

CAPÍTULO 1

EFEITO ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM ERITRÓCITOS HUMANOS

Data de submissão: 20/02/2024

Data de aceite: 01/04/2024

Maria Victória Benites Rodrigues

Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7677639081795021>

Stefany Cardoso Brandão
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/4146135243639331>

Emilha Uzum Papaya
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<https://lattes.cnpq.br/1168989569532712>

Iara Souza Santos
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/3570246914956612>

Sarah Lam Orué
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9234298828085059>

Isamara Carvalho Ferreira
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9411668300005313>

Daniel Ferreira Leite

Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9519649378304981>

Paola dos Santos da Rocha
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7047040108175200>

Jaqueleine Ferreira Campos
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2239749313954245>

Edson Lucas dos Santos
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/3198256010398711>

Kely de Picoli Souza
Universidade Federal da Grande
Dourados
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2471588807350361>

RESUMO: O estresse oxidativo está associado ao surgimento e à progressão de diversas doenças, dentre elas câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. O tratamento destas doenças envolve medicamentos que, em muitos casos, promovem gastos excessivos, efeitos colaterais e redução na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Desta maneira, a bioprospecção de plantas medicinais com potencial antioxidante torna-se uma alternativa relevante para o controle do estresse oxidativo e, por conseguinte, de doenças crônicas associadas. *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma espécie nativa do Cerrado brasileiro, utilizada na medicina popular para diversos fins. Os frutos de *S. terebinthifolius*, conhecidos como pimenta rosa, são amplamente utilizados como condimento na gastronomia mundial. Neste contexto, este estudo investigou a composição química e o potencial antioxidante do extrato metanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* (EMF-St). A composição química do EMF-St foi avaliada por diferentes métodos colorimétricos para a quantificação de ácido ascórbico, β-caroteno, licopeno, compostos fenólicos e taninos condensados. A atividade antioxidante do EMF-St foi investigada pelos métodos de captura dos radicais livres DPPH[•] e ABTS^{•+}. O efeito do EMF-St sobre o estresse oxidativo foi avaliado em eritrócitos humanos induzidos com AAPH. A análise da composição química do EMF-St revelou presença majoritária de compostos fenólicos. Nos ensaios de DPPH[•] e ABTS^{•+}, o IC₅₀ do EMF-St foi de 14,58 ± 2,16 e 9,96 ± 1,04 µg/mL, respectivamente. Em eritrócitos humanos, o EMF-St não induziu a hemólise até a concentração de 100 µg/mL, assim como o ácido ascórbico. Em condição de estresse oxidativo induzido por AAPH, os eritrócitos humanos tratados com o EMF-St apresentaram redução do conteúdo de malondialdeído gerado em 54% na concentração de 75 µg/mL. Em conjunto, os resultados indicam que o extrato metanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* reduz estresse oxidativo, abrindo perspectivas para o desenvolvimento de um novo produto biotecnológico para prevenção e/ou tratamento de doenças associadas.

PALAVRAS-CHAVE: bioprospecção, antioxidante, plantas medicinais, pimenta- rosa, Cerrado

ABSTRACT: Oxidative stress is associated with the onset and progression of several diseases, amongst them cancer, diabetes, cardiovascular and neurodegenerative diseases. The treatment of these diseases involves drugs which, in many cases, cause excessive costs, side effects and a reduction in the life quality of the affected individuals. Therefore, the bioprospecting of medicinal plants with antioxidant potential has become a relevant alternative for oxidative stress control and, consequently, associated chronic diseases. *Schinus terebinthifolius* Raddi is a native species of the Brazilian Cerrado, used in folk medicine for various finality. The fruits of *S. terebinthifolius*, known as pink pepper, are widely used as a condiment in world gastronomy. In this context, this study investigated the chemical composition and antioxidant potential of the methanolic extract of *S. terebinthifolius* (EMF-St) fruits. The chemical composition of EMF-St was evaluated by different colorimetric methods for the quantification of ascorbic acid, β-carotene, lycopene, phenolic compounds and condensed tannins. The antioxidant activity of EMF-St was researched by the DPPH[•] and ABTS^{•+} free radical scavenging methods. The effect of EMF-St against oxidative stress has been evaluated in human erythrocytes induced with AAPH. The analysis of the chemical composition of EMF-St revealed the majority presence of phenolic compounds. In the DPPH[•] and ABTS^{•+} assays, the EMF-St IC₅₀ was 14.58 ± 2.16 and 9.96 ± 1.04 µg/mL, respectively.

