

## **Avaliação do efeito antioxidante de cipó-mil-homens (*Aristolochia triangularis* Cham.) em eritrócitos de pacientes com doenças neurodegenerativas**

Evaluation of the antioxidant effect of cipó-mil-men (*Aristolochia triangularis* Cham.) in erythrocytes of patients with neurodegenerative diseases

Evaluación del efecto antioxidante de la vid-mil-hombres (*Aristolochia triangularis* Cham.) sobre eritrocitos de pacientes con enfermedades neurodegenerativas

Recebido: 10/04/2021 | Revisado: 19/04/2021 | Aceito: 04/05/2021 | Publicado: 17/05/2021

### **Caroline Alegransi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6632-6543>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: calegransi@gmail.com

### **Aime Cunha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6404-4705>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: aimecunha4@gmail.com

### **Tiago Antônio Heringer**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7024-7891>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: antoniother408@gmail.com

### **Thiana Maccangnan Vincensi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5545-9052>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: thianaaa@hotmail.com

### **Thayna Oliveira Dias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7907-6694>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: thayolli.to@gmail.com

### **Jéssica dos Santos Goulart**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6915-9288>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: jessica\_goulart2@hotmail.com

### **Gabrielly Machado Ribeiro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3886-814X>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: gaby-ribeiro-@hotmail.com

### **Érika Emanuele Costa Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2067-4400>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail:erika..roddrigness@hotmail.com

### **Roberta Cattaneo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9258-8005>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: rcattaneo@unicruz.edu.br

### **Resumo**

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito antioxidante do extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens (*Aristolochia triangularis* Cham.), em testes *in vitro* com eritrócitos de indivíduos portadores de doença neurodegenerativa, por meio da avaliação de biomarcadores oxidativos e antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Realizou-se a análise dos compostos fenólicos totais dos caules de cipó-mil-homens, provenientes da cidade de Panambi- RS. Na sequência foram realizados os testes *in vitro*, mediante o tratamento com diferentes concentrações do extrato da planta (0,025; 0,050; 0,100 e 0,200 mg/mL). Após, realizou-se a análise dos níveis de TBARS, CAT, GSH e GST. Na dosagem dos compostos fenólicos totais obteve-se o valor de 426mg/mL de extrato. Nas avaliações de estresse oxidativo, foi possível observar o aumento da lipoperoxidação nas concentrações de 0,050mg/mL e 0,200mg/mL, destacando-se a concentração de 0,050mg/mL, onde o dano em lipídeos foi mais expressivo. Não houve alteração significativa nos níveis de GSH em nenhuma das concentrações do extrato utilizadas no estudo. A atividade da enzima catalase mostrou-se diminuída na concentração de 0,100mg/mL. Houve a diminuição da GST nas concentrações de 0,100 e

0,200mg/mL, prejudicando assim a ação antioxidante endógena. Desta forma, o extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens não apresentou efeito antioxidante, mas sim um efeito tóxico nessas concentrações.

**Palavras-chave:** Biomarcadores oxidativos; Antioxidantes; Extrato; Cipó-mil-homens.

### Abstract

The objective of the study was to evaluate the antioxidant effect of the hydroethanolic extract of liana-thousand-men (*Aristolochia tringularis* Cham.), In in vitro tests with erythrocytes from individuals with neurodegenerative disease, through the evaluation of oxidative biomarkers and enzymatic antioxidants and not enzymatic. The analysis of the total phenolic compounds of the stems of vine-thousand-men, from the city of Panambi- RS, was carried out. Subsequently, in vitro tests were carried out, through treatment with different concentrations of the plant extract (0.025; 0.050; 0.100 and 0.200 mg / mL). Afterwards, TBARS, CAT, GSH and GST levels were analyzed. In the dosage of total phenolic compounds, the value of 426mg / mL was obtained. In the oxidative stress assessments, it was possible to observe an increase in lipoperoxidation at concentrations of 0.050mg / mL and 0.200mg / mL, with emphasis on the concentration of 0.050mg / mL, where the damage in lipids was more significant. There was no significant change in GSH levels at any of the extract concentrations used in the study. The activity of the catalase enzyme was shown to be reduced at a concentration of 0.100 mg / mL. There was a decrease in GST at concentrations of 0.100 and 0.200mg / mL, thus impairing the endogenous antioxidant action. Thus, the hydroethanolic extract of vine-thousand-men did not have an antioxidant effect, but a toxic effect at these concentrations.

