I Congresso Internacional
em Saúde e Desenvolvimento Socioambiental
Garanhuns, Brasil
2024

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA E ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS OBTIDOS DE DIFERENTES PARTES DE *Passiflora cincinnata* MAST. (PASSIFLORACEAE)

Márcia Marília de Souza Silva[1]
marciamarilia75@gmail.com
Guilherme Urias de Menezes Novaes[1]
novaes.gum@gmail.com
Sarah Sant'Anna Maranhão[2]
sarah.santanna.maranhao@gmail.com
Camila Leite Paiva[2]
camila_leite96@yahoo.de
Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida[1]
jackson.guedes@univasf.edu.br

[1]Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais (NEPLAME) - UNIVASF
[2]Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) - UFC

INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae possui aproximadamente 520 espécies, e o gênero *Passiflora* é considerado um dos mais importantes. O uso de folhas, raízes e frutos de espécies pertencentes ao gênero *Passiflora* como planta medicinal já é conhecido. Seus compostos têm principalmente propriedades ansiolítica, anti-hipertensiva, sedativa, anti-inflamatória, anti-hiperglicêmica e ações antioxidantes (Brandão et al., 2017; Cerqueira-Silva et al., 2014; Fonseca et al., 2020). *Passiflora cincinnata* Mast. é uma espécie silvestre de maracujá, nativa do Brasil, de ocorrência frequente na Caatinga, é resistente à seca e a algumas pragas que acometem o maracujá comum (Santos et al., 2021). Estudos anteriores demonstraram as atividades biológicas e possíveis aplicações terapêuticas com essa espécie devido à presença de compostos fenólicos e ação antioxidante, além da redução de eventos nociceptivos e inflamatórios (Lavor et al., 2018). A fim de ampliar o conhecimento sobre atividades biológicas desta espécie esse estudo teve como objetivo investigar as atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de *Passiflora cincinnata* Mast. usando modelos experimentais *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

As partes aéreas de *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) foram coletadas em junho de 2023 no campo experimental da Embrapa Semiárido, no município de Petrolina-PE. Uma exsicata da espécie (7959) está depositada no Herbário do Trópico Semiárido (HTSA), localizado na Embrapa Semiárido. O projeto foi cadastrado no SisGen (#A1D7010). O material vegetal foi separado em folhas, talos e flores, seco em estufa de ar circulante e pulverizado.

O extrato etanólico bruto foi obtido utilizando um banho ultrassônico, com a proporção de 1:20 (m/v) de etanol 70% em 5 ciclos de 15 minutos de duração a 30 ºC, em cada ciclo era adicionado 1/5 do volume total do solvente, concentrado em rotaevaporador, armazenado em recipientes de vidro e levados à estufa com circulação de ar a 45 ºC até a evaporação total do solvente.

A triagem fitoquímica dos extratos de *P. cincinnata* foi realizada seguindo a metodologia descrita por Wagner e Bladt (1996). Para isto, uma alíquota de cada extrato foi aplicada em placas de cromatografia (Silicycle TLC - Aluminum F_{254}) e eluídas utilizando diferentes sistemas de solventes, visando à identificação das principais classes de metabólitos secundários através de reveladores específicos em câmara de luz UV.

O ensaio da quantificação de fenóis foi realizado conforme a metodologia descrita por Slinkard e Singleton (1977), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e o padrão ácido gálico. O resultado foi expresso como miligrama de equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mgEqAG/g), utilizando a equação obtida na elaboração da curva de calibração do ácido gálico.

A atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi executada utilizando a metodologia sugerida por Brand-Williams et al. (1995), usando como padrão o BHA e BHT. Os resultados foram expressos em CI_{50}. Para verificar a atividade de inibição da co-oxidação do β-caroteno foi adotada a metodologia sugerida por Duarte-Almeida et al. (2006). O BHA e BHT foram usados como controle positivo, os resultados foram expressos como percentagem de atividade antioxidante (% AA).

Para a avaliação da atividade bactericida foram utilizadas cepas de referência obtidas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ-Brasil). Os microrganismos utilizados foram: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enterica* (ATCC 10708) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 e MRSA 8536). Foi realizada a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de microdiluição em placa e concentração bactericida mínima (CBM). Os resultados expressos em µg/mL (Santurio et al, 2007).

Análise de citotoxicidade foi realizada pelo método do MTT, sendo uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (Mossman,1983). As linhagens tumorais utilizadas foram HCT-116 (colorretal-humano), SNB19 (glioblastoma-humano) e PC3 (próstata-humano), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (NIH-EUA). Os resultados foram analisados segundo a média ± desvio padrão da média da porcentagem de inibição do crescimento celular com determinação dos valores de concentração inibitória média (IC_{50}).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico bruto das diferentes partes vegetais foi obtido com rendimentos de 18,3%, 15,3%, e 26,7%, respectivamente, para folhas, talos e flores. A análise fitoquímica indicou a presença de alcaloides, antraquinonas, compostos fenólicos, cumarinas, derivados antracênicos, lignanas, terpenoides, naftoquinonas, saponinas e taninos nos extratos etanólicos das três partes.

