

Estudos da atividade antioxidante de novas tinturas mãe homeopáticas de plantas medicinais da região de Governador Valadares-MG

Studies of the antioxidant activity of new homeopathic mother tinctures of medicinal plants from the region of Governador Valadares-MG

DOI:10.34117/bjdv8n11-176

Recebimento dos originais: 11/10/2022

Aceitação para publicação: 14/11/2022

Larissa Martins Duarte Andrade

Graduada em Farmácia pela Universidade Federal de Juiz de Fora

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora

Endereço: Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, S/N, São Pedro, Juiz de Fora - MG, CEP: 36036-900

E-mail: larissamartins@gamil.com

Rafael Noman

Graduado em Farmácia

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora

Endereço: Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, S/N, São Pedro, Juiz de Fora - MG, CEP: 36036-900

E-mail: rafaelnoman@hotmail.com

Michelle Bueno de Moura Pereira

Doutorado em Ciência pela Universidade de Campinas (UNICAMP)

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora

Endereço: Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, S/N, São Pedro, Juiz de Fora - MG, CEP: 36036-900

E-mail: michelle.antunes@ufjf.br

Sandra Bertelli Ribeiro de Castro

Pós-Doutorado pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM)

Instituição: Universidade Federal de Vale do Mucuri e Jequitinhonha

Endereço: R. Cruzeiro, 01, Jardim São Paulo, Teófilo Otoni - MG, CEP: 39803-371

E-mail: sandrabertelliribeiro@gmail.com

Caio Cesar de Souza Alves

Pós-Doutorado pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM)

Instituição: Universidade Federal de Vale do Mucuri e Jequitinhonha

Endereço: R. Cruzeiro, 01, Jardim São Paulo, Teófilo Otoni - MG, CEP: 39803-371

E-mail: sandrabertelliribeiro@gmail.com

Michele Correa Bertoldi

Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora

Endereço: Campus Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, S/N, São Pedro, Juiz de Fora - MG, CEP: 36036-900

E-mail: michele.bertoldi@ufjf.br

João Eustáquio Antunes

Doutorado em Farmacologia pela Universidade Campinas (UNICAMP)

Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora

Endereço: Rua Monte Azul, Esperança, Governador Valadares – MG, CEP: 35058-140

E-mail: joao.antunes@ufjf.br

RESUMO

As tinturas mães (TM's) são extratos etanólicos obtidos a partir de plantas, sendo um tipo de formulação muito comum a ser utilizado na produção de medicamentos homeopáticos. Seu efeito terapêutico está parcialmente atribuído à presença de fitoquímicos e associados, muitas vezes, ao saber popular. Neste trabalho foram estudadas treze tinturas mães obtidas a partir de diferentes plantas coletadas na região de Governador Valadares-MG. As TM's foram preparadas pelo processo de maceração de material vegetal fresco das plantas em solução hidroalcoólica. A viabilidade celular e a produção de óxido nítrico das TM's foram obtidas pelo método MTT nas linhagens de macrófagos murinos RAW 264.7. Foram testados também teor de compostos fenólicos totais (TPC) e a atividade antioxidante (AA) usando radicais livres. De modo geral, as TM's não apresentaram citotoxicidade à cultura de células RAW 264.7. Não houve redução significativa da viabilidade celular da linhagem de macrófagos testadas pelas TM's, o que pode demonstrar baixa toxicidade celular. Todos os extratos das TM's inibiram a produção de NO em determinadas concentrações testadas, porém os extratos das TMs 6, 7, 12, e 13 foram os que tiveram os melhores resultados para este teste. As TM's que tiveram maior teor de compostos fenólicos foram: TM's 5, 6 e 12. Já as TM's, que apresentaram maior atividade antioxidante foram: 7, 3; 6 12. Podemos destacar neste estudo a importância da presença de compostos fenólicos com potencial atividade antioxidante observado nas TM's. Assim, pode-se concluir que algumas TM's estudadas, além da atividade antioxidante também apresentaram capacidade de inibição da produção de NO, sendo, portanto, amostras promissoras para estudos posteriores.

Palavras-chave: tinturas-mãe, RAW 264.7, antioxidantes, compostos fenólicos.

