

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Avaliação das Propriedades Farmacológicas dos
Extratos Brutos de duas Variedades da *Capsicum chinense*
Jacq.**

Autor(a): Ana Paula Ferreira Leal
Orientadora: Dra Susana Elisa Moreno
Co-orientadora: Dra Ana Lúcia Alves de Arruda

Campo Grande
Mato Grosso do Sul
Abril – 2012

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Avaliação das Propriedades Farmacológicas dos
Extratos Brutos de duas Variedades da *Capsicum chinense*
Jacq.**

Autor(a): Ana Paula Ferreira Leal
Orientadora: Dra Susana Elisa Moreno
Co-orientadora: Ana Lúcia Alves de Arruda

“Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA, no Programa de Pós- Graduação em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco - Área de concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde”

Campo Grande
Mato Grosso do Sul
Abril – 2012

**MISSÃO SALESIANA DE MATO GROSSO
UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Avaliação das Propriedades Farmacológicas dos
Extratos Brutos de duas Variedades da *Capsicum chinense*
Jacq.**

Autor(a): Ana Paula Ferreira Leal
Orientadora: Dra Susana Elisa Moreno
Co-orientadora:Dra Ana Lúcia Alves de Arruda

TITULAÇÃO: Mestre em Biotecnologia - Área de concentração:
Biotecnologia Aplicada à Saúde

APROVADA em 26 de Abril de 2012

Prof Dr Pedro Roosevelt Torres Romão

Prof^a Dra Carina Elisei de Oliveira

Prof^a Dra Susana Elisa Moreno
(Orientadora)

Quem vive para o que der e vier, sabe que semeando a boa semente, ainda que seja pela umidade das lágrimas, um dia verá nascerem às plantas. Pode mesmo acontecer que os outros não valorizem o quanto custou esse trabalho. Não faz mal: Você se comprometeu pelo ideal do bem. Não importa também se, nesse esforço, tropeçou e caiu, pois é aos que tombam na luta que se costuma chamar de heróis. Apenas o que se lhes pede é o testemunho da **PERSEVERANÇA**

(Autor desconhecido)

Dedico este trabalho,

Primeiramente a Deus, pois sem Ele, nada seria possível.

Aos meus pais, Mary Elaine Ferreira Leal e Osvaldo de Menezes Leal que sempre me apoiou nos estudos, me ajudando em todos os momentos.

A minha irmã e a toda minha família pelo incentivo e pela ajuda durante toda a caminhada.

AGRADECIMENTOS

Principalmente a Deus, meu melhor amigo que está sempre presente em todos os momentos.

A toda minha família, principalmente meus pais, por todo amor, carinho, conselhos, apoio financeiro, me ajudando nessa caminhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UCDB, em especial a Jane e ao Fernando pelas inúmeras ajudas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da UCDB, pelos valiosos ensinamentos.

À Professora Dra Susana Elisa Moreno pela confiança depositada em mim desde a monografia, abrindo as portas do seu laboratório, pela honra de ser sua orientanda, pela sua amizade e pelos ensinamentos.

A Professora Doutora Ana Lúcia Alves de Arruda pelos ensinamentos, pela Co-orientação e pela grande ajuda nos experimentos.

À equipe do laboratório Farmacologia e Mutagênse, Brunna Mary Okubo, Danieli Fernanda Buccini, Frederico Nakasone Ferreira, Gleicieli Libório e Vinícius Cabistany sem a ajuda deles a realização deste trabalho seria impossível;

A equipe do biotério, em especial ao Lucas de ousa Moreira, Andrew Souza Vaveiro, Leonardo Nascimento e Bruna Dias Panhan pelos animais cedidos.

A todos os técnicos da Bio-saúde (Regilene Fátima de Oliveira, Generosa Maria Salles de Oliveira, André Dias Silva, Rosa Maria e ao Sr Roberto) pela colaboração constante.

A uma grande amiga que ajudou muito em todos os aspectos Bruna Araujo de Sousa, que a nossa amizade dure muitos anos.

Ao Professor e Pesquisador da EMBRAPA CENARGEN Dr Thales Lima Rocha pelas ótimas idéias, incentivos e pela grande ajuda.

A Professora Dra Fátima de Sá pela oportunidade de realizar parte dos experimentos em seu laboratório de biotecnologia da EMBRAPA CENARGEN.

Às minhas amigas Cristiane Almiron, Carolina Bellodi, Bianca Bellodi, Mirian Silveria, Laís Genoud, Elis Hernandes, Talita Sadakane, Henrique Nunes e Tarcila Sandin pelo apoio, ajuda e horas de descontração.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho; MUITO OBRIGADA.

BIOGRAFIA DA AUTORA

ANA PAULA FERREIRA LEAL, filha de Osvaldo de Menezes Leal e Mary Elaine Ferreira Leal, nasceu em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, no dia 09 de novembro de 1985.

Cursou Ciências Biológicas (Licenciatura e Bacharelado) na Universidade Católica Dom Bosco, participando de projetos de Iniciação Científica, concluindo o curso de graduação no ano de 2009.

Em Fevereiro de 2010, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, em nível de Mestrado, área de concentração Biotecnologia Aplicada à Saúde, na Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande/MS, realizando estudos farmacológicos de extrato de plantas medicinais, orientada pela Dra Susana Elisa Moreno.

No dia 26 de Abril de 2012 submeteu-se à banca para Defesa da Dissertação.

SUMÁRIO

	Páginas
Lista de Figuras	X
Lista de abreviaturas e siglas	XI
Resumo	XII
1. Introdução	01
1.1 Plantas Medicinais	01
1.2 As Pimentas	02
1.2.1 <i>Capsicum chinense</i>	03
1.3 Nematóides	06
2. Objetivos	09
2.1 Objetivos específicos	09
Artigo 1: Investigação das propriedades farmacológicas dos extratos brutos de duas variedades da <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	10
Introdução	11
Material e Métodos	12
Resultados	15
Discussão	27
Conclusão	31
Referencias	32
Artigo 2: Avaliação da inativação ou morte de juvenis nematóides da espécie <i>Meloidogynes incognita</i> expostos aos extratos de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	37
Introdução	37
Material e Métodos	39
Resultados	40
Discussão	44
Conclusão	46
Referencias	46
3. Considerações Finais	49
4. Referencias	50

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1: Variedades da <i>Capsicum chinense</i> . (A) pimenta biquinho, (B) pimenta bode amarela, (C) pimenta bode vermelha.	04
Figura 2: Estrutura Química da Capsaicina (A), Dihidrocapsaicina (B) e Nordihidrocapsaicina (C).	05
Figura 3: Ciclo Biológico dos Nematóides formadores de galhas em raízes.	07
Figura 4: Nematóides em forma de galhas (A), parasita nematóide via microscópico óptico (B).	07
Figura 5: Obtenção dos extratos hexânicos (EH) e etanólicos (EE) do material vegetal de <i>Capsicum chinense</i> (variedade biquinho e bode).	13
Figura 6: Avaliação do efeito dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> variedade biquinho sobre a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos.	16
Figura 7: Avaliação do efeito dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> variedade Bode sobre a migração de neutrófilos para a cavidade de camundongos.	17
Figura 8: Avaliação do efeito antiinflamatório dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> da variedade biquinho sobre o teste de edema de pata induzido por carragenina em camundongos.	19
Figura 9: Avaliação do efeito antiinflamatório dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> da variedade Bode sobre o teste de edema de pata induzido por carragenina em camundongos.	21
Figura 10: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> da variedade bode por meio do teste de contorções abdominais em camundongos.	22
Figura 11: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> da variedade Biquinho por meio do teste de contorções abdominais em camundongos.	23
Figura 12: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> da variedade Biquinho por meio do teste de lambidas induzidas por formalina em camundongos.	24
Figura 13: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> da variedade Bode por meio do teste de lambidas	25

induzidas por formalina em camundongos.

Figura 14: Avaliação da atividade hemolítica dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> variedade Biquinho sobre eritrócitos humanos.	26
Figura 15: Avaliação da atividade hemolítica dos extratos brutos da <i>Capsicum chinense</i> variedade Bode sobre eritrócitos humanos.	27
Figura 16: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto da <i>Capsicum chinense</i> variedade Biquinho.	41
Figura 17: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto aquecido da <i>Capsicum chinense</i> variedade Biquinho.	42
Figura 18: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto da <i>Capsicum chinense</i> variedade Bode.	42
Figura 19: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto da <i>Capsicum chinense</i> variedade Bode.	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS – Ácido acetilsalicílico

IFN – α interferon Alfa

IFN – β Interferon Beta

i.p – intraperitoneal

Kg – Kilogramas

LPS – Lipopolissacarídeo

mL - Mililitros

mg – Miligramas

Milli-Q – Água ultrapura

NaOCl – Hipocloreto de Sódio

η m - Nanômetro

rpm – Rotações por minuto

s.c. – Subcutâneo

s.p. – Subplantar

TG – Tioglicolato

TNF α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

TRPV1 – Potencial Receptor transitório vanilóide 1

μ L – Microlitros

RESUMO

As pimentas conquistaram o mundo e o comércio das especiarias com seu colorido, ardor e beleza. As pimentas e pimentões são representados pelo gênero *Capsicum*, que compreende cerca de 20-25 espécies, pertencentes à família Solanaceae. Este gênero produz metabólitos secundários, dentre eles os capsaicinóides. A capsaicina é o mais importante capsaicinóide, responsável pela característica das pimentas, a pungência. Suas propriedades farmacológicas já encontradas são antiinflamatória, analgésica, ação mucolítica e termogênica. Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades farmacológicas dos extratos brutos de duas variedades da *Capsicum chinense* Jacq (pimenta biquinho e bode). Os extratos brutos dos frutos das pimentas bode e biquinho foram obtidos pelo método de extração por maceração a frio até o esgotamento por hexano e etanol, e concentrados em evaporador rotatório, obtendo-se os respectivos extratos. As metodologias aplicadas para a avaliação das propriedades farmacológicas dos extratos brutos foram a avaliação da atividade antiinflamatória pelo teste de migração de neutrófilos pela cavidade peritoneal em camundongos e pelo teste edema de pata induzido por carragenina 1%. O potencial analgésico foi avaliado pelo teste de contorções abdominais induzidos por ácido acético 0,8% e pelo teste de lambidas induzida por formalina em camundongos. A avaliação da citotoxicidade foi realizada pela atividade hemolítica *in vitro* em eritrócitos humanos. A investigação da inativação ou morte de juvenis nematóides foi avaliada pelo método de exposição *in vitro* dos nematóides *Meloidogynes* a diferentes concentrações do extrato bruto. Os resultados demonstraram que os extratos hexânicos das variedades bode e biquinho apresentaram atividade anti-inflamatória nos modelos de migração de neutrófilos e edema de pata em camundongos, atividade antinociceptiva avaliada pelo modelo de contorções abdominais e não apresentaram hemólise nas concentrações utilizadas quando comparadas ao grupo salina. O extrato etanólico apresentou atividade anti-inflamatória pelo modelo de migração de neutrófilos e edema de pata somente na variedade bode, sendo que a variedade biquinho apresentou atividade antinociceptiva pelos modelos de contorções e teste de formalina em camundongos somente nas concentrações 15mg e 5mg, respectivamente, e ambas as variedades apresentaram atividade hemolítica similar ao controle salina na concentração de 1mg. Na avaliação dos juvenis nematóides *Meloidogynes* expostos aos extratos etanólicos das variedades apresentaram paralisia em todas as concentrações das duas variedades, mesmo quando expostos aos extratos aquecidos. Desse modo, concluímos que as variedades apresentam diferenças em seus potenciais farmacológicos, sendo que o extrato hexânico o que mais apresentou atividade farmacológica. Sugerimos testes mais aprofundados para descobrirmos as substâncias que apresentam tais atividades.

Palavras-chave: *Capsicum chinense*, anti-inflamatório, antinociceptivo, nematóides.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Plantas Medicinais

Os vegetais participam da vida humana desde seus primórdios, como fonte de alimentos, habitação, materiais de vestuários, utilidades domésticas, como defesas e ataque e como meio de restauração da saúde (SIMÕES *et al.* 2001). Entretanto, a indústria farmacêutica faz utilização deste material muito recentemente, sendo que até meados do século XX, as plantas medicinais e seus derivados constituíam a base da terapêutica medicamentosa (CALIXTO 2000). Portanto, estudos com plantas medicinais são desenvolvidos em função de informações terapêuticas obtidas a partir da medicina popular, às quais em trabalhos multidisciplinares, envolvendo conhecimento químico, atividade biológica e controle tecnológico de qualidade da substância de origem vegetal e de seus extratos, são importantes para a consolidação da fitoterapia como prática segura e eficaz (LOPES 2003).