**Keywords:** Oxidative biomarkers; Antioxidants; Extract; Liana-thousand-men.

### Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto antioxidante del extracto hidroetanólico de liana-mil-men (*Aristolochia tringularis* Cham.), En pruebas in vitro con eritrocitos de individuos con enfermedad neurodegenerativa, mediante la evaluación de biomarcadores oxidativos y antioxidantes enzimáticos y no enzimático. Se realizó el análisis de los compuestos fenólicos totales de los tallos de vid-mil-hombres, de la ciudad de Panambi-RS. Posteriormente, se realizaron pruebas in vitro, mediante tratamiento con diferentes concentraciones del extracto vegetal (0.025; 0.050; 0.100 y 0.200 mg / mL). Posteriormente, se analizaron los niveles de TBARS, CAT, GSH y GST. En la dosificación de compuestos fenólicos totales se obtuvo el valor de 426mg / mL de extracto. En las evaluaciones de estrés oxidativo se pudo observar un incremento en la lipoperoxidación a concentraciones de 0.050mg / mL y 0.200mg / mL, con énfasis en la concentración de 0.050mg / mL, donde el daño en lípidos fue más significativo. No hubo cambios significativos en los niveles de GSH en ninguna de las concentraciones de extracto utilizadas en el estudio. Se demostró que la actividad de la enzima catalasa se reduce a una concentración de 0,100 mg / ml. Hubo una disminución de GST a concentraciones de 0.100 y 0.200 mg / mL, lo que perjudicó la acción antioxidante endógena. Así, el extracto hidroetanólico de vid-mil-hombres no tuvo un efecto antioxidante, sino un efecto tóxico en estas concentraciones.

**Palabras clave:** Biomarcadores oxidativos; Antioxidantes; Extraer; Lipo-mil hombres.

## 1. Introdução

As doenças neurodegenerativas (DN) pertencem a um vasto grupo de doenças do sistema nervoso central (SNC) onde ocorre a perda de grupos neuronais específicos, responsáveis pela apresentação clínica característica de cada uma destas doenças, como consequência pode ocorrer alterações a nível cognitivo, motor, ou em ambos. Geralmente são doenças com um curso insidioso e progressivo, para as quais ainda não existe tratamento que possa evoluir para a cura (Oliveira, 2019).

O maior fator de risco para o desenvolvimento das DN é o envelhecimento, tornando os pacientes mais propensos a estas desordens e prejudicando a capacidade de reparo celular neuronal. Uma característica comum relacionada a essas doenças é também a agregação anormal de proteínas no citoplasma ou no núcleo das células do encéfalo (Bortolotto, 2015). Existe a teoria de que a neurodegeneração é produzida por diversos fatores, através de diferentes processos que resultam em uma via comum na cascata de sinalização, ocasionando a morte celular. Estas perdas celulares que ocorrem no sistema nervoso central (SNC) se manifestando como disfunções comportamentais (Molina, 2015).

As demências são responsáveis pelo maior volume de DNs associadas à idade. Caracterizadas por apresentarem déficits cognitivos, como nos casos da doença de Alzheimer (DA), demência vascular, demência frontotemporal, demência mista e demência com corpos de Lewy. Há também outras DNs que afetam principalmente o sistema locomotor, dentre elas podemos citar a esclerose lateral amiotrófica, doença de Huntington, doença de Parkinson (DP), esclerose múltipla (EM) e

ataxias espinocerebelares. Assim, além do envelhecimento, há vários outros fatores de risco que contribuem para a suscetibilidade dessa patologia, incluindo aspectos genéticos e ambientais (Slanzi, Iannoto, Rossi, Zenaro, & Constantin, 2020).

