



Extrato de Guabijú (*Myrcianthes pungens*): atividade antioxidante e estudos *in vivo*

GUABIJU (MYRCIANTHES PUNGENS) EXTRACT: ANTIOXIDANT ACTIVITY AND IN VIVO STUDIES

Marlon Roberto Varela Texeira*, Cleverson Busso†

RESUMO

O guabiju (*Myrcianthes pungens*) é uma planta nativa do Brasil muito pouco estudada. O pouco material existente revela que este fruto possui compostos com potencial antioxidante, como polifenóis, flavonóides, terpenos, entre outros. A maior parte dos testes feitos até o presente momento para atestar a capacidade antioxidante de extratos da planta são ensaios *in vitro*, que não reproduzem de maneira exata o ambiente intracelular. Os ensaios *in vivo* foram realizados a nível macroscópico, em tecidos de animais, e dessa forma não revelam maiores detalhes sobre o efeito contra radicais livres dos compostos do guabiju. Portanto, o objetivo do trabalho foi buscar um método de testagem *in vivo* mais adequado. Verificou-se que as linhagens mutantes GTT1 e GTT2, deficientes da enzima glutathione-S-transferase, que age contra radicais livres nas células eucarióticas, da levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentam grande potencial para testar o efeito antioxidante das substâncias presentes no extrato do guabiju em ambiente intracelular, uma vez que fornecem esse tipo de ambiente para observar a atuação das substâncias do extrato do fruto no combate a radicais-livres.

Palavras-chave: Guabiju. Antioxidantes. *S. cerevisiae*.

ABSTRACT

The guabiju (*Myrcianthes pungens*) is a plant native to Brasil that has been poorly studied. The little existing material reveals that this fruit has compounds with antioxidant potential, such as polyphenols, flavonoids, terpenes, among others. Most of the tests carried out so far are *in vitro* assays, which do not accurately reproduce the intracellular environment. The *in vivo* tests were carried out at the macroscopical level, in animal tissues, and thus do not reveal further details about the counter-free-radicals effect of the guabiju compounds. Thus, the objective of the work was to seek a more adequate *in vivo* testing method. The GTT1 and GTT2 mutant strains, deficient in the glutathione-S-transferase enzyme, which acts against free-radicals in eukaryotic cells, of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* have great potential to test the antioxidant effect of substances present in the guabiju extract in intracellular environment, since they provide this kind of environment to observe the action of substances in the fruit extract in combatting free-radicals.

Keywords: Guabiju. Antioxidants. *S. cerevisiae*.

* Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; marlontexeira@gmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Toledo; cleversonbusso@utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

O Guabiju (*Myrcianthes pungens*) é uma planta que pertence à família Myrtaceae, que possui um fruto pequeno, esférico, de casca roxa e polpa amarelada quando maduro, tendo apenas uma semente o no máximo duas (DETONI, 2021), e cujo sabor é descrito por Dalla Nora (2014a, p. 484) como “doce agradável”. É um fruto nativo do Brasil, podendo ser encontrado nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Trata-se, entretanto de uma planta pouco estudada (DETONI, 2021). Dalla Nora (2014a), por exemplo, afirma que até seu estudo não havia nada publicado sobre os efeitos dessa planta *in vivo*. Detoni (2021), por outro lado, destaca que vários estudos evidenciaram a presença de compostos bioativos no guabiju.

Dessa forma, embora existam relatos de atividade antioxidante *in vitro* de compostos obtidos desse fruto/planta, há escassos ou nenhum trabalho sugerindo avaliações *in vivo*, e mesmo estes avaliam os efeitos macroscópicos nos tecidos, como é o caso de Dalla Nora (2014a), Nesello (2017) e Almeida (2017). Isso é de suma importância, pois os resultados *in vitro* não necessariamente serão replicáveis em condições intracelulares, e os ensaios *in vivo* não revelam em detalhes isso.

Considerado um microrganismo modelo de estudos *in vivo*, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* caracteriza-se por possuir vários genes homólogos/ortólogos em humanos. O sequenciamento genético completo de seu genoma, a fácil manipulação e o tempo de geração curto, são as principais características que tornaram esta levedura uma excelente ferramenta no estudo de várias doenças humanas associadas com o estresse oxidativo (FELDMANN, 2010).

O objetivo desse trabalho é revisar evidências disponíveis na literatura científica a respeito da composição química do guabiju, com foco em substâncias antioxidantes, bem como do método de teste *in vivo* baseado em linhagens mutantes de *Sacharomyces cerevisiae* submetidas a estresse oxidativo, e assim verificar a viabilidade de se utilizar esse método para avaliar o potencial antioxidante do guabiju.

