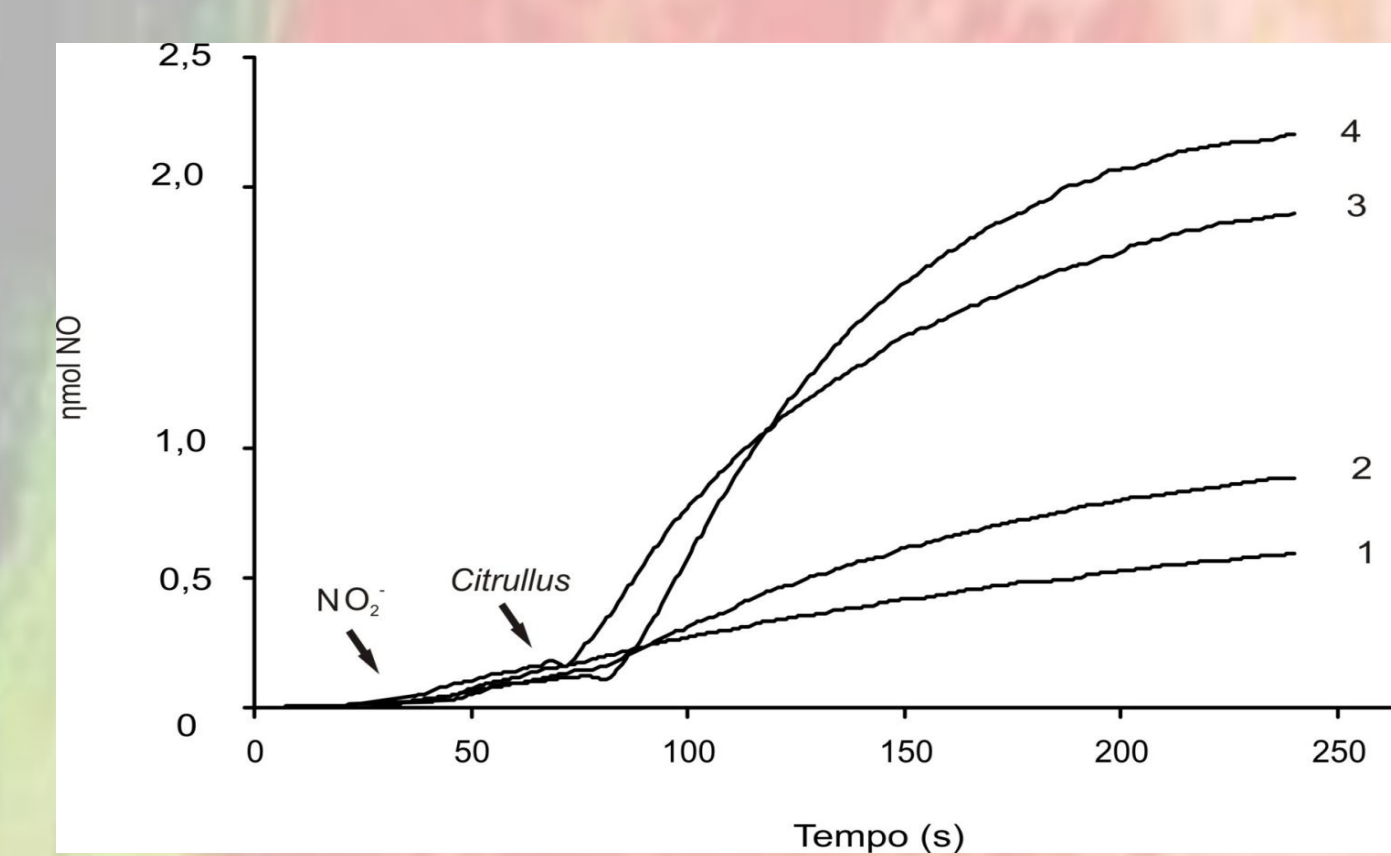


Figura 5. Efeito do extrato de *Citrullus* na redução ácida de nitrito, determinada pelo analisador eletroquímico de radicais livres. Nitrito 50 µM e diferentes volumes de extrato de *Citrullus* (1- Controle; 2- *Citrullus* 2,5 µL; 3- *Citrullus* 10 µL; 4- *Citrullus* 20 µL) foram adicionados a um meio de reação contendo 0,1 M de KCl/HCl em pH 2,0.