Em geral, a escolha de uma determinada planta medicinal é feita através da abordagem etnofarmacológica, que consiste na exploração científica dos agentes biologicamente ativos, empregados ou observados pelo homem, permitindo a formulação de hipóteses quanto às atividades farmacológicas e às substâncias ativas responsáveis pelas ações terapêuticas (SIMÕES *et al.* 2001). Esta abordagem está relacionada aos estudos etnobotânicos aplicados a plantas medicinais para a exploração científica de agentes biologicamente ativos. (MACIEL *et al.* 2002)

O Brasil, detentor da maior floresta tropical equatorial e tropical úmida do planeta, constituído de uma grandeza de seu litoral e de sua flora, não pode abdicar de sua vocação para os produtos naturais (PINTO *et al.* 2002). Seu Território possui cinco principais biomas: Floresta Amazônica, Cerrado, Floresta Atlântica, Pantanal e Caatinga, sendo, portanto, uma rica fonte de produtos terapêuticos (CALIXTO 2000). O Brasil apresenta a maior diversidade vegetal do mundo, já que um total entre 350.000 a 550.000, 55 mil espécies encontram-se catalogadas no país, despertando assim interesse em comunidades científicas para a realização de estudos, conservações e utilizações destes recursos (SIMÕES 2001; SOUZA *et al.* 2006;

OMENA 2007). Portanto, em função dessa diversidade de espécies, o país se torna um grande fornecedor de material botânico para o mercado farmacêutico.

As análises farmacológicas e químicas de plantas medicinais vêm proporcionando um grande avanço científico, na obtenção de novos componentes com propriedades terapêuticas (VIEGAS 2006), visto que cerca de 30% das drogas disponíveis no mercado são de produtos naturais ou derivados deles (CALIXTO 2005). A descoberta de novos compostos tem estado em permanente evolução, devido às novas técnicas que permitem o isolamento e a determinação dos compostos químicos. Portanto, as plantas medicinais formam um elo entre as comunidades tradicional e científica, compartilhando informações e interesses para o desenvolvimento e aprimoramento das políticas de saúde (CALIXTO 2000). O estudo destas plantas permite o crescimento do conhecimento científico, validando o uso medicinal para a população (BONTEMPO 2007).

Embora esses estudos estejam em permanente evolução e tenham crescido muito nos últimos tempos, são poucos os estudos avaliando as propriedades farmacológicas das pimentas, apesar de serem empregadas como recursos medicinais nas medicinas indiana, chinesa, egípcia, mesopotâmica, entre outras, devido às características de pungência (ardida) combatendo o excesso de mucosidades, eliminando toxinas e tonificando a energia vital (BONTEMPO 2007).

1.2 As Pimentas

O nome Pimenta vem da forma latina *pigmentum*, passando para o espanhol *pimienta*, apresentando significados de “matéria corante” e depois “especiaria aromática,” respectivamente (BONTEMPO 2007). Esta especiaria era cultivada pelas tribos indígenas brasileiras durante a época do descobrimento do Brasil e duram até os dias de hoje. Entretanto, relatos históricos afirmam que foram os escravos que trouxeram as pimentas da África para o Brasil, porém já eram utilizadas pelos nativos como moedas na troca por ferramentas, antes da chegada dos colonizadores (REIFSCHNEIDER 2000).

As pimentas conquistaram o mundo e o comércio das especiarias com seu colorido, ardor e beleza. No Brasil são produzidas dezenas de variedades,

movimentando aproximadamente R\$ 80 milhões por ano para a economia do país. As pimentas vermelhas respondem pelo terceiro lugar em produção e consumo de hortaliças para o tempero brasileiro, deixando a sua frente o alho e a cebola (REIFSCHNEIDER 2000).

As pimentas e os pimentões são classificados em Reino Plantae, Divisão Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida, e apresenta duas Ordens importantes: a Ordem Solanales da Família Solanaceae e do Gênero *Capsicum*, e a Ordem Piperales da Família Piperaceae e do Gênero *Piper*, (BOSLAND e VOTAVA 1999 apud KUMAR *et al.* 2011).

O gênero *Piper*, da família Piperaceae, é representado pela pimenta-do-reino no Brasil, apresentando várias maturações dos grãos dando origem a pimenta-verde, pimenta-preta e pimenta-branca, e seu principal princípio ativo é a piperina (BONTEMPO 2007).

Este gênero é encontrado principalmente nas regiões Sudeste, Sul e Centro-oeste, (PERUCKA *et al.* 2007). O gênero *Capsicum* comprehende cerca de 20-25 espécies, pertencentes à família Solanaceae, representado pelas pimentas e pimentões. São classificadas em espécies domesticadas, semi-domesticadas e silvestres (REIFSCHNEIDER 2000). No momento, o Brasil cultiva pimentas de espécies domesticadas: *C. annuum* (jalapeño), *C. baccatum* (dedo-de-moça), *C. frutescens* (malagueta) e *C. chinense* (pimenta-de-cheiro, biquinho, bode, cumari-do-Pará). No entanto, as primeiras consumidas eram originárias de plantas selvagens, classificando as pimentas em uma das plantas mais antigas cultivadas das Américas (BONTEMPO 2007).

1.2.1 *Capsicum chinense*

O nome *Capsicum chinense* foi conferido pelo físico holandês Kikolaus Von Jacquinomist, ao considerar esta espécie originária da China, embora nesta época já se soubesse que todas as espécies de *Capsicum* eram originárias do hemisfério ocidental (BOSLAND e VOTAVA 1999 apud KUMAR *et al.* 2011).

A descrição botânica da espécie *Capsicum chinense* segundo SMITH e HEISER (1957) apud LORENZI *et al.* 2008 é *Capsicum sinense* Jacques (sinônimo de *C. chinense*). São plantas com 45 a 76 cm de altura, folhas ovadas, largas,

macias ou rugosas, de tonalidade verde claro a escuro. As flores aparecem de 3 a 5 por nó e os frutos variam de 1,0 a 12,0 cm de comprimento, com formas variáveis e de cores salmão, laranja, amarela, vermelha ou marrom. É a mais brasileira das pimentas domesticadas, encontrada em grande diversidade na bacia Amazônica e no Pará, apresentando diferentes cultivares ou variedades (REIFSCHEIDER 2000). As variedades da *Capsicum chinense* se diferenciam pelo tamanho, cor, forma das folhas, flores, os frutos e a intensidade da atividade picante. Entretanto, os frutos são a parte mais variável entre as cultivares ou variedades, com numerosas sementes presas a placenta central, local do princípio ativo picante (LORENZI *et al.* 2008).

Algumas variedades da espécie *Capsicum chinense* são a pimenta biquinho (Figura 1a), que apresenta pungência doce e com aroma forte e é utilizada em saladas, conservas. A outra variedade, a pimenta bode (Figura 1b e c), ao contrário, é de pungência forte, usada em condimentos no preparo de carnes, arroz, feijão, pamonha salgada e biscoitos e principalmente em conservas. Essa apresenta duas variedades, pimenta bode amarela e vermelha, ambas maduras, utilizadas em conservas (REIFSCHEIDER 2000).

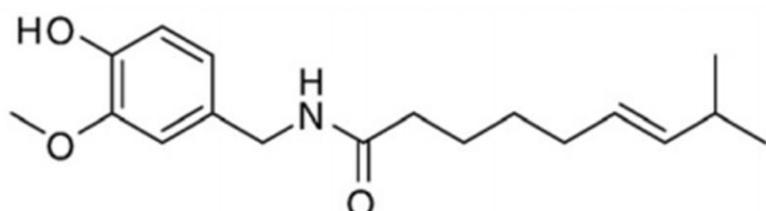


FIGURA 1: (a) Variedade pimenta Biquinho; (b) Variedade pimenta bode amarela; (c) Variedade pimenta bode vermelha.

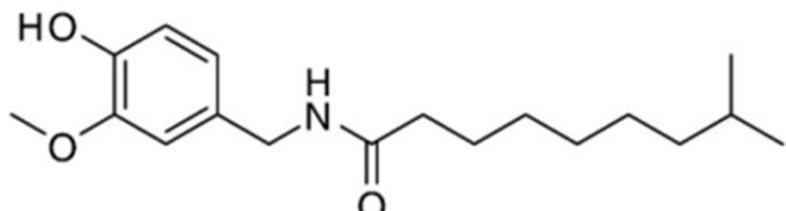
FONTE:(a)<http://movimento-natureza.blogspot.com/>;
(b)<http://gastronomiamineiracomcheffsilva.blogspot.com/20101001archive.html>

As espécies do gênero *Capsicum* apresentam em sua composição, metabólitos secundários, destacando os capsaicinóides, responsável pela ação picante das pimentas. Além destes, as pimentas apresentam também os carotenóides, ácido ascórbico, vitaminas C, vitamina E, vitaminas do complexo B e compostos fenólicos (REIFSCHEIDER 2000), ácidos graxos, alfa caroteno, violaxantina, flavonóides, dentre outros (LORENZI *et al.* 2008). Entretanto, dos 14 capsaicinóides existentes, a

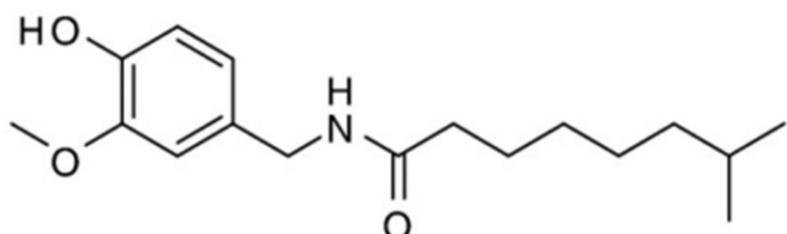
capsaicina (Figura 2-A) é a principal, sendo encontrada em maior quantidade nas pimentas, encontrando também as dihidrocapsaicina e nordihidrocapsaicina (Figura 2 B e C) (SIMÕES *et al.* 2001). A capsaicina, dependendo da concentração do princípio ativo, estimula termos receptores das mucosas e da pele. Apresentam também atividades farmacológicas, como a ação mucolítica, termogênica, analgésica, antiinflamatória (PERUCKA *et al.* 2007).



A - Capsaicina



B - Dihydrocapsaicina



C - Nordihydrocapsaicina

FIGURA 2: Estrutura Química da Capsaicina (A), Dihidrocapsaicina (B) e Nordihidrocapsaicina (C).

FONTE: LUO *et al.* 2011.

Quanto a sua atividade anti-inflamatória, estudos revelam que a capsaicina exibe propriedades antiinflamatórias inibindo o desenvolvimento da inflamação induzido por carragenina no modelo de edema de pata em camundongos e também no modelo de artrite em ratos. Entretanto, pesquisas revelam que a liberação de mediadores pró-inflamatórios se associa com a propriedade antiinflamatória da

capsaicina (KIM *et al.* 2003). Recentemente, estudos *in vitro* demonstraram a indução da apoptose em algumas linhagens de células de câncer humano, desempenhando um papel na progressão do câncer e na morte celular apoptótica (LI *et al.* 2001; LUO *et al.* 2011).

1.3 Nematóides

Os fitonemaóides (Figura 4b) apresentam o corpo alongado, afinando-se as extremidades, apresentando comprimento de 0,5mm na fase juvenil e pode chegar a 4mm na fase adulta. São pertencentes à família Tylenchidae, e os gêneros mais destacantes são os *Meloidogynes* e *Heterodera*, formadores de galhas e cistos em raízes, respectivamente (BRASS *et al.* 2008). O gênero *Meloidogynes* apresenta um ciclo biológico (Figura 3) desenvolvendo-se por meio de ovos depositados pelas fêmeas adultas em uma substância gelatinosa chamada ooteca, por onde se ecodem as larvas. As larvas passam por quatro estágios de desenvolvimento: o primeiro (J1) ocorre ainda dentro do ovo quando essas trocam de pele pela primeira vez (ecdises); o segundo estágio (J2) é a eclosão dos ovos, permitindo a penetração em raízes; o terceiro (J3) inicia-se após a segunda troca de pele (ecdises) e o crescimento das galhas nas raízes; após a terceira ecdise, a larva entra em seu quarto estágio (J4). No final do ultimo estágio, as fêmeas desenvolvem seus órgãos de reprodução e os machos abandonam as raízes e se espalham pelo solo para fecundar as fêmeas. As fêmeas já fecundadas depositam seus ovos em ootecas que podem fixar-se fora das raízes (SHARMA *et al.* 2000).

