



Comunicação breve

AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DO "ESPECÍFICO PESSOA" ENCONTRADO EM FEIRA LIVRE DE JI-PARANÁ (RO)

Rauldenis Almeida Fonseca Santos^{1*}, Guilherme de Andrade Prudencio¹¹ Instituto Federal de Rondônia - Campus Calama - RO, Av. Calama, CEP 4985, 76820-441, Porto Velho, RO, Brasil.* Autor correspondente. E-mail: rauldenis.fonseca@ifro.edu.br

INFO ARTICLE

RESUMO

Histórico do artigo

Recebido: 09 de agosto de 2018

Aceito: 16 de agosto de 2019

Palavras-chaves:

Garrafada

Tintura

Específico pessoa

Testes in vitro

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil fitoquímico, a atividade citotóxica e o potencial antioxidante da garrafada "específico pessoa" vendido em feira livre da cidade de Ji-Paraná (RO), comercializado como antídoto para veneno de diferentes animais como cobras, escorpiões e aranhas. O trabalho revelou que o extrato do "específico pessoa" não apresenta citotoxicidade quando avaliado pelo método de letalidade frente *Artemia salina* ($LD_{50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e não possui atividade antioxidante significativa quando avaliado pelo método de DPPH ($IC_{50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

1. Introdução

O "específico pessoa" é uma tintura ou "garrafada" originalmente vendida em feiras livres nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, utilizada como panaceia e antídoto universal contra veneno de diversos animais tais como: cobras, aranhas, escorpiões e abelhas (Pereira, 1996). Na bula há a descrição de eficácia no tratamento de queimaduras, ferimentos e contusões, com resultados obtidos em 24 horas, após tratamento via oral e/ou local.

Historicamente diferentes tipos de garrafadas, pomadas, tinturas e extratos são usados como afrodisíacos, cicatrizantes, expectorantes e antídotos contra venenos animais e, são facilmente encontrados em feiras livres especialmente das regiões Norte e Nordeste do Brasil. Muitos desses produtos gozam de relativo sucesso entre as comunidades tradicionais, mesmo que sua eficácia não tenha sido comprovada, devido as dificuldades no acesso ao serviço público de saúde, especificamente nas zonas rurais, onde possuem somente o uso de plantas como alternativa terapêutica para suprir as necessidades de assistência médica primária (Rodrigues, 2010; da Silva, 2017).

O uso de garrafadas adquiridas em feiras livres constitui uma prática perigosa, pois não existe qualquer controle sanitário ou até mesmo conhecimento dos efeitos nocivos de alguns desses produtos, que podem ser obtidos de

espécies venenosas ou propositalmente fraudadas (Rodrigues, 2010). Mesmo sabendo que muitos fármacos, fitoterápicos e plantas medicinais tem sua origem do conhecimento popular (etnofarmacologia), seu uso indiscriminado constitui um problema sanitário (Balunas, 2005; Kinghorn, 2003; Anvisa, 2018).

O "específico pessoa" é um exemplo de produto sem especificação, não se sabe ao certo, qual espécie ou espécies vegetais origina o produto, já que sua composição pode variar de região para região (Pereira, 1996).

Para ser considerado fitoterápico, de acordo com a legislação sanitária brasileira, o medicamento deve ser obtido exclusivamente a partir de matéria-prima vegetal que apresenta reprodutibilidade de sua qualidade, eficácia e segurança por documentos técnico-científicos ou evidência clínica, apenas indústrias farmacêuticas certificadas pela Anvisa podem registrar e produzir fitoterápicos (Lei 6360/1976 e Lei RDC14/2010) (Carvalho, 2012).

O Brasil possui normas específicas para registro dos medicamentos fitoterápicos desde 1967 e no SUS, já existe um programa de uso de plantas medicinais e fitoterapia, que reconhecem a importância e contribuição do conhecimento popular e da etnofarmacologia no tratamento de doenças (Rodrigues, 2010). Dessa forma, a avaliação da qualidade, segurança e eficácia baseada em pesquisas é necessária para consolidação do produto "específico pessoa" como fitoterápico.

