

Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae)

Diovanly Doffinger Ramos¹, Claudia Andréa Lima Cardoso² e Natanael Takeo Yamamoto³

Introdução

A procura por princípios ativos em plantas nativas, vem crescendo, devido ao grande investimento em medicamentos alternativos, em função de suas ações terapêuticas. O Mato Grosso do Sul apresenta uma grande diversidade de plantas nativas, e entre elas as espécies de *Campomanesia*, as quais são popularmente conhecidas como guavira [1]. A literatura apresenta poucos trabalhos na parte química e de atividade biológica com este gênero.

Para o estudo de atividades biológicas de extratos vegetais é importante a seleção de bioensaios para a detecção do efeito específico. Os sistemas de ensaio devem ser simples, sensíveis e reprodutíveis.

O gênero *Campomanesia* da família Myrtaceae de nome popular guavira, é originária do Brasil, e de grande abundância na região do cerrado. Suas folhas e frutos possuem algumas propriedades medicinais como antiinflamatória, antidiarréica e antisséptica das vias urinárias. As folhas são utilizadas também no tratamento da gripe, e seus frutos atuam sobre o intestino, recompondo-o. O fruto é ótimo alimento, sendo muito saboroso com alto teor vitamínico e é usado para o preparo de licores [2, 3].

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo do perfil cromatográfico e de atividades biológicas em extratos hexânicos das folhas de *Campomanesia adamantium* coletadas na Região de Bela Vista-MS.

Material e métodos

A. Coleta das espécies vegetais e preparação dos extratos.

As amostras foram coletadas em novembro de 2004 na região de Bela Vista-MS, segundo as coordenadas geográficas: latitude 22 01 09.2 S e longitude 056 40 37.1 W para o ponto de coleta I, latitude 22 07 44.5 S e longitude 056 33 32.2 W para o ponto de coleta II e latitude 22 06 35.8 S e longitude 056 33 00.8 W para o ponto de coleta III. Todos os pontos apresentam solo arenoso, intemperizados, devido à alta lixiviação e possuem baixa fertilidade natural. O microclima é caracterizado por uma precipitação média de 1.114 mm e uma temperatura média de 25° C para todos os pontos.

As plantas foram identificadas por Antônio Sobral da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e as excisas foram depositadas no Herbário Mato Grosso do Sul (HMS), Campo Grande – MS, sob os números 5195 para o ponto 1, 5196 para o ponto 2 e 5194 para o ponto 3.

As folhas foram secas em estufa a 34° C e trituradas para extração dos constituintes químicos. O pó obtido de cada amostra foi submetido a extração com hexano, durante um período de dez dias. Após esse período o volume do extrato foi reduzido em evaporador rotatório RV 05-ST 1, Kontes, a uma temperatura de 40° C. O material resultante foi seco em capela de exaustão.

B. Cromatografia em camada delgada (CCD).

As amostras dos extratos foram analisadas em CCD, utilizando placas de sílica gel da mesh 60, com 0,20 mm de espessura de filme. As placas foram eluídas com os sistemas de solventes abaixo:

- Hexano/acetato de etila (9:1 v/v)
- Hexano/acetato de etila (4:1 v/v) e (7:3 v/v)
- Hexano/acetato de etila (3:2 v/v) e (1:1 v/v)

As placas foram visualizadas com lâmpada de 254 nm e 365 nm e reveladas com vapores de iodo.

C. Bioensaio com *Artemia* sp.

A toxidez dos extratos hexânicos das plantas coletadas nos três pontos de coleta foi testada pelo ensaio com *Artemia*. Cada solução foi preparada a partir de 2 mg de extrato bruto, sendo solubilizada em 10 mL de metanol, filtrada e avolumada novamente em balão volumétrico de 10 mL.

Para a realização deste ensaio foi preparada uma solução de NaCl na concentração de 38 g/L, na qual aproximadamente 10 mg de ovos de *Artemia* sp. foram colocados para eclodir. Após 48 horas observou-se a eclosão dos náuplios (larvas).

Para a realização do teste com os extratos cerca de dez náuplios de *Artemia* sp. foram transferidos para tubos de ensaio contendo água do mar artificial (solução salina – 38 g/L de NaCl) e o extrato a ser testado, na concentração de 2 mg/mL, o que foi obtido adicionando-se 0,5 mL de amostra à 4,5 mL de solução salina. Os testes foram feitos em triplicata. A contagem dos animais mortos e vivos foi realizada após 24 horas [4-6].