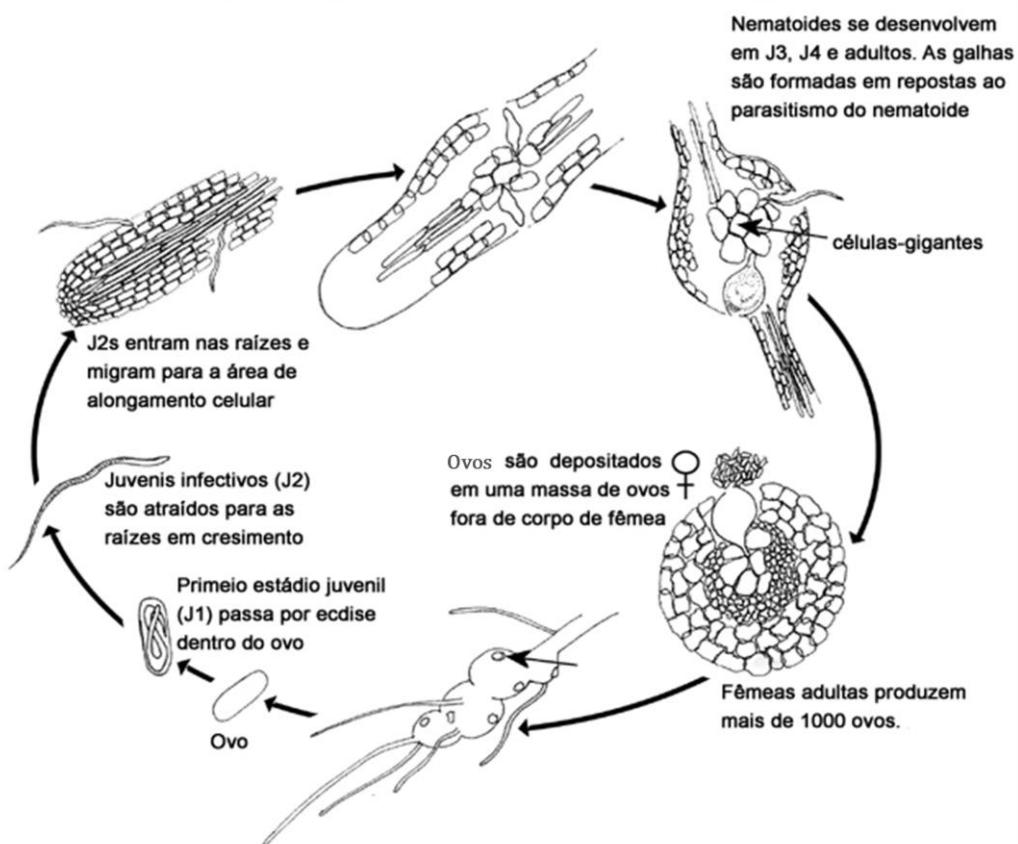
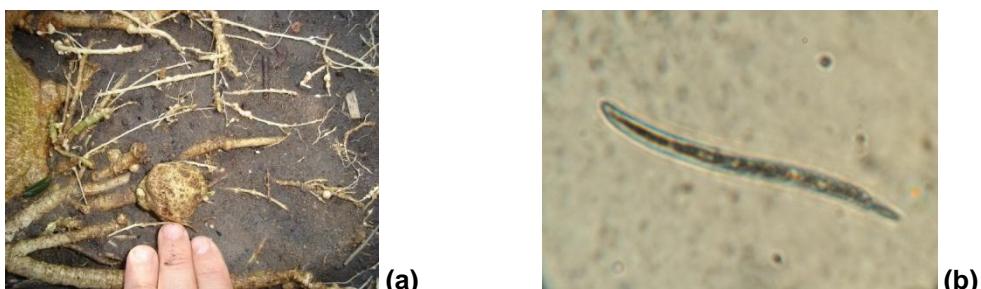


FIGURA 3: Ciclo Biológico dos Nematóides formadores de Galhas em raízes.

FONTE: Adaptado de COURTESIA V. BREWSTER

Os principais alvos do gênero *Meloidogynes* são as plantações de hortaliças, em especial tomateiros, cafeicultura, algodoeiro, e soja (CHARCHAR 1997), que ao se alojarem em raízes de plantações, formam galhas de tamanho e número variado (Figura 4a). As deformações resultam em hipertrofia das células afetadas pela saliva do parasita, que ao penetrá-las introduzem uma secreção esofágiana, iniciando a hipertrofia celular e hiperplasia no pericílio, dando origem as células gigantes, que são a fonte nutritiva para as larvas (BRASS *et al.* 2008).



FONTE: http://eeskm47.blogspot.com/2011_01_01_archive.html

A economia do Brasil é bastante afetada em decorrência aos danos causados pelo gênero *Meloidogynes*, devido ao vasto círculo de plantas hospedeiras, incluindo plantas monocotiledôneas, dicotiledôneas, plantas herbáceas e lenhosas, expandindo para mais de 2000 espécies de plantas hospedeiras. Nas regiões do Cerrado as plantações sofrem grandes perdas na época do verão, quando as temperaturas se elevam, com o aumento concomitante das infestações no solo (CHARHCAR 1997).

O controle desses parasitas é realizado por meio de produtos nematicidas e rotação de culturas. A rotação de cultura é realizada com plantas não hospedeiras ou más hospedeiras, sendo este de alto custo de espaço utilizado podendo onerar os custos das produções. O nematicida mais utilizado é o brometo de metila, apresentando um desequilíbrio biológico, deixando resíduos nos vegetais, seu uso foi restrito ou parcialmente proibido devido aos impactos negativos causados ao meio ambiente e ao ser humano (FERRIS *et al.* 1999; SHARMA *et al.* 2000; NICO *et al.* 2004). Dessa forma, várias alternativas estão sendo avaliadas para o desenvolvimento de opções ecologicamente sustentáveis no combate aos fitonematoídes (CHARCHAR *et al.* 2005). Uma das alternativas são extratos de várias partes de plantas, visto que, apresentam vantagens, como a possibilidade de gerar novos compostos que patógenos não são capazes de inativar, são menos concentrados e, portanto, menos tóxicos, e biodegradáveis. (FERRIS *et al.* 1999).

Estudos com plantas pertencentes à família Solanaceae demonstram que são naturalmente tolerantes a alguns fitopatógenos (MORASSUTTI *et al.* 2002). Por exemplo, extratos de folhas de berinjela apresentam peptídeos de defesa com alta atividade nematicida contra *Meloidogynes incognita* (ALMEIDA 2007), e também clones de batata-doce são altamente resistentes a *Meloidogynes incógnita* (MORASSUTTI *et al.* 2002).

Apesar de espécies do gênero *Capsicum* apresentar efeitos farmacológicos, estudos com as variedades da *Capsicum chinense* na investigação farmacológica ainda são escassos, podendo ser um alvo importante na descoberta de novos compostos fitoterápicos.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar as propriedades farmacológicas dos extratos brutos de duas variedades da *Capsicum chinense* Jacq – pimenta biquinho e pimenta bode.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a atividade anti-inflamatória dos extratos brutos das variedades da *Capsicum chinense* Jacq. por meio da avaliação da migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos.
2. Avaliar a atividade anti-inflamatória dos extratos brutos das variedades da *Capsicum chinense* Jacq. pelo modelo de edema de pata em camundongos induzida por carragenina.
3. Avaliar a atividade antinociceptiva dos extratos brutos das variedades da *Capsicum chinense* Jacq. pelo modelo de contorções abdominais e teste de formalina em camundongos.
4. Avaliar a citotoxicidade dos extratos brutos das variedades da *Capsicum chinense* Jacq. por meio da atividade hemolítica em eritrócitos humanos.
5. Avaliar a inativação ou morte de juvenis nematóides *Meloidogynes incognita* expostos aos extratos brutos das variedades da *Capsicum chinense* Jacq. *in vitro*.

Artigo 1: INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS EXTRATOS BRUTOS DE DUAS VARIEDADES DA *Capsicum chinense* Jacq.

RESUMO: *Capsicum chinense* é uma espécie de pimenta encontrada em regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste do Brasil. Entretanto, esta espécie apresenta diferentes cultivares, e sua composição é composta por metabólitos secundários, como o alcalóide capsaicina, um capsaicinóide responsável pelo sabor pungente da pimenta. O objetivo deste estudo foi investigar as propriedades farmacológicas dos extratos brutos de duas variedades da *Capsicum chinense* (pimenta biquinho e bode). Os extratos dos frutos das variedades foram obtidos pelo método de extração utilizando solventes hexano e etanol, e após concentrados foram roto evaporados a 60°. Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss (n=5), machos e fêmeas. As metodologias empregadas para a avaliação das atividades antiinflamatórias foram migração de neutrófilos para cavidade peritoneal de camundongos e edema de pata induzido por carragenina 1%, com o pré-tratamento com os extratos (1, 5, 15mg s.c.). A avaliação antinociceptiva foi realizada pelo teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético (0,8%) e lambidas de pata induzidas por formalina (2,5%). O teste citotóxico foi realizado pelo método de atividade hemolítica em eritrócitos humanos in vitro expostos aos extratos (1, 3, 5mg). Os resultados demonstraram que os extratos hexânicos, das duas variedades, e o etanólico da variedade bode apresentaram ação antiinflamatória pelo modelo de peritonite. Resultados semelhantes foram observados no método de edema de pata, onde o extrato hexânico da variedade biquinho reduziu o edema, e os extratos hexânicos e etanólicos da pimenta bode. A avaliação antinociceptiva pelo teste de contorções abdominais mostrou que o extrato hexânico da variedade bode reduziu as contorções em todas as concentrações e a variedade biquinho reduziu as contorções nas maiores concentrações dos dois extratos. O teste de lambidas induzidos por formalina demonstrou que o extrato etanólico da pimenta biquinho foi capaz de reduzir as lambidas na concentração de 5mg na fase tardia, mas o extrato etanólico da pimenta bode não foi capaz de reduzir em nenhuma das concentrações. A avaliação com eritrócitos humanos mostraram que os extratos hexânicos da variedade bode e biquinho não apresentaram hemólise, similar ao grupo salina, e os extratos etanólicos apresentaram valores maiores que o grupo salina, mas não apresentaram hemólise quando comparados ao grupo Triton. Com base nesses resultados concluímos que os extratos de ambas as variedades apresentam substâncias com propriedades farmacológicas, sendo necessária uma avaliação dos compostos para melhor esclarecimento das atividades.

Palavras-chave: *Capsicum chinense*, anti-inflamatório, antinocicepção.

INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, pertencente à família Solanaceae, é representado por cinco espécies de pimentas domesticadas utilizadas pelo homem: *Capsicum annuum* L., *Capsicum baccatum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum frutescens* L. e *Capsicum pubescens* (CARVALHO *et al.* 2004). A espécie *Capsicum chinense* é representada por pimentas encontradas fartamente em regiões Sudeste, Sul e Centro-oeste (PERUCKA *et al.* 2007), no entanto há pouca disponibilidade de informações científicas sobre sua morfologia e outros caracteres relacionados à farmacologia.

Dentro de cada espécie existem numerosos tipos de variedades ou cultivares. A espécie *Capsicum chinense* possui cultivares morfologicamente distintas no tamanho, cor e forma dos frutos e folhas, bem como na intensidade da atividade picante. Os frutos de cada cultivares são as partes mais variáveis, todos com numerosas sementes presas a placenta, que contém o princípio ativo picante, a capsaicina (LORENZI *et al.* 2008). Pimenta de cheiro, pimenta biquinho, cumari-do-Pará, murupi, bode vermelha e amarela, são nomes populares de algumas variedades de *Capsicum chinense* (REIFSCHEIDER 2000).

As pimentas foram os primeiros temperos utilizados pelos índios com a função de dar cor e aroma aos alimentos, além do emprego na conservação dos alimentos, protegendo-os de fungos e bactérias (REIFSCHEIDER 2000). São descritas como um alimento funcional, ou seja, alimentos que proporcionam benefícios para a saúde, inclusive na prevenção ou tratamentos de doenças (SURH 1999). De acordo com ANJO (2004), as pimentas vermelhas apresentam propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antimutagênicas. Dentre os estudos já realizados com este gênero, a espécie *Capsicum frutescens* utilizada popularmente como condimento para preparo de alimentos também apresenta atividade com fins farmacêuticos, como vasodilatadora e também na agricultura como repelente e bioinseticidas (OGA 2008).

Espécies *Capsicum baccatum* L. e *Capsicum frutescens* L. são fontes de agentes antioxidantes naturais em alimentos como demonstrado por COSTA e colaboradores (2009). Ensaios com ratos revelaram que a espécie *C.annuum* L. é provida de efeito hipocolesterolêmico e hipotrigliceridêmico quando acrescentada a

uma dieta hiperlipídica, porém sem efeitos tóxicos específicos e alterações histológicas em órgãos isolados (KWON *et al.* 2003).

O gênero *Capsicum* também é fonte de vitaminas C, de carotenóides, de vitamina E e das vitaminas do complexo B, bem como os compostos fenólicos e o ácido ascórbico (REIF SCHNEIDER 2000). Esses compostos respondem por muitas de suas ações farmacológicas.

Dentre os principais componentes das pimentas estão os capsaicinóides, compostos fenólicos responsáveis pelo sabor pungente ou picante, variando a concentração entre as espécies e cultivares da mesma espécie (CARVALHO 2004; PERUCKA *et al.* 2007).

O capsaicinóide considerado de maior relevância no gênero *Capsicum* é a capsaicina, embora outros capsaicinóides já foram relatados, como a dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina e homodihidrocapsaicina (BONTEMPO 2007).

Estudos revelam que a capsaicina apresenta atividades antihiperlipidêmica, propriedades antiinflamatórias, antioxidantes e são efetivos no tratamento da dor associada com artrite, cistite e neuropatia diabética (SURH *et al.* 2002). Fisiologicamente, a capsaicina reduz a vasodilatação e também a transmissão de impulsos dolorosos da periferia para o sistema nervoso central. A capsaicina é também capaz de inibir a inflamação na pata de camundongos induzida por carragenina e também na artrite em ratos, demonstrando possuir atividades analgésicas e antiinflamatórias (KIM *et al.* 2003).

Diante destas informações, o presente estudo teve como objetivo investigar as propriedades farmacológicas dos extratos brutos de duas variedades de pimenta da *Capsicum chinense* Jacq. (pimenta biquinho e bode vermelha).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Preparação dos extratos brutos de *Capsicum chinense*

Os frutos das duas variedades (biquinho e bode) foram adquiridos no Mercado Municipal de Campo Grande – MS e as exsicatas depositadas no Herbário da

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul com o número de registro 29236 e 33633, respectivamente.