Em relação ao teor de fenóis totais nos extratos de *P. cincinnata*, a maior concentração de compostos fenólicos foi observada no extrato das flores (93,76 mgEqAG/g), seguido pelas folhas (83,45 mgEqAG/g) e talos (43,15 mgEqAG/g). Esse resultado foi superior ao observado por Leal et al. (2020) para o extrato de diferentes estruturas da mesma espécie. A atividade antioxidante *in vitro* mostrou que o extrato das flores exibiu o melhor efeito pelo método de sequestro do radical livre DPPH (IC_{50} 118,4 ± 5,47 µg/mL), enquanto o extrato dos talos apresentou o melhor resultado pelo método da co-oxidação do β-caroteno/ácido linoleico, com uma porcentagem de atividade antioxidante igual a 65,15 ± 3,33%. No estudo de Leal et al. (2020), a atividade do β-caroteno/ácido linoleico não foi determinada, e os resultados pelo método do DPPH foram melhores. Isso demonstra que, apesar de serem da mesma espécie e coletadas na região semiárida em meses próximos (maio/junho), diversos fatores, como o manejo do local de coleta da espécie, geolocalização e método de extração, podem influenciar a composição do extrato.

No teste de atividade bactericida, o extrato da flor demonstrou uma concentração inibitória mínima (CIM) de 1.562 µg/mL e concentração bactericida mínima (CBM) de 3.125 µg/mL frente à bactéria *Salmonella enterica*, enquanto o extrato dos talos apresentou apenas CIM de 3.125 µg/mL para a mesma bactéria. Os extratos de folhas e caules apresentaram CIM de 12.500 µg/mL quando testados contra as duas cepas de *S. aureus*. Nenhum dos extratos teve atividade contra *E. coli* nas concentrações testadas. Estudos anteriores com *Passiflora spp.* também não constataram atividade bactericida efetiva dos extratos (Siebra et al., 2018; Souza et al., 2021).

O teor de fenóis totais está relacionado ao seu potencial antioxidante devido à estrutura, que possui um (ou mais) anel aromático contendo grupos hidroxila com potencial para eliminar radicais livres (Dudonne, 2009). O extrato das flores, com maior concentração de compostos fenólicos, exibiu ação antioxidante pelo método do DPPH e inibição do crescimento bacteriano, especialmente contra uma bactéria Gram-negativa.

Na análise da citotoxicidade, apenas o extrato das folhas foi testado frente a três linhagens tumorais, demonstrando uma inibição no crescimento celular (IC%) de 50,38% para HCT-116, 40,01% para PC-3 e 26,39% para SNB-19, sendo considerados de pouca atividade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo *in vitro* indicou que os extratos de *P. cincinnata* possuem uma rica composição de metabólitos secundários. Os compostos fenólicos foram associados às atividades antioxidante e inibição do crescimento bacteriano. Ainda é necessário realizar estudos mais detalhados sobre a composição fitoquímica e a relação com as atividades biológicas observadas.

PALAVRAS-CHAVE: Perfil fitoquímico. Compostos fenólicos. Produtos naturais.

AGRADECIMENTOS

FACEPE (IBPG-1699-2.00/21)

Referências

BRANDÃO, LEM et al. *Passiflora cincinnata* extract delays the development of motor signs and prevents dopaminergic loss in a mice model of parkinson's disease. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, n. 1, p. 8429290, 2017.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, ME; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity., LWT - **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

CERQUEIRA-SILVA, C et al. Genetic Breeding and Diversity of the Genus *Passiflora*: Progress and Perspectives in Molecular and Genetic Studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 8, p. 14122–14152, 2014.

DUARTE-ALMEIDA, J et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH•. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 446-452, 2006.

DUDONNE, S et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1768-1774, 2009.

FONSECA, LR et al. Herbal Medicinal Products from *Passiflora* for Anxiety: An Unexploited Potential. **The Scientific World Journal**, v. 2020, p. 1–18, 2020.

LAVOR, EM et al. Ethanolic extract of the aerial parts of *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) reduces nociceptive and inflammatory events in mice. **Phytomedicine**, v. 47, p. 58-68, 2018.

LEAL, AEBP et al. Determination of phenolic compounds, *in vitro* antioxidant activity and characterization of secondary metabolites in different parts of *Passiflora cincinnata* by HPLC-DAD-MS/MS analysis. **Natural product research**, v. 34, n. 7, p. 995-1001, 2020.

MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, 65: 55-63, 1983.

SANTOS, RTS et al. Physicochemical characterization, bioactive compounds, *in vitro* antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). **LWT**, v. 148, p. 111714, 2021.

SIEBRA, ALA et al. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 37-43, 2018.

SLINKARD, K; SINGLETON, VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 28, n. 1, p. 49-55, 1977.

SOUSA, GF et al. Evaluation of cytotoxic, immunomodulatory effects, antimicrobial activities and phytochemical constituents from various extracts of *Passiflora edulis* F. *flavicarpa* (Passifloraceae). **Natural Product Research**, v. 35, n. 24, p. 5862-5866, 2021.