

Atividade antioxidante da epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina isolada de *Dioclea lasiophylla*

Juceni P. David¹, Edlene O. dos Santos¹; Maria S. Miranda¹; André L. B. S. Barreiros²; Ihanmarck D. dos Santos²; Jorge M. David²

¹Faculdade de Farmácia; ²Instituto de Química; Universidade Federal da Bahia, 40170-290, Salvador, BA, Brasil
juceni@ufba.br

Abstract

This work describes the evaluation of the antioxidant activity in the system b-carotene / linoleic acid and radical scavenging effects of the substances epicatechin-(2 β →7,4 β →8)-epicatechin, epicatechin, epigallocatechin-(2 β →7,4 β →8)-epicatechin, luteolin 3- β -D-glicopiranosídeo and criseorinol 7- β -D-glicopiranosídeo isolated of the extract AcOEt of the stem of *Dioclea lasiophylla*, in comparison with the standards n-propyl gallate, BHT and a-tocopherol.

No Brasil ocorrem cerca de 25 espécies de *Dioclea*, distribuídas por todo território nacional. *Dioclea lasiophylla* pertence a um grupo de 11 plantas conhecidas pelo nome popular de feijão bravo ou mucunã¹. Essas plantas têm emprego na medicina popular no tratamento de cálculos renais, doenças da próstata e como analgésico. Até o presente momento de todas essas espécies somente foram estudadas, sob o ponto de vista químico e farmacológico, as raízes de *D. grandiflora*. Estes estudos levaram ao isolamento da diocleína que apresenta atividade analgésica intensa².

A atividade antioxidante das substâncias isoladas foi comparada com os antioxidantes conhecidos tais como galato de n-propila, BHT e α -tocoferol natural, isolado das folhas de *Moldenhawera nutans*, em nosso laboratório. A importância das substâncias antioxidantes pode ser explicada, entre outras, pela correlação existente entre atividade antioxidante de substâncias e a capacidade de inibir ou retardar o aparecimento de células cancerígenas, além de retardar o envelhecimento das células em geral³. Os dados obtidos indicaram que a epicatequina 2 no sistema β -caroteno/ácido linoleico apresentou AA= 29 ou seja 59,2% e a epigallocatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (1a) mostrou AA= 35 (71,4%). Observa-se que estas apresentaram atividade antioxidante considerável, quando comparadas ao galato de n-propila [AA= 49 (100%)] e ao α -tocoferol [AA= 27 (55,1%)]. A comparação destes valores com a epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina 1b [AA= 77,6 (101,1%)] mostrou que este apresentou atividade superior ao galato de n-propila [(AA= 76,8 (100%))]. Os resultados da avaliação das atividades

antioxidantes utilizando-se o sistema β -caroteno/ácido linoleico das substâncias isoladas de *D. lasiophylla* comparados com o α -tocoferol, galato de n-propila e BHT encontram-se sistematizadas no gráfico (Figura 2) e mostram que a epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (1a) apresentou atividade antioxidante superior aos padrões α -tocoferol e galato de n-propila e, inferior ao BHT. Além desta, a epigallocatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (1b) e a epicatequina (2) apresentaram atividade considerável intermediária a dos padrões a-tocoferol e galato de n-propila. Os flavonóides luteolina 3- β -D-glicopiranosídeo (3a) e criseorinol 7- β -D-glicopiranosídeo 3 β apresentaram atividades pouco intensas.

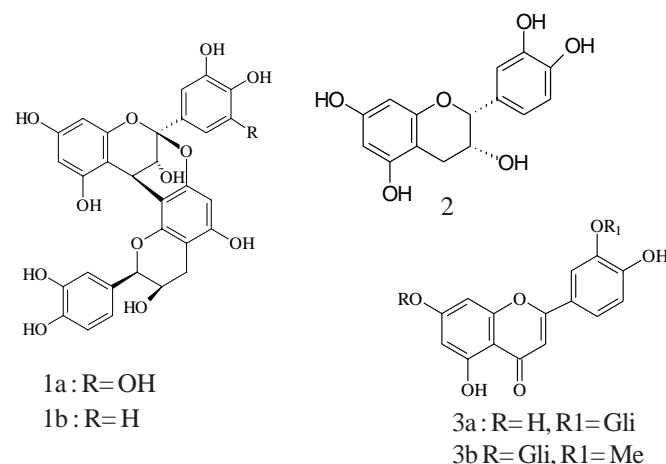


Figura 1: Substâncias isoladas de *Dioclea lasiophylla*.

No entanto, como era de se esperar no teste de seqüestro de radical utilizando-se DPPH, a substância (1a) e epicatequina apresentaram atividade superior do que a proantocianidina epicatequina-(2 β →7,4 β →8)-epicatequina (1b) (Figura 3).

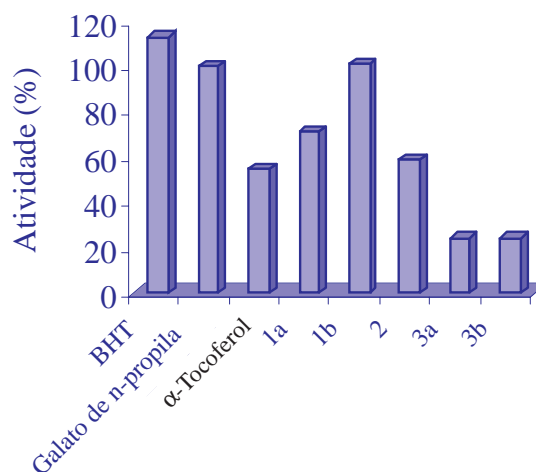


Figura 2. atividade Antioxidante pelo método da auto oxidação do β -caroteno.

