

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS EM ETANOL DE *Capsicumchinense*(Pimenta de Cheiro)

E. I. M. Araújo¹, L. C. C. Freire², L. A. Alves³, L. M. Bertini⁴
E-mail: Isaias_desbrava@hotmail.com¹; laizacarlos@hotmail.com²; leonardo.alcantara@ifrn.edu.br³; luciana.bertini@ifrn.edu.br⁴

RESUMO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. No Brasil há uma imensa diversidade biológica e o estudo de plantas vem chamando a atenção de diversos cientistas. As espécies do gênero *Capsicum* vêm sendo estudadas por pesquisadores do mundo inteiro devido a presença de capsaicina uma substância que apresenta atividade anti-hiperlipidêmica, além de efeito quimiopreventivo. Sua

habilidade de aumentar o fluxo sanguíneo periférico pode ser útil em casos de enxaqueca e depressão. Este estudo tem como objetivo caracterizar algumas propriedades químico-biológicas dos extratos das partes desta planta (folhas, galhos, raízes e frutos) através de testes fitoquímicos, atividade antioxidante e avaliação do teor de fenóis totais.

PALAVRAS-CHAVE: produtos naturais, *Capsicumchinense*, propriedades químico-biológicas.

PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION, ANTIOXIDANT AND TOTAL PHENOL OF EXTRACTS *Capsicumchinense*

ABSTRACT

The natural products are used by humanity since immemorial times. In Brazil, where have a immense biological diversity, the plants studies come calling the attention of divers scientists. Species of the genus *Capsicum* are being studied by researchers worldwide and studies provide an activity to capsaicin anti hyperlipidemic, and chemopreventive effects. Its ability to increase blood flow peripheral can be useful in cases

of depression and migraine. We will highlight the *Capsicum chinense*, which is the Brazilian pepper all domesticated species. This study aims to characterize some chemical biological properties of the extract soft his plant parts (leaves, twigs, roots and fruits). Through testing phytochemicals, antioxidant activity test and evaluation of total phenols.

KEYWORDS: natural products, *Capsicumchinense*, chemical and biological properties.

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde a antiguidade. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenham sido uma das primeiras formas de utilização desses vegetais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, Greco-romana e Chinesa. (VIEGAS, 2006)

No Brasil, há uma imensa diversidade biológica e o estudo das plantas vem despertando a atenção de diversos cientistas, e cada vez mais é comprovada a eficácia do seu uso no combate de doenças, pragas, entre outros males que afetam os seres humanos.

As espécies do gênero *Capsicum* vêm sendo estudadas por pesquisadores do mundo inteiro e os estudos conferem à capsaicina uma atividade antihiperlipidêmica (KUDA; IWA; YANO, 2004), propriedades anti-inflamatórias (SURH, 2002), antioxidantes (SURH; LEE; LEE, 2002; GANJI, 2004), além de efeito quimiopreventivo (SURH; LEE; LEE, 2002; LEE, *et al.* 2005) e efetivos no tratamento de um número de distúrbios de fibras nervosas, incluindo dor associada com artrite, cistite e neuropatia diabética (NUEZ, 1995). As pimentas ainda contêm altas concentrações de vitamina A e C, consideradas nutrientes anticancerígenos (KUDA; IWA; YANO, 2004). Usada devidamente, pode ser bastante saudável e efetiva contra doenças físicas e mentais. Pode ser útil em casos de indigestão, prisão de ventre e tem a habilidade de modificar o perfil lipídico do sangue, especialmente o nível de colesterol. Também é utilizada para melhorar a circulação e elevar o metabolismo. Sua habilidade de aumentar o fluxo sanguíneo periférico pode ser útil em casos de enxaqueca e depressão. Além disso, aumenta a efetividade de sistema imunológico, fortalecendo o corpo contra invasores infecciosos. (STARK, 2008)