ABSTRACT

Mother tinctures (TM's) are ethanolic extracts obtained from plants, being a very common type of formulation to be used in the production of homeopathic medicines. Therapeutic effect is partially attributed to the presence of phytochemicals and often associated with popular knowledge. In this work, thirteen mother tinctures obtained from different plants collected in the region of Governador Valadares-MG were studied. The TM's were prepared by the process of maceration of fresh plant material from the plants in hydroalcoholic solution. Cell viability and nitric oxide production of TM's were obtained by the MTT method in RAW 264.7 murine macrophage cells. Total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activity (AA) were also tested using free radicals. In general, TM's did not show cytotoxicity to RAW 264.7 cell culture. There was no significant reduction

in cell viability of the macrophage cell tested by TMs, which may demonstrate low cell toxicity. All TM extracts inhibited NO production at any of the concentrations tested, but TM extracts 6, 7, 12, and 13 had the best results for this test. The TM's that had the highest content of phenolic compounds were: TM's 5, 6 and 12. The TM's that showed the highest antioxidant activity were: 7, 3; 6 12. We can highlight in this study the importance of the presence of phenolic compounds with potential antioxidant activity observed in TMs. Thus, it can be that some TMs studied, in addition to the antioxidant activity, also showed the ability to inhibit the production of NO, being, therefore, promising samples for further studies.

Keywords: mothers tinctures, RAW 264.7, antioxidant, phenolic compounds.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais pelo homem é relatada desde os tempos remotos. Nas diferentes regiões do Brasil as plantas são amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais, na maioria das vezes são o único meio desses povos alcançar a cura. Todavia, o uso de plantas medicinais representa um fator importante para a manutenção das condições de saúde das pessoas e prospecção de novos fármacos (HAMILTON, 2003; GOMES et al., 2007; IBIAPINA, 2014).

Homeopatia é uma especialidade médica e farmacêutica que consiste em ministrar ao doente, doses mínimas do medicamento, de acordo com a lei dos semelhantes, para evitar a agravação dos sintomas e estimular a reação orgânica na direção da cura (FONTES, 2013).

Os medicamentos usados em homeopatia têm origem nos diferentes reinos da natureza, assim como nos produtos químico-farmacêuticos, substâncias e/ou materiais biológicos, patológicos ou não, além de outros agentes de diferente natureza (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011).

Para produzir medicamentos homeopáticos a partir de vegetais, a primeira etapa é a produção de Tintura mãe (TM). A TM é uma preparação farmacêutica, na forma de solução, resultante da ação dissolvente e/ou extrativa de um insumo inerte hidroalcoólico sobre determinado insumo ativo a partir da qual são obtidos os medicamentos homeopáticos dinamizados (Farmacopeia Homeopática Brasileira, 2011).

As TM são usadas em tratamentos homeopáticos que envolvem problemas de saúde leves a graves e seus efeitos benéficos foram parcialmente atribuídos à presença de fitoquímicos. Entre os fitoquímicos estão os compostos fenólicos, flavonoides e taninos,

eles apresentam diversos efeitos benéficos à saúde por sua atividade antioxidante, e por serem responsáveis por possíveis ações farmacológicas (ANTOLOVICH et al., 2002).

A viabilidade celular é um estudo importante, pois irá avaliar a toxicidade das TM's em estudo. A análise de viabilidade celular envolve a utilização de ferramentas que qualificam e/ou quantificam células "vivas", ou seja, células metabolicamente ativas em uma cultura (ROGERO et al., 2000). Assim, o teste de viabilidade é um método importante para medir os efeitos tóxicos das TM's.

Os macrófagos são as primeiras células a participar da resposta imunológica e podem ser ativados por uma variedade de estímulos. Sua principal função inclui a fagocitose de partículas estranhas, a apresentação de antígenos, a produção de citocinas e espécies reativas de oxigênio (peróxido de hidrogênio – H₂O₂) e nitrogênio (óxido nítrico – NO) (JOHNSTON, 1988).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula que possui uma grande variedade de funções e atua em muitos processos fisiológicos, entre eles na regulação do sistema imune. Além disso, essa molécula também faz parte do arsenal de primeira defesa do organismo com poder microbicida. Vários estudos demonstraram a ação do óxido nítrico, como por exemplo sua ação antibacteriana, antiviral e antiparasitária (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

Na maioria dos processos inflamatórios e autoimunes ocorre um alto nível de produção de NO por macrófagos ou por neutrófilos ou outras células ativadas, com o intuito de ser tóxico para micróbios, parasitas ou células tumorais, mas pode também lesar células saudáveis vizinhas (DURNER et al, 1999). Um aspecto marcante desta molécula é a sua capacidade de ser benéfica ou potencialmente tóxica dependendo da concentração ou depuração tecidual (FLORA FILHO, ZILBERSTEIN, 2000).

Assim o doseamento de NO é importante para poder selecionar TM's que possam ter ação inibitória e possíveis efeitos benéficos à saúde.

A quantificação de compostos fenólicos nas TM's também é um estudo importante, pois estudos com extratos contendo compostos fenólicos demonstraram poder antioxidante. No reino vegetal são encontradas várias fontes de antioxidantes naturais. (WETTASINGHE & SHAHIDI, 1999).

2 METODOLOGIA

As TM's foram preparadas a partir de planta fresca pelo método de maceração de acordo com metodologia padronizada (FONTE, 2013).

