



Avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica de *Urera aurantiaca*

Evaluation of antioxidant activity, antibacterial and cytotoxic *Urera aurantiaca*

Recebido em 13/06/2011

Aceito em 22/08/2011

Aline de Andrade Godói¹, Raíssa Borges Ishikawa¹, Karla Rejane De Andrade Porto², Antonia Railda Roel³, Paula Cristhina Niz Xavier^{1*}, Mami Yano¹

¹Curso de Farmácia, Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, MS, Brasil

²Curso de Nutrição, Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, MS, Brasil

³Programa de Mestrado em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, MS, Brasil

RESUMO

O conhecimento empírico de plantas medicinais simboliza, muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Grande parte dos produtos farmacêuticos desenvolveu-se a partir de produtos naturais. Estimativas afirmam que apenas 15% das 300 mil espécies de plantas no mundo tenham sido submetidas a algum estudo científico para avaliar potencialidades na preparação de novos produtos. O presente trabalho avaliou extratos de *Urera aurantiaca* quanto à atividade antibacteriana com a técnica de difusão de discos utilizando cepas de bactérias, Gram-positivas e Gram-negativas, nas concentrações de 100, 50 e 25%. Atividade antioxidante através de testes de redução de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) nas concentrações de 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL, sendo os resultados comparados com o padrão (ácido ascórbico). A toxicidade frente ao micro crustáceo *Artemia salina* Leach através das concentrações 0,5; 0,25; 0,125 e 0,062 µg/mL. Os resultados indicaram ausência de halo de inibição frente aos microrganismos testados, não apresentaram atividade antioxidante significativa e os extratos não demonstraram toxicidade ao micro crustáceo.

Palavras-chave: *Artemia salina*, Atividade biológica, Testes de toxicidade, Urtiga de pacu

ABSTRACT

The present study extracts *Urera aurantiaca* on the antibacterial activity with the disc diffusion technique using strains of bacteria, Gram-positive and Gram-negative at concentrations of 100, 50 and 25%. Antioxidant activity by testing for reduction of DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) at concentrations of 125, 50, 25, 10 and 5 mg / mL, and the results compared with the standard (ascorbic acid). Toxicity against the micro crustacean *Artemia salina* Leach through the concentrations 0.5, 0.25, 0.125 and 0.062 mg / mL. The results indicated the absence of inhibition zone against the test organisms, showed no significant antioxidant activity and the extracts were not toxic to micro crustacean.

Keywords: *Artemia salina*, Biological activity, Toxicity test, Nettle pacu

INTRODUÇÃO

Não se pode ignorar o valor dos conhecimentos empíricos passados de geração a geração sobre a flora medicinal, nem os resultados positivos de tratamentos dos inúmeros problemas de saúde baseados no empirismo, dando um direcionamento aos testes científicos, especificamente aos laboratórios que extraem dos vegetais incontáveis substâncias de ação rápida e eficaz (Gaspi, 2004).

Tudo isto confirma a necessidade e a importância de pesquisas para comprovar atividades farmacológicas das plantas medicinais utilizadas popularmente ou para a descoberta das suas propriedades curativas e toxicológicas (Alves et al., 2000).

A urtiga, urtiguinha, urtiga de pacu ou cansação são os nomes populares dados às plantas da família Urticaceae, que tem o nome científico de *Urera aurantiaca* é um arbusto pertencente à classe das angiospermas, suas folhas são vascularizadas e se classificam como dicotiledôneas (Base de dados da UFMG, 2009).

Essa espécie é distribuída por toda a Floresta Atlântica no Brasil, Paraguai e Argentina, geralmente possui hábito escandente ou apoiante. Podem ser cultivadas em cercas ou em sistema de espaldeira. Na região de Pedro Leopoldo, MG é bastante consumida como hortaliça folhosa em diversos pratos, o fato de não possuir acúleos nos ramos nem nas folhas facilita seu manejo (Kinupp,

* **Contato:** Paula Cristhina Niz Xavier, Curso de Farmácia, Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Av.: Tamandaré, 6.000, Jardim Seminário, Campo Grande, MS, Brasil, CEP 79117-900 e-mail: pxavier@ucdb.br

2007).