Há uma evidência crescente de que as mutações no DNA mitocondrial (mtDNA) relacionadas ao estresse oxidativo, nitrosativo e compostos neurotóxicos levam a uma disfunção mitocondrial e podem desempenhar um importante papel na patogênese de várias DNs. Estas mutações no genoma mitocondrial dão origem a uma superprodução de radicais livres, provocando danos em biomoléculas, como por exemplo, os lipídios, proteínas e DNA nuclear, causando neuroinflamação, dano tecidual e consequente apoptose celular no SNC, principais eventos relacionados com essa patologia (Bagheri et al., 2019).

A produção de EROs em vários estados de doença excede a capacidade máxima dos mecanismos de defesa antioxidantes, induzindo ao dano oxidativo. Esta produção de espécies reativas é exacerbada sob condições patológicas, estabelecendo um ciclo na sua produção, gerando inflamação e dano tecidual. Ainda que certos níveis de EROs seja útil e até mesmo necessário, o estresse oxidativo foi reconhecido como o principal fator contribuinte para a fisiopatologia de várias doenças (Yang, Youngblood, Wu, & Zhang, 2020).

As plantas desempenham um importante papel na redução do dano oxidativo no organismo. A capacidade dos antioxidantes derivados de plantas de eliminar os radicais livres reduz o dano às células e ajudar a manter um estado fisiológico mais ativo. Assim, as substâncias antioxidantes derivadas de plantas auxiliam na diminuição do estresse oxidativo e podem proteger efetivamente a maior parte do nosso organismo. Antioxidantes como polifenóis, vitaminas, alcalóides, polissacarídeos e peptídeos ativos ajudam a manter a estrutura e função das células e prolongam o seu estado saudável (Cui, Lin, & Liang, 2020).

A busca por novos compostos, mais seguros e sustentáveis depende até então, do estudo contínuo de plantas medicinais tradicionalmente utilizadas. Tendo em vista os seus benefícios, o uso destas plantas está relacionado às inúmeras propriedades promotoras da saúde. Tradicionalmente preparadas como infusão, decocção ou maceração, essas plantas podem ser misturadas em diferentes combinações de folhas, raízes, cascas, caules e flores, entre outros materiais vegetais (Finimundy et al., 2020).

*Aristolochia triangularis* Cham. é nativa do Brasil e pode ser encontrada na Mata Atlântica, assim como na região sul do país. Essa espécie é popularmente conhecida como “cipó mil-homens”, “angelicó” e “ypê-mi”. Há relatos de seu uso na cultura indígena, em rituais religiosos por seus poderes curativos. Geralmente a parte utilizada e comercializada são seus caules e esporadicamente a raiz, sendo utilizada para o tratamento de reumatismo, como antidiabético e como emenagogo. Além disso, é considerada eficaz contra diarreia, febres, malária, anti-helmíntico, sedativo e antiinflamatório (Stuart, 2017).

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi quantificar os compostos fenólicos totais presentes no extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens, assim como avaliar o potencial antioxidante desses compostos por meio do tratamento *in vitro* de eritrócitos de indivíduos portadores de doença neurodegenerativa.

## 2. Metodologia

Este estudo caracteriza-se como uma pesquisa exploratória, laboratorial e de caráter experimental quantitativo *in vitro*. Participaram do mesmo 9 voluntários selecionados pela Secretária Municipal de Saúde do Município de Cruz Alta, RS, Brasil, seguindo todas as conformidades dos aspectos éticos e de biossegurança. Foram realizadas as análises laboratoriais e após as análises estatísticas.

## 2.1 Aspectos éticos

Este trabalho integra o projeto matricial intitulado “Estudo do efeito antioxidante de diferentes princípios ativos”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta com número de parecer 1.587.863. 405 e foi executado de acordo com as normas da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Os pacientes portadores de doença crônica foram convidados a participar do estudo, após o aceite, receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), documento autoexplicativo e redigido em linguagem clara, porém que não excluiu a explicação também oral dos objetivos, metodologias e relevância da pesquisa, que foram feitos igualmente a todos os voluntários. Também assegura os aspectos bioéticos e a ciência do fato de que os voluntários poderiam desistir da participação a qualquer momento e que não haveria nenhum tipo de compensação financeira. O documento foi entregue em duas vias, que foram obrigatoriamente assinadas para a participação, uma cópia ficou com o pesquisador e a outra com o participante.