As tinturas-mãe foram padronizadas na mesma concentração de 10mg/mL para os testes de óxido nítrico NO e viabilidade celular. Para realizar o teste de viabilidade celular, macrófagos murinos RAW 264.7 foram cultivadas em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 suplementado com 10% de soro bovino fetal, 1% de aminoácidos essenciais e 0,5% de solução penicilina/estrepctomicina (10.000 UI/mL, 10.000 mg/mL, respectivamente). Após atingirem confluência, as células foram colocadas em placas de 96 poços na concentração de 2×10^5 células/mL para o ensaio de viabilidade por MTT e dosagem de NO. As células foram então incubadas em atmosfera úmida de 5% de CO₂ a 37 °C.

A viabilidade dos macrófagos RAW 264.7 foi determinada pelo método colorimétrico do MTT (corante Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide- Sigma, St, Louis, MO, USA). Para o teste, após o tempo de cultura de 48 horas, os sobrenadantes da cultura celular de macrófagos tratados com extratos 1-13 nas concentrações de 2,5µg/mL, 5,0µg/mL e 10µg/mL. Foram adicionados 100 µL de RPMI-1640 e 10 µL de MTT (5 mg/mL). As placas foram incubadas a 37 °C em estufa com 5% de CO₂. Transcorrido o período de 4 horas a reação foi finalizada com a retirada do meio de cultura e adição de 100 µL de DMSO. A leitura de absorbância foi feita em leitor de microplaca Multiskan™ FC Microplate Photometer com comprimento de onda de 570 nm.

A concentração de NO foi medida pelo método de Griess na cultura de macrófagos RAW 264.7 e tratados com extratos 1-13 nas concentrações de 2,5µg/mL, 5,0µg/mL e 10µg/mL. Posteriormente foi acrescentado reagente de Griess (Sigma, St, Louis, MO, USA), A produção de nitritos foi quantificada pela comparação a uma curva padrão com diferentes concentrações de NaNO₂. A absorbância foi medida a 540 nm.

O teste de determinação de compostos fenólicos foi a partir do método Folin-Ciocalteu Swain e Hillis (1959). O branco foi preparado substituindo-se 1 mL do extrato fenólico por 1 mL água destilada. As amostras foram realizadas em triplicatas. As leituras por espectrofotometria da amostra e do branco foram realizadas a 760 nm. Os resultados foram calculados com base na curva-padrão de ácido gálico, preparada nas mesmas condições que a amostra. O conteúdo fenólico total foi expresso em g de ácido gálico/ g de material vegetal fresco e em mg ácido gálico/ L tintura mãe.

A atividade antioxidante foi determinada pelo ensaio do radical livre DPPH, de acordo com a metodologia descrita por BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET (1995). O método do radical de eliminação DPPH se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH que ao se reduzir perde sua coloração púrpura. Desta forma, avalia apenas o poder redutor do antioxidante, que ao doar um elétron se oxida, e por este motivo não detecta substâncias pró-oxidantes (DUARTE-ALMEIDA, et al., 2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tinturas mãe produzidas estão na Tabela 1

Tabela 1. Tinturas mãe homeopáticas produzidas a partir de partes de material vegetal fresco.