Aproximadamente 2 kg dos frutos foram lavados e secos em estufa com circulação de ar, e submetidos a extração por maceração a frio até o esgotamento por hexano e etanol, e concentrados em evaporador rotatório, obtendo-se os respectivos extratos (Figura 5).

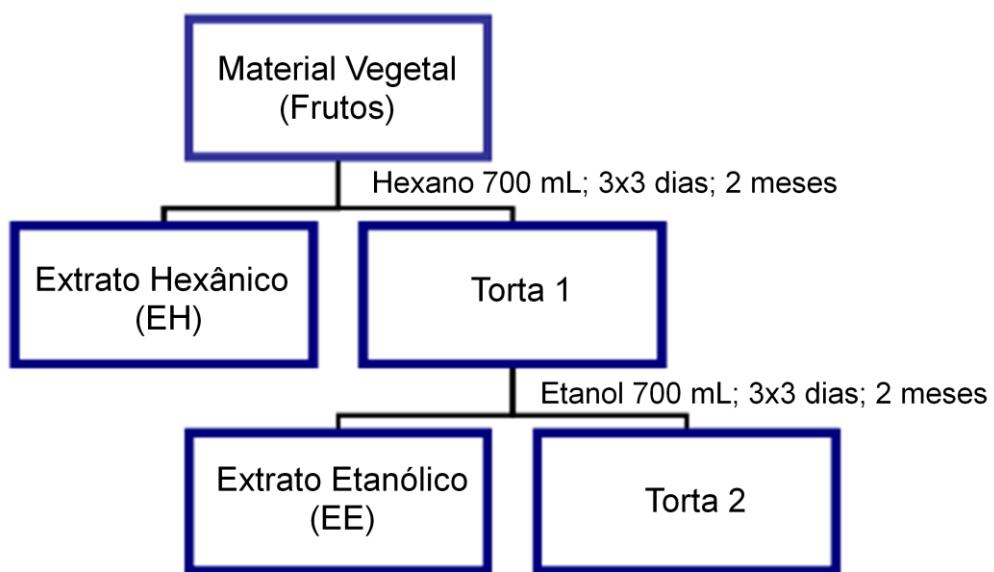


FIGURA 5: Obtenção dos extratos hexânicos (EH) e etanólicos (EE) do material vegetal de *Capsicum chinense* (variedade biquinho e bode).

Animais

Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss, machos e fêmeas, pesando aproximadamente 20-25g. Os animais foram provenientes do Biotério da Universidade Católica Dom Bosco, mantidos sob condições de temperatura (23-25°C) e o ciclo claro/escuro controlados, com livre acesso a ração e água. Todas as fases dos experimentos e procedimentos foram realizadas de acordo com as normas internacionais de ética em pesquisa com animais, com o protocolo número **004/11**.

Avaliação antiinflamatória – Migração de neutrófilos

O efeito antiinflamatório foi realizado por meio do teste de migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos, de acordo com Moreno e colaboradores (2006).

Para tanto os animais (Swiss n=5) foram pré-tratados com os extratos brutos hexânicos e etanólicos em diferentes doses (1, 5 e 15mg s.c) e posteriormente submetidos ao estímulo flogístico (Tioglicolato 4% i.p.) após 15 minutos do tratamento. O grupo controle negativo foi tratado com Salina 0,9% (i.p.). Após 6 horas do estímulo os animais foram eutanasiados e a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal foi avaliada por meio da coleta do exsudato com Salina/EDTA (5%). A contagem total foi realizada em contador automático de células Hematologia Analyser (Sysmex Corporation, Japan) e o resultado expresso em n° células X 10⁶/mL. Foram realizados esfregaços para a contagem diferencial das células. Estas foram coradas com Panótico rápido (Diff Quik) e analisadas em microscópio óptico por meio da objetiva de imersão (1000 vezes).

Avaliação Antiinflamatória - Edema de Pata

O modelo de edema de pata induzido por carragenina 1% foi realizado de acordo com a metodologia descrita por LEVY (1969) em camundongos Swiss (n=5), pré-tratados com os extratos brutos hexânicos e etanólicos das duas variedades de *Capsicum chinense* em diferentes doses (1,5 e 15mg s.c). Como controle do experimento foi usada a Dexametasona 0,4mg/kg (s.c.). O controle positivo somente carragenina 1% (50µL s.p.). As patas que receberam o estímulo foram avaliadas por meio da mensuração da espessura no aparelho Pletismômetro (INSIGHT) em diferentes intervalos de tempo (zero, 15, 30, 120, 240 minutos).

Após a última mensuração, os animais foram eutanasiados e as patas foram coletadas e congeladas em ultrafreezer para futuras análises.

Avaliação da Atividade Analgésica

Teste de Contorções abdominais induzidos por ácido acético

A avaliação do potencial efeito analgésico foi realizada por meio do teste de contorções abdominais de acordo com a metodologia descrita por KOSTER e colaboradores (1959). Os animais (Swiss n=5) foram pré-tratados com os extratos brutos hexânicos e etanólicos em diferentes doses (1, 5 e 15mg s.c) 15 minutos antes do estímulo da dor com ácido acético 0,8% (10mL/kg i.p.). O grupo controle recebeu ácido acetil salicílico (AAS - 100mg/kg). Os animais foram observados durante 30 minutos após o estímulo, analisando o número de contorções.

Teste de Formalina

O teste de formalina avalia a atividade analgésica de acordo com o número de lambidas/ou mordidas na pata. Os camundongos Swiss (n=5) foram pré-tratados com os extratos brutos hexânicos e etanólicos das variedades de *Capsicum chinense*, em diferentes doses (1, 5 e 15mg s.c), 15 minutos antes do estímulo com Formalina 2,5% (30µL s.p.). Os controles receberam Ácido acetil salicílico (AAS – 100mg/kg). Os animais foram avaliados em duas fases: 1ºfase nos primeiros 5 minutos, fazendo uma pausa de 10 minutos e a 2º fase os 15 minutos restante observando o número de lambidas e/ou mordidas na pata injetada (HUNSKAAR e HOLE 1987).

Avaliação da Citotoxicidade

Atividade Hemolítica

O ensaio para determinar a atividade hemolítica foi de acordo com Park e colaboradores (2004), realizado na EMBRAPA CENARGEM de Brasília no laboratório de Biotecnologia. Foram utilizados eritrócitos humanos do tipo sanguíneo O negativo. Os eritrócitos foram coletados, lavados com salina 0,9% e centrifugados a 1500 rpm por 5 min (20°C), separando assim o plasma. Para o experimento foi utilizado sangue a 8%, distribuídos em poços de placa de 96 poços, adicionando os extratos hexânicos e etanólicos em diferentes doses (1, 3 e 5mg). Os extratos foram diluídos em Salina 0,9% e centrifugados, utilizando-se somente a parte solúvel dos extratos. Os controles receberam Triton X-100 (5µL diluídos em 95µL de água Mili-Q) e Salina 0,9%, todos os grupos foram realizados em triplicata. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (leitor de ELISA), em um comprimento de onda de 540nm.

RESULTADOS

1. Avaliação da Atividade Antiinflamatória

Efeito dos extratos brutos das variedades de *C. chinense* sobre a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos

Os extratos hexânicos concentram os compostos apolares, como os ácidos graxos e lipídios. Assim, nossos resultados demonstraram que o extrato bruto hexânico da pimenta biquinho em todas as doses (1, 5 e 15mg) foi capaz de reduzir a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos, quando comparados ao controle não tratado. A migração observada nos grupos tratados com o extrato hêxano da pimenta biquinho foi similar aquela observada em animais que receberam salina intraperitonealmente. Por outro lado, o extrato etanólico da mesma pimenta, que concentra substâncias polares, foi capaz de inibir a migração de neutrófilos somente na concentração de 15mg (Figura 6). Os dados sugerem que o extrato hexânico possui importante ação antiinflamatória e que esse efeito parece ser mais potente em relação ao extrato etanólico.

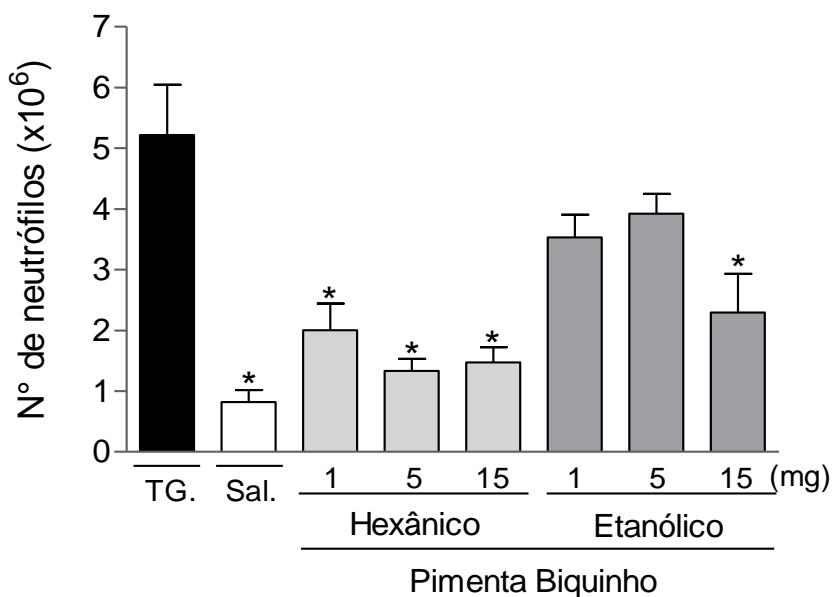


FIGURA 6: Avaliação do efeito dos extratos brutos da *Capsicum chinense* variedade Biquinho sobre a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos. O efeito antiinflamatório dos extratos brutos da pimenta biquinho foi avaliado em camundongos Swiss (n=5) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses dos extratos brutos hexânico e etanólico (1/5/15mg, s.c) 15 minutos antes do estímulo inflamatório (Tioglicolato 4%, 500 μ L i.p). Os controles negativos receberam salina 0,9% (200 μ L i.p). Após 6 horas os animais foram eutanasiados e realizada a contagem total e diferencial das células. Os resultados estão expressos em número de neutrófilos X 10^6 (media \pm EPM) * p<0,05 quando comparado ao grupo tratado com tioglicolato 4%. Foi utilizado o programa Graphpad prism 5.

Quando avaliamos o efeito antiinflamatório da variedade bode da *C. chinense*, observamos que tanto o extrato hexânico quanto o extrato etanólico em todas as doses utilizadas (1, 5 e 15mg) foram capazes de inibir a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos, quando comparado ao grupo não tratado. Entretanto não foram observadas diferenças estatísticas entre os extratos etanólicos e hexânicos, assim como entre as diferentes doses (Figura 7). Esses dados sugerem o efeito antiinflamatório dos extratos hexânico e etanólico da variedade Bode da *C. chinense*. Diante das diferenças observadas na atividade antiinflamatória das variedades Biquinho e Bode da *C. chinense*, podemos sugerir a existência de diferenças qualitativas e/ou quantitativas na composição química das variedades da *Capsicum chinense*.

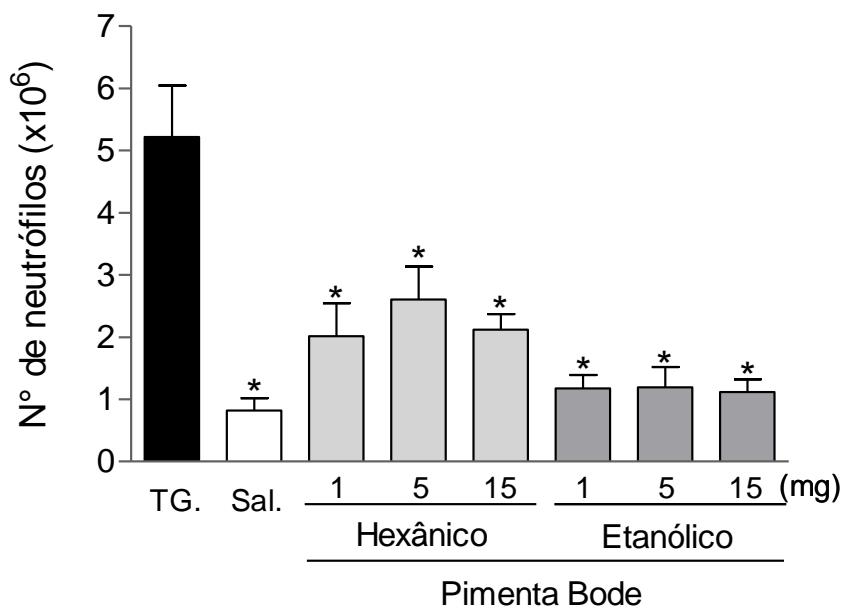


FIGURA 7: Avaliação do efeito dos extratos brutos da *Capsicum chinense* variedade Bode sobre a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de camundongos. O efeito antiinflamatório dos extratos brutos da pimenta bode foi avaliado em camundongos Swiss (n=5) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses dos extratos brutos hexânico e etanólico (1/5/15mg, s.c) 15 minutos antes do estímulo inflamatório (Tioglicolato 4%, 500 μ L i.p). Os controles negativos receberam salina 0,9% (200 μ L i.p). Após 6 horas os animais foram eutanasiados e realizada a contagem total e diferencial das células. Os resultados estão expressos em número de neutrófilos $\times 10^6$ (media \pm EPM) * p<0,05 quando comparado ao grupo tratado com tioglicolato 4%. Foi utilizado o programa Graphpad prism 5.