## 2.2 População e amostra

Os sujeitos do estudo foram selecionados por meio da secretaria de saúde, equipe das Estratégias de Saúde da Família, e do Núcleo de Apoio à Saúde da Família do município de Cruz Alta -RS. A pesquisa contou com 9 pacientes com doenças neurodegenerativas. A partir de uma anamnese, foi possível caracterizar os sujeitos a serem estudados (história clínica, uso de terapia física e/ou medicamentosa, realização prévia de protocolos de reabilitação). Foram incluídos neste estudo pacientes com idade de 18 a 60 anos.

### 2.2.1 Coleta e tratamento das amostras

As amostras foram coletadas com vacutainer contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos e logo após os plasmas foram removidos. Foi realizada a lavagem dos eritrócitos três vezes com solução salina isotônica (NaCl 0,9%) e centrifugados novamente. Após a lavagem final, os eritrócitos foram ressuspensos em solução salina a 0,9%, em seguida, diluídos até atingirem um hematócrito de 10%, conforme técnica descrita por Catalgol, Ozden, e Alpertunga (2007), com adaptações.

Após a diluição dos eritrócitos foi realizado o tratamento *in vitro* com o extrato da planta. Os eritrócitos foram subdivididos em quatro grupos experimentais: Grupo A: controle, tratado com solução salina isotônica 0,9%; Grupo B: tratado com o extrato de *A. triangularis* Cham. a 0,025 mg/mL; Grupo C: tratado com o extrato de *A. triangularis* Cham. a 0,05 mg/mL; Grupo D: tratado com o extrato de *A. triangularis* Cham. a 0,100 mg/mL; Grupo E: tratado com o extrato de *A. triangularis* Cham. a 0,200 mg/mL. Logo após, todos os grupos foram incubados em banho maria a 37°C por 1h.

Após os tratamentos os eritrócitos de todos os grupos foram hemolisados com agitação em vórtex durante 10 segundos e centrifugados durante 15 minutos a 3.000rpm e o sobrenadante armazenado em freezer a -20°C até a realização das determinações analíticas.

## 2.3 Preparo do extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens (*Aristolochia triangularis* Cham.)

Os caules de cipó-mil-homens (*A. triangularis* Cham. - Aristolochiaceae) foram colhidos na zona urbana na cidade de Panambi, RS. O preparo do extrato hidroetanólico consistiu no método descrito por Simões, Mentz, Schenkel, Irgang, e Stehmann, (2010), pesando 10 g de planta seca e triturada e adicionada à 60 ml de álcool 70% como solventes extratores, sendo a proporção de 1:6. O caule da planta foi seco em estufa por 5 dias sobre a temperatura de 40°C, após foi triturado em moinho de facas. O extrato foi submetido a agitações manuais diárias durante 14 dias e após este período foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório, obtendo assim o extrato hidroetanólico líquido concentrado. As concentrações escolhidas foram baseadas em estudos onde o efeito antioxidante do extrato hidroetanólico de outras plantas foi observado.

### **2.3.1 Determinação de compostos fenólicos totais do extrato de cipó -mil-homens (*Aristolochia triangularis* Cham.)**

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Chandra e Mejia (2004), com modificações para extrato na forma líquida. O extrato foi diluído em metanol a uma concentração de 1 mg/mL. Nesta solução foi acrescentado carbonato de sódio a 20% e após 5 minutos, adicionado o reagente Folin-Ciocalteu 2N. Incubou-se esta mistura por 10 minutos e realizadas as leituras em espectrofotômetro visível a 730nm. As determinações foram realizadas em triplicata e para o cálculo da quantificação de polifenóis foi utilizada a curva padrão de ácido gálico. Os resultados foram expressos por mg ácido gálico/mL de extrato líquido.