No caso do "específico pessoa", alguns trabalhos evidenciam sua eficiência contra alguns venenos animais,

quanto que para outros não apresenta qualquer efeito (da Silva, 2004; Melo, 201; Ximenes, 2009; Reichert, 2014). Os compostos isolados responsáveis pela capacidade de neutralização do veneno ofídico foram os pterocarpanos, cabenegrina A-I e A-II (Nakagawa, 1982), atribuído seu isolamento devido à presença, na formulação do produto, da espécie de planta chamada “*cabeça-de-negro*”. No entanto, a identificação da espécie vegetal foi inviabilizada devido ao fato de mais de dez plantas serem conhecidas por apresentar esse nome popular. Posteriormente, da espécie conhecida popularmente conhecida como “*raiz de cobra*” (*Harpalicia brasiliensis* Banth.), foram isolados os mesmos compostos que os encontrados no “*específico pessoa*” (da Silva, 1997, Militão, 2007), sendo, portanto, uma das espécies vegetais que compõem a garrafada. Além disso, o potencial antifídico das espécies vegetais ricas nos pterocarpanos cabenegrina A-I e A-II, foram também avaliadas em outras espécies como a *Brongniartia podalyrioides* e *B. intermedia*, encontradas no México, que também são usadas pelos indígenas locais contra picada de serpentes (Ryes-Chilpa, 1994).

Dessa forma, visando verificar a eficácia da garrafada “*específico pessoa*”, como fonte de substâncias citotóxicas e antioxidantes, o presente trabalho aborda o estudo químico e a avaliação biológica, por testes *in vitro* simples, do “*específico pessoa*” encontrado em feira livre na cidade de Ji-Paraná, estado de Rondônia, Brasil, uma vez que sua composição pode variar de região para região.

2. Material e métodos

2.1 Aquisição da garrafada e preparo do extrato

A garrafada do “*específico pessoa*”, na forma de extrato hidroalcolico, foi adquirido em feira livre denominada “*feirão do produtor*”, localizada na cidade de Ji-Paraná, Estado de Rondônia, Brasil, sobre as coordenadas geográficas, latitude -10.876773, longitude -61.952038, em Agosto de 2017. O produto foi comprado em um recipiente plástico de 50mL com rótulo apresentando as seguintes especificações: Específico P. Pessoa, manufaturado em Sobral, Ceará, Brasil, registro em andamento. O material foi convertido em extrato por remoção do solvente usando evaporador-rotatório (QUIMIS®), de onde foram obtidos 2,2g do extrato.

2.2 Análise fitoquímica

Realizou-se a análise fitoquímica qualitativa conforme métodos baseados em testes colorimétricos, considerando a identificação dos principais metabólitos secundários (Marini-Bettolo, 1981, Matos, 1988).

Em resumo, o extrato da garrafada foi eluído em quatro placas de cromatografia em camada delgada 20x20cm, impregnada por sílica gel da Sigma® no sistema de solventes: 8/2 de CHCl₃/MeOH. Em seguida, cada placa foi borrifada com reagentes de revelação: *Lieberman-Burchard*, solução saturada de FeCl₃, solução saturada de AlCl₃ e solução alcoólica de vanilina, para verificação da presença, respectivamente de: triterpenos/esteroides, fenólicos/taninos, flavonoides e catequinas pelo aparecimento das cores violeta, azul e amarelo e vermelho (Marini-Bettolo, 1981, Matos, 1988).

Já a detecção das saponinas e alcaloides foi realizado através da dissolução de parte do extrato em água destilada e verificação de formação de espuma, para confirmar presença de saponinas, e formação de precipitado após adição do reagente de *Meyer* para detecção de alcaloides (Marini-Bettolo, 1981, Matos, 1988).

2.3 Teste de toxicidade frente *Artemia salina*

O teste de toxicidade foi realizado por meio da verificação da letalidade frente as larvas de *A. salina* de acordo com a metodologia modificada de Meyer (1982). O extrato foi dissolvido em água do mar salinizada artificialmente de concentração 23g/L, com 0,4% de DMSO para ajudar na dissolução, em seguida, o extrato foi diluído em cinco concentrações (500 µg.mL⁻¹, 250 µg.mL⁻¹, 200 µg.mL⁻¹, 150 µg.mL⁻¹ e 100 µg.mL⁻¹). Para execução do teste, os cistos de *A. salina* foram incubados na água artificialmente salinizada durante um período de 24 Horas. Após esse tempo, 10 larvas de *A. salina* foram distribuídas em cada recipiente nas diferentes concentrações, em triplicata e usando água salinizada como controle. A contagem das larvas mortas foi feita após 24 horas de contato com o extrato, em seguida, foi determinado o valor da LD₅₀ pelo método estatístico de PROBIT (Parra, 2001).