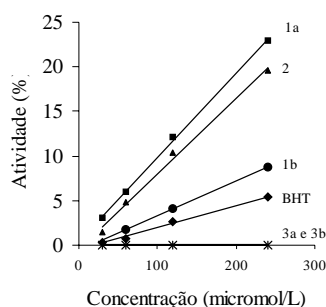


Figura 3. Atividade antioxidante pelo método do seqüestro do radical DPPH.

Material e Métodos

Geral: Os experimentos de RMN foram realizados em espectrômetro da Varian Mod. Gemini 300, em Acetona- d_6 ou Alcool metílico- d_4 , utilizando o sinal do hidrogênio ou carbono destes solventes como referência. Para a realização dos testes de atividades antioxidante foram utilizados padrões p.a. de galato de n-propila (Merck), BHT (Merck) e α -tocoferol isolado de *Moldenhawera nutans*, além dos reagentes ácido linoleico (Aldrich) e DPPH (Aldrich). As medidas foram realizadas em espectrofotômetro Spectronic 20 Genesys.

Isolamento e identificação das substâncias a partir do material vegetal: As partes aéreas de um espécimen de *D. lasiophylla* foram coletadas no Campus da Universidade Estadual de Feira de Santana (BA). A partir da fase AcOEt das folhas de *D. lasiophylla* foram isolados luteolina 3β -D-glicopiranosídeo, crisoeriol 7β -D-glicopiranosídeo, além de epicatequina e a nova proantocianidina do tipo A2, denominada epigalocatequina-($2\beta \rightarrow 7,4\beta \rightarrow 8$)-epicatequina⁴. O extrato AcOEt do caule (1,17 g) foi submetido a CC sob sílica gel eluindo-se com misturas $CHCl_3$:MeOH. As frações coletadas foram reagrupadas em 9 novas frações com base em CCDC (F₂₅₄ Merck). Assim a fração eluída em $CHCl_3$:MeOH 9:1 (190 mg) foi submetida à nova CC em SiO_2 60H (Merck) sob pressão de N_2 eluindo-se com sistema $CHCl_3$:MeOH seguida de Sephadex LH-20 (Sigma) em sistema CH_2Cl_2 :MeOH (4:6), fornecendo a epicatequina-($2\beta \rightarrow 7,4\beta \rightarrow 8$)-epicatequina (1b). Enquanto que a fração da coluna principal eluída com $CHCl_3$:MeOH 95:5 (32,6 mg) forneceu os flavonóides luteolina 3β -D-glicopiranosídeo (3a) e crisoeriol 7β -D-glicopiranosídeo (3b) após purificação em Sephadex LH-20 usando-se diclorometano/ CH_3OH (4:6) como eluente.

Testes de atividades antioxidantes: A metodologia utilizada no teste de atividade antioxidante foi adaptada daquela descrita por Hidalgo et al.⁵. Esse método de avaliação da atividade antioxidante é baseado na inibição da reação de auto-oxidação do β -caroteno. A reação de auto-oxidação foi provocada pela adição do agente oxidante radicalar, o ácido linoleico e acompanhada por espectrofotometria no visível em $\lambda_{max} = 470$ nm. Para este fim foram utilizados 100 mg dos padrões e das

substâncias testes, respectivamente. Os padrões foram os antioxidantes comerciais: galato de n-propila e BHT e α -tocoferol natural isolado e caracterizado em nossos laboratórios. A percentagem de atividade foi calculada em relação ao galato de n-propila.

O segundo teste desenvolvido avalia a habilidade da substância teste de seqüestrar o radical DPPH - Difenilpicrilhidrazil. Para a sua realização, uma solução metanólica de DPPH (135 mg) foi misturada com a substância teste e padrões em quatro concentrações (12×10^{-3} , 6×10^{-3} , 3×10^{-3} e $1,5 \times 10^{-3}$ mmol). Neste ensaio utilizou-se pirogalol (0,5 % em DMSO) como substância referência com poder de seqüestrar 100 % dos radicais⁶. As atividades antioxidantes das substâncias testes foram comparadas com aquelas dos padrões galato de n-propila e BHT cujos declínios da concentração do radical foram monitorados por espectrofotometria ($\lambda_{max} = 517$ nm) após 15 min.

Agradecimentos

Juceni P. David e Jorge M. David são gratos ao CNPq pelo suporte financeiro e bolsas. André L. B. S. Barreiros, Ihanmarck D. dos Santos e Edlene de O. Santos são gratos ao CNPq, CAPES e PIBIC/CNPq/UFBA pelas bolsas de doutorado e Iniciação Científica, respectivamente.

Referências

- Correa M P.(1984) *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. v. II, pp. 59-93, v. III, pp.160-245 e v. V, pp. 410-472. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, RJ
- Bhattacharya J, Majetich G, Jenkins T M, Almida R N. (1998) *Journal of Natural Products* 61, 413-414
- Ho, C-T.; Ferraro, T; Chen, Q.; Rosen, R.T. e Huang, M-T. Phytochemicals in Teas and Rosemary and their Cancer-Preventive Properties. in: *Food Phytochemicals for Cancer Prevention II*. C-T. Ho; T. Osawa, M-T. Huang e R.T. Hosen (Ed.). American Chemical Society, Washington Dc 1994, p. 2
- Barreiros, A.L.B.S, David, J.P., Queiroz, L.P., David, J.M. (2000) *Phytochemistry*, 55, 805-808
- Hidalgo, M. E., Fernández, E., Quilhot, W., Lissi, E. (1994) *Phytochemistry*, 37, 1585-1587
- Malterud, K. E., Farbrot, T. L., Huse, A. E., Sund, R. B. (1993) *Pharmacology*, 47, 77-85