### **2.4 Determinação de biomarcador oxidativo**

#### **2.4.1 Determinação dos níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**

Os níveis de TBARS foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Jentzsch, Bachmann, Furst, e Biesalski (1996). A amostra (200µL) foi adicionada a uma mistura reacional contendo 350µL de TBA (0,1mol/L), 550µL de água destilada e 1000µL de ácido ortofosfórico, seguido de aquecimento em banho fervente a 95°C durante 45 minutos. Após resfriamento das amostras, padrões e branco (mistura reacional sem amostra), as leituras foram realizadas em espectrofotômetro visível no comprimento de onda de 532nm, por meio da formação de coloração rosada. Realizou-se os testes em duplicata e os resultados expressos em nmol MDA/mL.

### **2.5 Determinação de biomarcadores antioxidantes**

#### **2.5.1 Determinação dos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)**

A determinação dos níveis da Glutathiona Reduzida (GSH) foi realizada a partir do método descrito por Ellman (1959), em que é utilizado 100µL do sobrenadante, 850µL de Tampão Fosfato de Potássio (TFK) a 1M em pH 7,4 e 50µL de ácido 5',5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB). O procedimento foi realizado em banho de gelo e o DTNB foi adicionado somente no momento da leitura, a qual foi realizada em espectrofotômetro visível no comprimento de onda de 412nm. Realizou-se os testes em duplicata e os resultados expressos em µmol GSH/mL.

#### **2.5.2 Determinação da atividade da Glutathiona-S-Transferase (GST)**

A determinação da atividade da enzima Glutathiona-S-Transferase (GST) foi realizada conforme descrito por Habig, Pabst e Jakoby (1974), usando 1-cloro-2,4 dinitrobenzeno (CDNB) como substrato. A formação de S-2,4-dinitrofenil glutathiona (GS-DNB) foi monitorada pelo aumento na absorbância a 340nm. Realizou-se os testes em duplicata e os resultados expressos em µmol GS-DNB/min/mg PTs.

#### **2.5.3 Determinação da atividade da enzima Catalase (CAT)**

A determinação da atividade da enzima Catalase (CAT) foi realizada conforme descrito por Nelson e Kiesow (1972). A mistura do ensaio consistiu em 2000µL de TFK (50Mm, pH 7,0), 50µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,3M) e 10µL de sobrenadante. A mudança de absorção do peróxido de hidrogênio em 60 segundos foi determinada em 240nm. Realizou-se os testes em duplicata e os resultados expressos em nmol/mg ptn/min.

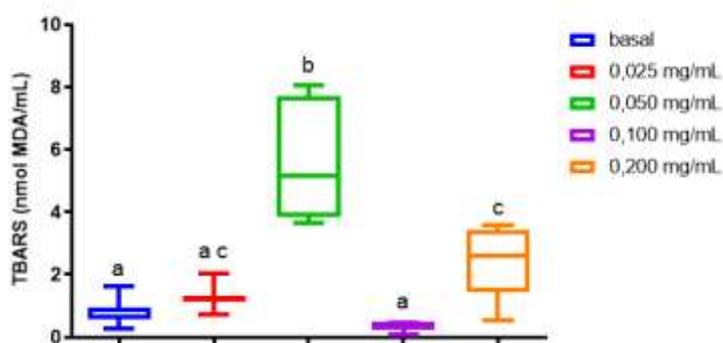
### **2.6 Análise estatística**

A análise dos biomarcadores foi realizada em duplicata e os resultados foram representados por média ± SEM (erro padrão). Os dados obtidos de todos os grupos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguido do teste de Tukey, considerando estatisticamente significativo quando  $p < 0,05$ . Utilizou-se o programa estatístico Graph Pad Prism® 5.0.