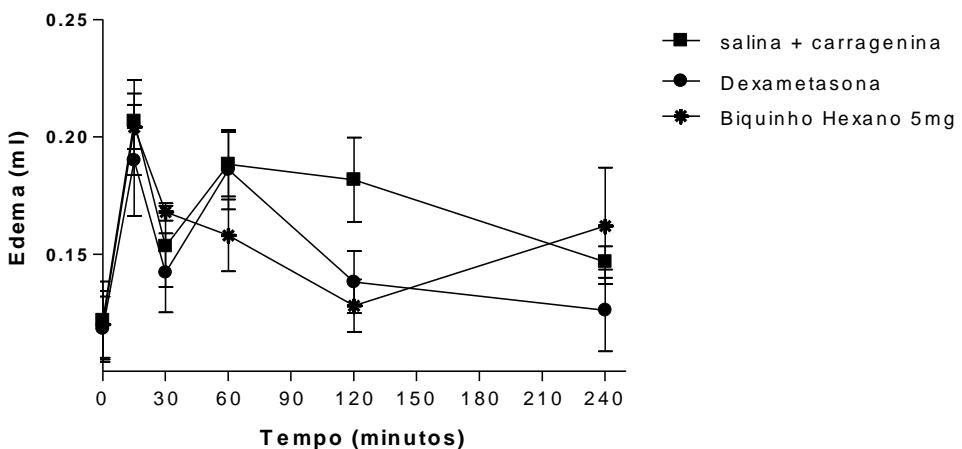
Efeito dos extratos brutos das variedades de *C. chinense* sobre o edema de Pata em camundongos

Objetivando avaliar o efeito sobre os extratos das variedades Biquinho e Bode da *Capsicum chinense* sobre os fenômenos vasculares da inflamação, foram conduzidos os ensaios de edema de pata em camundongos. A concentração de 5mg dos extratos foi eleita por apresentar em experimentos anteriores uma marcante ação antiinflamatória.

Nossos dados demonstraram que o extrato hexânico da variedade biquinho foi capaz de reduzir o edema de modo similar ao tratamento com dexametasona na 2º hora após o tratamento. Esse efeito não foi mais observado na 4º hora (Figura 8, painel A). Similar ao observado com a migração de neutrófilos, o extrato etanólico da variedade biquinho, não foi capaz de reduzir o edema de pata quando comparado ao grupo não tratado (Figura 8, painel B). Quando comparamos os dois extratos, não houve diferença estatística ($p<0,05$) entre o extrato hexânico e etanólico da variedade biquinho no pico do efeito antiedemogênico (120min).

Esses resultados corroboram os dados apresentados anteriormente. Nossos resultados sugerem que apenas o extrato hexânico é provido de significativa ação antiinflamatória.

A



B

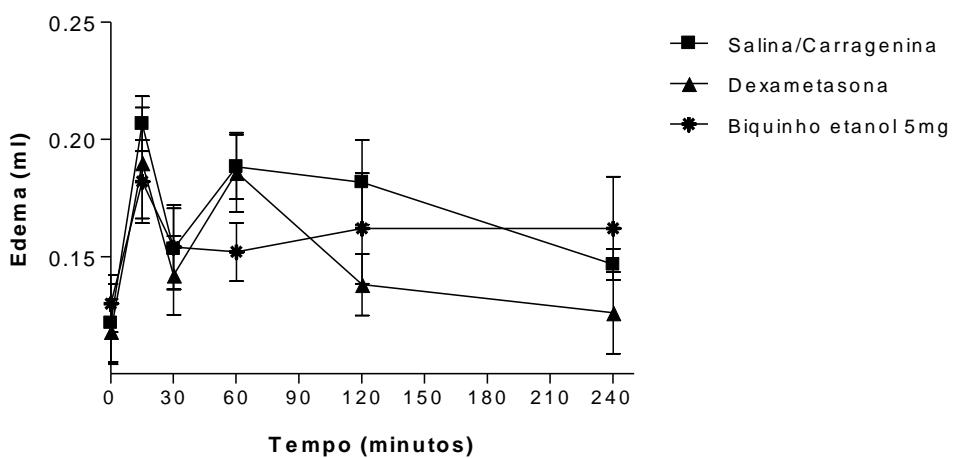
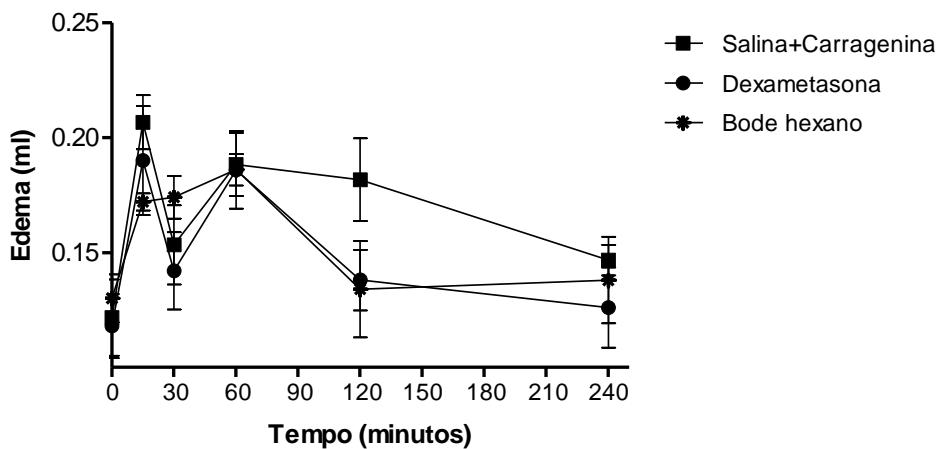


FIGURA 8: Avaliação do efeito antiinflamatório dos extratos brutos da *Capsicum chinense* da variedade Biquinho sobre o teste de edema de pata induzido por carragenina em camundongos. O efeito do edema inflamatório dos extratos brutos da pimenta biquinho foi avaliado em camundongos Swiss (n=5) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses dos extratos brutos hexânicos (A) e etanólicos (B) (1, 5 e 15mg s.c) 15 minutos antes do estímulo do edema (Carragenina 1%, 50 μ L s.p.). O controle negativo recebeu dexametasona 0,4mg/kg (100 μ L s.c.), 30 minutos antes do estímulo. Os animais foram avaliados pela mensuração das patas em diferentes tempos (zero, 15, 30, 120, 240 minutos) utilizando o aparelho Pletismômetro de pata (EFF 304 INSIGHT). Os resultados estão expressos em volume (mL) pelo tempo de tratamento (media \pm SEM) * p<0,05 quando comparado ao grupo tratado com carragenina.

Quando avaliamos o efeito dos extratos hexânicos e etanólicos da variedade Bode da *C. chinense*, observamos que similar a variedade biquinho, o extrato hexânico foi capaz de inibir a atividade edemato-gênica da carragenina, com efeito estatisticamente significativo na 2° hora, quando comparado ao grupo não tratado. A intensidade da inibição foi similar aquela observada com a dexametasona (Figura 9, painel A). De modo similar, os animais tratados com o extrato etanólico apresentaram redução no edema estatisticamente significativa na 2° hora, quando comparado ao grupo não tratado (Figura 9, painel B).

Similar ao observado com a variedade Bode, quando comparamos os dois extratos, não houve diferença estatística ($p<0,05$) entre o extrato hexânico e etanólico da variedade biquinho no pico do efeito antiedemato-gênico (120min). Também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$) entre a atividade antiedemato-gênica das duas variedades de *C. chinense*.

A



B

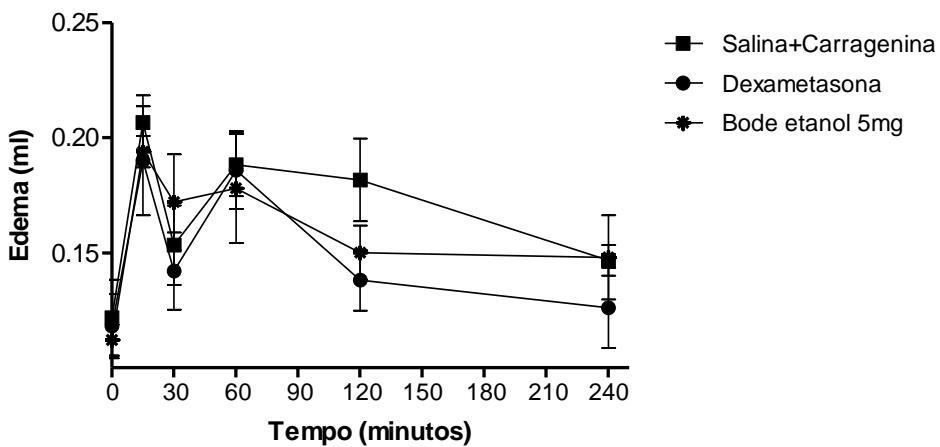


FIGURA 9: Avaliação do efeito antiinflamatório dos extratos brutos da *Capsicum chinense* da variedade Bode sobre o teste de edema de pata induzido por carragenina em camundongos. O efeito do edema inflamatório dos extratos brutos da pimenta bode foi avaliado em camundongos Swiss (n=5) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses dos extratos brutos hexânicos (A) e etanólicos (B) (1, 5 e 15mg s.c) 15 minutos antes do estímulo do edema (Carragenina 1%, 50µL s.p.). O controle negativo recebeu dexametasona 0,4mg/kg (100µL s.c), 30 minutos antes do estímulo. Os animais foram avaliados pela mensuração das patas em diferentes tempos (zero, 15, 30, 120, 240 minutos) utilizando o aparelho Pletismômetro de pata (EFF 304 INSIGHT). Os resultados estão expressos em volume (mL) pelo tempo de tratamento (media ±EPM) * p<0,05 quando comparado ao grupo tratado com carragenina.

Avaliação da Ação Analgésica

Efeito dos extratos brutos das variedades *C. chinense* sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético em camundongos.

Substâncias químicas injetadas por via intraperitoneal induzem contorções abdominais devido à sensibilização de nociceptores por prostaglandinas. Este teste é útil para avaliar a analgesia moderada produzidas por compostos antiinflamatórios (FERREIRA e VANE 1974). O teste de contorções abdominais demonstrou que o extrato hexânico da variedade Bode da *C. chinense* foi capaz de reduzir o número de contorções abdominais acumuladas em todas as doses administradas. A magnitude da inibição foi a mesma em todas as doses, porém maior que aquela observada nos animais tratados com AAS, sugerindo a marcante ação analgésica desse extrato (Figura 10, painel A). Por outro lado, o extrato etanólico não foi capaz de inibir as contorções abdominais nas doses utilizadas, indicando a ausência de efeito analgésico (Figura 10, painel B).

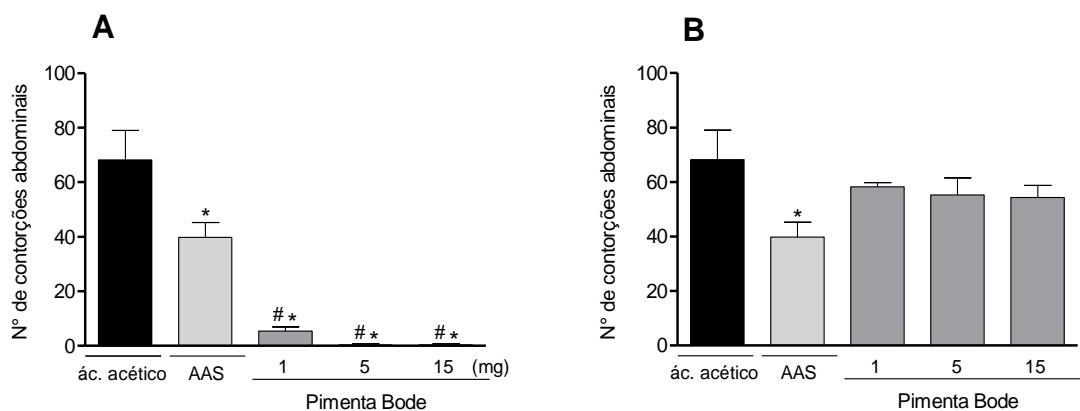


FIGURA 10: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da *Capsicum chinense* da variedade Bode por meio do teste de contorções abdominais em camundongos. O efeito antinociceptivo dos extratos brutos da pimenta bode foi avaliado em camundongos Swiss ($n=5$) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses dos extratos brutos hexânicos (A) e etanólicos (B) (1, 5 e 15mg s.c) 15 minutos antes do estímulo da dor (ácido acético 0,8%, i.p.). O controle negativo recebeu AAS 100mg/kg (100 μ L s.c.). Os animais foram avaliados pelo número de contorções realizado durante 30 minutos após estímulo. Os resultados estão expressos em número de contorções abdominais em diferentes tratamentos (media \pm EPM) * $p<0,05$ quando comparados ao grupo tratado com ácido acético 0,8%.