In human erythrocytes, EMF-St did not cause hemolysis up to a concentration of 100 µg/mL, as did ascorbic acid. Under oxidative stress conditions induced by AAPH, human erythrocytes treated with EMF-St showed a 54% reduction in the content of malondialdehyde generated at a concentration of 75 µg/mL. Taken together, the results indicate that the methanolic extract of *S. terebinthifolius* fruits has the potential to reduce oxidative stress, opening perspectives for the development of a new biotechnological product for the prevention and/or treatment of diseases associated.

KEYWORDS: bioprospecting, antioxidant, medicinal plants, pink pepper, Cerrado

INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a falha na neutralização destas substâncias pelos sistemas de defesa antioxidante do organismo (SIES, 2020). Este desequilíbrio pode levar a oxidação de biomoléculas e a consequentes danos celulares, sendo associado ao surgimento e à progressão de diversas doenças, como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (TELEANU *et al.*, 2022).

O organismo humano possui diversos mecanismos de defesa antioxidante para o combate ao estresse oxidativo. Endogenamente, o sistema enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase e, o não enzimático, inclui a glutatona. Adicionalmente, substâncias antioxidantes exógenas obtidas da dieta, como carotenoides e flavonoides (KUSWAH *et al.*, 2023) buscam neutralizar ou reduzir a oxidação das moléculas afetadas pelo estresse oxidativo.

Desta maneira, a prospecção de produtos naturais com atividade antioxidante emerge com alto potencial para o combate ao estresse oxidativo e/ou de doenças associadas (DUTRA *et al.*, 2016; PICCOLELLA *et al.*, 2019). Dentre os produtos naturais com potencial farmacológico, destaca-se a *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), uma espécie arbórea nativa do Cerrado do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, conhecida por aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira ou aroeira-da-praia (ALMEIDA, 2011). Esta planta é utilizada popularmente no tratamento de feridas na pele, distúrbios gastrointestinais, infecções do trato urinário e respiratório. Pelos seus potenciais terapêuticos, esta planta é listada na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde, onde são indicadas apenas as cascas do caule como farmacógeno (RENISUS, 2009).

Os frutos de *S. terebinthifolius*, conhecidos como pimenta rosa, são amplamente utilizados como condimento alimentar. Além de seu papel na gastronomia mundial, os frutos representam uma fonte de compostos de interesse com potencial antioxidante, como os flavonoides kaempferol e luteolina (TLILI *et al.*, 2018). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a composição química e o potencial antioxidante do extrato metanólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente a estresse oxidativo induzido em eritrócitos humanos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo do extrato

Frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi foram coletados após autorização obtida pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO- número 45365-1). O material vegetal foi coletado no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal da Grande Dourados, localizado em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil ($22^{\circ}11'43.8''S$ $54^{\circ}56'08.1''W$). Após a coleta, os frutos foram sanitizados e submetidos à secagem em uma estufa de circulação de ar forçado, mantida a $45^{\circ}C$, por um período de 7 dias. Posteriormente, os frutos foram pulverizados em moinho de facas.

O extrato metanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* (EMF-St) foi obtido por meio de maceração exaustiva em metanol P.A ao longo de 30 dias, sendo filtrado a cada 2 dias com reposição do solvente. O filtrado foi concentrado sob vácuo em evaporador rotativo a $40^{\circ}C$ e liofilizado. O rendimento do EMF-St foi de aproximadamente 13%.

