

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE FRUTOS NATIVOS EM MODELO ANIMAL DE SÍNDROME METABÓLICA

PÂMELA GONÇALVES DA SILVA¹; MÁRCIA DA SILVA BARCELLOS²; PATHISE
SOUTO OLIVEIRA³; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁴; CLAITON LEONETTI
LENCINA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – pamela.gsilva@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – maarcia-barcellos@bol.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – pathisesouto@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – claiton.ufpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica tem despertado enorme interesse na comunidade científica, uma vez que é caracterizada por uma série de fatores ou condições de risco a doenças cardiovasculares. Entre esses fatores, agrupados sob o denominador comum da resistência à insulina (RI), estão a obesidade visceral, a intolerância à glicose, a hipertensão arterial sistêmica, a hipertrigliceridemia e os níveis baixos de HDL. (MAYUKO et. al. 2013).

Estudos fitoquímicos demonstraram a presença de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas. Os ácidos fenólicos e as antocianinas, são compostos antioxidantes que estão presentes nas formas livres ou complexados, e que são identificados e quantificados nas mais diferentes frutas e vegetais. (ARCEUSZ et. al. 2013). Por outro lado, algumas evidências mostram que os flavonoides poderiam proteger lipídios de membrana contra os danos causados por radicais livres (KADE et. al. 2008).

Diante da variedade de fatores em desequilíbrio envolvidos na SM, seria de imensa valia a busca por substâncias que auxiliassem no reestabelecimento da homeostasia, evitando os resultados deletérios para organismos provenientes dessa condição. Dentro deste contexto, as plantas são uma fonte importante de produtos biologicamente ativos, devido à imensa diversidade em termos de estrutura, propriedades físico-químicas aliadas a sua alta capacidade de interagirem com alvos biológicos. (SIMÕES et. al. 2007).

Os primeiros estudos com frutos de araçá amarelo (*Psidium cattleianum*), pois apresentaram efeitos antifúngicos e antioxidantes em ensaios in vitro e in vivo. Além disso, há relatos de utilização popular no tratamento de inúmeras desordens, tais como, hipercolesterolemia, gota, doenças digestivas, hepáticas e inflamatórias. (CASTRO et. al. 2014).

Ademais, estudos também demonstraram ações benéficas na redução dos triglicerídeos, diminuição da pressão arterial, redução do ganho de peso e diminuição dos níveis de glicose no sangue. (CASTRO et. al. 2014; SIMÕES et. al. 2007). Devido a esses promissores efeitos farmacológicos, existe um interesse crescente nos estudos envolvendo *Psidium cattleianum*. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do método extrativo de maceração estática e maceração estática assistida por sonda de ultrassom e banho de ultrassom. Além disso, avaliar a extração do referido método em dois diferentes solventes (etanol 70% e acetato de etila).

2. METODOLOGIA

2.1 Material vegetal: Os frutos de *Psidium cattleianum* foram coletados em área cultivada pela EMBRAPA Clima Temperado Pelotas/RS, Brasil. Após a coleta, os frutos foram imediatamente acondicionados sob-refrigeração a -20° C e ao abrigo da luz até sua utilização.

2.2 Preparação das soluções extrativas: Os extratos foram feitos de acordo com QUIAO et al. (2013), KHAN et. al. (2010); BORDIGNON et al. (2009); com pequenas modificações, em que se estabeleceu a metodologia adequada para se obter um melhor rendimento de fenólicos totais, flavonoides totais e Antocianinas.

A extração foi realizada com 1g da polpa dos frutos em 20 mL de etanol 70°GL ou acetato de etila, separadamente. Os métodos foram feitos em triplicata, em seguida o conjunto foi submetido às seguintes condições extrativas:

2.2.1 Extração por sonda de ultrassom: Sonicação nos seguintes tempos de extração: 50 seg., 3 min. e 15 min., todos utilizando amplitude de 24%, potência de 500 w e frequência de 20Hz. Os extratos com etanol 70°GL foram filtrados, o etanol presente foi evaporados a pressão reduzida e o resíduo aquoso foi liofilizado até secura. Os extratos acetato de etila foram filtrados e evaporados sob pressão reduzida até a completa eliminação do solvente. Esses extratos serão utilizados nos experimentos para determinação das potencialidades do araçá.