Dentre esse gênero, destaca-se a *Capsicum chinense*, conhecida popularmente como pimenta de cheiro, que é a mais brasileira de todas as espécies de pimenta domesticada, sendo cultivada ao leste dos Andes, porém encontrada em maior diversidade na bacia amazônica e no Pará. Desta forma, este estudo tem como objetivo caracterizar algumas propriedades químico-biológicas dos extratos desta planta (folhas, galhos, raízes e frutos).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Alguns fitoquímicos derivados de frutas e vegetais são agentes quimiopreventivos, como, por exemplo, a capsaicina (das pimentas), o resveratrol (do vinho), o licopeno (do tomate), a alicina (do alho), o eugenol (do cravo) e a genisteína (da soja). Estes agentes apresentam grande valor terapêutico não somente na prevenção, como também têm sido usados como adjuvantes nas terapias, pois dados revelam que podem reverter a quimioresistência e radioresistência em pacientes em tratamento de câncer (DORAI; AGGARWAL, 2004).

Surh (2002) concluiu que a capsaicina (Figura 1) é efetiva para dor de cabeça, coceira e dor causada pela síndrome pós-mastectomia. Também é eficaz em casos de mucosite oral, alergia cutânea, dor no pescoço e tumor de pele.

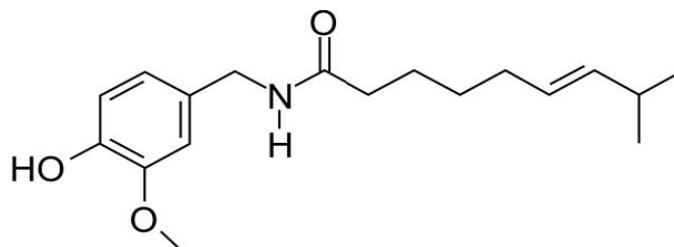


Figura 1: Estrutura da capsaicina

O Brasil destaca-se por possuir ampla diversidade em todas as categorias e contempla 4 espécies domesticadas: *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense* e *Capsicum frutescens*. Existem ainda 3 espécies semi-domesticadas: *Capsicum glabriusculum*, *Capsicum praetermissum* e *Capsicum baccatum baccatum*. E também 8 a 10 espécies silvestres (REIFSCHNEIDER, 2000).

Pesquisas destacam as especiarias, ingredientes utilizados no preparo de alimentos, como fonte de antioxidantes naturais. Segundo MELO (2006), o efeito antioxidante de especiarias e ervas foi inicialmente evidenciado em trinta e duas especiarias, das quais o alecrim e a sálvia foram consideradas as mais eficazes. Posteriormente, esta ação foi comprovada no orégano e no tomilho, no gengibre, na pimenta, na mostarda, na canela, no coentro entre outros.

Ensaio com ratos alimentados com dieta hiperlipídica e, posteriormente, adicionadas pequenas quantidades de pimenta vermelha (*Capsicum annuum*) ou capsaicina, apresentam efeito hipocolesterolêmico e hipotrigliceridêmico (KUDA; IWAI; YANO, 2004).

Sugere-se que a capsaicina possui propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas através da inibição de enzimas que poderiam iniciar a mutação de células ou através da inibição de metabólitos carcinogênicos, como por exemplo, o NNK [4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona] do tabaco (MODLY, 1986).

3 METODOLOGIA

3.1 Preparação do extrato

Coletou-se o material vegetal (folhas, galhos, fruto e raízes) de *C. chinense*, na cidade de Apodi. Em seguida, cada uma das partes foram colocadas em contato com etanol por 7 dias e o processo foi repetido 3 vezes. Após esse período, foi realizada a filtração e depois o líquido foi colocado num sistema de rota evaporador sob pressão reduzida para obtenção do extrato etanólico.

3.2 Testes fitoquímicos dos extratos vegetais

Os extratos foram submetidos a testes fitoquímicos seguindo a metodologia descrita por (MATOS,1997). Foram realizados os testes de: fenóis e taninos, flavonoides, esteroides e triterpenos (teste de Liberman-Buchard) e saponinas, como descrito nos próximos itens.

3.2.1 *Teste para Fenóis e Taninos*

Tomou-se um tubo de ensaio com um pouco de cada extrato, e foi adicionado três gotas de uma solução alcoólica de FeCl_3 , observando-se mudança de cor e formação de precipitado.