2.4 Teste de atividade antioxidante

O efeito antioxidante do extrato de “*específico pessoa*” foi avaliado pela metodologia de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (Alves, 2010, David, 2002). Esse radical sofre redução pelos agentes antioxidantes, promovendo alteração da coloração inicial violeta, para variações de tons de cor amarela, proporcional a concentração da substância redutora da amostra. O teste consistiu na mistura, em cubetas de quartzo, da solução de DPPH 0,1 mol.L⁻¹ com diferentes concentrações do extrato (50 µg.mL⁻¹, 62,5 µg.mL⁻¹, 125 µg.mL⁻¹, 250 µg.mL⁻¹ e 500 µg.mL⁻¹), em triplicata. Após 15 min. de repouso na ausência de luz, o consumo do radical DPPH foi monitorado medindo-se a diminuição da absorbância da amostra transformada em porcentagem de seqüestro (% SRL) por meio da fórmula:

$$\% \text{ SRL} = (A_c - A_m/A_c) \times 100$$

Em que A_c: Absorbância do controle, A_m: Absorbância da amostra.

O gráfico da % SRL de cada concentração foi construído no programa excel da Microsoft® e o espectrofotômetro UV-VIS (Instrutherm®) foi operado no comprimento de onda de 517 nm, utilizando ácido gálico como controle positivo.

3. Resultados e discussão

O teste colorimétrico realizado apresentou resultado considerado positivo pelo aparecimento de cor, precipitado e /ou espuma específica de cada teste descrito por Matos (1988). Nesta avaliação, foram pesquisadas as classes químicas presentes no extrato de “*específico pessoa*” indicando presença dos seguintes metabólitos: esteróides/terpenóides, saponinas e alcalóides. O resultado da triagem preliminar pode ser confirmados na tabela 1.

Tabela 1. Teste químico qualitativo do extrato do “*específico pessoa*”.

Grupo Químico	Teste aplicado	Amazônia
Esteróides	<i>Lieberman-Burchard</i>	+
Flavonoides	AlCl ₃	-
	<i>Shinoda</i>	-
Saponinas	Teste de espuma	+
Fenóis e taninos	FeCl ₃	-
Catequina	<i>vanilina</i>	-
Alcaloides	<i>Meyer</i>	+

(+): detectado; (-): não detectado

A tabela 1 revela que o “*específico pessoa*” vendido em feira livre de Ji-Paraná não apresenta flavonóides,

contrariando os estudos que detectaram pterocarpanos no “*específico pessoa*” formado pela tintura de *Harpalicia brasiliiana* (Nakagawua, 1982; da Silva, 1997; Militão, 2007). Isso indica que o produto testado pode não ser formado pela mesma espécie vegetal que o testado na literatura, uma vez que o “*específico pessoa*”, historicamente, é formado pela combinação de vários vegetais que mudam ao longo de cada região (Pereira, 1996). Além disso, “*cabeça-de-negro*” é o nome popular para mais de 10 plantas diferentes (Nakagawa, 1982; Ximenes, 2009), dificultando ainda mais a caracterização do produto. Em contrapartida, foi detectado, em quantidades pequenas, alcaloides que podem ser responsáveis por eventuais propriedades farmacológicas.

De acordo com Meyer (1982), o ensaio de toxicidade frente *A. salina* mostra boa correlação com substâncias de conhecida ação citotóxica tais como: podofilotoxina, quinidina e timol. Logo, no teste de letalidade das larvas de *A. salina* em contato com o extrato, revelou que o “*específico pessoa*” não possui potencial citotóxico, com $LD_{50} > 1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, indicando que seu consumo moderado não apresenta potencial tóxico. Esse resultado comprova que o extrato testado possui diferenças significativa na composição química do “*específico pessoa*” testado na literatura rico em pterocarpanos que apresentam relativa citotoxicidade (Nakagawa, 1982; da Silva, 1997; Militão, 2007; Reichert, 2014).

Outro teste *in vitro* averiguado foi o antioxidante, pelo método de sequestro do radical estável DPPH. O teste também revelou baixa capacidade sequestradora do extrato, como consta na figura 1.

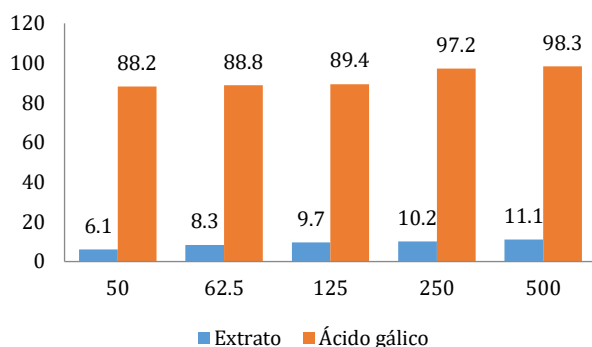


Figura 1: Atividade antioxidante do extrato do “*específico pessoa*”.

O valor de IC_{50} do extrato obtido do produto comercializado no estado de Rondônia foi de $IC_{50} > 1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. O resultado reforça a baixa concentração de flavonoides do “*específico pessoa*” testado. A atividade do teste antioxidante pelo método de DPPH, relaciona-se diretamente com a concentração de fenólicos, especialmente flavonoides, conhecidos metabólitos antioxidantes (Anderson, 2006).