Suas raízes são utilizadas no preparo de chás diuréticos pela população do município de Dourados, MS (Alves *et al.*, 2008) e como vermífugo por moradores da comunidade de Mimoso, Pantanal de Mato Grosso (Schwenk & Silva, 2000).

Carneiro (2009) relata em seu estudo que as folhas, raízes e flores de *U. aurantiaca* são utilizadas para diversos fins terapêuticos, tais como sífilis, coceiras, quedas de cabelo, gastroenterites, infecções renais, retenção urinária, leucorréia, dores abdominais, hemorróidas e reumatismo, no município de Campo Limpo de Goiás, GO.

O presente trabalho visa averiguar as atividade antioxidante, atividade antibacteriana e atividade citotóxica dos extratos obtidos a partir da planta analisada.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação da espécie

A *Urera aurantiaca* foi coletada em Culturama, distrito de Fátima do Sul, MS, Brasil, em outubro de 2009. O material botânico foi identificado pela Profa Dra Vali Joana Pott. Uma exsicata da espécie está depositada no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob o código Xavier, 29008.

Obtenção dos extratos

As partes da planta (folha jovem, folha madura, caule e raiz) coletadas passaram por processo de secagem em estufa com circulação do ar à 40°C, depois foram submetidas à trituração em moinho de faca, pesados e em seguida, os extratos foram preparados por maceração estática à frio em etanol, filtrados, secos em evaporador rotativo até a eliminação do solvente e obtenção do extrato bruto etanólico seco.

Para realização dos testes de atividade antioxidante, atividade citotóxica em *Artemia salina* e atividade antibacteriana foram pesadas alíquotas de 0,025 g; 0,15 g e 0,25 g de cada extrato respectivamente.

Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina*

A avaliação da citotoxicidade frente à *A. salina* foi realizada segundo o método de Meyer *et al.* (1982). Os ovos de *A. salina* foram adquiridos comercialmente e colocados em um recipiente contendo água marinha sintética e deixados sob uma lâmpada incandescente e em temperatura ambiente por 48 horas para eclodirem. As amostras foram diluídas em concentrações diferentes de 0,5; 0,25; 0,125 e 0,062 µg/mL, cerca de 10 metanúplios de *A. salina* foram transferidos para os tubos de ensaio contendo as amostras testadas e no controle de solvente (branco) foram colocadas 10 metanúplios em tubos de ensaio apenas com solução salina.

Os tubos de ensaio foram novamente deixados sob uma lâmpada incandescente e em temperatura ambiente por 24 horas. Após este período, os micro crustáceos vivos e mortos em cada concentração foram contados. O resultado da contagem foi usado para o cálculo da CL₅₀.

Avaliação da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi feita pela metodologia de DPPH de Brand-Willians (1995). Foram

preparados 100 mL de uma solução estoque (solução mãe) de 250 µg/mL dos extratos, em seguida foram realizadas diluições para a obtenção de concentrações finais de 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL. Para o preparo da solução de DPPH foram utilizados 0,006 g do mesmo, em seguida, foram dissolvidos em álcool etílico e completou-se o volume para 60 mL em balão volumétrico envolto com papel alumínio para evitar a reação com a luz. Cada tubo recebeu 1 mL de DPPH.

Os resultados foram posteriormente lidos, observando a mudança na coloração das amostras. Os valores de absorbância foram obtidos através de uma espectrofotometria, lida a 517 nm e expressos em gráficos.

Avaliação da atividade antibacteriana

A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada pelo método *in vitro* de difusão de discos segundo Bauer *et al.* (1965), utilizando as seguintes cepas bacterianas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e Gram-negativas: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4435), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Para os testes foram utilizados discos estéreis de papel de filtro, impregnados com 20µL de extrato. Em placa de Petri, foram colocados cinco discos, sendo: três concentrações diferentes do extrato dissolvidos em salina, 100%, 50% e 25%, um controle negativo (álcool etílico) e um controle positivo (Tetraciclina para *E. coli* e *P. aeruginosa*, gentamicina para *K. pneumoniae* e Oxacilina para *S. aureus*).

