

# ATIVIDADE HEMOLÍTICA E ANTIOXIDANTE DE PLANTA MEDICINAL DO DOMÍNIO CAATINGA: AMBURANA CEARENSIS (FABACEAE)

Márcia Vanusa da Silva; João Victor de Oliveira Alves; Janderson weydson Lopes Menezes da Silva: Alexandre Gomes da Silva e Maria Tereza dos Santos Correia

Departamento de Bioquímica, Campus Recife - Universidade Federal de Pernambuco, Email: marciavanusa@yahoo.com.br

# Introdução

Amburana cearensis (Allemão) A.C. Smith, Fabaceae, é uma árvore de caule ereto, que chega a atingir 10 a 12 m de altura (ANDRADE-LIMA, 1989). A espécie é também conhecida como cumaru, cumarude-cheiro, cerejeira e, devido às suas qualidades madeireiras, tem sido explorada nos locais de ocorrência até a exaustão, para uso em movelaria fina, esculturas e marcenaria em geral, estando listada como espécie ameaçada de extinção (HILTON-TAYLOR, 2000). Além disso, devido às suas propriedades medicinais, a casca da árvore e as sementes são utilizadas na produção de medicamentos populares destinados ao tratamento de afecções pulmonares, tosses, asma, bronquite e coqueluche. A indústria de perfumaria também faz uso dessa espécie (BEZERRA et al., 2005). A espécie apresenta ampla distribuição na América do Sul, sendo característica de florestas Estacionais. Também ocorre no domínio Caatinga/ Mata seca. A Amburana cearenses possui casca vermelha - pardacenta, lisa suberosa e fina com 7 mm de espessura. Portanto, foram feitos dois testes, atividade hemolítica já quem as plantas contêm princípios ativos responsáveis pelas propriedades terapêuticas a elas atribuídas, mas também, por reações adversas que podem aparecer em decorrência de uso indevido ou contado direto, e antioxidante, com objetivo de avaliar sua aplicabilidade frente as doenças degenerativas, o envelhecimento precoce, doenças crônicas, cânceres e disfunções cerebrais estão associados a existência de radicais livres e outros oxidantes. Os agentes antioxidantes são reconhecidos por bloquear a evolução e no combate aos sintomas, desencadeados pelas doenças associadas ao estresse oxidativo. (Valko, M. et al 2007; Dudonne, S. et al 2009).

### Metodologia

## Coleta e Obtenção do Extrato

As cascas da *Amburana cearensis* foram coletadas no PARNA do catimbau que é localizado na cidade de Buíque no sertão pernambucano e trazido para departamento de bioquímica – Campus Recife - UFPE, onde as cascas foram secas por 48 h à 40° C na estufa e triturada após a secagem. O



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:

$$\mathbf{SRL}(\%) = \frac{ABS\ CONTROLE - ABS\ AMOSTRAS}{ABS\ CONTROLE}\ X100$$

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 absorbância 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



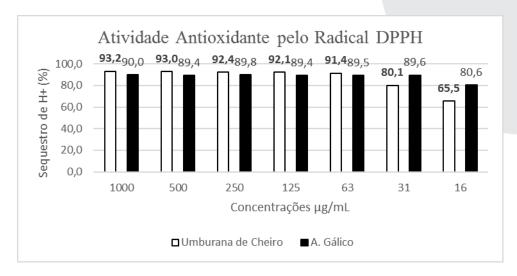
eritrócitos (1%) e 0,4 mL das várias concentrações do extrato em diferentes concentrações (16-1000 μg/mL). O controle negativo e controle positivo receberam 0,4 mL de tampão fosfato-salina e de Triton X-100, respectivamente. Após 60 minutos de incubação à temperatura ambiente, as células foram centrifugadas (1500 rpm durante 5 min) e o sobrenadante foi usado para medir a absorbância 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:

## Atividade hemolítica (%) = [(Aa-Ab).100]/(Ac-Ab)

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

#### Resultados e discussões

Os radicais livres de DPPH apresentam incialmente 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 absorbância. A baixa absorbância 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.



No ensaio do fosfomolibdênio o extrato da *Amburana cearenses* teve uma porcentagem de 46,3% de equivalência ao padrão ácido ascórbico, ambos na concentração de 1 µg/Ml. Nesse ensaio podemos demostrar a atividade antioxidante total do extrato. Em 1 mg de extrato temos 0,463 µg de compostos antioxidantes.

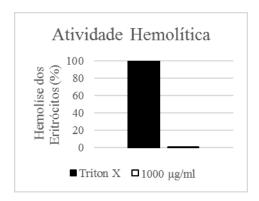


Gráfico 2 – Atividade hemolítica do extrato aquoso da casca da Amburana cearenses

A Amburana cearenses não apresentou ação hemolítica. A atividade hemolítica foi empregada para avaliar o potencial do extrato em causar lesões na membrana plasmática das células, pela formação de poros ou pela ruptura total, através da leitura óptica da hemoglobina liberada. Neste ensaio, o extrato aquoso não promoveu danos à membrana plasmática dos eritrócitos, ao contrário do controle positivo (Triton X- 100 a 1%). As plantas contêm princípios ativos responsáveis pelas propriedades terapêuticas a elas atribuídas, mas também, por reações adversas que podem aparecer em decorrência de uso indevido ou contado direto. Dentre os metabólitos secundários, os alcaloides, mesmo em pequenas quantidades, são substâncias naturalmente, tóxicas (Dewick, 2002).

#### Conclusão

O extrato aquoso da casca da *Amburana cearenses* apresentou resultados significativos para os testes realizados, que foram atividade antioxidante que 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, levando em consideração que extrato da casca teve um desempenho de 93,2% enquanto o ácido gálico 90 %. Enquanto para a atividade hemolítica, não apresentou hemólise na concentração de 1000mg/ml, inicialmente, testada. Indicando que o extrato não causa lesões na membrana plasmática das células.

## Referências Bibliográficas



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-WIliams, 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 aproroach. John Wiley & Sons LTD, 2° ed., p.291-300. 2002.

HILTON-TAYLOR, C. 2000 IUCN red list of threatened species. Cambridge: IUCN, 2000.