Composição química

Ácido ascórbico

O conteúdo de ácido ascórbico (Vitamina C) foi determinado conforme descrito anteriormente por BARROS *et al.* (2007). Inicialmente, 100 mg do EMF-St foi combinado com 10 mL de ácido metafosfórico 1% e mantido à temperatura ambiente por 45 minutos. Após o período, a mistura foi filtrada. Em 1 mL do filtrado, foram acrescentados 9 mL de 2,6-diclorofenolindofenol. Após 30 minutos, a absorbância foi então medida a 515 nm. Foi utilizado uma mistura de ácido metafosfórico 1% e diclorofenolindofenol (1:9) como branco. O conteúdo de ácido ascórbico foi calculado conforme a curva de calibração do ácido ascórbico (0,02-0,12 mg/mL). Os ensaios foram realizados em triplicada. Os dados obtidos foram quantificados e expressos em miligramas de ácido ascórbico por grama de extrato.

β-caroteno e licopeno

Os teores de β-caroteno e licopeno foram determinados seguindo metodologia de BARROS *et al.* (2007). Para tanto, 100 mg de EMF-St foi homogeneizado com 10 mL de acetona-hexano (4:6), o qual foi vigorosamente agitado por 1 minuto. Em seguida, a mistura foi filtrada. A absorbância (A) do filtrado foi medida entre 453, 505, 645 e 663 nm. Como branco foi utilizado a solução acetona-hexano (4:6). Os ensaios foram realizados em triplicada. Os dados obtidos foram expressos em miligramas de carotenoide por grama de extrato. Os teores de β-caroteno e licopeno foram calculados conforme as equações 1 e 2, respectivamente:

$$\beta\text{-caroteno} = 0,216 \times A663 - 0,304 \times A505 + 0,452 \times A453 \quad (1)$$

$$\text{Licopeno} = -0,0458 \times A663 + 0,372 \times A505 - 0,0806 \times A453 \quad (2)$$

Compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos foi determinado conforme o método descrito por PINELA *et al.* (2011). Para o ensaio, 250 µL do EMF-St a 0,625 mg/mL foi misturado a 250 µL de ácido clorídrico (HCl) a 0,1% preparado com etanol 95% e 4550 µL de HCl 2%. Após um período de 15 minutos, a absorbância foi mensurada a 280, 320 e 360 nm. A fim de quantificar o conteúdo fenólico total, foi utilizada a absorbância a 280 nm, já para ésteres tartáricos, utilizou-se absorbância a 320 nm e, para flavonoides, absorbância a 360 nm. Os ensaios foram realizados em triplicada. O ácido gálico (50-500 µg/mL) foi utilizado para calcular a curva padrão dos compostos fenólicos totais, e os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de extrato. O ácido cafeico (50-500 µg/mL) foi utilizado para calcular a curva padrão dos ácidos fenólicos, e os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido cafeico (EAC)/g de extrato. A queracetina (30-300 µg/mL) foi utilizada para calcular a curva padrão dos flavonoides, e os resultados foram expressos em mg equivalentes à queracetina (EQ)/g de extrato.

Taninos condensados

O conteúdo de taninos condensados foi determinado pela metodologia de (FORMAGIO *et al.*, 2014). Foi misturado 1 mL de EMF-St a 2 mg/mL com 2mL de solução de vanilina 4% preparada em metanol e 2 mL de HCl a 8% preparado em metanol, solução a qual foi incubada durante 20 minutos a 30 °C. A absorbância foi mensurada a 500 nm. Os ensaios foram realizados em triplicada. A catequina (20-200 µg/mL) foi utilizada para calcular a curva de calibração, e os resultados foram expressos em mg equivalentes de catequina (EC)/g de extrato.