2 MÉTODO (OU PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA)

A base de dados escolhida para pesquisa foi o Google Scholar. Os estudos sobre a atividade antioxidante do guabiju se dividiam entre os que fizeram uma análise físico-química das partes da planta e testaram *in vitro* sua capacidade antioxidante e os estudos que realizaram ensaios *in vivo*. Verificou-se o uso de basicamente cinco métodos *in vitro*: Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico) (ABTS), método de redução do ferro (FRAP) e beta-caroteno/ácido linoléico. Quanto aos ensaios *in vivo*, foram encontrados três. Dalla Nora (2014a), Nesello (2017) e Almeida (2017).

De forma a reproduzir ao máximo as condições intracelulares e testar nessa situação a capacidade antioxidante do fruto, foi verificado utilizando a ferramenta Google Scholar se existem estudos feitos com linhagens mutantes de *S. cerevisiae*, nulas para os genes GTT1 (deficiente na produção de glutathione-S-transferase) e GTT2, testando o efeito protetor de substâncias contra radicais livres.

Estes dois genes codificam a enzima glutathione-S-transferase (GST), que faz parte de um dos mecanismos de defesa de células eucarióticas contra radicais-livres (COLLINSON e GRANT, 2003; CHOI, 1998; MARIANI, 2013). Dessa forma, o uso de células de *S. cerevisiae* mutantes com ausência de GTT1 e GTT2 podem ser utilizadas para estudar o potencial antioxidante de substâncias em células eucarióticas, uma vez que já foi demonstrado sua sensibilidade a agentes oxidativos (PETROVA e KUJUMDZIEVA, 2010).

Foram, assim, encontrados três estudos feitos com essas linhagens mutantes da levedura *S. cerevisiae* para testar a capacidade antioxidante de substâncias: Sá (2013), Subramaniam (2019) e Gao (2019).



Assim, verifica-se que essas linhagens mutantes são apropriadas para testar o efeito antioxidante do guabiju em células eucarióticas submetidas a estresse oxidativo.

3 RESULTADOS

Dentre os compostos encontrados no guabiju, são enfatizados as antocianinas e compostos fenólicos, que possuem atividade antioxidante (ASSUMPCÃO, 2017). Seraglio (2018) identificou no fruto do guabiju 26 compostos fenólicos, sendo que destes, 22 em quantidades consideráveis (11 flavonóides), número maior de compostos em relação ao que foi observado em frutos aparentados, como a jabuticaba e o jambolão, embora Assumpção (2017) mencione estudos que apresentam uma maior quantidade de fenóis na jabuticaba e na ameixa.

Dalla Nora (2014c) identificou quantidades maiores de carotenóides e antocianinas no guabiju do que na goiaba vermelha, outra mirtácea nativa do sul do Brasil, o que foi relacionado à maior capacidade antioxidante observada no guabiju em relação à goiaba, em laboratório. Dalla Nora (2014b) e Bombana (2021) também encontraram uma quantidade maior de compostos fenólicos e antocianinas no guabiju em relação a outras frutas, com a exceção da amora. Franco (2019) ainda menciona taninos, quercetina, catequinas e ácido gálico.

Essa grande variedade e quantidade de compostos bioativos foi observada mesmo em genótipos diferentes de guabiju (DALLA NORA, 2014b).

Verifica-se também uma variação na quantidade de compostos antioxidantes e sua atividade em relação a diversos fatores, como o processamento do fruto. Detoni (2021) percebeu uma maior concentração de antocianinas e fenóis em frutos colhidos em janeiro em relação a dezembro. Seraglio (2018) constatou ainda que estágios diferentes de amadurecimento do fruto estão relacionados a quantidades diferentes de compostos bioativos, como fenóis e antocianinas, e atividade antioxidante. Franco (2019) verificou que o extrato de guabiju supera a farinha do fruto em termos de compostos bioativos e atividade antioxidante.

Essa variação ocorre também com respeito às partes do fruto. Assumpção (2017) relacionou a maior quantidade de fenóis na casca do guabiju com uma maior atividade antioxidante, o que é corroborado por Bombana (2021; embora este último tenha constatado grande atividade antioxidante pela semente de guabiju, o que vai de encontro à observação de Assumpção (2017) de que a semente possui pouca quantidade de fenóis). Jesus (2021) detectou grande atividade contra radicais livres a partir de óleos essenciais extraídos das folhas de guabiju, através do método BCLA, o qual atestou no estudo de Cardoso (2020) a atividade antioxidante de triterpenos presentes nas folhas. Apel, Sobra e Henriques (2006) conseguiram identificar 36 compostos diferentes do óleo volátil das folhas.

