

## Avaliação do efeito do extrato etanólico e de flavonóides isolados de *Alternanthera tenella* Colla sobre a produção de espécies reativas de oxigênio em ensaio com neutrófilos e livre de células.

Marcos José Salvador<sup>1</sup> (PQ)\*, Joel G. Souza<sup>2</sup> (IC), Alexandre Kanashiro<sup>2</sup> (PG), Luciana M. Kabeya<sup>2</sup> (PG), Yara M. Lucisano-Valim<sup>2</sup> (PQ), Diones Aparecida Dias<sup>2</sup> (PQ) \*mjsalvador1531@yahoo.com.br

<sup>1</sup>Instituto de Biologia, área Ciências Farmacêuticas, Departamento de Fisiologia Vegetal, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Caixa Postal 6109, CEP 13083-971, Campinas (SP). <sup>2</sup>Departamento de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP, Av. do café, s/n, 14040903, Ribeirão Preto (SP).

Palavras Chave: Quimioluminescência, *Alternanthera tenella* Colla, Amaranthaceae, flavonóides, neutrófilos.

### Introdução

A família Amaranthaceae possui plantas promissoras quanto às atividades biológicas (antimicrobiana, antiinflamatória, imunomodulatória etc.) e algumas são utilizadas na medicina popular e como alimento<sup>1,2</sup>, apresentando-se, portanto, como matrizes potenciais para a busca de antioxidantes naturais. Assim, em continuidade aos nossos estudos para a busca de substâncias ativas em espécies vegetais da família Amaranthaceae, neste trabalho avaliou-se o efeito do extrato etanólico, fase butanólica e dos flavonóides acacetina 8-C-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosil(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopiranosideo] (1), 2'-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosil-vitexin (2), 2''-O- $\beta$ -D-glucopiranosil-vitexin (3), 3-metoxi-quercetina (4) e quercetina (5) isolados de *Alternanthera tenella* Colla<sup>3</sup> sobre a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) em ensaio de quimioluminescência dependente de luminol (QLlum) em sistema celular (Polimorfonucleares-PMNs (neutrófilos) estimulados com zimosan opsonizado), bem como sua propriedade "scavenger" em sistema livre de células (modelo enzimático).

### Resultados e Discussão

*Alternanthera tenella* Colla (Amaranthaceae), planta total, foi coletada em seu habitat natural, Alto da Boa Vista, Ribeirão Preto-SP, Brasil, em maio de 2002, e identificada pelo Prof. Dr. Josafa Carlos de Siqueira (PUC-RJ), sendo uma amostra depositada no herbário da FFCLRP-USP (SPFR 02968). O material vegetal seco foi pulverizado e o pó submetido a extração com hexano e etanol, sucessivamente, originando os respectivos extratos brutos. O extrato etanólico foi submetido à avaliação da atividade antioxidante e procedeu-se o estudo fitoquímico identificando-se 5 flavonóides como constituintes majoritários na fase butanólica da partição deste extrato (1-5). O ensaio de QLlum em sistema celular foi realizado utilizando-se alíquotas de  $1 \times 10^6$  neutrófilos isolados do sangue periférico de indivíduos saudáveis<sup>4</sup>, pré incubados durante três minutos a 37°C com 10 $\mu$ L de luminol

(concentração final de 160 $\mu$ mol/L), 10 $\mu$ L do extrato, fase butanólica e dos flavonóides dissolvidos em DMSO (concentrações finais de 100 $\mu$ g/mL para o extrato e fase butanólica e entre 3,125 e 50 $\mu$ mol/L para os flavonóides) ou 10 $\mu$ L do diluente DMSO (controle negativo). A reação foi iniciada com a adição de 1 mg de zimosan opsonizado. O ensaio QLlum em sistema livre de células foi realizado empregando-se a enzima Horseradish Peroxidase (HRP)<sup>2</sup>. A quimioluminescência produzida durante os ensaios em sistema celular e com a enzima HRP foi registrada no luminômetro da Autolumat LB953, EG&G Berthold, por 20 e 25 min., respectivamente. O efeito inibitório das substâncias estudadas foi avaliado determinando-se a IC50 (concentração da droga-teste capaz de inibir em 50% a produção de QLlum) na faixa de concentração e nas condições experimentais em que foram avaliadas. O efeito inibitório foi dependente da concentração tanto nos ensaios em sistema celular quanto nos ensaios de HRP. Nossos resultados mostraram que a substituição de grupos hidroxila na posição C-3 por hidrogênio e a presença de resíduo de glicosídeo na posição C-8 do anel A mostraram uma atividade "scavenger" relativamente reduzida. Os ensaios de citotoxicidade demonstraram que o extrato e os flavonóides estudados não apresentaram ação tóxica para as células (neutrófilos).

### Conclusões

Verificou-se que o extrato etanólico de *A. tenella*, a fase butanólica deste extrato e flavonóides isolados apresentaram efeito inibitório sobre a produção de EROs, não sendo observada ação tóxica frente aos neutrófilos nas condições experimentais investigadas.

### Agradecimentos

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

<sup>1</sup> Siqueira, J.C. *Acta Biol. Leopold.*, **1987**, 9, 5.

<sup>2</sup> Souza, J.G.; Tomei, R.R.; Kanashiro, A.; Kabeya, L.M.; Azzolini ECS.; Dias, D.A.; Salvador, M.J.; Lucisano-Valim, Y.M. *Z. Naturforschung*, **2007**, 62c, 339.

<sup>3</sup> Salvador, M.J.; Ferreira, E.O.; Mertens-Talcott, S.U.; Castro, W.V.; Butterweck, V.; Derendorf, H.; Dias, D.A. *Z. Naturforschung*, **2006**, 61c, 19.

<sup>4</sup> Lucisano, Y.M.; Mantovani, B. J. *Immunol.*, **1984**, 132, 2015.