### 3. Resultados

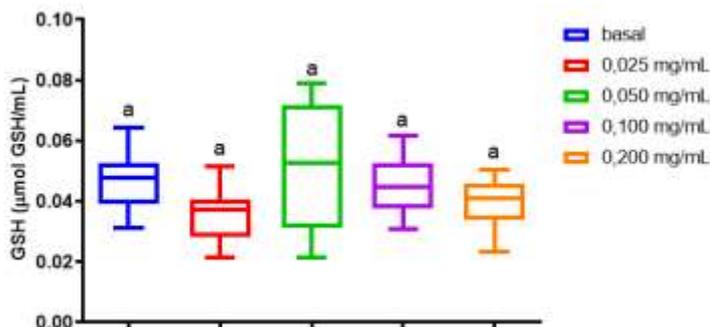
No extrato hidroetanólico cipó-mil-homens (*A. triangularis* Cham.) obteve-se 426mg/mL de compostos fenólicos totais. Nas determinações analíticas de marcadores de estresse oxidativo, foi observado o aumento dos níveis de TBARS após a exposição dos eritrócitos nas concentrações de 0,050mg/mL e 0,200mg/mL, destacando-se a concentração de 0,050mg/mL, onde o dano foi mais expressivo (Figura 1). Em relação aos marcadores antioxidantes, a Glutaciona (GSH) não apresentou alterações significativas nos grupos estudados conforme observado na Figura 2. Já na Glutaciona-S-transferase (GST) houve a diminuição da atividade nas concentrações de 0,100 e 0,200 mg/mL (Figura 3). A enzima Catalase (CAT) teve a sua atividade diminuída na concentração de 0,100 mg/ml e sem diferença significativa nas demais concentrações do estudo (Figura 4).

**Figura 1.** Níveis de TBARS (nmol/g Hb).



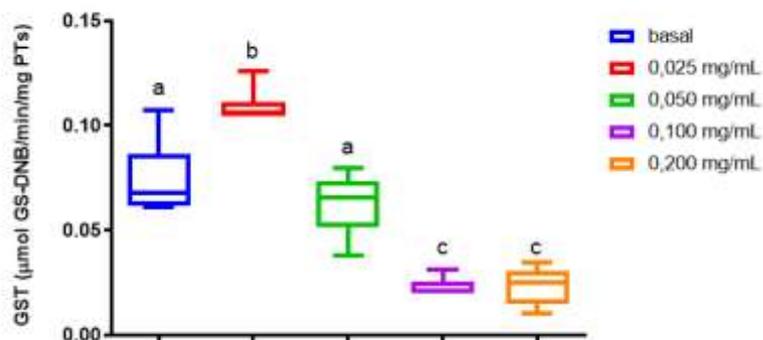
Fonte: Autores (2020). Letras distintas significam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Figura 2.** Níveis de GSH ( $\mu\text{mol GSH/mL}$ ).



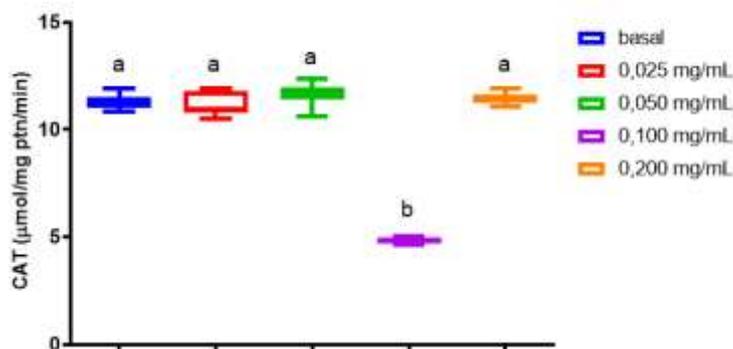
Fonte: Autores (2020). Letras distintas significam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Figura 3.** Níveis de GST ( $\mu\text{mol GS-DNB}/\text{min}/\text{mg PTs}$ ).



Fonte: Autores (2020). Letras distintas significam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Figura 4.** Níveis da enzima Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{MG PTN}/\text{min}$ ).



Fonte: Autores (2020). Letras distintas significam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Discussão

Os Polifenóis compreendem um grande e heterogêneo grupo de metabólitos secundários das plantas, e estão amplamente distribuídos por toda o reino vegetal, desempenhando papéis ecológicos e fisiológicos, incluindo pigmentação, proteção de plantas da radiação ultravioleta e em seu sistema de defesa. Com base na sua estrutura química, os compostos fenólicos encontrados na natureza podem ser agrupados em cinco classes principais: ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, lignanas fenólicas e estilbenos fenólicos (Bodoira & Maestri, 2020).

A ação antioxidante dos compostos fenólicos deve-se ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas, podendo doar um átomo de hidrogênio para as estruturas de radicais livres, sequestrar metais pró-oxidantes, atuar na ativação das enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidases (GTX), além de outras atividades metabólicas (Mancini, 2020).