De modo similar ao observado com a variedade Bode, o extrato da pimenta Biquinho é provido de ação analgésica (Figura 11, painel A). Entretanto, esse efeito foi verificado apenas nas doses de 1mg e 15mg quando comparado ao grupo não tratado. A ação analgésica foi similar aquela observada com AAS e de magnitude menor quando comparado ao extrato hexânico da pimenta Bode. Por outro lado, o extrato etanólico foi capaz de inibir as contorções abdominais apenas nas doses de 15mg (Figura 11, painel B). Esse efeito foi maior que aquele observado com o tratamento com o AAS.

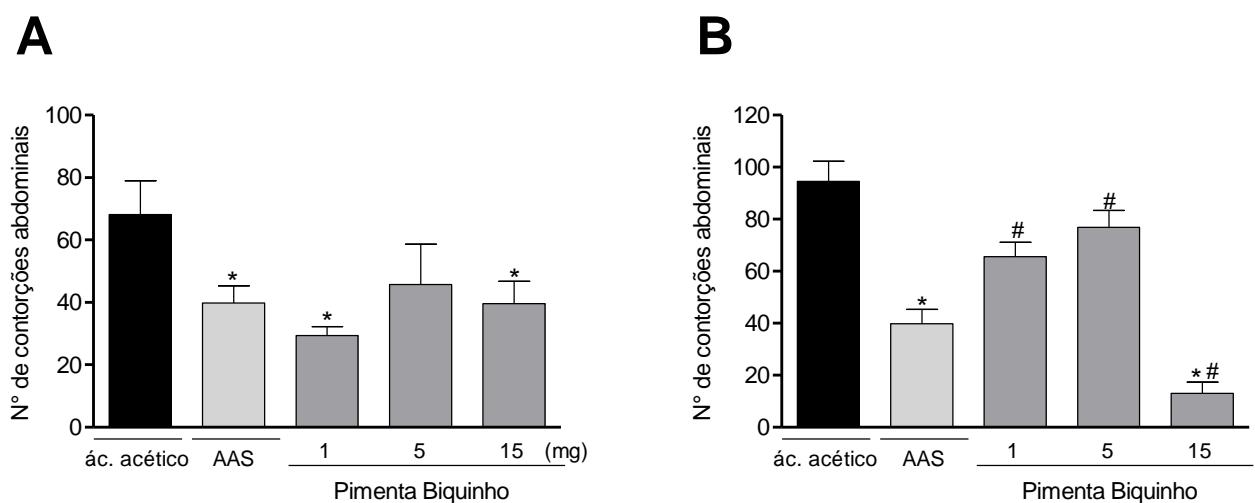


FIGURA 11: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da *Capsicum chinense* da variedade Biquinho por meio do teste de contorções abdominais em camundongos. O efeito antinociceptivo dos extratos brutos da pimenta biquinho foi avaliado em camundongos Swiss ($n=5$) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses dos extratos brutos hexânicos (A) e etanólico (B) (1/5/15mg, s.c) 15 minutos antes do estímulo da dor (ácido acético 0,8%, i.p.). O controle negativo recebeu AAS 100mg/kg (100 μ L s.c.). Os animais foram avaliados pelo número de contorções realizados durante 30 minutos após estímulo. Os resultados estão expressos em número de contorções abdominais em diferentes tratamentos (media \pm EPM) * $p<0,05$ quando comparados ao grupo tratado com ácido acético 0,8%.

Efeito dos extratos brutos das variedades de *C. chinense* sobre o teste de formalina na pata de camundongos.

O teste de formalina é um modelo validado para avaliação de nocicepção e é sensível para diversas classes de drogas analgésicas. Dois períodos distintos da atividade de lamber podem ser identificados, uma fase precoce durando os primeiros 5 minutos e uma fase tardia com duração de 20 a 30 minutos após a injeção de formalina. Foi demonstrado que as duas fases no teste de formalina podem ter

diferentes mecanismos nociceptivos. Sugere-se que a fase inicial é devido a um efeito direto sobre nociceptores e que as prostaglandinas não desempenham um papel importante durante esta fase. A fase tardia parece ser uma resposta inflamatória, com dor inflamatória que pode ser inibida por drogas antiinflamatórias. Apenas drogas analgésicas de ação central são efetivas na inibição da fase da nocicepção (HUNSKAAR 1987).

A figura 12 representa a avaliação do efeito analgésico do extrato etanólico da variedade biquinho da *C. chinense*. Nossos resultados demonstram que nenhuma das concentrações usadas foi capaz de reduzir a nocicepção na fase 1, sugerindo a ausência de efeitos analgésicos centrais do extrato. Entretanto na fase 2, o extrato etanólico apenas na dose de 5mg foi capaz de reduzir a resposta nociceptiva deflagrada pela formalina, quando comparado ao grupo tratado com AAS.

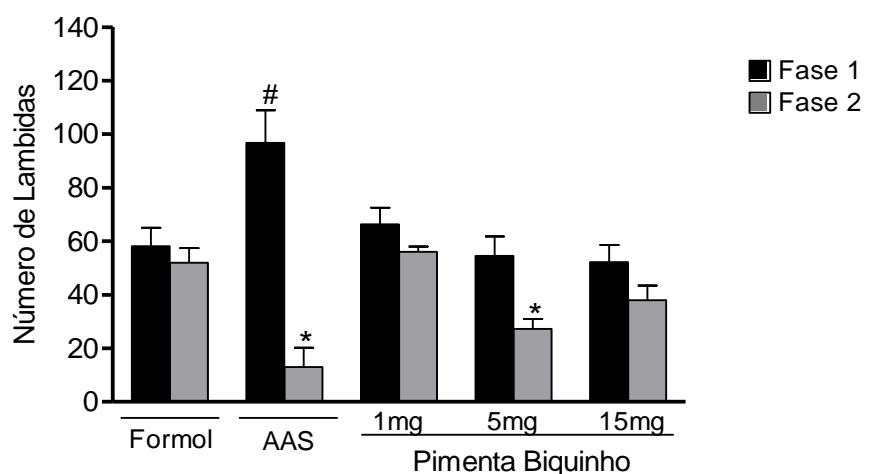


FIGURA 12: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da *Capsicum chinense* da variedade Biquinho por meio do teste de Lambidas induzidas por formalina em camundongos. O efeito antinociceptivo do extrato bruto da pimenta biquinho foi avaliado em camundongos Swiss (n=5) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses do extrato bruto etanólico (1/5/15mg, s.c) 15 minutos antes do estímulo da dor (Formalina 2,5%, s.p.). O controle negativo recebeu AAS 100mg/kg (100µL s.c.). Os animais foram avaliados pelo número de lambidas em duas fases, 1º fase durante os 5 primeiros minutos (pausa de 10 minutos), 2º fase observa-se durante 15 minutos, em um total de 30 minutos após estímulo. Os resultados estão expressos em número de lambidas em diferentes tratamentos (media ±SEM) * p<0,05 quando comparados ao grupo tratado com formalina 2,5%.

A avaliação do efeito analgésico do extrato etanólico da variedade bode da *C. chinense* (Figura 13) demonstrou que esse extrato nas doses avaliadas não foi capaz de reduzir a resposta nociceptiva nas fases 1 e 2 induzidas pela formalina.

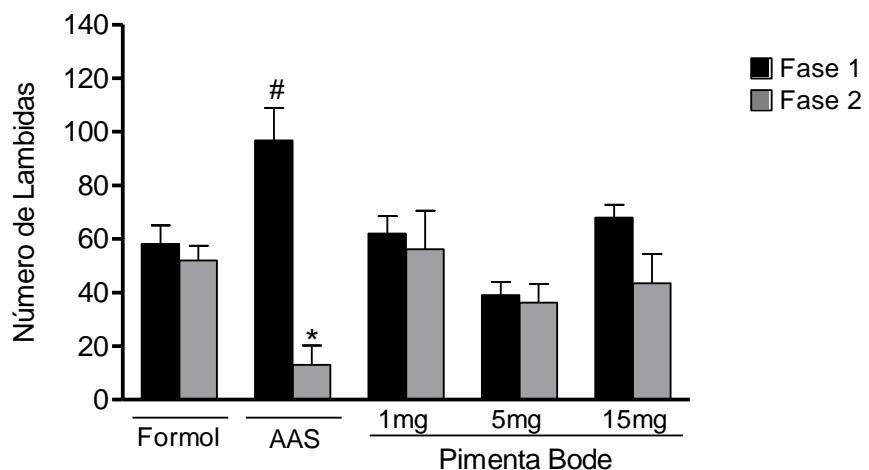


FIGURA 13: Avaliação do efeito antinociceptivo dos extratos brutos da *Capsicum chinense* da variedade Bode por meio do teste de Lambidas induzidas por formalina em camundongos. O efeito antinociceptivo do extrato bruto da pimenta bode foi avaliado em camundongos Swiss (n=5) submetidos ao pré-tratamento com diferentes doses do extrato bruto etanólico (1/5/15mg, s.c) 15 minutos antes do estímulo da dor (Formalina 2,5%, s.p.). O controle negativo recebeu AAS 100mg/kg (100 μ L s.c.). Os animais foram avaliados pelo número de lambidas em duas fases, 1^o fase durante os 5 primeiros minutos (pausa de 10 minutos), 2^o fase observa-se durante 15 minutos, em um total de 30 minutos após estímulo. Os resultados estão expressos em número de lambidas em diferentes tratamentos (media \pm EPM) * p<0,05 quando comparados ao grupo tratado com formalina 2,5%.

Avaliação da atividade hemolítica dos extratos brutos das variedades de *C. chinense* em eritrócitos humanos.

Objetivando a avaliação da atividade citotóxica inicial, foram realizados os ensaios de atividade hemolítica. Na figura 14 estão representados os resultados obtidos com os extratos hexânico e etanólico da variedade biquinho da *C. chinense*. Nossos resultados demonstraram que o extrato hexânico nas doses de 1, 3 e 5mg e o extrato etanólico na dose de 1mg apresentaram atividade hemolítica similar ao grupo incubado com salina. O extrato etanólico nas doses de 3 e 5mg induziram hemólise estatisticamente maior que o grupo salina, mas inferior aquela observada com o controle positivo incubado com Triton-X.

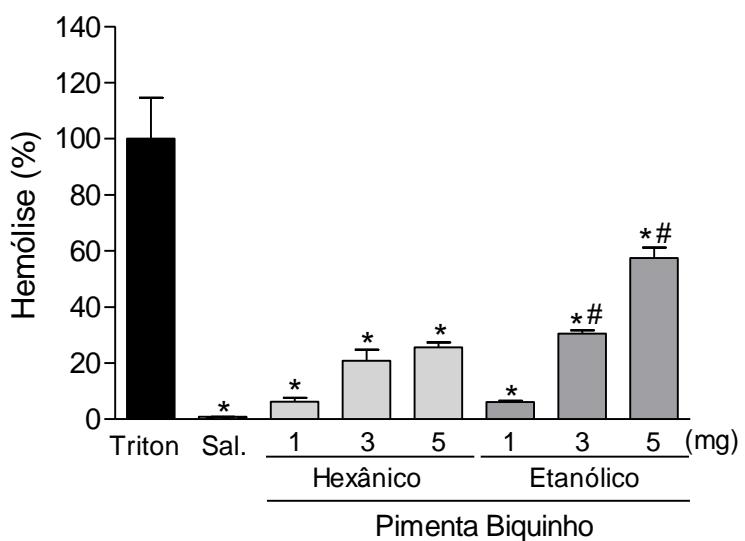


FIGURA 14: Avaliação da atividade hemolítica dos extratos brutos da *Capsicum chinense* variedade Biquinho sobre eritrócitos humanos. O efeito da atividade hemolítica dos extratos brutos da pimenta biquinho foi avaliado em eritrócitos humanos. Em placa de 96 poços, foram adicionados 100 μ L de cada extrato (hexânico e etanólico) em diferentes doses (1/3/5mg). O controle negativo foi Salina 0,9% (100 μ L) e o controle positivo foi Triton X-100 (5 μ L diluídos em 95 μ L de água Milli-Q). A análise foi realizada em espectrometria na absorbância de 540nm. Os resultados estão expressos em porcentagem de hemólise (media \pm EPM) #*p<0,05 quando comparados aos grupos controles salina 0,9% e Triton X-100.

Os extratos da figura 15 não apresentaram efeitos hemolíticos sobre as hemácias em todas as concentrações (1, 3 e 5mg) quando comparados ao controle positivo (Triton), mas quando comparados ao controle negativo (Salina), as concentrações 3mg e 5mg do extrato etanólico mostram-se hemolíticas.