Atividade antioxidante

Ensaio de captura do radical livre DPPH•

A atividade antioxidante do extrato foi avaliada pelo método de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) como descrito por CAMPOS *et al.* (2014). Inicialmente, 200 µL de diferentes concentrações do EMF-St, bem como dos padrões hidroxitolueno butilato (BHT) e ácido ascórbico (AA), foram misturados com 1800 µL de uma solução de DPPH• a 0,11 mM, e incubados à temperatura ambiente no escuro, durante 30 minutos. A redução do radical DPPH• foi mensurada à absorbância de 517 nm. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata. A porcentagem de inibição do DPPH foi calculada a partir da equação 3:

$$\text{Captura de DPPH}^{\cdot} (\%) = (1 - \text{Abs}_{\text{amostra}}/\text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100 \quad (3)$$

Ensaio de captura do radical livre ABTS⁺

A atividade antioxidante do extrato foi avaliada pelo método de captura do radical livre ácido 2,2-azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺) de acordo com CAMPOS *et al.* (2015). O radical ABTS⁺ foi preparado pela combinação de 5 mL de ABTS⁺ 7 mM e 88 µL de persulfato de potássio 140 mM, sendo que esta foi incubada em temperatura ambiente no escuro por 12 a 16 horas. Após este período, a solução foi diluída em etanol P.A. até atingir a absorbância de 0,70 ± 0,05 a 734 nm. Posteriormente, 20 µL de diferentes concentrações do EMF-St, bem como dos padrões BHT e AA, foram misturados a 1980 µL do radical ABTS⁺, os quais foram incubados em temperatura ambiente no escuro durante 6 minutos, e tiveram absorbância mensurada a 734 nm. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata. A porcentagem de inibição do ABTS⁺ foi calculada como equação 4:

$$\text{Captura de ABTS}^{\cdot+} (\%) = ((\text{Abs}_{\text{controle}} \times \text{Abs}_{\text{amostra}})/\text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100 \quad (4)$$

Avaliação em eritrócitos humanos

Preparo da suspensão de eritrócitos

Os experimentos conduzidos com eritrócitos humanos receberam aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Grande Dourados (CEP/UFGD), conforme documentação devidamente registrada sob o parecer número 1.739.987. Foram coletados 25 mL de sangue periférico de um doador saudável, ao qual foi adicionado anticoagulante citrato de sódio. Posteriormente, o sangue foi submetido a centrifugação a 2000 rpm, e o plasma e a camada leucocitária foram descartados. Subsequente, Os eritrócitos foram lavados com solução de cloreto de sódio (NaCl) a 0,9% resultando em uma solução eritrocitária a 10%.

Ensaio de hemólise

A avaliação da capacidade hemolítica do EMF-St foi realizada conforme o método descrito por CAMPOS *et al.* (2014). Inicialmente, 250 µL da suspensão de eritrócitos foram combinados com diferentes concentrações de ácido ascórbico (AA) ou EMF-St (10-250 µg/mL) e pré-incubados a 37 °C por 30 minutos. Após esse período, foram acrescentados 500 µL de NaCl 0,9% à mistura, que foi mantida incubada a 37 °C com agitação periódica. As avaliações foram realizadas após 60, 120, 180 e 240 minutos de incubação, com as amostras sendo centrifugadas e a leitura do sobrenadante realizada em espectrofotômetro a 540 nm. Foram realizados dois experimentos independentes em triplicata. A porcentagem de hemólise foi calculada como descrito na equação 5:

$$\% \text{ Hemólise} = (\text{Abs}_{\text{amostra}} / \text{Abs}_{\text{hemólise total}}) \times 100 \quad (5)$$

Ensaio de hemólise oxidativa

A análise da capacidade do EMF-St em inibir a hemólise oxidativa foi realizada de acordo com CAMPOS *et al.* (2014). Foram combinados 250 µL da suspensão de eritrócitos com 250 µL de diferentes concentrações de ácido ascórbico (AA) ou EMF-St (10-250 µg/mL), sendo pré-incubados a 37 °C durante 30 minutos. Posterior ao período, foram adicionados 500 µL da solução de 2,2-azobis (2-metilpropionamidina) dicloridrato (AAPH) 50 mM para indução da hemólise oxidativa. As amostras foram mantidas a 37 °C sob agitação periódica. As avaliações foram conduzidas nos intervalos de 60, 120, 180 e 240 minutos após a incubação, sendo centrifugadas a 540 nm e a leitura do sobrenadante realizada por meio de espectrofotômetro. Foram realizados dois experimentos independentes em triplicata. A porcentagem de hemólise foi determinada conforme a equação 5.