3.2.2 *Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides*

Pegaram-se três tubos de ensaio e acrescentou um pouco de cada extrato em cada tubo. O primeiro foi acidulado a pH 3, o segundo foi alcalinizado a pH 8,5 e o terceiro a 11, e observou-se as mudanças de cores.

3.2.3 *Teste para Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas*

Adicionou-se a um tubo de ensaio com o extrato alguns centigramas de magnésio em fita e 0,5 mL de HCl concentrado. Esperou-se o fim da reação, indicada pelo fim da efervescência, e observou a mudança de cor.

3.2.4 *Teste para Saponinas*

Adicionou-se a um tubo de ensaio com o extrato 5-10 mL de água para dissolvê-lo, após esse processo agitou-se fortemente a solução, e observou-se a formação de espuma.

3.2.5 *Teste para Esteroides e Triterpenoides (Lieberman-Burchard)*

Em um tubo de ensaio acrescentou-se um pouco do extrato, que foi dissolvido em 1-2 mL de clorofórmio. Após esse processo a solução foi filtrada, e acrescentou-se 1mL de anidrido acético e 3 gotas de H_2SO_4 concentrado, e observou a mudança de cor.

3.3 TESTE ANTIOXIDANTE

Os testes para verificar a atividade antioxidante e encontrar a IC_{50} (Concentração que inibe 50% dos radicais) dos extratos foram realizados com uma solução em metanol de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) a $60\mu\text{M}$. Foram preparadas diferentes concentrações com os extratos (5000, 1000, 500, 200, 150, 100, 50 e 10 ppm), retirada uma alíquota de 1mL e acrescentado 1mL de DPPH. Após 30 minutos foram feitas as leituras no espectrofotômetro a 520 nm. O mesmo procedimento foi realizado com o controle positivo o TROLOX. Os resultados obtidos após a leitura foram analisados em um programa de estatística (Origin 7.0).

3.4 FENÓIS TOTAIS

O teste para verificação dos fenóis totais foi feito pelo método de Folin-Cicalteau. Cada extrato vegetal foi dissolvido em metanol, em seguida transferido para um balão volumétrico de 100 mL e completado com solvente. Em outro balão, de 50 mL, foram transferidos 7,5 mL da solução inicial, esta segunda solução teve seu volume novamente acertado com metanol. Uma alíquota de 100 µL desta última solução foi agitada com 500 µL do reagente de Folin-Cicalteau e 6mL de água destilada por 1 min. Após esse período foi adicionado 2 mL de Na₂CO₃ a 15% a mistura e agitada por 30 s. A solução teve seu volume acertado para 10 mL com água destilada. Esperou-se 2 h, e em seguida a absorbância das amostras foram medidas no espectrofotômetro a 750 nm, fazendo uso de cubetas de quartzo (BONOLI *et al.*, 2004). A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos do *C.chinense* foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de extrato bruto.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seguindo a metodologia descrita no item 3.1, foram obtidos 97,73g (13,37%) de extrato etanólico das folhas (EEFCC), 2,7247g (1,40%) de extrato etanólico das raízes (EERCC), 28,6124g (5,25%) de extrato etanólico do fruto (EEFrCC), 19,1267g (2,95%) de extrato etanólico dos galhos (EEGCC) . Esses extratos foram submetidos ao estudo fitoquímico para identificar as classes de metabólitos secundários e estes resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Identificação dos metabólitos secundários presentes nos extratos etanólicos das diferentes partes da *C. chinense*

Metabólitos secundários	EEFCC	EERCC	EEGCC	EEFrCC
Fenóis e Taninos	Taninos flobabênicos	(-)	(-)	(-)
Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides	(-)	(-)	Flavonas, flavonóis, xantonas	(-)
Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas	(-)	(-)	(-)	(-)
Leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	(-)	(-)	(-)	(-)
Saponinas	(-)	(+)	(+)	(+)
Esteroides e Triterpenóides	Presença de esteróides livres	Presença de esteróides livres	Presença de esteróides livres	(-)

EEFCC: Extrato etanólico das folhas da *Capsicumchinense*

EERCC: Extrato etanólico das raízes da *Capsicumchinense*

EEGCC: Extrato etanólico dos galhos da *Capsicumchinense*

EEFrCC: Extrato etanólico do fruto da *Capsicumchinense*

(-): teste negativo

(+): teste positivo

Após a aplicação dos testes fitoquímicos verificou-se que o extrato das folhas apresentou: taninos flobabênicos e esteróides livres já no extrato das raízes notaram-se a presença de saponinas e esteróides livres, o extrato dos galhos observou-se presença de flavonas, flavonóis, xantonas e esteróides livres, no extrato do fruto apresentou apenas saponinas.

