

ESTUDO DA TOXIDEZ E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DA PLANTA PANC *Xanthosoma Sagittifolium* L. Schott EM CÉLULAS DE *Saccharomyces cerevisiae*

Data de aceite: 03/07/2023

Nathalia Soares Camargo

Mestranda do Programa de Pós-graduação em Química (UFRRJ)

Aline Teixeira Ferreira Furtado

Estudante de graduação em Engenharia Química (UFRRJ)

Neide Mara de Menezes Epifânio

Doutora do Programa de Pós-graduação em Química (UFRRJ)

Douglas Siqueira de Almeida Chaves

Professor do Departamento de Ciências Farmacêuticas (UFRRJ)

Cristiano Jorge Riger

Professor do Departamento de Bioquímica (UFRRJ)

RESUMO: Plantas PANC é o termo dado às plantas que não estão incluídas na alimentação cotidiana da população. Um exemplo é a *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott (taioba), onde estudos apontam a presença de propriedades antiinflamatórias, antidiabéticas e antioxidantes. *Este estudo avaliou a influência do extrato de taioba em duas cepas de Saccharomyces cerevisiae*

(BY4741 e *Dyap1*) sob estresse oxidativo. Preparou-se por decocção o extrato aquoso das folhas de taioba. Por HPLC/DAD foi traçado o perfil químico. Na avaliação da toxicidade as células de *Saccharomyces cerevisiae* foram tratadas com o extrato (0,6 mg. mL⁻¹) e verificada a viabilidade celular em meio YPD 2%. A análise antioxidante dos extratos foi realizada nas mesmas condições, com posterior incubação com peróxido de hidrogênio (1,0 mM). Avaliou-se a atividade antioxidante por viabilidade celular em meio fermentativo (YPD 2%) e em meio respiratório (glicerol 4%) verificando danos ou não na ativação da mitocôndria. Resultados foram comparados com controles negativos (não estressados) e positivos (estressados com H₂O₂). O perfil fenólico do extrato revelou a presença de flavonoides. O extrato na concentração avaliada não se mostrou tóxico às cepas. A atividade antioxidante demonstrou proteção frente a exposição ao H₂O₂. O extrato também não apresentou dano mitocondrial. O estudo sugeriu que o extrato não foi tóxico e apresentou propriedades antioxidantes, que podem ter a influência dos flavonoides presentes no mesmo.

PALAVRAS-CHAVE: estresse oxidativo, flavonoides, mitocôndria.

STUDY OF THE TOXICITY AND ANTIOXIDANT POTENTIAL OF PLANT PANC *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott EXTRACT IN *Saccharomyces cerevisiae* CELLS

ABSTRACT: PANC plants is the term given to plants that are not included in the daily diet of the population. An example is *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott (taioba), where studies point to the presence of anti-inflammatory, anti-diabetic and antioxidant properties. This study evaluated the influence of taioba extract on two strains of *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741 and *Dyap1*) under oxidative stress. The aqueous extract of taioba leaves was prepared by decoction. By HPLC/DAD the chemical profile was traced. In assessing the toxicity of *Saccharomyces cerevisiae* cells were treated with the extract (0.6 mg. mL⁻¹) and cell viability was verified in YPD 2% medium. Antioxidant analysis of extracts was performed under the same conditions, with subsequent incubation with hydrogen peroxide (1.0 mM). Antioxidant activity was analyzed by cell viability in fermentative medium (YPD 2%) and in control medium (glycerol 4%) verifying damage or not in mitochondrial activation. Results were compared with negative (non-stressed) and positive (H₂O₂- stressed) controls. The phenolic profile of the extract revealed the presence of flavonoids. The extract in the concentration evaluation was not toxic to the strains. Antioxidant activity demonstrated protection against exposure to H₂O₂. The extract also showed no mitochondrial damage. The study suggested that the extract was non-toxic and presented antioxidant properties, which may be influenced by the flavonoids present in it.

KEYWORDS: oxidative stress, flavonoids, mitochondria.

INTRODUÇÃO

É de conhecimento amplo que plantas produzem uma série de compostos químicos variando de moléculas simples a outras extremamente complexas (GODÓI et al., 2011) e estas substâncias produzidas pelas diferentes partes de uma planta, entre outras atividades, servem como mecanismo de proteção contra pragas e patógenos; possuindo ação antiviral, antibacteriana e antifúngica (SANTOS et al., 2018) direcionando assim muitas pesquisas científicas a comprovarem suas atividades farmacológicas, curativas e toxicológicas (RIFFEL et al., 2015).

Nossa alimentação é baseada em uma pequena quantidade de plantas que são aptas para o consumo. Quando consumo de uma planta da classe não convencional à alimentação comum é feito (geralmente por parte da população marginal, principalmente em regiões mais distantes dos grandes centros urbanos), no Brasil se recebe a denominação de PANC (Plantas Alimentícias Não- Convencionais), compreendendo em torno de 5.000 espécies entre hortaliças, verduras, tuberosas, floríferas e frutas.