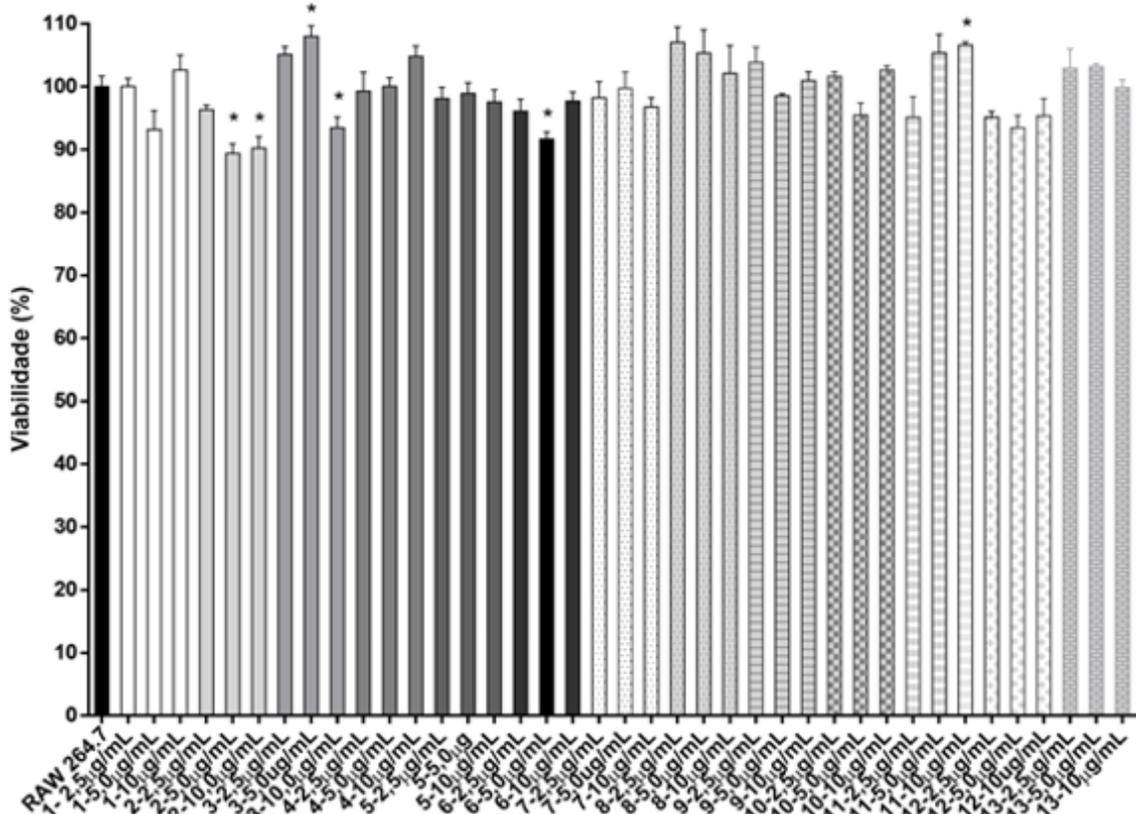
| Tinturas mãe homeopáticas produzidas | Parte utilizada da planta | Peso do material vegetal fresco (g) | Volume final (mL) | Teor alcoólico final |
|--|---------------------------|-------------------------------------|-------------------|----------------------|
| 1- <i>Petiveria alliacea</i> (Guiné) | Folha | 50,0470 | 330 | 66,39% |
| 2- <i>Solidago chilensis</i> (Arnica) | Raiz | 39,4705 | 234 | 65,16% |
| 3- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú) | Casca | 50,6018 | 117 | 60,20% |
| 4- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú) | Folha | 50,0486 | 404 | 68,33% |
| 5- <i>Myrciaria dubia</i> (Camu-camu) | Folha | 50,0479 | 339 | 66,66% |
| 6- <i>Manilkara longifolia</i> (Paraju) | Folha | 50,7030 | 260 | 63,33% |
| 7- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | Rizoma | 50,0200 | 308 | 65,62% |
| 8- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | Flor | 20,5640 | 129 | 65,83% |
| 9- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | Folha | 29,6250 | 146 | 62,82% |
| 10- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco) | Folha | 50,1932 | 252 | 63,04% |
| 11- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco) | Raiz | 37,6071 | 230 | 65,54% |
| 12- <i>Spondias tuberosa</i> (Umbu) | Folha | 50,0100 | 442 | 69,07% |
| 13- <i>Curcuma longa</i> (Açafrão da terra) | Rizoma | 50,2060 | 444 | 69,08% |

Fonte: Próprio autor

As TM's foram testadas pelo método de MTT nas linhagens de macrófagos murinos RAW 264.7 nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0µg/mL. Na Figura 1 observa-se que as TM's não apresentaram efeitos de citotoxicidade nas células RAW 264.7. Algumas TM's foram capazes de reduzir a viabilidade de macrófagos RAW 264.7 não estimulados,

sendo a TM 2- *Solidago chilensis* (Arnica) parte utilizada raiz, na concentração 5,0 µg/mL reduziu a viabilidade celular em 14%, porém deve ser considerado uma redução de mínimo 30% da viabilidade celular para confirmação de inibição de viabilidade celular em uma cultura de linhagens celulares (SHISHODIA et al., 2003; SORRIENTO et al., 2012; ZANOTTO-FILHO et al., 2009).

Figura 1 Viabilidade das células de macrófagos tratadas com as TM's.



Fonte: Próprio autor

As células RAW 264.7 foram estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS) e Interferon-gama (IFN-γ), e após 48h foi mensurado a produção de óxido nítrico (NO) com objetivo de avaliar as propriedades imunomoduladoras das TM's.

Os resultados de produção de óxido nítrico NO na cultura de RAW 264.7 tratadas com as TM's nas concentrações 2,5; 5,0; 10,0µg/mL estão representados na Figura 2. Na concentração 2,5 µg/mL somente as TM's 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu) e a 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro), não foram capazes de inibir a produção de NO em relação ao grupo controle (células RAW264.7 estimuladas e não tratadas), as demais TM's foram capazes de inibir a produção de NO em 2,5 µg/mL. Na concentração de 5,0 µg/mL as