Ensaio de inibição da peroxidação lipídica

A capacidade do EMF-St em inibir a peroxidação lipídica foi avaliada pela dosagem do subproduto malondialdeído (MDA) seguindo metodologia de CAMPOS *et al.* (2014). Uma suspensão de eritrócitos foi pré-incubada a 37°C por 30 minutos na presença de 250 µL de diferentes concentrações do ácido ascórbico (AA) ou EMF-St (10-250 µg/mL). Nela foram adicionados 500 µL de AAPH (50 mM), a qual foi mantida incubada por 4 horas com agitação periódica. Após esse período, procedeu a centrifugação das amostras a 1500 rpm, e alíquotas de 500 µL do sobrenadante foram adicionados a 1 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 10 nmol, que em seguida foram incubadas a 96 °C durante 45 minutos. A seguir, as amostras foram resfriadas e foi adicionado 4 mL de álcool n-butílico. Por fim, foi realizada a centrifugação a 3.000 rpm por 5 minutos e a absorbância mensurada em espectrofotômetro a 532 nm. Foram realizados dois experimentos independentes em triplicata. O conteúdo de MDA foi expresso como descrito na equação 6:

$$\text{MDA (nmol/mL)} = \text{Abs}_{\text{amostra}} \times (20 \times 220,32 / \text{Abs}_{\text{padrão MDA}}) \quad (6)$$

Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) e submetidos à análise de variância (ANOVA) com pós-teste de *Student Newman-Keuls*. Todas as análises foram realizadas com o software *GraphPad Prism 9.0* com intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS

Composição química

As concentrações dos compostos identificados no extrato metanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* estão apresentadas na Tabela 1.

Compostos químicos	Concentração
Ácido ascórbico (mg/g extrato)	-
β -Caroteno (mg/g extrato)	0,05 ± 0,01
Licopeno (mg/g extrato)	0,03 ± 0,00
Compostos fenólicos (mg EAG/g extrato)	300,36 ± 15,02
Ésteres tartáricos (mg EAC/g extrato)	32,05 ± 2,43
Flavonoides (mg EQ/g extrato)	31,10 ± 2,72
Taninos condensados (mg/g extrato)	1,59 ± 0,49

(-) ausente. mg EAG/g (mg equivalentes de ácido gálico por g de amostra), mg EAC/g (mg equivalentes de ácido cafeico por g de amostra), mg EQ/g, (mg equivalentes de queracetina por g de amostra). Os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média (EPM).

Tabela 1. Composição química do extrato metanólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Atividade antioxidante

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de captura do radical livre DPPH[·] e ABTS⁺⁺.

Amostra	DPPH [·]			ABTS ⁺⁺		
	IC ₅₀ (μg/mL)	%	A _{max} (μg/mL)	IC ₅₀ (μg/mL)	%	A _{max} (μg/mL)
AA	4,97 ± 0,73	94,70	25	1,96 ± 0,47	99,12	5
BHT	11,21 ± 1,16	92,71	100	5,40 ± 0,76	99,15	75
EMF-St	14,58 ± 2,16	88,60	50	9,96 ± 1,04	95,08	25

AA: ácido ascórbico, BHT: hidroxitolueno butilado. IC₅₀: concentração inibitória média, A_{max}: atividade máxima do extrato. Os valores foram expressos como a média ± EPM.

Tabela 2. Atividade antioxidante do extrato metanólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Para ambos os ensaios, a atividade antioxidante do EMF-St apresentou resultados semelhantes comparados ao antioxidante sintético BHT. Em relação ao radical livre DPPH[·], o IC₅₀ do EMF-St foi aproximadamente 3 vezes superior ao valor do padrão ácido ascórbico. Para o radical livre ABTS⁺⁺, o IC₅₀ do EMF-St foi aproximadamente 5 vezes superior ao valor do padrão ácido ascórbico.