Um exemplo é a taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) que apresenta alguns estudos apontando propriedades fisiológicas (JACKIX et al., 2013) e antioxidantes (ARRUDA et al., 2004). Essas propriedades podem auxiliar o organismo de diversas formas: mantendo a homeostase redox celular, diminuindo a concentração de espécies reativas de oxigênio

(ROS) e conseqüentemente os efeitos causados pelo estresse oxidativo. Portanto, com base nestas informações foi selecionada a *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott (taioba) nativa do Brasil pertencente à família das aráceas como foco desse estudo. Tendo como objetivo a avaliação do potencial antioxidante do extrato de *Xanthosoma sagittifolium* em duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (BY4741 e $\Delta yap1$) sob estresse oxidativo.

MATERIAL E MÉTODOS

O extrato aquoso das folhas da planta foi preparado por decocção por 20 minutos, a 80°C. O produto foi filtrado, congelado e seco por liofilização. As células foram cultivadas em meio líquido YPD 2% por aproximadamente 22 horas. As cepas utilizadas foram BY4741 (controle) e $\Delta yap1$. A cepa $\Delta yap1$ é deficiente no fator de transcrição Yap1 associado à regulação de genes intracelulares de proteção redox. Em seguida, um volume correspondente à massa de células utilizadas em cada ensaio foi incubado em solução de PBS por 2 horas em 3 situações:

A: Células.

B: Células + peróxido de hidrogênio (1 mM).

C: Células + Extrato de Taioba (0,6 mg.mL⁻¹).

Ensaio de Resazurina: As células foram colocadas em contato com extrato em diferentes concentrações em uma placa de 96 poços. Após 24 horas, foi adicionado o reagente resazurina, onde a cor rosa indicava atividade metabólica e a cor azul indicava sua ausência.

Ensaio de Toxidez: Após a etapa inicial de tratamento, um volume equivalente a 40 μ g de células foi coletado, diluído e semeado em YPD 2% e YPGLY 2%. As placas foram deixadas a 28°C e as colônias contadas após 48 horas. Os ensaios foram feitos em triplicata.

Ensaio de Atividade Antioxidante: Após a etapa inicial de tratamento, as células foram lavadas duas vezes com água destilada, ressuspensas com solução de PBS e adicionado H₂O₂ (1 mM) por 1 hora. um volume equivalente a 40 μ g de células foram coletadas, diluídas e plaqueadas em meio YPD 2% e YPGLY 2%. As placas foram deixadas a 28°C e as colônias contadas após 48 horas.

Os ensaios foram feitos em triplicado. **Ensaio do Perfil Químico:** Feito em HPLC. O extrato foi injetado a uma taxa de fluxo de 1 mL/minuto. Solvente A: água em ácido fórmico (0,01%), solvente B: metanol. Coluna: C18. Detector: UV 254 e 350 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de Resazurina, nenhuma das concentrações avaliadas se mostrou tóxica para as células, como observado na figura 1, pois a coloração obtida nos poços da linha A, foram rosa, indicando atividade metabólica. O mesmo se observa no primeiro poço da linha B (controle negativo- apenas meio de cultura, células e o reagente resazurina). Já no segundo poço da linha B (controle positivo- meio de cultura, células, agente estresse H_2O_2 e o reagente resazurina) a coloração azul está presente, indicando ausência de atividade metabólica. O reagente resazurina é um indicador redox. Quando há atividade metabólica celular, a resazurina é reduzida a resorufina, apresentando a coloração rosa. Quando a coloração encontrada é azul, indica falta de metabolismo celular.



Figura 1. Teste de toxicidade com resazurina usando cepas BY4741. Diferentes concentrações de extrato de 41,67 mg.mL⁻¹ a 0,020 mg.mL⁻¹. (A) poços expostos ao extrato em diferentes concentrações. (B) poços controle.

O extrato na concentração avaliada não foi tóxico para as cepas BY4741 e $\Delta yap1$, apresentando resultado estatisticamente semelhante ao controle, como observado na figura 2, tanto no meio fermentativo quanto no respiratório, indicando que não houve dano mitocondrial.

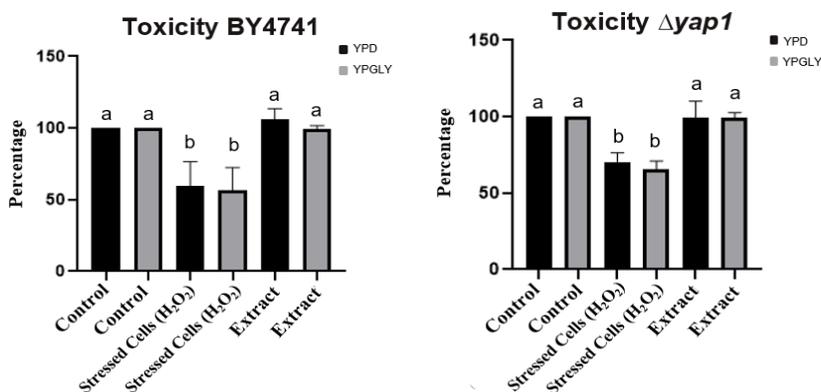


Figura 2. Avaliação da toxicidade nas cepas BY4741 e $\Delta yap1$. As células foram submetidas a tratamentos por 2 horas com substâncias a 0,6 mg.mL⁻¹.