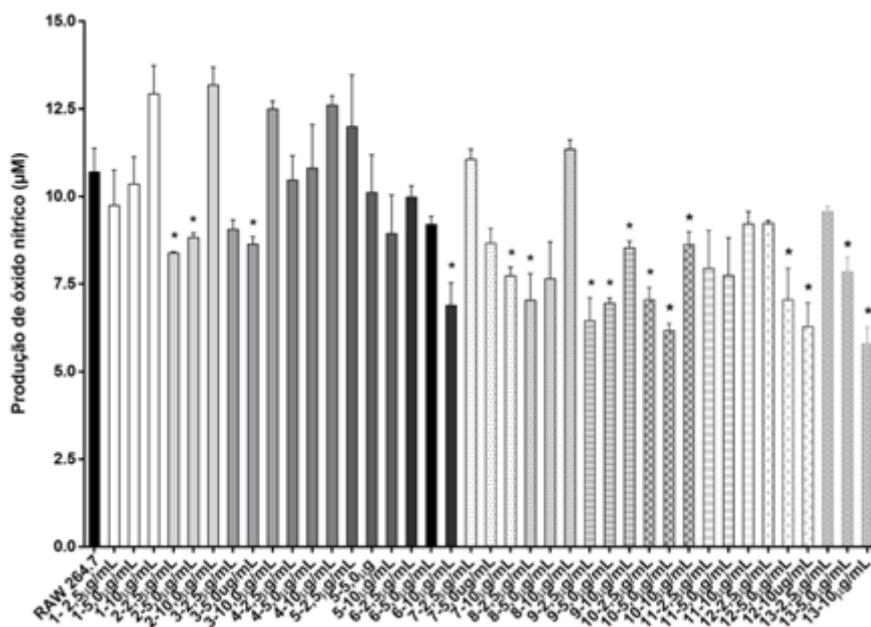
tinturas identificadas em 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 reduziram significativamente a produção de NO ($p < 0,05$).

Ao testar as TM's na concentração 10 $\mu\text{g/mL}$ observou-se que as tinturas 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13 foram capazes de reduzir a produção de NO.

As TM's que apresentaram os melhores resultados em reduzir a produção de NO de maneira estatisticamente diferente do padrão e de forma dose dependente foram as TM's 6 - *Manilkara longifolia* (Paraju), 12 - *Spondias tuberosa* (Umbu), e 13 - *Curcuma longa* (Açafrão da terra) respectivamente.

É importante ressaltar que a capacidade de reduzir a produção de NO em células RAW 264.7 pelas TM's testadas não estão atribuídas à sua citotoxicidade, pois nenhuma TM nas concentrações testadas promoveu morte celular, como observado no ensaio de viabilidade celular.

Figura 1. Relação de produção de óxido nítrico de macrófagos RAW 264.7 tratados com os extratos etanólicos de plantas em três concentrações, estimulados com LPS e IFN- γ .

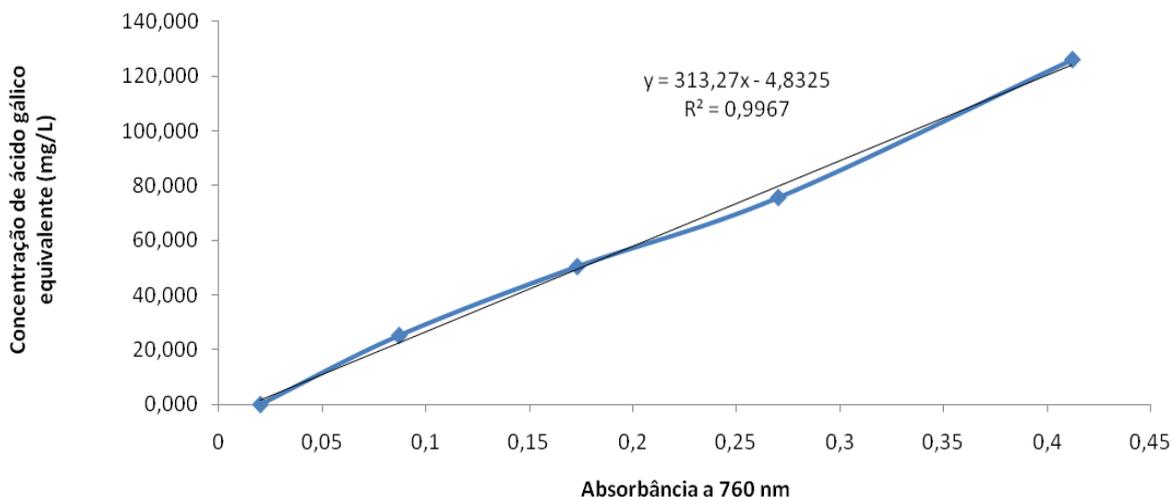


Fonte: Próprio autor

As TM's produzidas neste estudo também foram testadas para a determinação de compostos fenólicos e teste de antioxidantes. Para isso, o ácido gálico foi dissolvido em água destilada, para elaboração da curva padrão. As diluições do ácido gálico foram preparadas nas concentrações 0 mg/L; 25,2 mg/L; 50,4 mg/L; 75,6 mg/L; 126,0mg/L e os resultados de absorbância foram respectivamente 0,020nm; 0,087nm; 0,173nm; 0,270nm; 0,412nm. Os dados obtidos na curva pelo ensaio de Folin-Ciocalteu podem ser

visualizados na Figura 3. Esses resultados foram usados na comparação com a absorbância e o conteúdo fenólico das TM's produzidas