As placas foram incubadas em estufa à 37°C e os resultados foram lidos após 24 horas para a verificação da presença ou não de halos de inibição (mm).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à toxicidade frente à *A. salina*, quando há mortalidade diferente de 100% ou maior de 10%, calcula-se a CL₅₀ através de métodos estatísticos, no entanto, as amostras são consideradas tóxicas quando CL₅₀ for inferior a 1000 µg/mL (Ramos, *et al.*, 2007). A toxicidade com *A. salina*, mostra boa correlação com atividades antitumoral (Meyer *et al.*, 1982), inseticida (McLaughlin *et al.*, 1995) e anti-*Trypanosoma cruzi* (Alves *et al.*, 2000) para as substâncias com CL₅₀ < 1000 µg/mL. Por outro lado, baixa toxicidade pode ser considerada uma característica interessante para utilização de extratos vegetais em ambientes naturais, como é o caso do uso para o controle da população de caramujos (Nunes *et al.*, 2008).

Os extratos de *U. aurantiaca* analisados, não demonstraram nenhuma toxicidade ao micro crustáceo, pois não promoveu a morte dos mesmos nas diferentes concentrações utilizadas, sugerindo que os extratos obtidos possivelmente não possuem constituintes potencialmente tóxicos.

O uso de DPPH como reagente para a seleção da atividade antioxidante de moléculas tem sido relatado. O DPPH é um radical livre, estável à temperatura ambiente, que produz uma solução violeta em etanol quando reduzido na presença de uma molécula antioxidante dando origem às soluções coloridas, neste ensaio, a inibição do radical DPPH é seguido por monitoramento da diminuição de absorbância no comprimento de onda em 517 nm, que

ocorre devido à redução de antioxidantes. Este tem sido usado para avaliar a capacidade dos compostos fenólicos durante a transferência de átomos de H lábeis aos radicais (Mensor, *et al.*, 2001). Costa (2007) menciona que a intensidade da coloração é proporcional à concentração da substância com potencial antioxidante, como é o caso dos compostos fenólicos que devido às suas propriedades redox são considerados agentes redutores, doadores de hidrogênio e oxigênio singlete (Coutinho, *et al.*, 2008).

Uma das maneiras de expressar o resultado do ensaio quantitativo com DPPH é o valor de IC₅₀, isto é, a quantidade de amostra necessária para reduzir 50% à concentração inicial de DPPH, quanto menor o valor de IC₅₀, maior é a capacidade antioxidante da substância (Trevisan, 2010). Alguns autores afirmam que a vitamina C, um potente antioxidante hidrossolúvel e o flavonóide rutina, com IC₅₀ de 6,13 µg/mL e 6,71 µg/mL respectivamente, são considerados controles positivos mais apropriados para avaliação de atividade antioxidante (Mensor, *et al.*, 2001; Scotti *et al.*, 2007; Trevisan, 2010).

Os resultados dos cálculos das IC₅₀ estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração em µg/mL necessária dos extratos de *Urera aurantiaca* e dos padrões Vitamina C e Rutina para reduzir 50% da concentração inicial de DPPH.

Amostra	Concentração
Folha jovem	68,80 µg/mL
Folha madura	69,55 µg/mL
Caule	162,50 µg/mL
Raiz	72,54 µg/mL
Vitamina C	6,13 µg/mL
Rutina	6,71 µg/mL

O resultado obtido com o extrato de folha jovem apresentou melhor atividade antioxidante (68,80 µg/mL) quando comparado aos valores dos extratos obtidos de outros órgãos vegetais da *U. aurantiaca*. Folha madura (69,55 µg/mL), raiz (72,54 µg/mL) e extrato de caule (162,50 µg/mL), apresentando atividade relativamente baixa comparado às outras amostras.

Ao comparar os resultados obtidos com os padrões utilizados (substâncias puras), observou-se a não correlação entre eles, porém estudos relatam que a atividade antioxidante dos flavonóides e de outros fenóis são decorrentes do seu grupo hidroxila presentes no anel aromático, quando esse proporciona maior estabilidade ao radical fenólico após a doação de hidrogênio para radicais de DPPH. A metilação do grupo hidroxila na posição *para*-, a ligação dupla entre os C₂-C₃, e a metilação adicional na posição *meta*-, podem diminuir significativamente a capacidade de inibição do DPPH (LÓBO, *et al.*, 2009). Com base nessas informações justifica-se a menor atividade antioxidante dos extratos testados quando comparados ao padrão.