1. Mestrando, Departamento de Ciências Agrárias, Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados. Rodovia Dourados – Itahum, km 12 – Cidade Universitária – Dourados – MS – CEP 79804-970. Email:diovanly3@hotmail.com

2. Professor Adjunto do Departamento de Química, Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. Rodovia Dourados – Itahum, km 12 – Cidade Universitária – Dourados – MS – CEP 79804-970.

3. Doutorando, Departamento de Ciências Agrárias, Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados. Rodovia Dourados – Itahum, km 12 – Cidade Universitária – Dourados – MS – CEP 79804-970.

D. Ensaio antioxidante com o radical livre DPPH.

Foi preparada uma solução de DPPH a 0,004% em metanol, a qual foi misturada a solução da amostra em análise. Esse teste também foi realizado com amostras dos extratos hexânicos provenientes das plantas dos três pontos de coleta. Cada solução foi preparada a partir de 2 mg de extrato bruto, sendo solubilizada em 10 mL de metanol, filtrada e avolumada novamente em balão volumétrico de 10 mL. Foram preparadas diluições das soluções nas concentrações 40, 80, 160, 320, 640 µg/mL. A cada amostra (1 mL) foi adicionada a solução de DPPH (2 mL), sendo que as absorvâncias resultantes foram medidas (a 517 nm) após o intervalo de 30 minutos de reação. Por meio dos valores das absorvâncias obtidas foi plotado o gráfico de variação das absorvâncias pelas concentrações das amostras (Fig. 2). Foi tomado como referência de máxima absorção, 2 mL da solução de DPPH adicionado a 1 mL de metanol. Foi utilizado o padrão de rotina como antioxidante padrão, o qual foi submetido ao mesmo procedimento experimental [7].

Resultados e discussão

A. Rendimento dos extratos e perfil cromatográfico.

Através das extrações foram obtidos rendimentos de 1,00% para o ponto de coleta 1, 1,02% para o ponto de coleta 2 e 1,77% para o ponto de coleta 3. O perfil cromatográfico obtido dos extratos hexânicos dos pontos um, dois e três (Fig. 1). Mostraram semelhança empregando luz ultravioleta 254 nm e 366 nm e também quando se utilizou vapores de iodo na revelação o que nos leva a presumir que não ocorre alteração do extrato vegetal nos diferentes pontos, como já esperado em função destes estarem sobre a mesma influência microclimática e edáfica.

B. Teste com *Artemia* sp.

O teste com *Artemia* é utilizado para indicar o potencial citotóxico de extratos e substâncias quando apresenta alta letalidade, mas no caso dos extratos analisados estes não demonstraram toxidez, pois não se observou mortalidade dos microcrustáceos na concentração de 2 mg/ml. Com isso estes extratos possivelmente não apresentam substâncias potencialmente citotóxicas. [4, 5].

C. Ensaio antioxidante empregando o radical livre DPPH.

A partir do ensaio com DPPH, pôde-se observar que a rotina mostrou um maior percentual de inibição que os extratos hexânicos, nas concentrações usadas no ensaio.

Os extratos hexânicos apresentaram uma similaridade entre 40 e 160 µg/ml no teste com DPPH, o que pode ser explicado pelo perfil cromatográfico semelhante obtido nas amostras dos pontos um, dois e três. Em concentrações maiores o ponto três apresentou maior atividade. Este fato pode ter ocorrido em função de componentes presentes neste extrato, que em concentrações maiores no ponto três podem ter influenciado este aumento. Esta é uma suposição uma vez que a análise cromatográfica realizada, neste trabalho, é qualitativa.

Podemos concluir que os extratos hexânicos de *Campomenesia adamantium* são adequados para a busca de substâncias com atividade antioxidante.

Agradecimentos

FUNDECT, UEMS, FINEP e a Vali Pott pelo auxílio com as excicatas e envio para identificação.

Referências

- [1] CRAGG, G. M.; NEUWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural Products in Drug Discovery and Development. *Journal of Natural Products*, v.60, p.52-57, 1977.
- [2] LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, v.1, (2000).
- [3] PIVA, M. G. O Caminho das Plantas Mediciniais: Estudo Etnobotânico. Rio de Janeiro: Mondiran, (2002).
- [4] MEYER, N. B.; FERRIGNI, N. R.; JACOBSON, J. E.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHEIN, J. L. Brineshrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, v.45, p.31-34, 1982.
- [5] CITÓ, A. M. G. L.; SOUZA A. A.; LOPES, J. A. D.; CHAVES, M. H.; COSTA, F. B.; SOUZA, S. A. A.; AMARAL, M. P. S. Resina de *Protium heptaphyllum* March (Burceraceae): Composição química do óleo essencial e avaliação citotóxica frente a *Artemia salina* Learch. *Anais da Associação Brasileira de Química*, v.52, n.2, p.74-76, 2003.
- [6] CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. C.; VELANDIA, J. R.; ECHEVERRIA, A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente *Artemia salina* leach. *Química Nova*, v.23, p.20-25, 2000.
- [7] BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, v.181, n.4617, p.1199-1200, 1958.