Figura 2. Curva padrão para fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu



Fonte: Próprio autor

Os resultados da relação entre o peso das plantas frescas utilizadas em grama (g) para a produção da tinturas-mãe TM's em mililitros (mL) estão representados na Tabela 2. Cada resultado obtido desta relação foi convertido em g/L para permitir calcular o teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/g material vegetal) apresentados na Tabela 3.

Tabela 2. Relação de vegetal fresco utilizado no preparo das tinturas com o volume obtido de cada tintura

| Tinturas mãe | P arte utilizada da planta | da amostra (g) | Peso amostra (g) | Volume (mL) | Relação g/mL | Relação g/L | | | |
|---|----------------------------|----------------|------------------|-------------|--------------|-------------|-----|----|--------|
| 1- <i>Petiveria alliacea</i> (Guiné) | olha | F | 470 | 50,0 | 330 | 514 | 0,1 | 15 | 1,4419 |
| 2- <i>Solidago chilensis</i> (Arnica) | aiz | R | 705 | 39,4 | 234 | 690 | 0,1 | 16 | 9,0168 |
| 3- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú) | asca | C | 018 | 50,6 | 117 | 311 | 0,4 | 43 | 1,0572 |
| 4- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú) | olha | F | 486 | 50,0 | 404 | 238 | 0,1 | 12 | 3,7846 |
| 5- <i>Myrciaria dubia</i> (Camu-camu) | olha | F | 479 | 50,0 | 339 | 476 | 0,1 | 14 | 7,6252 |
| 6- <i>Manilkara longifolia</i> (Paraju) | olha | F | 030 | 50,7 | 260 | 952 | 0,1 | 19 | 5,1992 |

| | | | | | | |
|--|-------|------|-----|-----|-----|--------|
| 7- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | R | 50,0 | | | 0,1 | 16 |
| | izoma | 200 | 308 | 625 | | 2,5240 |
| 8- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | F | 20,5 | | | 0,1 | 15 |
| | lor | 640 | 129 | 595 | | 9,5469 |
| 9- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | F | 29,6 | | | 0,2 | 20 |
| | olha | 250 | 146 | 026 | | 2,5641 |
| 10- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco) | F | 50,1 | | | 0,1 | 19 |
| | olha | 932 | 252 | 993 | | 9,3217 |
| 11- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco) | R | 37,6 | | | 0,1 | 16 |
| | aiz | 071 | 230 | 637 | | 3,7156 |
| 12- <i>Spondias tuberosa</i> (Umbu) | F | 50,0 | | | 0,1 | 11 |
| | olha | 100 | 442 | 132 | | 3,2140 |
| 13- <i>Curcuma longa</i> (Açafrão da terra) | R | 50,2 | | | 0,1 | 11 |
| | izoma | 060 | 444 | 130 | | 3,0358 |

Fonte: Próprio autor

O ensaio de Folin-Ciocalteu expressa o conteúdo fenólico total, e apresenta ótima relação matemática, o que pode ser demonstrado pelo coeficiente de regressão obtido ($R^2 = 0,9967$). Assim, os resultados do conteúdo fenólico das tinturas homeopáticas podem ser transformados e correlacionados, criando uma alternativa para a análise e possibilitando comparações (Tabela 3).

A análise dos compostos fenólicos totais (TPC) das TM's estão expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de AGE/g de amostra) e como mg AGE/L tintura mãe, na tabela 3. Os valores variam entre 41,5 – 1449,1 mg AGE/L tintura mãe, sendo o menor valor referente a TM 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro) parte usada rizoma e a com o maior valor 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu), parte da planta folha. Em relação ao teor de compostos fenólicos que foi obtido em mg de AGE/g por amostra a TM 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro) apresentou o menor resultado. Foi obtido o valor de 0,26 mg de AGE/g de amostra para essa TM. Já o maior teor de compostos fenólicos foi obtido para a TM 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu) com valor de 9,82 mg de AGE/g de amostra.