Dessa forma, Dalla Nora (2014b) explica que possivelmente é a interação entre os compostos bioativos encontrados no guabiju o que potencializa seus efeitos benéficos. Segundo Franco (2019, p. 19), isso justifica “o uso de tais plantas no combate ou prevenção das consequências causadas pelo estresse oxidativo”.

Observou-se que os métodos *in vitro*, embora detectassem potencial contra radicais livres nos compostos bioativos encontrados no guabiju, diferiam muito em termos de resultados. Seraglio (2018) percebeu que as antocianinas e fenóis presentes nas amostras de guabiju tiveram uma correlação diferente entre o DPPH e o FRAP, negativa no caso deste último. Cardoso (2018) observou que diferenças na polaridade dos solventes usados nos ensaios ressaltavam o potencial de antioxidantes diferentes durante as testagens com DPPH e β -caroteno/ácido linoléico. Jesus (2021) atestou fenômeno similar ao testar óleos essenciais da folha do guabiju utilizando os mesmos métodos e o FRAP. Dalla Nora (2014c) observou resultados diferentes para atividade antioxidante entre DPPH e ABTS, e Marin (2008) não observou atividade anti-oxidante para o óleo essencial



de guabiju em DPPH. Essa grande variação de resultados dos métodos *in vitro* demonstra a necessidade de se utilizar também métodos *in vivo* de análise.

Entre os testes *in vivo*, Dalla Nora (2014a) verificou que o guabiju protegeu animais do estresse oxidativo causado pela Cisplatina, diminuindo a quantidade de LDL e LDL oxidado no plasma e a gordura no fígado. Nesello (2017) e Almeida (2017) verificaram que o efeito antioxidante do guabiju protege o estômago de lesões e úlceras, por meio dos compostos fenólicos.

Uma vez que os testes *in vivo* feitos com o guabiju foram realizados em nível macroscópico, para analisar os efeitos antioxidantes intracelulares buscou-se trabalhos que indicassem a viabilidade do uso de células mutantes da levedura *S. cerevisiae* para os genes GTT1 e GTT2 para testar o potencial antioxidante da planta. Sá (2013) experimentou o potencial contra radicais-livres do própolis, com resultado positivo para as linhagens acima mencionadas. De igual maneira, Subramaniyam (2019) e Gao (2019) testaram respectivamente o polifenol magnolol e o flavonóide hiperosídeo (ambos pertencentes a classes de compostos também presentes no guabiju), com resultados positivos para atividade antioxidante nas linhagens GTT1 e GTT2.

Assim, verifica-se que essas linhagens mutantes são apropriadas para testar o efeito antioxidante do guabiju em células eucarióticas submetidas a estresse oxidativo.

4 CONCLUSÃO

Foram encontrados 13 trabalhos referentes à atividade antioxidante do guabiju, feitos *in vitro*, e 3 *in vivo*. Todos comprovaram a presença de compostos com potencial antioxidante na planta. Foram encontrados também 3 trabalhos que demonstram que as linhagens mutantes ausentes de GTT1 e GTT2 da levedura *Saccharomyces cerevisiae* são adequadas para testar *in vivo* o efeito intracelular do efeito contra radicais livres das substâncias presentes no guabiju. Embora não há trabalhos com *S. cerevisiae* avaliando as propriedades antioxidantes do Guabiju, este seria o objetivo deste trabalho, porém, o mesmo ficou comprometido pela pandemia COVID-19.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Amanda L. Phytochemical profile and gastroprotective potential of *Myrcianthes pungens* fruits and leaves. **Nutrire**. 42:24, 2017. Disponível em: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/phytochemical-profile-gastroprotective-potential/docview/2427185375/se-2?accountid=201395>. Acesso em: 07 set. 2021.
- APEL, Miriam A.; SOBRAL, Marques; HENRIQUES, Amélia T. Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 16 (03), 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000300019>. Acesso em 07 set. 2021.
- ASSUMPÇÃO, Marcieli M. de et al. Composição Nutricional e Atividade Antioxidante de Epicarpo, Mesocarpo e Sementes de Guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) Provenientes do Bioma Pampa. **Revista Congrega: Mostra de Trabalhos de Conclusão de Curso**. 2017. Disponível em: <http://revista.urcamp.tc.br/index.php/rcmtcc/article/view/1599>. Acesso em: 08 set. 2021.
- BOMBANA, Vanessa B. Influence of drying on bioactive compounds and antioxidant activity of fruits of guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Research, Society and Development**. v. 10, n. 8, e5510817024, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17024>. Acesso em: 06 set. 2021.