O valor da IC₅₀ foi calculado a fim de se definir a concentração necessária para inibir o radical DPPH em 50%. Os resultados obtidos através dos testes antioxidantes podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2: Atividade antioxidante obtida pelo método do DPPH dos extratos e das partes da *C. chinense*

Parte da planta	IC ₅₀	Código
Folhas	439,66ppm	EEFCC
Raízes	202,80ppm	EERCC
Galhos	235,29ppm	EEGCC
Fruto	711,74ppm	EEFrCC
Trolox	4,07	-

Pode-se notar na Tabela 2, que o potencial antioxidante dos extratos da *C. chinenses* são muito altos, quando comparado ao do padrão positivo trolox. O extrato etanólico das raízes apresentou a melhor atividade antioxidante.

A determinação dos fenóis totais dos extratos e frações realizados pelo método de folin-ciocalteau, expressos em equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato bruto é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Teor de fenóis totais obtida pelo método folin-ciocalteau dos extratos da *Capsicumchinense*

Extrato	Fenóis Totais (mg EAG/g de extrato bruto)	Código
Etanólicoda Folhas	58,73	EEFCC
Etanólico do fruto	38,73	EEFrCC
Etanólico dos galhos	67,77	EEGCC
Etanólico da raízes	54,22	EERCC

Os fenóis são metabólitos secundários, que se caracterizam pela sua atividade antioxidante, portanto como os testes apontaram IC₅₀ bastante elevadas, que indicam um baixo potencial antioxidante, justificado pelo baixo teor de fenóis.

5 CONCLUSÃO

Esses testes não nos dão total certeza para afirmar que a planta é terapêutica, para o tal seria necessária a aplicação de outros testes; pretende-se no futuro estudar a atividade larvicida dos extratos das partes dessa planta.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DORAI, T.; AGGARWAL, B.B. **The antimicrobial properties of chie peppers (Capsicum species) and their uses in Mayan medicine.** Cancer Letters. v.17, n.4, p.1263-1265, 2004.
- GANJI, V.; KAFAL, M.R. **Capsaicinoids in vegetative organs of Capsicum annum L. in relation to fruiting.** American Journal of Clinical Nutrition.v.6, p.1500-1507, 2004.
- KUDA, T.; IWAI, A.; YANO, T. **Nutrition and sciences.Food and Chemical Toxicology,** v.5, p.1695-1700, 2004.
- MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução a fitoquímica experimental.**3 ed. – Fortaleza: Edições UFC, 2009. p. 47-54.
- LEE, J.J.; CROSBY, K.M.; PIKE, L.M.; YOO, K.S.; LESKOVAR, D.I. **Impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (Capsicum spp.).** Scientia Horticulturae, v.106, p.341-352, 2005.
- MELO, E. A. et al. **Capacidade Antioxidante de Hortaliças usualmente consumidas.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas,v. 26, jul/set. 2006.
- MODLY, C.E. **Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals,** V.14, p.413-416, 1986.
- NUEZ, F. **El cultivo de pimientos, chiles y ajies.** Madri: EdicionesMundi-Prensa, 1995.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B. **Capsicum:pimentas e pimentões no Brasil.** Brasília Embrapa comunicação para transferência de tecnologia/Embrapa hortaliças, 2000.
- STARK, C. B. **Características e benefícios da capsaicina.** Universidade federal de pelotas, Pelotas, 2008.
- SURH, Y.J.; LEE, E.; LEE, J.M. **The Capsaicin Study.**Mutation Research.V.41, p.259-267, 2002.
- VIEGAS, C. J. , BOLZANI, V. S. , BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova,** Vol. 29, No. 2, 326-337, 2006, Araraquara – SP.