Ensaio de hemólise

A Figura 1 apresenta os resultados obtidos no ensaio de hemólise. O EMF-St não promoveu hemólise nas concentrações de 10 a 75 µg/mL, no entanto, nas concentrações de 100 e 250 µg/mL a hemólise foi de aproximadamente 7 e 24%, respectivamente.

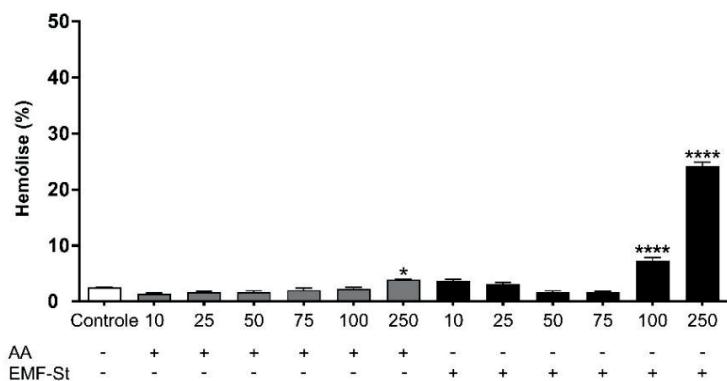


Figura 1. Percentual de hemólise em eritrócitos humanos incubados por 240 minutos com ácido ascórbico (AA) ou extrato metanólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (10-250 µg/mL). Os resultados são expressos como média ± EPM. *P<0,05, ****P<0,0001 comparado ao Controle.

Ensaio de hemólise oxidativa

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos no ensaio de hemólise oxidativa. O EMF-St, na presença do agente oxidante AAPH, foi capaz de reduzir a hemólise oxidativa a partir da concentração de 25 µg/mL. As concentrações de 75 e 100 µg/mL apresentaram o maior percentual de redução sobre a hemólise oxidativa em 70% e 80%, respectivamente.

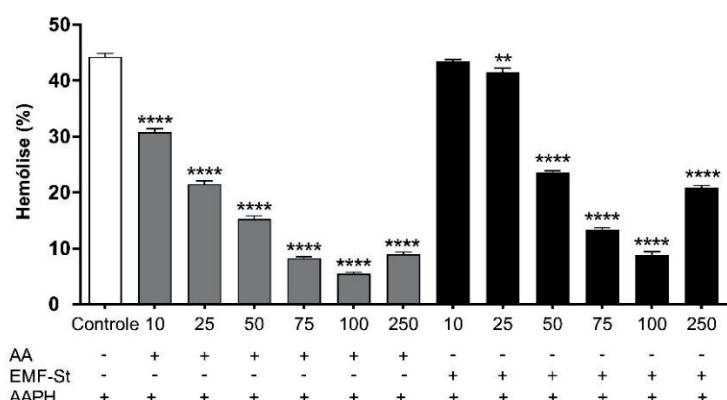


Figura 2. Percentual de hemólise oxidativa em eritrócitos humanos incubados por 240 minutos com ou sem agente oxidante AAPH (50 mM) e ácido ascórbico (AA) ou extrato metanólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (10-250 µg/mL). Os resultados são expressos como média ± EPM.

*P<0,05, ****P<0,0001, comparado ao grupo Controle AAPH.

Ensaio de inibição da peroxidação lipídica

A Figura 3 apresenta os resultados obtidos no ensaio de inibição da peroxidação lipídica. O EMF-St foi capaz de reduzir os níveis de malondialdeído (MDA) gerados nas concentrações de 25 a 100 µg/mL. Os valores obtidos foram semelhantes aos do padrão ácido ascórbico até 100 µg/mL. A redução dos níveis de MDA gerados pelo EMF-St foi de aproximadamente 54% na concentração de 100 µg/mL.

