



## 15° Congresso de Iniciação Científica

### **ESTUDO DA AÇÃO DE EXTRATOS DE PAU D'ARCO (TABEBUIA AVELLENADAE) SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉLULAS SADIAS E LINHAGENS TUMORAIS**

#### **Autor(es)**

PAULA NEPOMUCENO DÉDALO

#### **Orientador(es)**

Ana Célia Ruggiero

#### **Apoio Financeiro**

FAPIC

#### **1. Introdução**

O estresse oxidativo é resultado de oxidações secundárias induzidas pelo oxigênio e derivados que não são eficientemente neutralizados e levam ao metabolismo anormal, perda de funções fisiológicas, doenças degenerativas e envelhecimento celular (Astley, 2003). Além das oxidações fisiológicas e suas inevitáveis reações secundárias, muitas substâncias presentes nos alimentos e no ambiente são oxidantes ou podem ser transformadas em oxidantes por reações indesejáveis (ARUOMA, 2003). As conseqüências biológicas do estresse oxidativo tem sido amplamente divulgadas. Numerosos estudos tem mostrado o dano oxidativo nas biomoléculas (lipídios, proteínas e DNA) em organismos vivos, desde os invertebrados até os seres humanos. Há grandes evidências do envolvimento do estresse oxidativo em várias patologias, como causa direta ou como conseqüência da condição observada, entre elas câncer, artrite reumatóide, aterosclerose, mal de Alzheimer, doença de Parkinson, bem como com os processos degenerativos associados ao envelhecimento (BOKOV, et al., 2004; SORG, 2004; HALLIWELL & GUTTER ) Substâncias presentes nos alimentos e no ambiente são oxidantes ou podem ser transformadas em oxidantes por reações indesejáveis (ARUOMA, 2003). As conseqüências biológicas do estresse oxidativo tem sido amplamente divulgadas. IDGE, 1999). . Os organismos apresentam defesas que limitam a média de danos produzidos por radicais livres a um nível tolerável. A pesquisa por agentes antioxidantes naturais que possam ser utilizados tanto para fins terapêuticos como industriais, tem sido objeto de grande interesse nos últimos anos, como fonte alternativa ao uso de antioxidantes fenólicos sintéticos, para retardar o estresse oxidativo, decorrente do ataque dos radicais livres aos sistemas celulares. Os mecanismos de defesa desenvolvidos pelos seres vivos envolvem enzimas endógenas e em adição a esses mecanismos, muita atenção tem sido dada ao papel antioxidante de compostos presentes nas dietas, tais como os polifenóis, classe de moléculas encontradas em abundância nos vegetais.

## 2. Objetivos

---

Os efeitos protetores de vários flavonóides contra o câncer tem sido documentados e isso tem despertado o interesse na utilização terapêutica desse compostos ou derivados (O'Prey et al, 2003). Antioxidantes com atividade contra os radicais livres podem ter grande relevância como agentes profiláticos ou terapêuticos em doenças onde os oxidantes ou os radicais livres estão envolvidos O Pau d'Arco ou ipê roxo, como popularmente é chamado em nosso país a *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb tem sido utilizado no Brasil como anti-fúngico, antimutagênico, contra o câncer, eczema, doença de Hodgkin, leucemia, estomatite, sífilis, úlceras entre outras (Almeida, 1993). Os constituintes químicos e ingredientes ativos do pau d'arco foram identificados e caracterizados. O principal constituinte, o lapachol, tem sido utilizado no tratamento de vários tipos de câncer e desde 1968 este composto tem demonstrado atividade significativa contra diferentes tipos de tumores. (Block et al., 1974; LINARDI, et al.; 1975; Muller, et al. 1999). A constatação de várias importantes funções biológicas incluindo proteção contra mutação genética, carcinogênese e outras tem sido atribuídas a ação antioxidantes. Portanto, temos como objetivos no presente projeto avaliar o índice de inibição dos extratos brutos e o efeito protetor dos mesmos sobre hemólise oxidativa em suspensões de eritrócitos e o efeito dos extratos brutos e fracionados sobre o dano oxidativo da desoxirribose e do DNA in vitro

