

Chresta sphaerocephala (ASTERACEAE): FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE IN VITRO

Larissa S. da Costa¹, Marcos José Salvador¹

UNICAMP

¹Curso de Farmácia, Depto de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia/UNICAMP

Agência financiadora: SAE/UNICAMP

Palavras-chave: *Chresta sphaerocephala* - Antimicrobianos - Antioxidantes

INTRODUÇÃO

Chresta sphaerocephala é uma planta da tribo Vernonieae (Asteraceae) conhecida como João-bobo, que possui ocorrência restrita à região do cerrado brasileiro. É uma espécie herbácea, com folhas geralmente externas, podendo ser sésseis, inflorescências tipicamente em capítulos e frutos do tipo aquênio. No presente trabalho procedeu-se a avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante pelo método de ensaio de redução do radical DPPH de extratos metanólicos, hexânicos e em acetato de etila do caule e das folhas de *C. Sphaerocephala*

MÉTODOS

O material vegetal (caule e folhas) da espécie *C. sphaerocephala* foi coletado em seu habitat natural (Furnas - MG) e, após sua secagem em estufa foi pulverizado e submetido ao processo de maceração exaustiva com solventes orgânicos (hexano, acetato de etila e metanol). O solvente das soluções obtidas foi removido e assim obtiveram-se os extratos brutos dos caules e das folhas. Numa triagem preliminar por CCDC e revelação com DPPH observou-se que nenhum dos extratos em hexano foi ativo.

Para avaliação da atividade antimicrobiana foram realizados ensaios biológicos “in vitro” com extratos metanólicos e em acetato de etila frente a bactérias (gram-positivas e gram-negativas) e leveduras, cepas padrão e de campo pelos métodos de difusão em ágar pela técnica de poço em camada dupla e de microdiluição. Para avaliação da atividade antioxidante em placa de microtitulação de 96 poços, os extratos metanólicos e em acetato de etila foram diluídos com etanol com concentrações finais entre 6,25 a 200µg/mL. Em seguida, foram submetidos ao teste de captura de radical livre DPPH, sendo a leitura realizada em leitor de Elisa ($\lambda=517\text{nm}$). Também foi utilizado o ensaio ORAC_{FL} com fluoresceína como sonda fluorescente e AAPH como fonte de radical livre, em que foram preparadas soluções estoques dos extratos (50 mg/mL) e frações (5 mg/mL) em tampão fosfato/DMSO (99:1) e diluídas 100, 500, 1000, 5000 e 10000 vezes com tampão fosfato. As substâncias isoladas e o Trolox foram analisadas nas concentrações de 6,25; 12,5; 25, 50, 100 e 200 µM, empregando-se o mesmo sistema diluente. A leitura foi feita com filtro fluorescente (excitação $\lambda=485\text{nm}$ e emissão $\lambda=528\text{nm}$) em leitor de microplaca monitorando a cinética de reação a cada 2 minutos por um período de 70 minutos (temperatura=37°C). O conteúdo de fenólicos totais solúveis das amostras foi analisado pelo método colorimétrico Folin-Ciocalteu, em que os extratos e frações foram solubilizados em metanol, sendo preparadas diluições com concentrações entre 20 e 200 ppm. Para a substância de referência (ácido gálico) elaborou-se a curva analítica na concentração de 20, 40, 60, 80, 100 e 200 ppm. A absorbância das amostras e amostra-padrão foi medida em espectrofotômetro ($\lambda=730\text{nm}$). Para todos os experimentos, como controle positivo utilizou-se o flavonóide quercetina (40 ppm) e como controle negativo o diluente, sendo que todos foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi demonstrado que não há atividade antimicrobiana para nenhum dos extratos avaliados. Na análise antioxidante, os extratos metanólicos apresentaram os melhores resultados, apresentando atividade antioxidante que variaram entre 62 a 80% de inibição do radical DPPH, com IC₅₀ de 75,22µg/mL e de 107,25µg/mL, ORAC com 1088,05µM de TE/g e 471,1µM de TE/g, Folin-Ciocalteu com 14,56mg AGE/Kg e 17,24mg AGE/Kg - para os extratos das folhas e do caule, respectivamente. Os resultados encontram-se no gráfico 1 e nas tabelas 1 e 2.

