



**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DAS ESPÉCIES
BROMELIA ANTIACANTHA BERTOL (BROMELIACEAE) E *ARISTOLOCHIA
ESPERANZAE* KUNTZE (ARISTOLOCHIACEAE)**

**Estela P. RISSATI¹; Silmara J. ALVES²; Alison G. PACHECO³; Odilon F. OLIVEIRA
NETO⁴**

RESUMO

As espécies *Aristolochia esperanzae* e *Bromelia antiacantha* apresentam muitos relatos de usos na medicina popular. Para o estudo do teor de antioxidantes naturais, o extrato etanólico das espécies foi submetido à análise de atividade antioxidante através do método de captura do radical DPPH. Nas condições estudadas, o extrato de cascas de *A. esperanzae* não apresentou atividade antioxidante enquanto o extrato dos frutos de *B. antiacantha* apresentou expressiva atividade antioxidante (15,54 mg/L).

INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins medicinais é um costume realizado desde antes da invenção da escrita (Wellyson *et. al.*, 2011; Badke, 2008). Atualmente, a fitoquímica estuda as substâncias produzidas pelo metabolismo secundário de espécies vegetais, buscando identificar estrutura e distribuição de metabólitos secundários e suas possíveis aplicações a fins medicinais (Santos, 2013).

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG - E-mail: estelarissatti.eag@hotmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes /MG. E-mail: silmara_alves10@outlook.com

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes /MG. E-mail: alison.pacheco@ifsulde Minas.edu.br

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes /MG. E-mail: odilon.franca@ifsulde Minas.edu.br

As espécies *Aristolochia esperanzae* Kuntze e *Bromelia antiacantha* Bertol são exemplos de espécies que despertam interesse para o estudo fitoquímico em função de relato pela medicina popular de expressivo uso medicinal de seus extratos (Manetti, *et. al.* 2010; Stasi, 1990; Adams, *et. al.* 2009).

A espécie *Aristolochia esperanzae* Kuntze, conhecida popularmente no Brasil como cipó-mil-homens é encontrada no cerrado de Minas Gerais e também em outros países da América do Sul. Estudos etnofarmacológicos sobre essa planta mostram aplicação efetiva no tratamento da artrite reumatóide e de outras diversas doenças (Pacheco, *et. al.*, 2010).

Os frutos da espécie *Bromelia Antiacantha Bertol* (Bromeliaceae) são comumente empregados com finalidades ornamentais, alimentícias e medicinais, sendo utilizados na medicina popular com atividade anti-helmíntica, antitussígena, no tratamento de doenças respiratórias, de problemas renais, de desarranjos intestinais, diabetes, entre outras (Santos *et. al.*, 2008).

As ervas medicinais também tem chamado atenção pelos seus efeitos antioxidantes. As substâncias classificadas como antioxidantes são aquelas que quando presentes em concentrações ideais podem atenuar ou inibir a ação de agentes oxidantes (Roesler *et. al.*, 2007). Associado ao processo de envelhecimento e ao desenvolvimento de muitas doenças crônicas e degenerativas, incluindo o câncer, doenças cardíacas, doenças degenerativas como Alzheimer (Lang *et. al.* 1998, Christen 2000), o estress oxidativo corresponde a um desequilíbrio entre a taxa de produção de agentes oxidantes e sua degradação. As espécies reativas de oxigênio (ERO) são agentes oxidantes produzidas nas mitocôndrias durante a produção de energia (Sorg, 2004). Exemplos de ERO's bastante comuns são os radicais superóxido (O_2^-) e hidroxila ($OH^\cdot$). Dessa forma, antioxidantes são substâncias que combatem os agentes oxidantes ou radicais livres como ERO's, impedindo que as moléculas no nosso corpo sofram oxidação e prevenindo patologias.

Muitos estudos clínicos e epidemiológicos indicam o potencial antioxidante de substâncias fenólicas presentes em espécies de origem vegetal. A ingestão destes alimentos contribui para a baixa e significativa redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas, o que resulta em uma crescente pesquisa por antioxidantes naturais.

A investigação da constituição química e bioatividade de *Bromelia antiacantha* Bertol indicaram uma ampla faixa de atividades biológicas bem como resultados divergentes para a atividade antioxidante dos frutos (Manetti *et. al.*, 2010; Santos *et. al.*, 2009). Tais resultados indicam a importância de uma avaliação mais detalhada e consistente do potencial antioxidante de frutos de *Bromelia antiacantha* Bertol (Bromeliaceae).