2.2.2 Extração por Banho de ultrassom: Sonicação nos seguintes tempos de extração: 5min., 15 min. e 30 min. Os extratos com etanol 70°GL foram filtrados, o etanol presente foi evaporados a pressão reduzida e o resíduo aquoso foi liofilizado até secura. Os extratos acetato de etila foram filtrados e evaporados sob pressão reduzida até a completa eliminação do solvente. Esses extratos serão utilizados nos experimentos para determinação das potencialidades do araçá.

2.2.3 Extração sem auxílio de ondas ultrassônicas: Maceração estática nos seguintes tempos de extração: 5min., 15 min. e 30 min. A obtenção dos extratos secos se deu da mesma forma que a descrita anteriormente.

2.3 Análises estatísticas: As análises foram realizadas utilizando o software GraphPadPrism 5[®]. Os valores foram expressos como média \pm erro médio padrão. As variáveis paramétricas dos testes foram analisadas por ANOVA de duas vias seguida pelo *post-hoc* de Tukey. Foi considerado significativo um valor de $P \leq 0,001$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo analisou a capacidade de extração dos métodos de sonda de ultrassom, banho de ultrassom e extração sem assistência ultrassônica, utilizando como solvente etanol 70% e acetato de etila, separadamente. Notou-se que o rendimento em mg/g de extrato obtido por ambos os métodos utilizando o solvente acetato de etila foi superior ao rendimento obtido pelo solvente etanol 70%. PROESTO e colaboradores (2006) e PEREIRA e colaboradores (2014), também demonstraram que o uso de acetato de etila apresenta um rendimento total de amostra igual ou superior a 60% comparado a etanol 70%.

A quantidade em mg de ácido gálico por g de extrato, para fenóis totais foi analisados de acordo com QUIAO et al. (2013). De acordo com os resultados obtidos, se observou que houve diferença significativa no teor de fenóis totais para os três diferentes métodos de extração ($P < 0,001$).

O extrato de araçá extraído com etanol 70% apresentou uma maior concentração de fenóis totais, em todos os métodos de extração ($P < 0,001$) comparados ao extrato de araçá extraído com acetato de etila ($P < 0,001$).

Pois de acordo com MEDINA et. al. (2009), a natureza química dos compostos nos alimentos, podem variar do simples ao altamente polarizado, estando diretamente relacionado com o grau de maturação do fruto.

O método sonda de ultrassom de com etanol 70% apresentou melhor extração de fenóis totais, estando de acordo com QUIAO e colaboradores (2013), pois assegura que as misturas de solventes polares com água, como exemplo etanol/água são muito usados para a extração de ácidos fenólicos por métodos tradicionais, pois são os melhores solventes de extração.

Para determinar a quantidade de flavonoides totais, expressos em mg de rutina por g de extrato, foi aplicado metodologia baseada em KHAN et. al. (2010) Devido às características físico-químicas das substâncias oriundas de cada extração foi possível somente analisar o teor de flavonoides totais para aqueles métodos de extração com etanol 70%. Os resultados obtidos para a extração de flavonóides totais estão de acordo com BASSANI e colaboradores (2013), os quais afirmam que o método sonda de ultrassom é o melhor método de extração para esse tipo de composto.

A análise para antocianinas foi realizada de acordo com LEE, et al. (2005). Pode-se considerar que houve diferença significativa no teor de antocianinas para os métodos de extração sonda de ultrassom e banho de ultrassom ($P < 0,001$).

Em relação aos resultados obtidos para antocianinas, foi possível observar que o método sonda de ultrassom no tempo de 15 min. (T3), com o uso de acetato de etila, apresentou maior capacidade de extração, podendo estar de acordo com PALENZUELA e colaboradores, (2004), explicam que o uso solvente inflamável, como no caso do acetato de etila ou no caso de amostras que contenham constituintes que absorvam fortemente as ondas ultrassônicas, irão causar uma rápida elevação da temperatura e dessa forma levar a capacidade de extração.

4. CONCLUSÕES

Diante disso, é possível concluir que o método de extração sonda de ultrassom com solvente etanol 70% foi capaz de extrair significativamente fenóis totais e flavonóides totais, de modo que as antocianinas foram extraídas com melhor eficiência pelo o método de extração sonda de ultrassom com solvente acetato de etila.