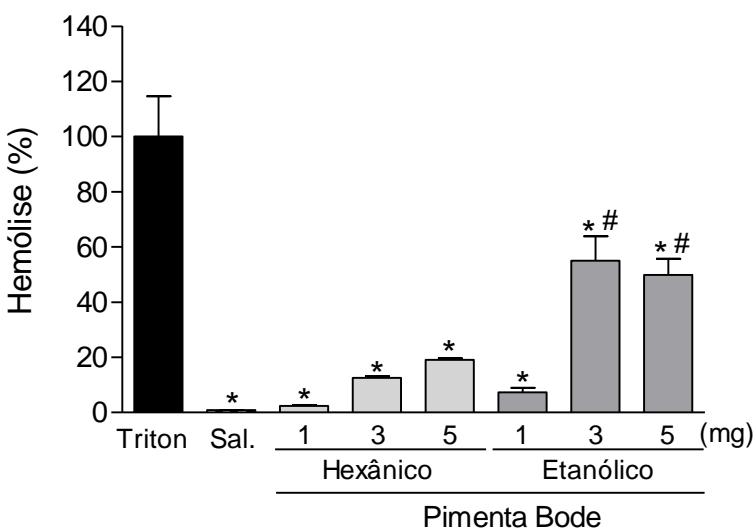


FIGURA 15: Avaliação da atividade hemolítica dos extratos brutos da *Capsicum chinense* variedade Bode sobre eritrócitos humanos. O efeito da atividade hemolítica dos extratos brutos da pimenta bode foi avaliado em eritrócitos humanos. Em placa de 96 poços, foram adicionados 100 μ L de cada extrato (hexânico e etanólico) em diferentes doses (1/3/5mg). O controle negativo foi Salina 0,9% (100 μ L) e o controle positivo foi Triton X-100 (5 μ L diluídos em 95 μ L de água Milli-Q). A análise foi realizada em espectrometria na absorbância de 540nm. Os resultados estão expressos em porcentagem de hemólise (media \pm EPM) #*p<0,05 quando comparados aos grupos controles salina 0,9% e Triton X-100.

DISCUSSÃO

Os seres humanos há muitas gerações têm usado plantas empregadas como especiarias na alimentação e no tratamento de diversas doenças, sendo que estudos já realizados demonstraram a variedade de plantas e seus constituintes com propriedades farmacológicas (SIMÕES 2001). As plantas medicinais apresentam uma ampla diversidade de constituintes denominados de metabólitos primários e secundários. Os metabólitos secundários mais presentes nas plantas são terpenos, glicosídeos, alcalóides, dentre outros, apresentando diferentes atividades biológicas. (RATES 2001; SIMÕES 2001), nesse contexto, as pimentas produzem metabólitos secundários característicos de cada espécie.

O grupo de pimentas é classificado em dois gêneros dentro do Reino Plantae, o gênero *Piper* e o gênero *Capsicum*, as quais apresentam como princípio ativo o alcalóide piperina e capsaicina, respectivamente. O Gênero *Piper*, da família Piperaceae, é representado pela pimenta-do-reino, apresentando modificações nos grãos. (BONTEMPO 2007). A piperina é funcionalmente semelhante a capsaicina.

Estudos revelam que a piperina apresenta alguns efeitos biológicos, como antitireoidiano, antidepressivo e antitumoral (PRADEEP *et al.* 2002; SRINIVASAN 2007; SUNILA *et al.* 2004). Ensaios *in vitro* demonstram que a piperina apresenta potencial efeito antioxidante e anti-apoptótico. Assim a piperina é capaz de inibir a geração de espécies reativas de oxigênio, com importante papel no controle do estresse oxidativo. Mostrou também um grande potencial anti-apoptótico em células do baço, reduzindo o índice de apoptose inibindo a ação da caspase-3 mantendo os níveis de Bcl-2, proteína associada a integridade da membrana mitocondrial (PATHAK *et al.* 2007). Outros estudos revelam que a piperina quando administrada no choque séptico, induzido por LPS foi capaz de aumentar a taxa de sobrevida dos animais experimentais, provavelmente devido à ação imunomoduladora, visto que a produção dos mediadores inflamatórios como o TNF- α , IFN- α e IFN- β foi inibida pela piperina (BAE *et al.* 2010).

O gênero *Capsicum*, pertencente à família Solanaceae. Estudos utilizando extratos etanólicos e metanólicos de plantas dessa família demonstram que esses apresentam atividades analgésicas e antiinflamatórias (JIMOH *et al.* 2011). A família Solanaceae compreende muitas espécies empregadas na alimentação, e são produtoras de substâncias de uso farmacêutico, como atropina e hiosciamina, isoladas de *Atropa belladonna* L. e *Hyocymus niger* L. (AGRA 2000).

Pesquisas recentes com pimentas do gênero *Capsicum* evidenciam propriedades as farmacológicas de algumas espécies, por exemplo, o extrato etanólico e butanólico da *C. baccatum* mostrou-se provido de ação antiinflamatória no modelo de pleurisia induzida por carragenina e efeito antioxidante pelo método DPPH (ZIMMER *et al.* 2012). Outro estudo com extrato metanólico da espécie *C. annuum* revelou que o tratamento oral reduziu a inflamação alérgica das vias aéreas em camundongos, diminuindo também as espécies reativas de oxigênio (JANG *et al.* 2011). Os dados encontrados na literatura corroboram nossos resultados quanto a avaliação da atividade anti-inflamatória de duas variedades de pimenta *Capsicum chinense*, as quais foram capazes de inibir a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal e o edema de pata em camundongos.

Similar ao encontrado em nossos estudos, onde ambas as variedades apresentaram atividade antinociceptiva, estudos com o extrato metanólico das folhas da *Capsicum frutescens* demonstrou inibição dose dependente das contorções

abdominais induzidas por ácido acético e ausência do efeito no teste de placa quente, indicando que a ação antinociceptiva do extrato não ocorre participação de mecanismos centrais, e sim por mecanismos anti-inflamatórios (PIRES *et al.* 2004). Esses efeitos são similares aos apresentados em nosso trabalho, onde a *C. chinense*, nas variedades Bode e Biquinho, apresentaram ação antiinflamatória e antinociceptiva. Entretanto o perfil dessas ações farmacológicas tenham sido distinto entre as duas variedades, sugerindo diferenças qualitativas e quantitativas na composição química desses frutos.

Os frutos são as partes mais variáveis entre as espécies e cultivares do gênero *Capsicum*, com diferenças na forma, cor, e grau de pungência (LORENZI *et al.* 2008). KAPPEL e colaboradores (2008) avaliaram frutos maduros e imaturos quanto à presença de compostos fenólicos em pimentas do gênero *C. baccatum*, e demonstraram que a quantidade de fenóis varia de acordo com o estágio de maturação, sugerindo mudanças fisiológicas e bioquímicas, entretanto ambas formas de maturação da pimenta apresentaram atividade antioxidante. Também foi demonstrado que a atividade antioxidante de frutos da espécie *Capsicum annuum* foi variável de acordo com o grau de pungência das pimentas, onde o teor maior de vitamina E e β-caroteno foi encontrado em frutos mais doces em relação aos picantes (PERUCKA *et al.* 2007). As pimentas Bode e Biquinho usadas em nosso estudo apresentam diferenças na pungência, onde a pimenta biquinho é de pungência doce e com aroma forte, já a pimenta bode, ao contrário, é de pungência forte e aroma forte (REIFSCHEIDER 2000). Apesar dessas diferenças, ambas mostraram atividade antiinflamatória e analgésica semelhantes, quando comparados os efeitos dos extratos com mesmo solvente de extração.

Na placenta dos frutos estão presentes os capsaicinóides, grupo de substâncias responsáveis pela pungência das pimentas e grande parte dos efeitos farmacológicos (REIFSCHEIDER 2000). Dentro do grupo dos capsaicinóides podemos destacar a capsaicina, a dihidrocapsaicina e a nordihidrocapsaicina (SIMÕES *et al.* 2001).

O capsaicinóide mais utilizado para o alívio da dor é a capsaicina. Estudos revelam que pacientes com osteoartrite tratados por via oral ou tópico, com capsaicina demonstraram redução na inflamação e na analgesia da dor de artrite reumatóide (FRAENKEL *et al.* 2004). A capsaicina interage com receptores

nociceptivos ou receptores vaniloides, o mais estudado é o TRPV1, canal presente na membrana plasmática e encontrado em neurônios sensíveis ao calor (LUO *et al.* 2011).

A extração de compostos ativos de plantas depende do tipo de solvente utilizado, por exemplo, o hexano sendo um solvente apolar remove lipídeos, carotenoides e clorofila, enquanto o metanol e etanol, como solventes polares extraem açucares, ácidos orgânicos e fenóis de baixo peso molecular. O acetato de etila e éter dietílico extraem fenóis de baixo peso molecular, enquanto a acetona extraí fenóis poliméricos. Assim os capsaicinoides por serem fenóis são majoritariamente extraídos com uso de solventes polares (MOURE *et al.* 2001).

Entretanto COSTA e colaboradores (2009) realizaram a quantificação dos capsaicinoides em extratos e frações das espécies *C. frutescens* (malagueta), *C. annuum* var. *annuum* (pimentão magali), *C. baccatum* var. *praetermissum* (cumari), demonstrando amplas variações nas concentrações desses capsaicinoides. Os extratos brutos e as frações hexânicas da *C. frutescens* e da *C. baccatum* apresentaram menor concentração de capsaicinoides, sendo que a fração clorofórmica da *C. baccatum* apresentou a maior concentração entre as frações e extratos testados. Esses dados sugerem as diferenças entre os capsaicinoides.

Visto que os extratos hexânicos da variedade Bode e Biquinho foram mais efetivos no controle da inflamação e da dor em relação aos extratos etanólicos, podemos sugerir que outros compostos além dos capsaicinoides são responsáveis pelos efeitos observados. Com base nesses dados, podemos sugerir que em nossos extratos hexânicos estejam presentes outros compostos além dos capsaicinoides presentes. Nesse contexto SHINTAKU e colaboradores (2012) demonstraram a existência de outro grupo, os capsinoides, com principal representante o composto capsíato, encontrado em pimentas vermelhas não pungentes como a *Capsicum annuum*. Similar à capsaicina, o capsíato é capaz de aumentar o metabolismo por estimulação do sistema nervoso simpático, além de ser provido de ação antiinflamatória, porém por mecanismo ainda não esclarecido. Foi demonstrado que o capsíato também é capaz de estimular receptores vaniloides (TRPV1), o qual também é alvo da capsaicina e responsável por seus efeitos analgésicos e antiinflamatórios (ALTIER *et al.* 2004).

Os medicamentos derivados de plantas apresentam uma boa aceitação da população, mesmo presente na indústria farmacêutica apenas uma parcela dos produtos derivados de plantas medicinais. Estudos comprovando a eficácia e os aspectos toxicológicos garantindo a qualidade desses produtos ainda são escassos (RATES 2001). Qualquer substância pode ser considerada tóxica, dependendo das condições de exposição, da quantidade administrada ou absorvida, o tempo e a freqüência e também as vias de administração. Essas características determinam o potencial toxicológico de uma determinada substância (VALENTE *et al.* 2009). Estudos revelam que extratos da pimenta malagueta (*C. frutescens*) não apresentou toxicidade frente aos testes em hemácias suínas e ao teste de presença de botão de hemácias (CARBONERA 2010), podendo correlacionar aos nossos resultados de toxicidade em hemácias humanas. Nossos extratos apresentaram atividade hemolítica menor quando comparados ao controle Triton-X, revelando resultado similar quando comparados ao controle salina. Sugerimos que outros testes de citotoxicidade sejam realizados para comprovarmos a não toxicidade das pimentas.

Embora a importância dos princípios ativos de pimentas esteja bem documentado na literatura e seja alvo para o delineamento de novas drogas, estudos avaliando a composição química das diferentes variedades de pimentas dentro de uma mesma espécie ainda são escassos e podem revelar a existência de novos compostos com potencial aplicação terapêutica.

CONCLUSÕES

Com base nos dados, podemos concluir que os extratos das variedades (bode e biquinho) da *Capsicum chinense* Jacq. revelaram atividades analgésicas e anti-inflamatórias similares, não apresentando toxicidade em eritrócitos, sendo necessários estudos mais aprofundados para a verificação dos compostos existentes em ambos os extratos das variedades.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; GIULIETTI, A. M. Revisão taxonômica de *Solanum* sect. *Erythrorhichum* child (Solanaceae). **Research Gate**, 2000.
- ALTIER, C.; ZAMPONI, G. W. Targeting Ca^{2+} channels to treat pain: T-type versus N-type. **Trends Pharmacol Sci**, 25, 465-470, 2004.
- ANJO, D. F. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, 3(2):145-54, 2004.
- BAE, G. S; KIM, M. S.; JUNG, W. S.; SEO, S. W.; YUN, S. W.; KIM, S. G.; PARK, R. K.; KIM, E. C.; SONG, H. J.; PARK, S. J. Inhibition of lipopolysaccharide-induce inflammatory responses by piperine. **European Journal of Pharmacology**, 642, 154-162. 2010.
- BONTEMPO, M. Pimenta e seus benefícios à saúde. São Paulo: Editora Alaúde, 2007.
- CARBONERA, D. M. **Avaliação toxicológica qualitativa in vitro dos extratos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) e Nim (*Azadirachta indica* A.juss) utilizados como defensivos alternativos**. Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAECÓ, 48, 2010.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) - Botânica da Embrapa Hortalícias. Brasília, DF: **Embrapa Hortalícias**, 2004.
- COSTA , L. M.; MOURA, N. F.; MARANGONI, C.; MENDES, C. E.; TEIXEIRA, A. O. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2009.

FRAENKEL, L.; BOGARDUS Jr., S.T.; CONCATO, J.; WITTINK, D.R. Treatment options in knee osteoarthritis: the patient's perspective. **Arch. Intern. Med.**, 164, 1299–1304, 2004.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v.30, 103-104, 1987.