Segundo Coutinho (2008), a natureza química dos flavonóides depende do grau estrutural da classe, de hidroxilação, outras substituições e conjugações. Estudos

feitos com compostos fenólicos em plantas chinesas mostrou que a menor atividade anti-radical do flavonóides foi atribuído às flavanonas e isoflavanones, demonstrando que, a atividade antioxidante depende do número e da posição dos grupos hidroxila nos anéis A e B, bem como as insaturações dos C_{2,3} e o C₄-oxo no anel C (Coutinho, *et al.* 2008).

Algumas plantas da família *Urticaceae*, como a *Urtica dioica*, apresentam em sua composição fitoquímica, moléculas como flavonóides e cumarinas, substâncias que possuem grupamentos fenólicos e podem apresentar atividade antioxidante (Alonso, 1998), por se tratar de uma espécie da mesma família, acredita-se que a *U. aurantiaca* possa apresentar em sua composição, as mesmas substâncias, porém, em concentrações mínimas.

A atividade antibacteriana dos extratos de *U. aurantiaca* foi avaliada pela presença de halo de inibição do crescimento das bactérias utilizada (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antibacteriana de extratos de *Urera aurantiaca*.

Partes da Planta	Cepas Bacterianas		
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 4435)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
Folhas jovens	--	--	--
Folhas maduras	--	--	--
Caule	--	--	--
Raiz	--	--	--

-- : Não houve detecção de atividade antibacteriana.

Há muito que o homem procura diferentes maneiras de alívio e cura de várias doenças, usando diferentes plantas, produtos vegetais e derivados de plantas.

Sabe-se que óleos essenciais e extratos brutos de diversas plantas demonstram ter propriedades antimicrobianas e têm sido usados como anti-sépticos tópicos (Kim & Shin, 2004).

De acordo com Kiska (1998), as amostras testadas difunde-se para fora do disco no qual foram impregnados, criando um gradiente de concentração circular que diminui logaritmicamente o aumento da distância a partir do disco, assim, as bactérias se multiplicam sobre o agar, exceto na área (zonas) ao redor do disco onde as moléculas difusas exercem propriedades que inibem o crescimento bacteriano.

No entanto, Hossain (2011), relata que diferentes extratos podem não demonstrar nenhuma atividade antibacteriana contra várias bactérias patogênicas devido a baixa concentração de óleos essenciais.

CONCLUSÕES

A partir do teste realizado com metanúplios de *Artemia salina*, pode-se concluir que os extratos de *Urera aurantiaca* não apresentam toxicidade, podendo ser bem tolerados frente aos sistemas biológicos. Para confirmar tal tolerância, são necessários estudos mais detalhados para a

avaliação da toxicidade dos extratos de *U. aurantiaca* empregando-se outros modelos *in vitro* e *in vivo*.

A avaliação através de testes antibacterianos demonstrou que os extratos testados não são eficazes na inibição do crescimento das cepas bacterianas utilizadas, portanto, provavelmente não possuem tal atividade.

Quanto aos ensaios para determinação da atividade antioxidante, observou-se que os extratos de *Urera aurantiaca* não possuem atividade significativa. Testes para o isolamento de substâncias presentes na espécie vegetal estudada serão empregados para confirmar a ausência da atividade antioxidante.

Por ser uma planta comumente utilizada como chás diuréticos, hortaliças folhosas, vermífugo e até mesmo em casos de câncer, a continuação de estudos para averiguar novas propriedades biológicas da *Urera aurantiaca* se torna necessária. Testes relacionados à ação anti-inflamatória, diurética e antiparasitária devem ser instituídos.

AGRADECIMENTOS

Ao Sr Paulo Xavier Martins (idealizador e coletor). Ao Dr. Arnildo Pott e a Vali Joana Pott do Herbário da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Centro de Pesquisa do Pantanal (CPP), Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) e ao PIBIC/UCDB.

REFERÊNCIAS

Alves EO, Mota JH, Soares TS, Vieira MC, Silva CB. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. *Ciênc. agrotec. Lavras*. 32(2): 651 – 658, 2008.

Alves TM, Silva AF, Brandão M, Grandi TS, Smânia E, Smânia Júnior A, Zani CL. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem. Inst. Osw. Cruz*. 95(3): 367 – 373, 2000.