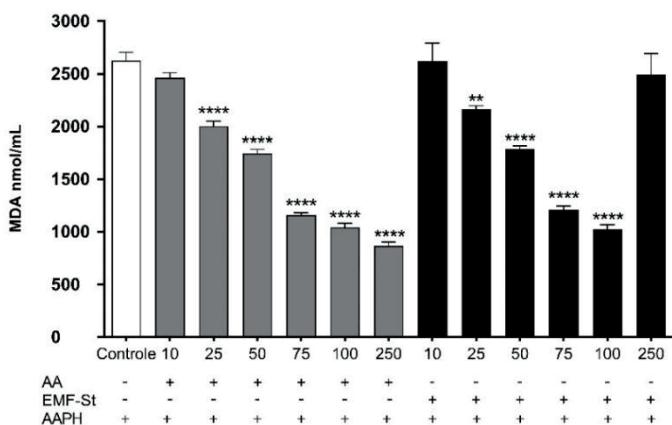


Figura 3. Ensaio de inibição da peroxidação lipídica. Percentual de malondialdeído (MDA) incubados por 240 minutos com ou sem agente oxidante AAPH (50 mM), e ácido ascórbico (AA) ou extrato metanólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (10-250 µg/mL). Os resultados são expressos como média ± EPM. *P<0,05, ****P<0,0001, comparado ao grupo Controle AAPH.

DISCUSSÃO

Este estudo relata pela primeira vez a composição química e a atividade antioxidante do EMF-St, protegendo eritrócitos humanos de estresse oxidativo. Esta descoberta está em consonância com a prospecção de produtos naturais com potencial farmacológico, dentre os quais se destacam fitoquímicos provenientes de frutos de plantas medicinais (DE GIFFONI DE CARVALHO *et al.*, 2019), os quais já são consumidos pelos seres humanos.

As análises químicas do EMF-St revelaram principalmente a presença de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos constituem uma das classes químicas mais importantes com potencial antioxidante, sendo que estudos de TLILI *et al.* (2018) apontaram a presença de ácido gálico e catequina em frutos de *S. terebinthifolius*. O ácido gálico destaca-se devido às suas propriedades em reduzir o estresse oxidativo atuando na eliminação de radicais, (BADHANI; SHARMA; KAKKAR, 2015), enquanto a catequina possui capacidade em induzir enzimas antioxidantes e inibir enzimas pró-oxidantes (BERNATONIENE; KOPUSTINSKIENE, 2018).

O uso de plantas medicinais é uma prática milenar da humanidade, contudo, para fins terapêuticos, não é isento de riscos, pois diversos compostos presentes nesses vegetais podem possuir princípios ativos potencialmente tóxicos (MELO *et al.*, 2021). Embora a *S. terebinthifolius* seja amplamente utilizada na medicina tradicional, é crucial a realização de estudos para avaliar a segurança do uso de produtos derivados dessa planta, compreendendo seus possíveis riscos à saúde. Portanto, a investigação da toxicidade do extrato metanólico dos frutos dessa espécie é de grande relevância, sendo essencial para garantir a segurança do seu uso, minimizando assim os potenciais efeitos adversos à saúde.

Em eritrócitos humanos, o EMF-St foi seguro em baixas concentrações, não ocasionando hemólise. No entanto, a partir da concentração de 250 µg/mL o EMF-St promoveu hemólise, assim como o ácido ascórbico. O ácido ascórbico já foi descrito pelo seu potencial pró-oxidante em altas concentrações (KAŽMIERCZAK-BARAŃSKA *et al.*, 2020). Desta maneira, outros estudos devem ser realizados para melhor compreensão da dose segura para o uso do EMF-St, a depender de sua aplicação.

Em eritrócitos humanos induzidos ao estresse oxidativo, o EMF-St foi capaz de reduzir a hemólise oxidativa, sendo que o efeito observado pode ser atribuído à presença de compostos fenólicos, os quais possuem a capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (POLUMBRYK *et al.*, 2013).