Muitos extratos e medicamentos fitoterápicos obtidos a base de espécies vegetais, incluindo misturas a base de espécies do gênero *Aristolochia*, são utilizados na medicina popular em função de sua atividade antioxidante. Assim, torna-se de suma importância a análise do potencial antioxidante de espécies vegetais utilizadas na produção de fitoterápicos.

Com base nesses levantamentos objetiva-se avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico de cascas de *Aristolochia esperanzae* Kuntze e de frutos de *Bromelia antiacantha* Bertol (Bromeliaceae) através do método de captura do radical livre DPPH.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal de *A. esperanzae* foi coletado em Esmeraldas – MG. As cascas de *A. esperanzae* foram moídas e imersas em etanol por sete dias, a temperatura ambiente, buscando a extração dos seus constituintes. A mistura obtida foi filtrada e em seguida, a extração foi repetida por duas vezes para maximizar a extração dos seus constituintes. A mistura resultante foi submetida à evaporação e secagem em estufa. Obteve-se assim o extrato concentrado das cascas de *Aristolochia esperanzae* Kuntze (**ECAE**).

O material vegetal de *B. antiacantha* foi coletado em Inconfidentes – MG. O preparo do extrato concentrado dos frutos de *B. antiacantha* (**EFBA**) foi realizado de forma semelhante à obtenção de **ECAE**.

A dosagem de atividade antioxidante foi realizada pelo método fotocolorimétrico *in vitro* de captura do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil), amplamente utilizado para avaliar a capacidade de antioxidantes naturais em sequestrar radicais livres (Bondet *et. al.*, 1997; Brand-Williams *et. al.*, 1995). O procedimento analítico foi adaptado segundo comunicado técnico (Rufino *et. al.*, 2007). Primeiramente foram preparadas as soluções de álcool metílico 50 %,

acetona 70 %, solução controle (40% de álcool metílico, 40% de acetona e 20% de água) e solução de DPPH 0,06 mM.

Para a calibração do método preparou-se diluições com metanol da solução de DPPH a 60 μ M de modo a se obter soluções com concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 μ M. Para obtenção da curva analítica, foram pipetados 4 ml de cada solução (incluindo soluções de concentração 60 μ M e 0 μ M – metanol puro). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 515 nm, plotando-se concentrações de DPPH no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y.

Para determinação da atividade antioxidante dos extratos preparados, pesou-se 0,1 g de amostra de **ECAE** e **EFBA** em um béquer de 25 ml, onde se adicionou 10 ml de metanol 50%. Essa mistura ficou sob agitação por cerca de uma hora. O sobrenadante dessa solução foi transferido para um balão de 25 ml. Ao resíduo da primeira extração foram adicionados 10 ml de acetona 70%, que sofreu o mesmo processo de agitação citado anteriormente. O sobrenadante foi transferido para o mesmo balão de 25 ml que continha o sobrenadante de metanol 50%, completando-se o balão volumétrico com água destilada e resultando em solução amostra de **ECAE (SA-ECAE)** e em solução amostra de **EFBA (SA-EFBA)**.

De **SA-ECAE** e **SA-EFBA** foram preparados três diluições diferentes em duplicata. Pipetou-se 0,1 mL de cada solução e transferiu-se para tubos de ensaio contendo 3,9 mL da solução de DPPH 60 μ M mantendo homogeneização em agitador de tubos. Esse mesmo procedimento também foi realizado com 0,1 mL da solução controle utilizando metanol como branco para calibrar o espectrofotômetro. As leituras no aparelho foram monitoradas a cada minuto.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotou-se a absorbância no eixo Y e concentração (mg/L) no eixo X para determinação da equação da reta. Para o cálculo da atividade antioxidante substituiu-se o termo y pela metade da absorbância do controle. A resolução da equação em x indica o valor correspondente à quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC_{50}).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de análise de atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH apresentou-se como um método simples e rápido. O elevado coeficiente de correlação linear ($R^2 = 0,9814$) indicou que o método é eficiente e aplicável na faixa

de concentração estudada (0 – 60 μ M DPPH). O potencial do extrato etanólico de *A. esperanzae* e *B. antiacantha* foi expresso como a quantidade de amostra necessária para inibir a oxidação do DPPH em 50%, identificado como EC₅₀. A Tabela 1 mostra os resultados obtidos para extratos estudados.