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

- CARDOSO, Bruna K et al. Antioxidant activity of α and β -amyrin isolated from *Myrcianthes pungens* leaves. **Natural Product Research**. Vol. 34, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1525715>. Acesso em: 06 set. 2021.
- CHOI, Jae H.; LOU, Willard. A Novel Membrane-bound Glutathione S-Transferase Functions in the Stationary Phase of the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 273, n. 45, 06 de novembro, 1998. Disponível em: <https://www.jbc.org/action/showPdf?pii=S0021-9258%2819%2959398-X>. Acesso em: 13 set. 2021.
- COLLINSON, Emma J.; GRANT, Chris M. Role of yeast glutaredoxins as glutathione-s-transferases. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 278, n. 25, 20 de junho 2003. Disponível em: <https://www.jbc.org/action/showPdf?pii=S0021-9258%2820%2986291-7>. Acesso em: 13 set. 2021.
- DALLA NORA, Cleice et al. Protective effect of guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) and red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) against cisplatin-induced hypercholesterolemia in rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 50, n. 3, jul/set 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502014000300006>. Acesso em: 06 set. 2021.
- DALLA NORA, Cleice et al. The characterisation and profile of the bioactive compounds in red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). **International Journal of Food Science and Technology**. 49, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.12493>. Acesso em: 06 set. 2021.
- DALLA NORA, Cleice et al. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). **Journal of Food Composition and Analysis**. 34, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2014.01.006>. Acesso em: 06 set. 2021.
- DETONI, Elisandra et al. Guabijú (*Myrcianthes pungens*): Characterization of in natura and lyophilized Brazilian berry. **Research, Society and Development**. v. 10, n. 3, e37810313337, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13337>.
- FELDMANN, H. **Yeast: Molecular and Cell Biology**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010. 334p.
- FRANCO, Flaviane Borges et al. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Arctium lappa* Linne e *Myrcianthes pungens*. **Revista Científica da Unifenas**. n.1, v. 1, fev-abr/2019. Disponível em: <https://revistas.unifenas.br/index.php/revistaunifenas/article/view/229>. Acesso em: 07 set. 2021.
- GAO, Yuting et al. Antioxidant Activity Evaluation of Dietary Flavonoid Hyperoside Using *Saccharomyces Cerevisiae* as a Model. **Molecules**. 2019, 24(4). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules24040788>. Acesso em: 13 set. 2021.
- JESUS, Renan A. de et al. Antioxidant and antibacterial activity of *Myrcianthes pungens* leaf essential oil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**. 20 (02), 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.2.12>. Acesso em 06 set. 2021.
- MARIN, Rafaela et al. Volatile Components and Antioxidant Activity from some Myrtaceous Fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**. 27 (02), 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/279564640_Volatile_Components_and_Antioxidant_Activity_from_some_Myrtaceous_Fruits_cultivated_in_Southern_Brazil. Acesso em: 07 set. 2021.
- MARIANI, Diana et al. Involvement of glutathione transferases, Gtt1 and Gtt2, with oxidative stress response generated by H₂O₂ during growth of *Saccharomyces cerevisiae*. **Redox Report**. 13:6, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1179/135100008X309028>. Acesso em: 13 set. 2021.



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um
mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



CAMPUS GUARAPUAVA

- NESELLO, Luciana A. N. Screening of wild fruit trees with gastroprotective activity in different experimental models. **Arq. Gastroenterol.** 54, (02), Apr-Jun 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-2803.201700000-13>. Acesso em: 06 set. 2021.
- PETROVA, V. Y.; KUJUMDZIEVA, A. V. Robustness of *Saccharomyces cerevisiae* genome to antioxidative stress. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, 24:sup1, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13102818.2010.10817886>. Acesso em: 13 set. 2021.
- SÁ, Rafael A. de et al. Brazilian propolis protects *Saccharomyces cerevisiae* cells against oxidative stress. **Brazilian Journal of Microbiology.** 44, 3, (2013). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/mBymQ65HQvP7nLy8gMjwNFm/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 13 set. 2021.
- SERAGLIO, Siluana K. T. et al. Nutritional and bioactive potential of *Myrtaceae* fruits during ripening. **Food Chemistry.** 239, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.118>. Acesso em: 06 set. 2021.
- SUBRAMANYAN, Subasri et al. Magnolol protects *Saccharomyces cerevisiae* antioxidant-deficient mutants from oxidative stress and extends yeast chronological life span. **FEMS Microbiology Letters.** v. 366, n. 8, Abril 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz065>. Acesso em: 13 set. 2021.
-