Neste estudo foi possível observar que o caule do cipó-mil-homens (*A. triangularis* Cham.) apresenta um alto teor de compostos fenólicos, extraídos de maneira satisfatória utilizando o álcool 70% como solvente extrator. Em um estudo realizado por Silva et al. (2019), foi avaliado o potencial antioxidante da infusão das folhas da planta e identificado uma alta concentração de compostos fenólicos. Esses valores estão em conformidade com o esperado para a família *Aristolochia* sp, já que espécies deste gênero são fontes ricas de flavonoides, particularmente diglicosídeos e outros constituintes químicos fenólicos, principalmente feniletil e derivados de fenantreno, fenilpropanoides, lignoides, alcaloides e alcaloides.

A lipoperoxidação é um processo no qual espécies de radicais livres removem elétrons dos lipídios produzindo intermediários reativos que podem sofrer outras reações. Esse processo danifica os fosfolipídios diretamente e também pode atuar como sinal de morte celular que induz a morte celular programada. Os fosfolipídios oxidados também podem desempenhar um papel importante em muitas doenças inflamatórias e mediar a alteração pró-inflamatória com frequência (Su, 2019). Tendo em vista que todas as células são formadas por lipídeos, esse é um importante biomarcador de estresse oxidativo. A avaliação foi realizada por meio da quantificação do seu produto, o malondialdeído (MDA), utilizando a técnica de TBARS nos eritrócitos de indivíduos com doença neurodegenerativa tratados com o extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens em diferentes concentrações. Este biomarcador demonstrou que o extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens foi capaz de aumentar o dano lipídico.

A glutathiona (GSH) e as enzimas relacionadas constituem um sistema de defesa antioxidante importantes na proteção celular contra os radicais livres e o estresse oxidativo. A GSH reduzida é a sua forma ativa, e quando oxidada se transforma em glutathionadissulfeto (GSSG). A GSH não apresentou alterações significativas nos grupos estudados, demonstrando que mesmo contendo um alto teor de compostos fenólicos, o extrato da planta não foi capaz de converter e ativar a glutathiona oxidada (GSS) à GSH reduzida.

A Glutathione-S-transferase (GST) pertence a uma família multifuncional de proteínas envolvidas no processo de detoxificação celular. A enzima catalisa a conjugação da glutathiona reduzida (GSH) com compostos endógenos ou exógenos, tornando-os menos tóxicos, mais solúveis em água e mais fáceis de serem degradados e eliminados. Já a enzima Catalase é um componente de defesa antioxidante primário, atuando em funções importantes, como a decomposição de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a água e oxigênio ( $H_2O + O_2$ ) e a oxidação de compostos hidrogenados. Ela pode atuar diretamente contra as espécies reativas de oxigênio e espécies reativas de nitrogênio, assim como reparar os danos causados ao organismo por essas espécies (Matos, Fabregat, Martins, & Barcarolli, 2018). Houve a diminuição da atividade da GST nas concentrações de 0,100 e 0,200 mg/mL e da Catalase na concentração de 0,100 mg/mL. Essa diminuição da atividade enzimática observada pode ter ocorrido devido ao seu elevado consumo, de forma compensatória e como resposta ao elevado dano lipídico já citado.

## 5. Considerações Finais

O cipó-mil-homens (*A. Triangularis* Cham.) é uma espécie de destaque no setor etnofarmacológico, muito utilizada na forma de infusão para as mais diversas enfermidades. No entanto, poucas pesquisas foram realizadas para investigar o seu potencial terapêutico. O estudo conclui que o extrato hidroetanólico de cipó-mil-homens contém uma quantidade relevante de compostos fenólicos, contudo, não apresentou efeito antioxidante, mas sim um efeito tóxico nas concentrações estudadas, aumentando o dano oxidativo e diminuindo a ação antioxidante.