Tabela 3. Relação teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/L tintura mãe); Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; IC50, em mg AGE/L tintura mãe) e Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/g material vegetal)

| Plantas | Parte utilizada da planta | Teor de Compostos Fenólicos Totais (mg AGE/L tintura mãe) | Teor de Compostos Fenólicos Totais (mg AGE/g material vegetal) | Desvio Padrão | Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; IC50, em mg AGE/L tintura mãe) | Atividade Antioxidante (ensaio DPPH; IC50, em mg AGE/g material vegetal) |
|--|---------------------------|---|--|---------------|---|--|
| 1- <i>Petiveria alliacea</i> (Guiné) | Folha | 173,9 | 1,15 | 0,0 | 259,8 | 1,72 |
| 2- <i>Solidago chilensis</i> (Arnica) | Raiz | 45,9 | 0,27 | 0,0 | 445,8 | 2,64 |
| 3- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú) | Casca | 430,5 | 1,00 | 8,6 | 105,7 | 0,25 |
| 4- <i>Erythrina verna</i> (Mulungú) | Folha | 59,1 | 0,48 | 0,4 | 266,6 | 2,15 |
| 5- <i>Myrciaria dubia</i> (Camu-camu) | Folha | 1449,1 | 9,82 | 13,3 | 53,6 | 0,36 |
| 6- <i>Manilkara longifolia</i> (Paraju) | Folha | 1352,0 | 6,93 | 26,6 | 49,0 | 0,25 |
| 7- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | Rizoma | 41,5 | 0,26 | 0,0 | 14,1 | 0,09 |
| 8- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | Flor | 275,9 | 1,73 | 1,3 | 280,3 | 1,76 |
| 9- <i>Pfaffia glomerata</i> (Ginseng-brasileiro) | Folha | 312,6 | 1,54 | 1,9 | 351,7 | 1,74 |
| 10- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco) | Folha | 228,2 | 1,14 | 1,9 | 93,9 | 0,47 |
| 11- <i>Costus spicatus</i> (Cana de Macaco) | Raiz | 71,3 | 0,44 | 0,4 | 374,2 | 2,29 |
| 12- <i>Spondias tuberosa</i> (Umbu) | Folha | 338,9 | 2,99 | 1,3 | 63,5 | 0,56 |
| 13- <i>Curcuma longa</i> (Açafrão da terra) | Rizoma | 153,5 | 1,36 | 3,1 | 184,6 | 1,63 |
| Ácido Gálico (padrão) | | | | | 115,0 | |

Fonte: Próprio autor

Vários estudos têm reportado a relação entre o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de produtos vegetais (VELIOGLU et al., 1998; KATSUBE et al., 2004; CHEN et al., 2008). Diversos compostos fenólicos são produzidos pelas plantas como uma resposta aos estímulos do ambiente, em geral, protegendo-as de fatores ambientais, como estresse, pragas e sol. Plantações expostas ao sol produzem níveis mais elevados destes compostos, em comparação com as cultivadas em ambiente sombreado de floresta (MEYER et al. 2006).

A capacidade antioxidante avaliada no método DPPH teve os resultados expressos em termos de IC₅₀, isto, é a quantidade de composto antioxidante necessário para diminuir ou reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; CHEN; BERTIN; FROLDI, 2012). Este valor é calculado através da representação gráfica da inibição percentual do radical DPPH em função da concentração do antioxidante.

Os três resultados mais elevados de IC₅₀ em mg AGE/L para TM's foram: 445,8; 374,2; 351,7 mg AGE/L TM, sendo respectivamente as TM-2- *Solidago chilensis* (Arnica); TM-11- *Costus spicatus* (Cana de Macaco) e TM-9- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro).

Os três resultados menores para atividade antioxidante por grama de material foram TM-2- *Solidago chilensis* (Arnica) equivalente a 2,64 mg AGE/g material vegetal; TM-11- *Costus spicatus* (Cana de Macaco) 2,29 mg AGE/g material vegetal e TM-4- *Erythrina verna* (Mulungu) 2,15 mg AGE/g material vegetal. Essas TM's possuem menor atividade antioxidante em relação às outras tinturas estudadas, porque é necessário maior quantidade de compostos antioxidantes para conseguir diminuir ou reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50%.

As TM's que apresentaram maior atividade antioxidante foram: TM-7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro) 0,09 mg AGE/g material vegetal; TM-3- *Erythrina verna* (Mulungu) 0,25 mg AGE/g material vegetal; TM-6- *Manilkara longifolia* (Paraju) 0,25 mg AGE/g material vegetal e TM-12- *Spondias tuberosa* (Umbu) 0,56 mg AGE/g material vegetal.