Em eritrócitos humanos, o EMF-St reduziu o conteúdo de malondialdeído, um subproduto da peroxidação lipídica, que apresenta como consequência a morte celular (MAS-BARGUES *et al.*, 2021). Sendo assim, os resultados de redução dos níveis de malondialdeído em eritrócitos humanos pelo extrato evidenciam a redução do processo de peroxidação lipídica, sugerindo a capacidade dos seus fitoquímicos de estabilizar o radical peroxila formados durante a decomposição do agente oxidante AAPH. Desta maneira, o EMF-St possui potencial em reduzir o estresse oxidativo que promove o surgimento e a progressão de doenças.

CONCLUSÃO

Em suma, os resultados indicam que o extrato metanólico dos frutos de *S. terebinthifolius* possui atividade antioxidante protetora em eritrócitos humanos, provavelmente mediada pelos seus compostos fitoquímicos. Assim, este estudo contribui com outros voltados ao desenvolvimento de um produto biotecnológico com potencial farmacológico para a prevenção e/ou tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. Z. DE. **Plantas medicinais.** 3. ed. Salvador: 2011.
- BADHANI, B.; SHARMA, N.; KAKKAR, R. **Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications.** RSC Advances, v. 5, n. 35, p. 27540–27557, 2015.
- BARROS, L. *et al.* **Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities.** Food Chemistry, v. 103, p. 413-419, 2007.
- BERNATONIENE, J.; KOPUSTINSKIENE, D. M. **The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress.** Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry, v. 23, n. 4, 2018.
- CAMPOS, J. F. *et al.* **Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae).** Food and Chemical Toxicology, v. 65, p. 374–380, 2014.
- CAMPOS, J. F. *et al.* **Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí).** Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2015.
- DE GIFFONI DE CARVALHO, J. T. *et al.* **Medicinal plants from Brazilian Cerrado: Antioxidant and anticancer potential and protection against chemotherapy toxicity.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019.
- DUTRA, R. C. *et al.* **Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives.** Pharmacological Research, v. 112, p. 4–29, 2016.
- FORMAGIO, A. S. N. *et al.* **Evaluation of Antioxidant Activity, Total Flavonoids, Tannins and Phenolic Compounds in Psychotria Leaf Extracts.** Antioxidants, v. 3, n. 4, p. 745, 2014.
- KAŹMIERCZAK-BARANSKA, J. *et al.* **Two Faces of Vitamin C—Antioxidative and Pro-Oxidative Agent.** Nutrients, v. 12, n. 5, 2020.
- KUSHWAH, N. *et al.* **Oxidative Stress and Antioxidants in Age-Related Macular Degeneration.** Antioxidants: v. 12, Page 1379, v. 12, n. 7, p. 1379, 2023.
- MAS-BARGUES, C. *et al.* **Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease.** Archives of biochemistry and biophysics, v. 709, 2021.
- MELO, D. B. DE *et al.* **Intoxicação por plantas no Brasil: uma abordagem cienciométrica / Plant intoxication cases in Brazil: a scientometric approach.** Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 4, p. 40919–40937, 2021.
- PICCOLELLA, S. *et al.* **Nutraceutical polyphenols: New analytical challenges and opportunities.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 175, p. 112774, 2019.
- PINELA, J. *et al.* **Influence of the drying method in the antioxidant potential and chemical composition of four shrubby flowering plants from the tribe Genisteae (Fabaceae).** Food and Chemical Toxicology, v. 49, n. 11, p. 2983–2989, 2011.

POLUMBRYK, M. O. *et al.* **Antioxidants in food systems. Mechanism of action.** Food Technology, 2013.

RENISUS. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS.** Departamento de Assistência Farmacêutica da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Do Ministério da Saúde (DAF/SCTIE/MS), 2009.

SIES, H. **Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects.** Antioxidants, v. 9, n. 9, p. 852, 2020.

TELEANU, D. M. *et al.* **An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases.** International Journal of Molecular Sciences, v. 23, n. 11, p. 5938, 2022.

TLILI, N. *et al.* ***Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits.** Industrial Crops and Products, v. 122, p. 559–565, 2018.