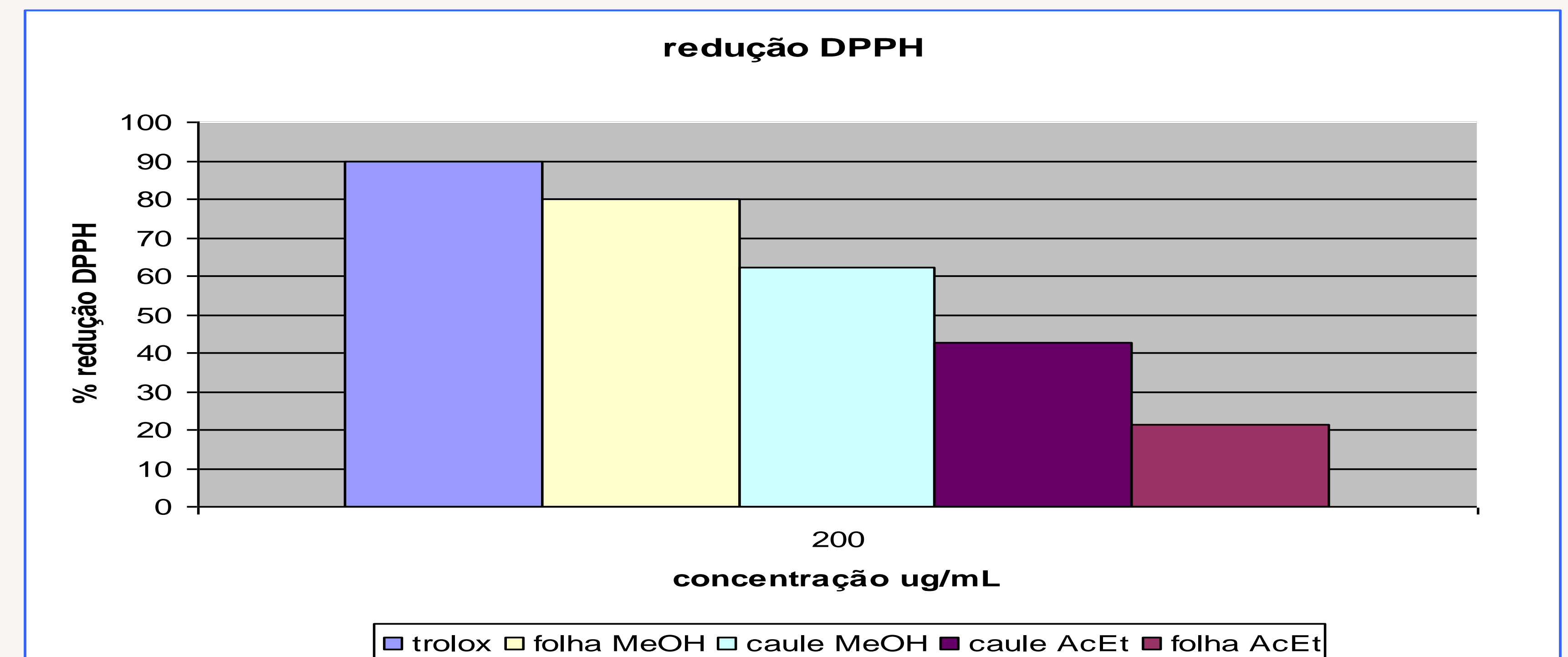


Figura 1 – Atividade anti-radical dos extratos metanólicos e em acetato de etila das folhas e do caule de *Chresta sphaerocephala* e do controle positivo trolox. Dados apresentados como média da triplicata.

Tabela 1 – Atividade antioxidante dos extratos brutos metanólicos e em acetato de etila das folhas e do caule de *C. sphaerocephala* pelo método ORAC_{FL}

EXTRATOS METANÓLICOS	µM de TE/g
FOLHA	1088,05 (0,12)
CAULE	471,16 (0,17)
EXTRATOS EM ACETATO DE ETILA	
FOLHA	290,08 (0,23)
CAULE	Na

Tabela 2 – Conteúdo de fenólicos solúveis totais dos extratos brutos de *Chresta sphaerocephala*

EXTRATOS METANÓLICOS	Conteúdo fenólico total (mg AGE/Kg de extrato)
FOLHA	14,56 (0,04)
CAULE	17,24 (0,04)
EXTRATOS EM ACETATO DE ETILA	
FOLHA	30,96 (0,07)
CAULE	6,94 (0,06)

CONCLUSÃO

- Os extratos das folhas e do caule de *C. sphaerocephala* não apresentaram atividade antimicrobiana
- Os extratos metanólicos das folhas e do caule foram os que apresentaram os melhores resultados de atividade antioxidante com valores de IC₅₀, ORAC_{FL} e conteúdo de Fenólicos Totais com correlação positiva com a atividade antioxidante.

Agradecimentos: Ao Prof. Dr. João Semir (IB/UNICAMP) pela identificação do material vegetal

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BREMER K., Asteraceae Cladistics and Classification. , Timber Press, Portland, (1994)
 SCHINOR, E.C.; SALVADOR, M.J.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. Evaluation of the antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents from *Chresta scapigera*. *Braz. J. Microbiol.*, 38: 145-149, 2007.
 SCHINOR, E.C.; SALVADOR, M.J.; TOMAZ, J.C.; PRAL, E.M.F.; ALFIERI, S.C.; ALBUQUERQUE, S.; DIAS, D.A. Biological activities and chemical composition of crude extracts from *Chresta exsucca*. *Braz. J. Pharm. Sci.* 42: 83-90, 2006.
 SCHINOR, ELISANDRA C.; SALVADOR, MARCOS J.; ITO, IZABEL Y. and DIAS, DIONES A. Avaliação da atividade antimicrobiana da *Chresta scapigera* (Vernonieae – Asteraceae). In: 24a. REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2001, Poços de Caldas – MG. Livro de resumos, 2001 v.1 p. PN016-PN016