4 CONCLUSÃO

O ensaio de MTT em cultura de macrófagos RAW 264.7, não promoveu alteração de viabilidade celular, indicando que as TM's não têm efeito citotóxico neste tipo de

linhagem celular. As TM's que obtiveram os melhores resultados para reduzir a produção de NO foram as TM's 6 *Manilkara longifolia* (Paraju), 12 *Spondias tuberosa* (Umbu) e 13 *Curcuma longa* (Açafrão da terra), respectivamente. A inibição na liberação de NO na RAW 264.7 pelas TM's testados não foram atribuídas à sua citotoxicidade nesta linhagem. As TM's que tiveram maior teor de compostos fenólicos nas folhas foram: 5- *Myrciaria dubia* (Camu-camu); 6- *Manilkara longifolia* (Paraju); 12- *Spondias tuberosa* (Umbu). E as TM's que apresentaram maior atividade antioxidante foram: 7- *Pfaffia glomerata* (Ginseng-brasileiro); 3- *Erythrina verna* (Mulungu); 6- *Manilkara longifolia* (Paraju); 12- *Spondias tuberosa* (Umbu). A obtenção da inibição de NO e potencial antioxidante permitiram selecionar as TM's mais promissoras para análises dos benefícios para saúde dessas plantas.

REFERÊNCIAS

- ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, v. 127, p. 183-198, 2002.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity., *LWT - Food Science and Technology* v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CHEN, X. N.; FAN, J. F.; YUE, X.; WU, X. R.; LI, L. T. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). *Journal of Food Science*, Chicago, v. 73, n. 1, p. 24-28, 2008.
- CHEN, Z.; BERTIN, R.; FROLDI, G. IC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, v. 138, n. 1, p. 414-420, 2012.
- DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício; SANTOS, Ricardo José dos; GENOVESE, Maria Inês; LAJOLO, Franco Maria. Avaliação da atividade antioxidante, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(2): 446-452, abr.-jun. 2006.
- DURNER, J.; GOW, A. J.; STAMLER, J. S.; GLAZEBROOK, J.; Ancient origins of nitric oxide signaling in biological systems. *PNAS*, v.96, n.14, p.206- 207, 1999.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 1. ed. 1926. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/>>
FARMACOPÉIA Homeopática Brasileira, 3a ed. 2011.
- FLORA FILHO R, Zilberstein B Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. *Metabolismo, síntese e funções. Rev Ass Med Brasil* 46: 265-271, 2000.
- FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido Nítrico: O Simples mensageiro percorrendo a complexidade. *Metabolismo, síntese e funções. Rev. Assoc. Med. Bras.*, v.46, p.265-271, 2000.
- FONTES, O.L. Farmácia Homeopática: teórica e prática, 4a ed. Malone, 2013, p.8.
- HAMILTON, A. Medicinal plants and conservation: issues and approaches. *International Plants Conservation Unit, WWF-UK*, 2003.
- IBIAPINA, W. V. et. al. Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS. *Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança* –v. 2, n.1, p. 58-68, 2014.
- JOHNSTON RB. Current concepts in immunology: monocytes and macrophages. *N Engl J Med* 318: 747-752, 1988.
- KATSUBE, T.; TABATA, H.; OHTA, Y.; YAMASAKI, Y.; ANUURAD, E.; SHIWAKU, KUBEC, R.; MUSAH, R. A. Cysteine sulfoxide derivatives in *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, v. 58, 2001.
- MEYER, S.; et al. Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents and leaf mass per area ratio in woody plants: A signature of the carbon-nitrogen balance within leaves. *Plant Cell & Environment*, v. 29, p. 1338- 1348, 2006.

ROGERO, S.O.; HIGA, O.Z.; SAIKI, M.; CORREA, O.V.; COSTA, I. Toxicology in Vitro, v. 14, n. 6, p. 497-504, 2000.

SHISHODIA, S.; MAJUMDAR, S.; BANERJEE, S.; AGGARWAL, B. Ursolic Acid Inhibits Nuclear Factor- κ B Activation Induced by Carcinogenic Agents through Suppression of I κ B α Kinase and p65 Phosphorylation : Correlation with Down-Regulation of Cyclooxygenase 2 , Matrix Ursolic Acid Inhibits Nuclear Factor- κ B. The Journal of Cancer Research p. 4375–4383, 2003.

SORRIENTO, D.; ILLARIO, M.; FINELLI, R.; IACCARINO, G. To NF κ B or not to NF κ B: The Dilemma on How to Inhibit a Cancer Cell Fate Regulator. Translational medicine @ UniSa v. 4, n. 9, p. 73–85, 2012.

SWAIN T, Hillis WE. The phenolics constituents of prumus domestica: the quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric 1959.

VELIOGLU, Y. S.; NAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 46, n. 10, p. 4113-4117. 1998.

WETTASINGHE M, Shahidi F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. J Agric Food Chem 1999.

ZANOTTO-FILHO, A.; GELAIN, D.P.; SCHRÖDER, R.; SOUZA, L.F.;PASQUALI, M.A.B.; KLAMT, F.; MOREIRA, J.C.F. The NF κ B-mediated control of RS and JNK signaling in vitamin A-treated cells: Duration of JNK–AP-1 pathway activation may determine cell death or proliferation. Biochemical Pharmacology v. 77, n. 7, p. 1291–1301, 1 abr. 2009.