Isso mostra que ambos os métodos de extrações apresentam as suas vantagens e desvantagens, podendo ser útil na obtenção de soluções extrativas obtidas a partir do araçá amarelo, pois este fruto apresenta muitos compostos fitoquímicos, destacando-se os fenólicos, flavonóides e antocianos, que têm demonstrado efeitos benéficos na prevenção e reversão de inúmeros acometimentos fisiológicos, ganhando assim atenção como potenciais ferramentas farmacológicas no reestabelecimento da saúde da população. (SUBRAMANIAN et al., 2015; ALBAYRAK et. al.; 2007)

Acetato de etila apresenta um maior rendimento total de extrato de araçá amarelo, porém não foi capaz de extrair significativamente algumas substâncias alvo. Por outro lado, etanol 70% mesmo apresentando um menor rendimento bruto no processo de extração, extraiu quantidades significativas de compostos de interesse. Dentro deste contexto, mais estudos são necessários para melhor elucidar os efeitos das diferentes variáveis no processo de extração para melhor identificar uma metodologia ideal de extração seletiva e com altos rendimentos na obtenção destes compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBAYRAK, S. Serum polipo protein B predicts dyslipidemia, metabolic syndrome and, in women, hypertension and diabetes, independent of markers of central obesity and inflammation. **International Journal of Obesity**, v. 31, p. 1119–1125, 2007.
- ARCEUSZ A.; WESOLOWSKI M.; KONIECZYNSKI P.; Methods for extraction and determination of phenolic acids in medicinal plants; **Natural product communications**; vol. 8; p. 1821-1829; 2013
- BASSANI D. C.; NUNES D. S.; DANIEL GRANATO D.; Optimization of Phenolics and Flavonoids Extraction Conditions and Antioxidant Activity of Roasted Yerba-Mate Leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using Response Surface Methodology; **Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p. 923- 933, 2013.
- CASTRO M.L.; VICTORIA F. N.; OLIVEIRA D. H.; JACOB R. G.; SAVEGNAGO L.; ALVES D.; Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: Antioxidant and antifungal activity; **Pharmaceutical Biology**; vol. 3; p. 242-20; 2014.
- KADE, I.J.; IBUKUN, E.O.; NOGUEIRA, C.W. ROCHA, J.B.T. Sun-drying diminishes the antioxidative potential soft leaves of *Eugenia uniflora* against formation of thiobarbituric acid reactive substances induced in homogenate of rat brain and liver. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 60; 365–371, 2008.
- KHAN M. K.; ABERT-VIEN M.; TIXIER A. S. F.; DANGLES O.; CHEMAT F. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**; v. 119, p. 851-858; 2010.
- LEE J, DURST RW, WROLSTAD RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants and wines by the pH differential method: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, 8:1269-1278, 2005.
- MAYUKO, I.; SHIGEKI, K.; KOICHI, T.; SACHIKO, M.; MAI, K.; ERI, H.; et. al. Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome. **Nutrition Research**, v. 33, p. 397-405, 2013.
- MEDINA A. L.; **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)**. 2009. 63f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Agroindustrial) - Curso de Pós-Graduação em Ciência e tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas.
- PALENZUELA, B.; ARCE, L.; MACHO, A.; MUÑOZ, E.; RIOS, A.; VALCARCEL, M. Bioguided extraction of polyphenols from grape marc by using an alternative supercritical-fluid extraction method based on a liquid solvent trap. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 378, n.8, p. 2021-2027, 2004.
- PEREIRA B. L.; BILBAO A.; VILCHES P.; ANGULO I.; LLUIS J.; FITE B.; LOSADA P. P.; CRUZ J. M.; Brewery waste as a potential source of phenolic compounds: Optimisation of the extraction process and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities; **Food Chemistry**, v. 145, p. 191-197, 2014.
- QUIAO L.; YE X.; SUN Y.; YING J.; SHEN Y.; CHEN J. Sonochemical effects on free phenolic acids under ultrasound treatment in a model system. **Ultrasonics Sonochemistry**, China, v. 20, p. 1017-1025, 2013.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: editora da UFSC, editora da Universidade/UFRGS, 2007.
- SUBRAMANIAN A. P.; JOHN A. A.; VELLA Y.; BALAJI S. K.; SUPRIYVANTO E.; YUSOF M.; Gallic acid: prospects and molecular mechanisms of its anticancer activity, **Society of Chemistry**, v. 5, p. 35068-35621, 2015.