Alonso J. Tratado de fitomedicina, Bases Clínicas Y Farmacológicas. Buenos Aires: Isis, 1998. 1100 p.

Base de dados da UFMG. Endemismos de plantas vasculares na mata atlântica. Última atualização: 24/06/2009. Disponível em: <http://sagui.icb.ufmg.br/bot/mataatlantica/especie.php?genero=Urera&epiteto_especifico=aurantiaca&img_fl=0&img_fr=0&img_ha=0&img_ex=0> Acesso em: 21 junho de 2010.

Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotics susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 45(4): 493 - 6, 1966.

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 28: 25 - 30, 1995.

Carneiro MRB. *A flora medicinal no centro-oeste do Brasil: Um estudo de caso com abordagem etnobotânica em Campo Limpo de Goiás*. 2009. Anápolis. 243 p. Dissertação (Mestrado em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente), Centro Universitário de Anápolis. Anápolis.

Costa CK. *Estudo fitoquímico de Bixa orellana, Bixaceae e aplicação de seu óleo em formulação cosmética*. 2007.

Curitiba. 115 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

Coutinho ID, Coelho RG, Kataoka VMF, Honda NK, Silva JRM, Vilegas W, Cardoso CAL. Determination of phenolic compounds and evaluation of antioxidant capacity of *Campomanesia adamantium* leaves. *Ecl. Quím*. 33(4): 53 - 60, 2008.

Gaspi FOG. *Avaliação farmacológica do extrato bruto e frações de Qualea grandiflora Mart. (Vochysiaceae)*. 2004. Campinas. 90 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas.

Hossain MA, Shah MD, Sang SV, Sakari M. Chemical composition and antibacterial properties of the essential oils and crude extracts of *Merremia borneensis*. *J King Saud Univ - Scien*. DOI:10.1016/j.jksus. 2011.03.006.

Kim YS, Shin DH. Volatile constituents from the leaves of *Callicarpa japonica* Thunb. and their antibacterial activities. *J Agric Food Chem*. 4: 781 – 787, 2004.

Kinupp VF. *Plantas alimentícias não-convencionais da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS*. 2007. Porto Alegre. 590 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

Kiska DL. In vitro testing of antimicrobial agents. *Sem. Ped. Infec. Dis*. 9: 281 – 291, 1998.

Lôbo LT, Silva GA, Ferreira M, Silva MN, Santos AS Arruda AC, Guilhon GMSP, Santos LS, Borges RS Arruda MSP. Dihydroflavonols from the leaves of *Derris urucu* (Leguminosae): Structural Elucidation and DPPH Radical-Scavenging Activity. *J. Braz. Chem. Soc*. 20(6):, 1082 - 1088, 2009.

Mclaughlin JL, Saizarbitori TC, Anderson JE. Tres bioensayos simples para quimicos de productos naturales. *Rev. Soc. Venez. Quim*. 18: 13 - 18, 1995.

Mensor LL, Menezes FS, Leitao GG, Reis AS, Santos TC, Coube CS. Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res*. 15: 127 – 130, 2001.

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 45(1): 31 - 34, 1982.

Nunes XP, Mesquita RF, Silva DA, Lira DP, Costa VCO, Silva MVB, Xavier AL, Diniz MFFM, Agra MF. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). *Rev. bras. farmacogn*. 18: 718 -723, 2008.

Ramos DD, Cardoso CAL, Yamamoto NT. Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg. (Myrtaceae). *Nota Científica. R. bras. Bioci*. 5(2): 774 - 776, 2007.

Scotti L, Scotti MT, Cardoso C, Pauletti P, Castro-Gamboa L, Bolzani VS, Velasco MVR, Menezes CMS, Ferreira EI.

Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 43(2): 153 - 166, 2007.

Schwenk LM & Silva CJ. A Etnobotânica da morraria Mimoso no Pantanal de Mato Grosso. *Simpósio sobre Recursos Naturais e Socio-Econômicos do Pantanal – Os Desafios do Novo Milênio*, Corumbá, Brasil, 2000.

Trevisan RR. *Estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas das cascas de Celtis iguanaea (jacq.) Sargent Ulmaceae*. 2010. Curitiba. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná. Curitiba.