Desta forma, sugere-se estudos mais aprofundados sobre a planta em questão, como por exemplo, a realização de diferentes técnicas para a avaliação da composição fitoquímica, assim como estudos do extrato em diferentes solventes, polares e apolares, para que assim se obtenha substâncias variadas de acordo com a sua polaridade. Há também a possibilidade de realizar estudos em diferentes partes da planta, como as folhas por exemplo. Estes estudos futuros podem avaliar de forma detalhada as substâncias presentes no extrato, contribuindo no conhecimento do seu potencial terapêutico, tendo em vista a escassa literatura e o seu uso tradicional.

## Referências

Bagheri, H., Ghasemi, F., Barreto, G. E., Rafiee, R., Sathyapalan, T., & Sahebkar, A. (2020). Effects of curcumin on mitochondria in neurodegenerative diseases. *BioFactors*, 46(1), 5–20.

- Bodoira, R., & Maestri, D. (2020). Phenolic Compounds from Nuts: Extraction, Chemical Profiles, and Bioactivity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(4), 927–942.
- Bortolotto, J. W. (2015). *Avaliação do sistema purinérgico em modelos de déficit cognitivo e doenças neurodegenerativas em peixe-zebra(Danio rerio)*. 89 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- Chandra, S., & De Mejia, E. G. (2004). Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3583–3589.
- Cui, X., Lin, Q., & Liang, Y. (2020). Plant-Derived Antioxidants Protect the Nervous System from Aging by Inhibiting Oxidative Stress. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12(7), 1–12.
- Silva, J. D. A., Nogueira, C. R., Vieira, M. D. C., Heredia-Vieira, S. C., Barufatti, A., Crispim, B. D. A., Francisco, L. F. V., Viana, L. F., & Cardoso, C. A. L. (2019). Toxicological properties of an aqueous extract of *aristolochia triangularis* leaves, using the brine shrimp lethality and allium cepa bioassays. *Ciencia Rural*, 49(8), e20190091.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue Sulfhydryl Groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 7, 70–77.
- Mancini, J., Filho (2020). Compostos fenólicos presentes nos alimentos e a proteção celular. *Jornal da USP*. <https://jornal.usp.br/artigos/compostos-fenolicos-presentes-nos-alimentos-e-a-protecao-celular>.
- Finimundy, T. C., Pereira, C., In, M., Caleja, C., Carvalho, A. M., Calhelha, R. C., Sokovic, M., Stojkovi, D., Rosa, E., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Phenolic Compounds and Bioactive Properties. *Molecules*, 25, 1–14.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
- Jentzsch, A. M., Bachmann, H., Furst, P., & Biesalski, H. K. (1996). Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20(2), 251–256.
- Karademir Catalgol, B., Ozden, S., & Alpertunga, B. (2007). Effects of trichlorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. *Toxicology in Vitro*, 21(8), 1538–1544.
- Matos, A. C. D. B., Fabregat, T. E. H. P., Martins, L. H., & Barcarolli, I. F. (2018). Avaliação do estresse oxidativo em peixes submetidos a concentrações subletais de triclorfon. *Anais do XV Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia*, 1, 938–940).
- Molina, R. D. (2015). *Determinação da atuação dos RTKs na neuroindução e neurogênese de células-tronco adultas de tecido de cordão umbilical humano* (Dissertação de Mestrado). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
- Oliveira, C.A.R. (2019). *Influência de contaminantes ambientais na patogênese de doenças neurodegenerativas* (Dissertação de Mestrado). Universidade da Beira Interior.
- Simões, C. M. O., Mentz, L. E., Schenkel, E. P., Irgang, B. E. & Stehmann, J. R. (2010). Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul. UFRGS Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Slanzi, A., Iannoto, G., Rossi, B., Zenaro, E., & Constantin, G. (2020). In vitro Models of Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 328.
- Su, L. J., Zhang, J. H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., Jiang, F., & Peng, Z. Y. (2019). Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 5080843.
- Yang, L., Youngblood, H., Wu, C., & Zhang, Q. (2020). Mitochondria as a target for neuroprotection: Role of methylene blue and photobiomodulation. *Translational Neurodegeneration*, 9(1), 1–22.
- Stuart, A. K. C.(2017). *Fungos endofíticos de Aristolochiatriangularis (cipó-mil-homens) com potencial no controle biológico das doenças do morangueiro* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Paraná.