4. Conclusão

O estudo fitoquímico do extrato da garrafada “*específico pessoa*” indica que a espécie ou espécies vegetais que compõe o produto comercializado em feira livre da cidade de Ji-Paraná (RO), não tem, em sua formulação, as mesmas espécies vegetais que formam o “*específico pessoa*” relatado na literatura. Constatação comprovada pela diferença do perfil fitoquímico comparativo realizado por testes qualitativos colorimétricos, indicando que o produto testado não possui flavonóides em quantidade considerável. De todo modo, isso não é uma surpresa uma vez que tradicionalmente, panaceias vendidas no comércio popular, tem suas formulações alteradas com o tempo e região. No

caso do “*específico pessoa*”, a diferença de composição química e atividade terapêutica é um fator agravante, pois é um produto que apresenta literatura de comprovada ação antiofídica, contudo, pode não ser formado pelo mesmo princípio ativo, consistindo em um problema sanitário.

5. Referências

- Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., Aguiar, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. *Química Nova*, 33(10), 2202-2210.
- Anderson, Ø. M., Markham, K. R. (2006). *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*. New York: Taylor & Francis Group. ISBN 0-8493-2021-6.
- Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2018). *Formulário de Fitoterápicos*. Farmacopeia Brasileira (1ª ed.) Primeiro Suplemento.
- Balunas, M. J., Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78(5), 431-441.
- Carvalho, A. C. B., et al. (2012). Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos. *Revista Fitos*, 7(1), 5-16.
- Da Silva, A. J. M., Mattos, F. J. A., Silveira, E. R. (1997). 4'-dehydroxyecabeneigrin A-I from roots of *Harpalyce brasiliiana*. *Phytochemistry*, 46(6), 1059-1062.
- Da Silva, A. J. M., et al. (2004). Synthesis and pharmacological evaluation of prenylated and benzylated pterocarpanes against snake venom. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(2), 431-435.
- Da Silva, T. P., et al. (2017). Espécies vegetais utilizadas no bloqueio da atividade hemorrágica induzida pelos venenos de serpentes do gênero *Bothrops* sp.: uma revisão da literatura. *Scientia Amazonia*, 6(2), 36-57.
- Kinghorn, A. D., et al. (2003). Novel strategies for the discovery of plant-derived anticancer agents. *Pharmaceutical Biology*, 41(S.1.), 53-67.
- Marini-Bettolo, G. B., Nicoletti, M., Patamia, M. (1981). Plant Screening By Chemical And Chromatographic Procedures Under Field Conditions. *Journal of Chromatography*, 213(1), 113-127.
- Matos, F. J. A. (1988). *Introdução a Fitoquímica Experimental*, (2ª ed.) Fortaleza: editora UFC.
- Melo, P. A., et al. (2010). Ability of a synthetic coumestan to antagonize *Bothrops* snake venom activities. *Toxicon*, 55(2-3), 488-496.
- Meyer, B. N., et al. (1982). Brine Shrimp - A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, v. 45(5), 31-34.
- Militão, C. G., et al. (2007). Bioassay-guided fractionation of pterocarpanes from roots of *Harpalyce brasiliiana* Benth. *Bioorg. Med. Chem.*, 15(21), 6687-6691.
- Nakagawa, M., Nakanishe, K., Darko, L. L., Vick, J. A. (1982). Structures of cabeneigrins A-I and A-II, potente anti snake venoms. *Tetrahedron Lett.*, 23(38), 3855-3858.
- Parra, A. L., Yhebra, R. S., Sardiñas, I. G., Buela, L. I. (2001). Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the median lethal dose (LD_{50} value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*, 8(5), 395-400.
- Pereira, N. A., Jaccoud, R. J., Mors, W. B. (1996). Triago Brasilica: renewed interest in a seventeenth-century panacea. *Toxicon*, 34(5), 511-517.
- Reichert, A. M., et al. (2014). Biochemical alterations induced by phytotherapeutic tincture with antiophidic activity in male wistar rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8(28), 737-746.
- Ryes-Chilpa, R., et al. (1994). Preliminary results on the protective effect of edunol, a pterocarpan from *Brongniartia podalyrioides* (Leguminosae), against

- Bothrops atrox venom in mice. *J. Ethnopharmacol*, 42(3), 199-203.
- Rodrigues, A. G., De Simoni, C. (2010). Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 31(255), 7-12.
- Ximenes, R. M. (2009). Avaliação da atividade da Cabenegrina A-II frente às alterações bioquímicas e hematológicas e aos efeitos pressóricos induzidos pelo veneno de *Bothrops jararacuçu* em ratos. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.