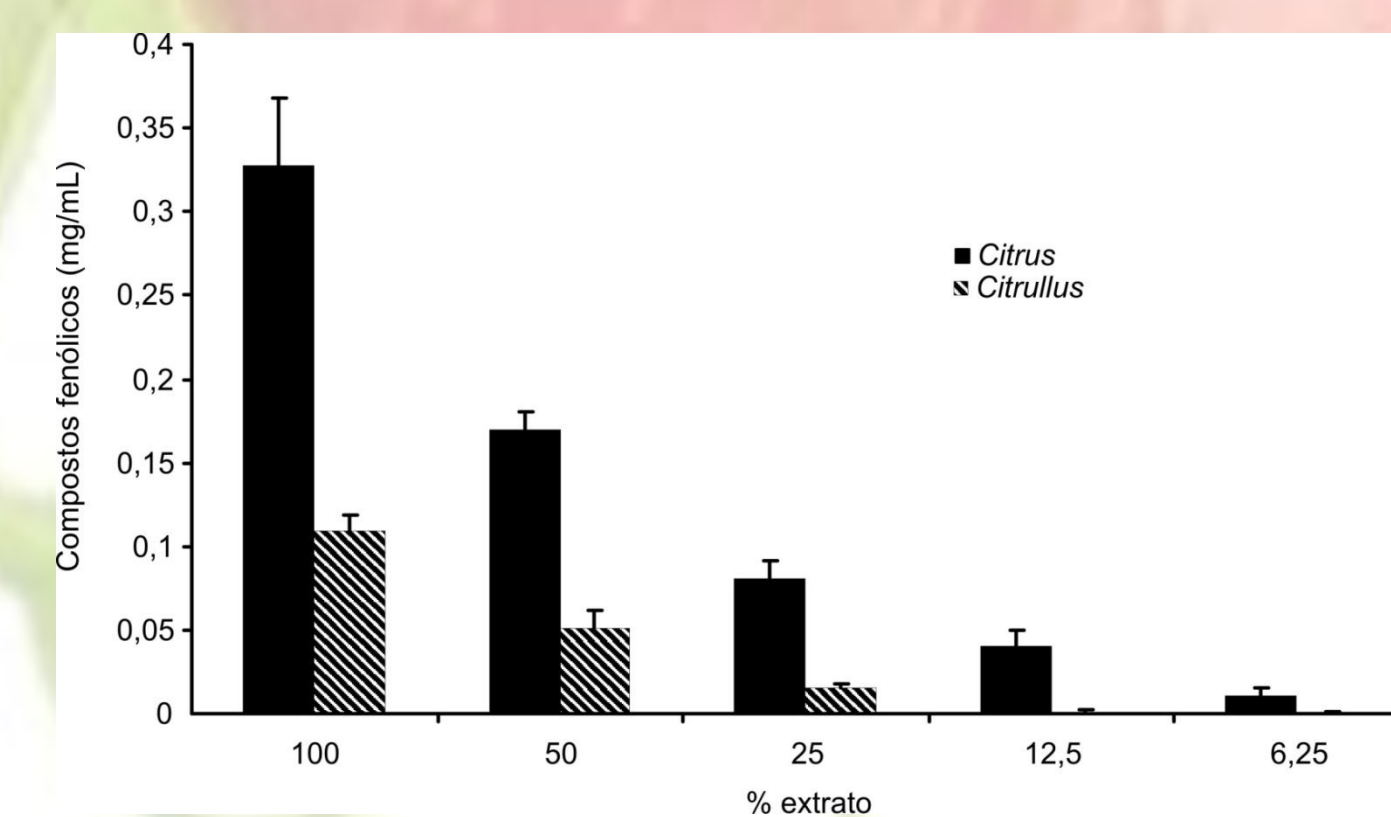


Figura 6. Análise do conteúdo de fenólicos totais dos extratos de *Citrus* e *Citrullus*. Foram feitas diversas diluições (100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%) dos extratos a fim de se analisar a quantidade de compostos fenólicos em cada concentração.

Conclusão

A presença de ácidos orgânicos e polifenóis, com tal ação redutora nos extratos de *Citrus* e *Citrullus*, mostra muito da importância farmacológica que se pode atribuir a eles e o quão importante é integrá-los à nossa alimentação, já que trazem diversos benefícios à saúde.