## 3. Desenvolvimento

---

O material vegetal que foi sendo utilizado para a obtenção dos extratos é de uma espécie arbórea, *Tabebuia avellanedae*, que por sua vez foi gentilmente cedido pelo Laboratório Farmacobotânico Walter Radamés Accorsi, com certificação para fins farmacêuticos. O material empregado foi de máximo grau de pureza, garantindo a confiabilidade dos testes. O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado através do reagente de Folin-Ciocalteu, utilizando-se a curva padrão do ácido gálico como referência. Para avaliar o conteúdo de flavonóides totais nos extratos de ipê roxo, foram determinadas curvas padrão com Rutina (0,5M) e Quercitina (0,5M). Em tubos de ensaio contendo extrato na concentração de 0,1mg/mL adicionou-se água, NaNO<sub>2</sub> incubou-se por 5 minutos a temperatura ambiente. Então adicionou-se AlCl<sub>3</sub> com mais um minuto de incubação. Posteriormente adicionou-se NaOH (1M) e água para que fosse determinada a absorbância à 510 nm. Para avaliar a potência redutora da fração hidroalcoólica do extrato de *Tabebuia avellanedae*, foram adicionados tampão fosfato (pH 6,6) e K<sub>2</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> (1%). A mistura foi incubada, e posteriormente adicionou-se TCA 10%. A mistura foi centrifugada e ao sobrenadante, adicionou-se FeCl<sub>3</sub> 0,1%. A absorbância foi determinada a 700nm e o aumento na absorbância indica aumento no poder de redução do ferro. Uma solução de DPPH foi colocado na cubeta para leitura inicial, posteriormente acrescentou-se o antioxidante (Ascorbato, Trolox ou extrato hidroalcoólico de Ipê) e iniciou-se a leitura no espectrofotômetro por 30 minutos a 515nm. Os resultados da eficiência que o extrato hidroalcoólico do ipê roxo possui em seqüestrar radical foram obtidos de acordo com a fórmula  $R_s = A_0 - A_1/A_0 \times 100\%$  Onde A<sub>0</sub> é a absorbância inicial, A<sub>1</sub> absorbância final e R<sub>s</sub> a porcentagem que cada concentração possui para seqüestrar os radicais livres.

## 4. Resultados

---

Para o extrato hidroalcoólico de *Tabebuia avellanedae*, o valor de compostos fenólicos obtidos foi 0,716 mg na concentração de 0,1 mg/mL. Da mesma forma que para os compostos fenólicos totais calculou-se os valores dos flavonóides presentes no extrato hidroalcoólico da casca de pau d'arco, utilizando os valores obtidos na equação da reta. Obteve-se o valor de 0,0633 mg de flavonóides para 100 mL de extrato. Os valores obtidos para o equivalente em quercetina demonstraram que o extrato hidroalcoólico de casca de pau d'arco não apresenta esse tipo de flavonóide. A casca do pau d'arco possui quantidades insignificantes de flavonóides, pois os valores obtidos utilizando-se dois diferentes tipos foram baixos, demonstrando que esses fitoquímicos não são os responsáveis pelos efeitos observados para esse extrato. Na cinética de decomposição do DPPH, O extrato apresentou atividade antioxidante significativa nas concentrações de 0,50, 1,0 e 2,0 mg/mL, sendo que na concentração de 2 mg/mL o extrato apresentou valor de RS de cerca de 60%. Os componentes do extrato hidroalcoólico de ipê são capazes de reagir com o radical de DPPH,

demonstrando atividade antioxidante. O extrato apresentou na concentração de 2,0 mg/mL efeito mais significativo na cinética de decomposição do DPPH que o ascorbato e que o TROLOX Na. capacidade de reduzir Fe<sup>III</sup> a Fe<sup>II</sup> em todas as concentrações houve um aumento na absorbância, indicando que o extrato possui capacidade de reduzir o íon ferro III, provavelmente por doar elétrons para o íon

## 5. Considerações Finais

---

O extrato hidroalcoólico da casca de ipê-roxo, apresentou resultado efetivo na decomposição do radical de DPPH nas concentrações de 0,50, 1,0 e 2,0 mg/mL. O valor de RS na concentração de 2,0 mg/mL foi de 60%, resultado significativo na cinética de decomposição do DPPH, maior que o ascorbato e que o TROLOX. e capacidade de reduzir ferro III em ferro II; O extrato também apresentou grande capacidade de reduzir ferro III em ferro II, ou seja, foi efetivo em doar elétrons. Em todas as concentrações há um aumento na absorbância, concluindo que o extrato foi efetivo em doar elétrons.

## Referências Bibliográficas

---

- ALMEIDA, E.R. **Plantas Mediciniais Brasileiras**, conhecimentos populares e científicos. Hemus Editora Ltda, São Paulo, Brasil, 1993.
- ARUOMA, O.I. Methodological considerations for characterizing potencial antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, 523-524: 9-20,2003.
- BLOCK, J.B. et al., Early clinical studies with lapachol. In: **Câncer Chemother.** Rep. 4:27-28; 1974.
- BOKOV, A., CHAUDHURI, A.; RICHARDSON, A. The role of oxidative damage and stress in ageing. *Mechan. Ageing Devel.* 125, 811-826, 2004.
- HALLIWELL, B & GUTTERIDGE. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University. 1999.
- LINARDI, M.D.C. et al., A lapachol derivative active against mouse lymphocyte leukemia P-388. **J. Med. Chem.** 18(11):1159-1162, 1975.
- MULLER, K.; SELLMER, A.; WIEGREBE, W. Potencial antipsoriatic agents: lapacho compounds as potent inhibitors of HaCaT cell growth. **J. Nat. Prod.** 62:1134-1136, 1999.
- O'PREY, J.; BROWN, J.; FEMING, J.; HARRISON, P.R. Effects of dietary flavonoids on major signal transduction pathways in human epithelial cells. **Biochem. Pharm.** 66: 2075-2088, 2003.
- SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? **C.R. Bioi.** 327, 649-662, 2004.