Tabela 1. Determinação da capacidade antioxidante de extrato etanólico de *A. esperanzae* e *B. antiacantha* através do método de captura do radical livre DPPH

Espécie	Parte Utilizada	EC ₅₀ (mg/L)
<i>Aristolochia esperanzae</i>	Cascas	Não detectado
<i>Bromelia antiacantha</i>	Frutos	15,54

Como referência para avaliação da atividade antioxidante foi utilizado a EC₅₀ do extrato etanólico de *Ginkgo biloba* (38,91 mg/L). A escolha deste padrão de referência ocorreu pelo fato de que a espécie é considerada de elevada atividade antioxidante (Mensor *et. al.*, 2001).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que a espécie *B. antiacantha* apresenta uma atividade antioxidante de aproximadamente 2,5 vezes maior que a referência. A considerável atividade antioxidante do extrato etanólico de *B. antiacantha* pode estar relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos, sobretudo de flavonóides, taninos e saponinas na espécie estudada. O extrato etanólico da espécie *A. esperanzae* não induziu a descolorimento da solução do radical livre DPPH, o que aliado aos resultados analíticos obtidos, indica uma ausência de atividade antioxidante pelo modelo de estudo adotado. Assim, o resultado insatisfatório da atividade antioxidante de *A. esperanzae* indica que o método fotolorimétrico de captura do radical livre DPPH é insuficiente para o estudo da atividade antioxidante desta espécie, pois a presença de compostos fenólicos em espécies do gênero *Aristolochia* é largamente registrada na literatura (Wagner, Bladt, Zgainski, 2001; Pacheco *et. al.*, 2010).

CONCLUSÕES

O extrato etanólico de *B. antiacantha* apresentou expressiva atividade antioxidante enquanto o extrato etanólico de *A. esperanzae* não apresentou atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH. Os extratos estudados e os metabólitos secundários presentes nestes extratos deverão ser submetidos a novos testes de atividade antioxidante como o método de redução do

ferro (FRAP), o método de captura do radical livre ABTS⁺ e o método de peroxidação lipídica para melhor compreensão da atividade antioxidante das espécies estudadas.

REFERÊNCIAS

Adams, M. *et. al.* Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders — A survey of European herbals from the 16th and 17th century **J. Ethnopharmacol.** v. 121, p. 343-359, 2009.

Badke, M. R. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem 2008. 96 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS.

Bondet, V. *et. al.* Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Lebensm-Wiss Technol.** v. 30 (6), p. 609-615, 1997.

Brand-Williams, W. *et. al.* Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity **Lebensm-Wiss Technol.** v. 28, p. 25-30, 1995.

Christen, Y. Oxidative stress and Alzheimer's disease **Am. J. Clin. Nutr.** v.71 (2), p. 621S-629S, 2000.

Lang A. E. *et. al.* Parkinson's disease. First of two parts. **N. Engl. J. Med.** v.339 (16), p. 111-114, 1998.

Manetti, L.M. *et. al.* Avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica, moluscicida e antioxidante de *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae), 2010. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.4, p.406-413, 2010.

Mensor, L. L. *et. al.* Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res.** V. 15, p. 127-130, 2001.

Pacheco, A. G. *et. al.* Estudo químico e atividade antibacteriana do caule de *A. esperanzae* Kuntze (Aristolochiaceae) **Química Nova** v. 33, p. 1649-1652, 2010.

Roesler R. *et. al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado **Cienc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 27 (1), p. 53-60, jan-mar. 2007.

Rufino, M. S. M. *et. al.* Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH Comunicado Técnico 127, Fortaleza – CE, julho 2007.

Santos, D. S. Estudo Fitoquímico Sazonal e Potencial Antimicrobiano das Raízes de *Vetiveria zizanioides* 2013. 73 p. Dissertação (Mestrado). Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí.

SANTOS V. N. C. *et. al.* Ripe fruits of *Bromelia antiacantha*: investigations on the chemical and bioactivity profile **Brazilian Journal of Pharmacognosy** v. 19(2A), p. 358-365, abr. - jun., 2009.

Sorg, O. Oxidative Stress: a theoretical model or biological reality? **C. R. Biol.** V. 327, p. 649-662, 2004.

Stasi, D.: Cláudio, L.; **Plantas Medicinais na Amazônia I**, UNESP, São Paulo, 1989.

Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainski, E. M.; **Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas**. Springer: London. 2001.

Wellyson, *et. al.* Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq., São Luís**, v. 18, p.90-95, 2011.