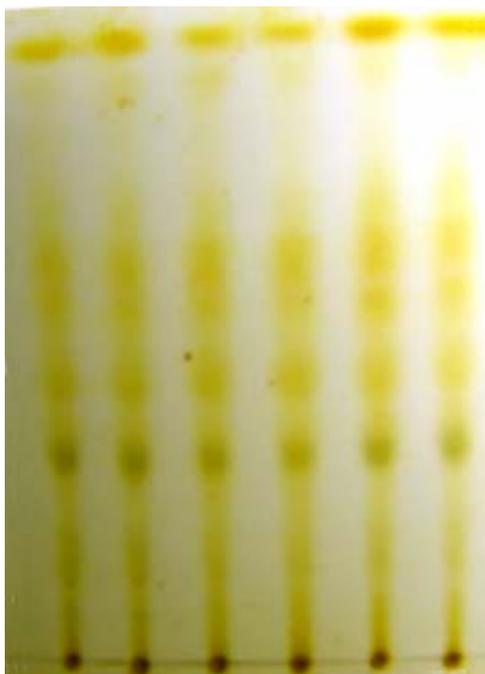


Figura 1. Perfil cromatográfico dos extratos hexânicos dos pontos um, dois e três, observados em duplicata da esquerda para a direita, respectivamente, empregando o sistema hexano:acetato de etila 8:2 v/v e revelado com vapores de iodo.

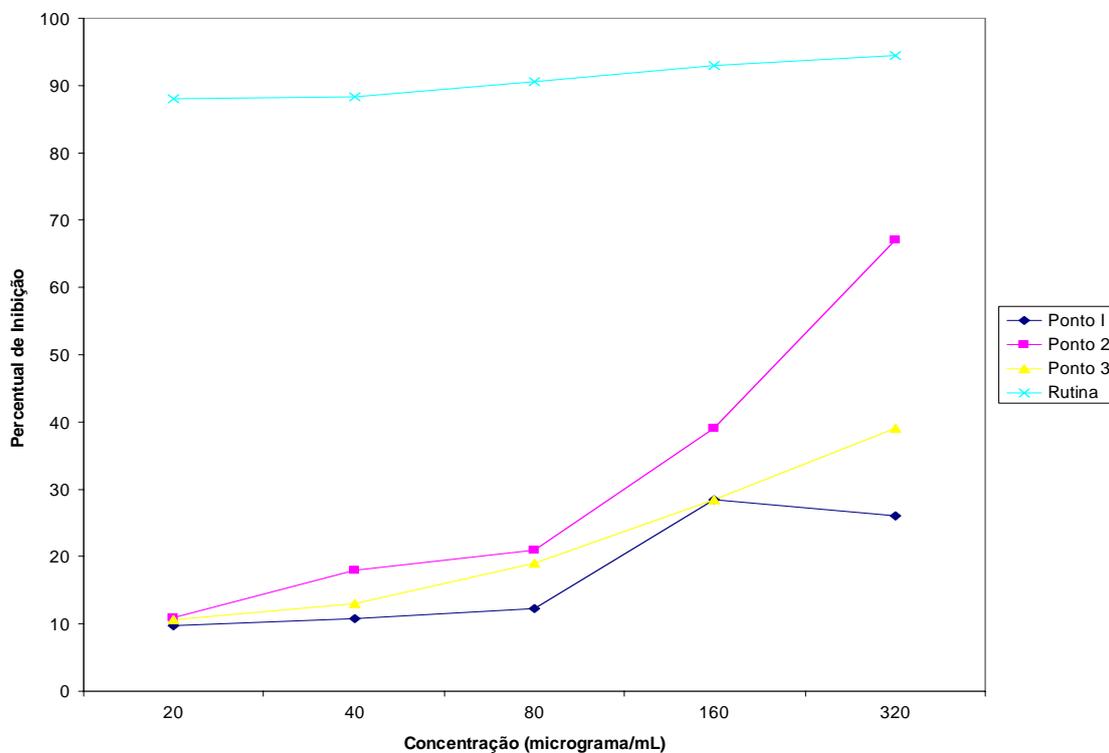


Figura 2. Percentual de inibição das amostras do extrato hexânico analisadas com DPPH, pontos de coleta I, II e III.