A atividade antioxidante também foi avaliada nestes mesmos meios de cultura e apresentou resultados promissores, onde as células tratadas com o extrato apresentaram comportamento estatisticamente semelhante ao controle para as 2 cepas nos 2 meios de cultivo avaliados, como podemos observar na figura 3, indicando que não houve dano mitocondrial.

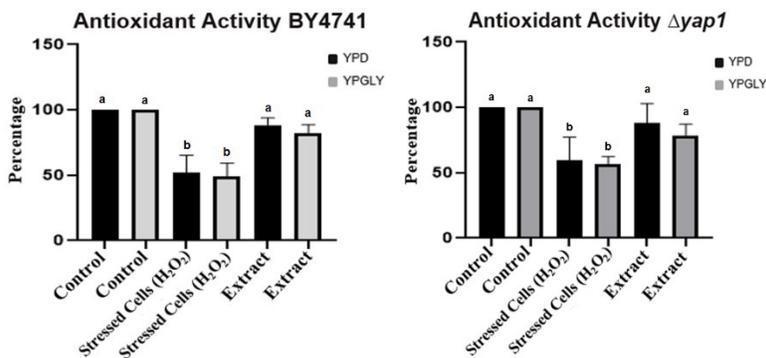


Figura 3. Avaliação da toxicidade nas cepas BY4741 e $\Delta yap1$. As células foram submetidas a tratamentos por 2 horas com substâncias a 0,6 mg.mL⁻¹, seguidas de incubação com peróxido de hidrogênio (1,0 mM) por 1 hora.

O perfil químico obtido pelo cromatograma indica que os picos 1 a 5 são derivados fenólicos e correspondem a 43,4% do extrato. Os picos 8 e 9 são derivados cinâmicos, correspondendo a 2,26% do extrato. Os picos 6,7,10,11,12, 14 a 17 são flavonoides, correspondendo a 47,95% do extrato. Os picos 18 a 22 são flavonoides sem açúcar, correspondendo a 5,87% do extrato.

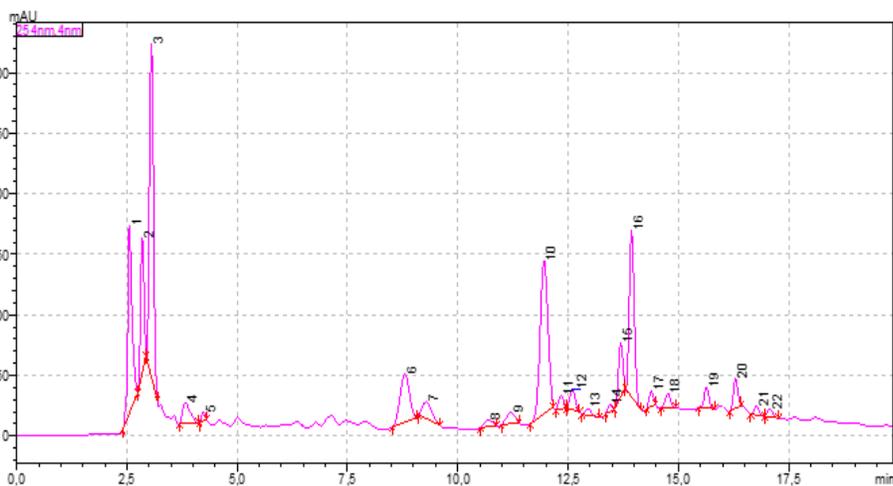


Figura 4. Cromatograma do Extrato de Taioba.

CONCLUSÕES

Este estudo sugeriu que o extrato aquoso de taioba avaliado não foi tóxico as células de levedura usadas como modelo biológico e apresentou propriedades antioxidantes, fornecendo uma proteção as cepas na presença do estressor. Esta atividade do extrato pode ser por influência dos flavonoides presentes no mesmo.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARRUDA, S.F. et al. Malanga (*Xanthosoma sagittifolium*) and Purslane (*Portulaca oleracea*) leaves reduce oxidative stress in vitamin A-Deficient rats. **Annals of Nutrition and Metabolism**, Brasília, v. 48, n. 4, p. 288-295, 2004.

GODÓI, A.A. et al. Avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica de *U. aurantiaca*. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 3, p. 198-202, 2011.

JACKIX, E.A. et al. Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) Leaves: Nutrient Composition and physiological effects on healthy rats. **Journal of Food Science**, Rio de Janeiro, v.78, n. 12, p. 1929-1934, 2013.

RIFFEL, A. **Os voláteis de plantas e o seu potencial para a agricultura**. Aracaju: Embrapa, 2015.

SANTOS, P.F.P. et al. Polyphenol and triterpenoid constituents of *Eugenia florida* Dc. (myrtaceae) leaves and their antioxidant and cytotoxic potential. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 10, p. 1140-1149, 2018.