

pó obtido foi utilizado para fazer o extrato aquoso. Foi pesado 10 gramas do pó das cascas trituradas, homogeneizado com 100ml de água destilada por 30 minutos em Banho-Maria á 100°C. O material foi filtrado com a ajuda de bomba a vácuo e colocado em placas de petri e levado ao freezer para em seguida ser liofilizado e utilizado para realizar os testes propostos.

Atividade Antioxidante Utilizando método de DPPH

A atividade de radical livre de DPPH dos extratos foi realizada de acordo com a BrandWilliams et al. com algumas modificações. Para a realização da atividade antioxidante diluímos 0,008 g de DPPH em 100ml de metanol e lemos no ELISA® no comprimento de onda a 517 nm para se obter a UV-VIS absorvância entre 0,6-0,7. 1 mg do extrato foi diluído em 1 mL de água. Desta solução de 1000 µg/mL fazemos mais 6 concentrações, para que no final tenhamos uma variação de 16 à 1000 µg/mL. 40 µl de cada concentração foram misturados com 250 µl da solução de DPPH e após 30 minutos de incubação no escuro as absorvâncias foram lidas ao mesmo comprimento de onda acima mencionado. As medições foram realizadas em triplicatas e suas atividades de eliminação foram calculados com base no percentual de redução do DPPH calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{SRL}(\%) = \frac{\text{ABS CONTROLE} - \text{ABS AMOSTRAS}}{\text{ABS CONTROLE}} \times 100$$

Onde: ABS controle é o radical com metanol e ABS amostras é o Radical com o extrato.

Ensaio De Fosfomolibdênio

Ensaio de acordo com Pietro et al (1999). A capacidade antioxidante total (% TAC) foi avaliada por ensaio de fosfomolibdênio. 1 mg do extrato foi diluído em 1 mL de água, uma alíquota de 100 µl foi combinado com 1 ml de solução de reagente (ácido sulfúrico a 600 mM, 28 mM de fosfato de sódio e molibdato de amônio 4 mM). Os microtubos 1,5 mL foram tapados e incubados em banho-maria a seco por 90 ° C durante 90 min. Depois, a absorvância foi medida a 695 nm contra um em branco (1 mL de reagente e 100 µl de solvente). Atividade antioxidante total foi expressa em relação ao ácido ascórbico.

Atividade Hemolítica

As amostras de 5 mL sangue foram obtidas de voluntários saudáveis do tipo O+ por punção venosa e colocadas em tubos heparinizados. Para obtenção dos eritrócitos o sangue foi centrifugado (1500 rpm durante 10 min) e lavado três vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4). Foi preparada uma solução em salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4 a 1 % de eritrócitos. Para realização da atividade cada tubo de ensaio recebeu 1,1 mL de suspensão de

eritrócitos (1%) e 0,4 mL das várias concentrações do extrato em diferentes concentrações (16-1000 µg/mL). O controle negativo e controle positivo receberam 0,4 mL de tampão fosfato-salina e de Triton X-100, respectivamente. Após 60 minutos de incubação à temperatura ambiente, as células foram centrifugadas (1500 rpm durante 5 min) e o sobrenadante foi usado para medir a absorvância da hemoglobina liberada a 540 nm. O valor médio foi calculado a partir dos ensaios em quadruplicata. A atividade hemolítica foi expressa em relação à ação do Triton X- 100 e calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Atividade hemolítica (\%)} = [(Aa - Ab) \cdot 100] / (Ac - Ab)$$

Sendo, Aa - absorvância da amostra, Ab - absorvância do controle negativo (fosfato-salina) e Ac - absorvância do controle positivo (Triton X-100).

Resultados e discussões

Os radicais livres de DPPH apresentam inicialmente a coloração roxa por terem elétron livre. A mudança de cor é dada quando um radical de hidrogênio é doado por uma molécula antioxidante que entra em ressonância com a molécula de DPPH, tendo uma cor amarelada, diminuindo-se, assim, a absorvância. A baixa absorvância indica atividade sequestrante de radicais livres (SANTOS et al, 2007). O extrato da casca da *Amburana cearenses* se mostrou um ótimo doador de H⁺ para o radical DPPH. O extrato foi comparado com padrão ácido gálico, na concentração de 1000 µg/mL. O extrato aquoso da casca teve um desempenho de 93,2% enquanto o ácido gálico 90 %. Porém a persistência da atividade do ácido gálico é superior à da *Amburana cearenses*, com a diminuição da concentração a atividade sequestradora vai diminuindo.

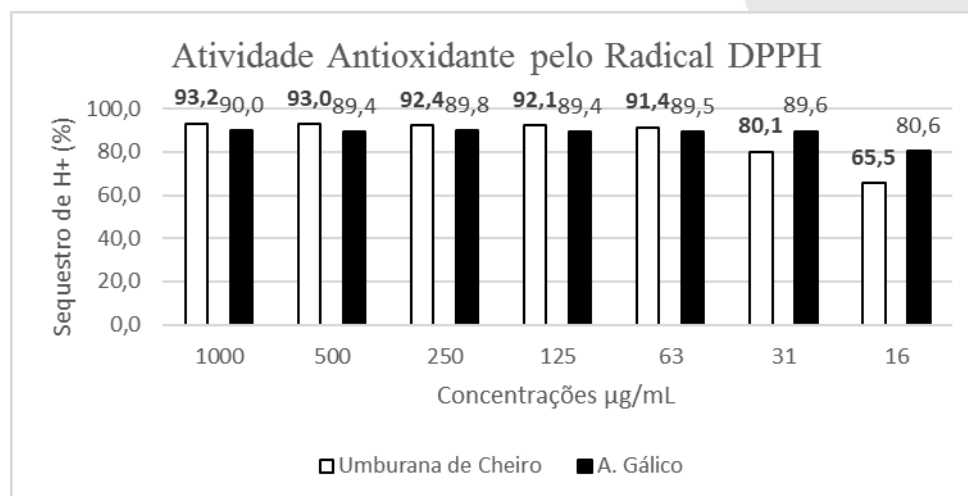


Gráfico 1 – Atividade sequestradora de H⁺ pelo radical DPPH.

- ANDRADE-LIMA, D. Plantas da caatinga. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989.
- BEZERRA, A. M. E.; CANUTO, K. M.; SILVEIRA, E. R. Estudo fitoquímico de espécimens jovens de *Amburana cearensis* A.C. Smith. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29., 2005, Águas de Lindóia. Anais... Águas de Lindóia: 2005. 2p.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Brazilian Apples. Food and Nutrition Sciences*, 6, 727-735.
- DEWICK, P.M. *Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach*. John Wiley & Sons LTD, 2° ed., p.291-300. 2002.
- HILTON-TAYLOR, C. 2000 IUCN red list of threatened species. Cambridge: IUCN, 2000.