JANG, H. Y.; KIM, S. M.; YUK, J. E.; KWON, O. K.; OH, S. R.; LEE, H. K.; JEONG, H.; AHN, K. S. *Capsicum annuum* L. methanolic extract inhibits ovalbumin-induced airway inflammation and oxidative stress in a mouse model of asthma. **Journal of Medicinal Food**, 14, 1144-1151, 2011.

JIMOH, A. O.; CHIKA, A.; UMAR, M. T.; ADEBISI, I.; ABDULLAHI, N. Analgesic effects and anti-inflammatory properties of the crude methanolic extract of *Schwenckia americana* Linn (Solanaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 137, 543-546, 2011.

KAPPEL, V. D.; COSTA, G. M.; SCOLA, G.; SILVA, F. A.; LANDELL, M. F.; VALENTE, P.; SOUZA, D. G.; VANZ, D. C.; REGINATTO, F. H.; MOREIRA, J. C. F. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. pendulum at different maturity stages. **Journal of Medicinal Food**, 11 (2), 267-274, 2008.

KIM, C. S.; KAWADA, T.; KIM, B. S.; HAN, I. S.; CHOE, S. Y.; KURATA, T.; YU, R. Capsaicin exhibits anti-inflammatory property by inhibiting I κ B- α degradation in LPS-stimulated peritoneal macrophages. **Cellular Signalling**, 15, 299-306, 2003.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed Proc**, v.18, p.412, 1959.

KWON, M. J.; SONG, Y. S.; CHOI, M. S.; SONG, Y. O. Red pepper attenuates cholesteryl ester transfer protein activity and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Clinica Chimica Acta**, 332, 37–44, 2003.

LEVY, L. Carrageenan paw edema in mouse. *Lif. Sci.* 8 (I), pp. 601 – 606, 1969 *In apud* MUNIZ, J. W. C.; BOZZA, P. T.; DO NASCIMENTO, J. L. M.; REIS, P. A. Atividade anti-inflamatória do óleo-resina da *Copaífera reticulata* em modelo inflamatório de edema de pata. **FIOCRUZ/RJ**, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

LUO, X. J.; PENG, J.; LI, Y. J. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology**, v.650, 1-7, 2011.

MORENO, S. E.; ALVES-FILHO, J. C.; BERTOZI, G.; ALFAYA, T. M.; THÈZE, J.; FERREIRA, S. H.; VARGAFTIG, B. B. Systemic administration of interleukin-2 inhibits inflammatory neutrophil migration: role of nitric oxide. **British Journal of Pharmacology**, v. 148, 1060-1066, 2006.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, v.72, 145-171, 2001.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia.** São Paulo: Atheneu, 2008.

PARK, Y.; PARK, S. N.; PARK, S. C.; PARK J. Y.; PARK, Y. H.; HAHM, J. S.; HAHM, K. S. Antibiotic activity and synergistic effect of antimicrobial peptide against pathogens from a patient with gallstones. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 321, 631-637, 2004.

PATHAK, N.; KHANDELWAL, N. Cytoprotective and immunomodulating properties of piperine on murine splenocytes: An *in vitro* study. **European Journal of Pharmacology**, 576, 160-170, 2007.

PERUCKA, I.; MATERSKA, M. Antioxidant vitamin contents of *Capsicum annuum* fruit extracts as affected by processing and varietal factors. **Acta Sci.Pol., Technol. Aliment.**, v.6, n.4, 67-73, 2007.

PIRES, P. A.; MALVAR, D. C.; BLANCO, L. das C.; VIGNOLI, T.; CUNHA, A. F. da; VIEIRA, E.; DANTAS, T. N. de C.; MACIEL, M. A. M.; CÔRTES, W. da S. e VANDERLINDE, F. A. Estudo das atividades analgésicas do extrato metanólico da *Capsicum frutescens* – Solanaceae (Pimenta malagueta). **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida, Seropédica, RJ: EDUR**, v. 24, n.2, 129-134, 2004.

PRADEEP, C. R.; KUTTAN, G. Effect of piperine on the inhibition of lung metastasis induced by B16F-10 melanoma cells in mice. **Clinical and Experimental Metastasis** 19, 703–708, 2002.

RATES, S. M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v.39, 603-613, 2001.

REIFSCHEIDER, F. J. B. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: **Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortalícias**, 2000.

SHINTAKU, K.; UCHIDA, K.; SUZUKI, Y.; ZHOU, Y.; FUSHIKI, T.; WATANABE, T.; YAZAWA, S.; TOMINAGA, M. Activation of transient receptor potential A1 by a non-pungent capsaicin-like compound, capsiate. **British Journal of Pharmacology**, v.165, 1476-1486, 2012.

SUNILA, E.S.; KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine. **Journal of Ethnopharmacology**, 90, 339–346, 2004.

SURH, Y. J. Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. **Mutat Res**, 428: 305–327, 1999.

SURH, Y. J.; LEE, E.; LEE, J. M. The Capsaicin Study. **Mutation Research**. v.41, 259-267, 2002.

SRINIVASAN, K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47, 735–748, 2007.

VALENTE, R. O. H.; SAMPAIO, F. C.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S. Estudo toxicológico pré-clínico (agudo) do extrato do *Syzygium aromaticum* (L) em roedores. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, 19, 557-560, 2009.

ZIMMER, A. R.; LEONARDI, B.; MIRON, D.; SCHAPOVAL, E.; OLIVEIRA, J. R.; GOSMANN, G. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: from traditional use to scientific approach. **Journal Ethnopharmacology**, 139, 228-233, 2012.

Artigo 2: AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO OU MORTE DE JUVENIS NEMATÓIDES DA ESPÉCIE *Meloidogynes incognita* EXPOSTOS AOS EXTRATOS DE *Capsicum chinense* Jacq

RESUMO: Culturas agrícolas são atacadas por pragas, doenças e parasitas causando grandes perdas nas plantações. Dentre os parasitas, o mais importante são os nematóides do gênero *Meloidogynes*, conhecidos também como nematóides de galhas. Entretanto, os danos causados por esse parasita impedem o desenvolvimento da planta, pois forma galhas nas raízes, local nutritivo dos parasitas. O combate aos fitonematoídes é realizado com produtos químicos e nematicidas, mas estes foram proibidos devido aos danos causados ao meio ambiente e ao homem. Diante disso, várias alternativas vêm sendo estudadas, inclusive extratos de plantas como forma de bioinseticidas. A *Capsicum chinense* é representada por pimentas, e são fontes de substâncias produzidas por metabólitos secundários, dentre eles a capsaicina. O objetivo deste estudo foi avaliar a inativação ou morte de juvenis nematóides da espécie *Meloidogynes incógnita* expostos aos extratos de duas variedades de *Capsicum chinense*. Os extratos dos frutos das variedades foram obtidos pelo método de extração utilizando o solvente etanol, e após concentrados foram roto evaporados a 60°. As concentrações foram diluídas em água Milli-Q e centrifugadas para a obtenção da parte solúvel do extrato. Foram extraídos ovos de nematóides das raízes de Tomateiro, e armazenados em água destilada até que os ovos eclodam. Os nematóides jovens foram expostos a diferentes concentrações (250µg, 350 µg, 400 µg, 500 µg, 1mg) dos extratos etanólicos das variedades da *Capsicum chinense*, e analisados em câmara de Neubauer após 48 horas de exposição. Os resultados demonstraram que os extratos etanólicos, em todas as concentrações, das duas variedades (biquinho e bode) paralisaram/inativaram os juvenis nematóides sugerindo que os extratos apresentam ação nematostática, devido aos nematóides voltarem à mobilidade após a reanálise. Conclui-se que as variedades da *Capsicum chinense* apresentam substâncias nematostáticas, sugerindo uma alternativa no combate desse parasita.

Palavras-chave: *Capsicum chinense*, *Meloidogynes incógnita*, nematostático.

INTRODUÇÃO

As culturas agrícolas de interesse comercial sofrem grandes perdas causadas por diferentes fitopatógenos. Estimativas atuais mostram que as perdas chegam a 14%, mesmo com a utilização dos sistemas de proteção disponíveis. (ALMEIDA, 2007).

Os parasitas mais importantes em plantações, sendo responsáveis por grandes perdas em culturas agrícolas em todo mundo (KIEWNICK, 2006), são os nematóides do gênero *Meloidogynes* spp, conhecidos também como nematóides de galhas

(CHARCHAR *et al.* 2005). Estes são parasitas de aproximadamente 2000 espécies, se hospedando em plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, plantas herbáceas e lenhosas. As plantas nativas do Cerrado são hospedeiras das inúmeras espécies de *Meloidogynes*. As manifestações com os nematóides são comuns em solos do cerrado do Centro-Oeste do Brasil, causando prejuízos de até 100% na produtividade das plantações (Charchar e Moita, 1997). Esses parasitas causam danos às plantas hospedeiras ao formarem as galhas nas raízes. A saliva do parasita, ao penetrar as raízes, introduz uma secreção esofagiana, causando a hipertrofia das células e a hiperplasia no periciclo, originando as células gigantes, fonte nutritiva dos nematodos (BRASS, *et al.*, 2008).

Uma das formas mais utilizadas no controle destes parasitas é o uso de nematicidas sintéticos, na qual estes foram proibidos totalmente ou somente uso restrito devido aos impactos negativos causados ao homem e ao meio ambiente (NICO, *et al.*, 2004). Entretanto, várias alternativas ecologicamente sustentáveis são, atualmente, avaliadas em todo mundo para combater ou controlar os fitonematóides. Uma das alternativas são extratos de diferentes espécies e diversas partes de plantas como matéria prima para a produção de nematicidas naturais (Ferris *et al.* 1999).

O Gênero *Capsicum* pertence à Família Solanacea e é representada por pimentas e pimentões. As pimentas são especiarias originadas da América, cultivadas em todo mundo atualmente. No entanto, o gênero *Capsicum* é representado por cinco espécies domesticadas: *Capsicum annuum* L., *Capsicum baccatum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum frutescens* L. e *Capsicum pubescens* (CARVALHO *et al.* 2004).

A espécie *Capsicum chinense* Jacq. é bastante encontrada nas regiões do Sudeste, Sul e Centro-oeste. Entretanto existem poucas informações científicas sobre seus componentes e suas atividades. Estas produzem metabólitos secundários, dentre eles os capsaicinóides, principal substância contida nas pimentas desta espécie, cuja concentração é variável entre as espécies e as variedades de uma mesma espécie (PERUCKA, *et al.*, 2007). O mais estudado dos capsaicinóides é a capsaicina, presente nas sementes e membranas dos frutos das pimentas, responsável pelo sabor picante (BONTEMPO 2007). Este composto

possui propriedades farmacológicas como a ação mucolítica, termogênica, antiinflamatória e analgésica (PERUCKA, et al., 2007).

Algumas plantas utilizam como defesa de inimigos, pragas e insetos a produção de metabólitos secundários. A quantidade produzida depende das condições de cultivo da planta, tipo de espécie e suas variedades, e a temperatura, podendo ser relacionado ao potencial de perigo e toxicidade aos usuários. Entretanto, produtos naturais apresentam uma rica fonte de compostos a serem explorados na seleção de novos defensivos agrícolas. Suas principais características são a baixa toxicidade para humanos, com baixo impacto ambiental e baixa quantidade de resíduos em alimentos (LOVATTO et al. 2004).

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a inativação ou morte de juvenis nematóides da espécie *Meloidogyne incognita* expostos aos extratos brutos das variedades de *Capsicum chinense* Jacq. como forma alternativa de nematicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo dos extratos brutos etanólicos

Os frutos das duas variedades (biquinho e bode) foram adquiridos no Mercado Municipal de Campo Grande – MS e as exsicatas depositadas no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul com o número de registro 29236 e 33633, respectivamente.

Aproximadamente 2 kg dos frutos foram lavados e secos em estufa com circulação de ar, macerados e submetidos a extração por maceração a frio até o esgotamento por etanol, e concentrados em evaporador rotatório, obtendo-se os respectivos extratos. Assim, os extratos foram distribuídos em diferentes concentrações (250 μ g, 350 μ g, 400 μ g, 500 μ g, 1mg), e diluídos com água ultra-pura e centrifugados (13000 rpm/5min) para a separação das fases. A fase solúvel foi separada para a realização do teste.

O preparo dos extratos foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Mutagênese da Universidade Católica Dom Bosco em Campo Grande-MS.

2.2 Avaliação dos extratos brutos sobre juvenis nematóides “in vitro”

A metodologia aplicada foi de acordo com CHARCHAR e colaboradores (2006), realizada na EMBRAPA CENARGEM de Brasília-DF no laboratório de Biotecnologia.

Os nematóides utilizados foram *Meloidogyne incognita*, extraídos de raízes de Tomates TSW-10. As raízes com presença de galhas foram coletadas, cortadas em pedaços e trituradas em liquidificador juntamente com uma solução hipoclorito 0,5% (NaOCl). Os extratos de raízes foram filtrados em peneiras, e estas deixadas em vasilhas com água destilada para a eclosão dos ovos de nematóides. Estes são contados em câmara de Neubauer para estabelecer um número de nematóides antes do teste.

Os nematóides foram colocados em tubos eppendorfs (1,5mL), aproximadamente 60 (50µL), juntamente com diferentes concentrações (250µg, 350µg, 400µg, 500µg, 1mg) da parte solúvel dos extratos brutos etanólicos da pimenta bode e da pimenta biquinho. O volume foi completado para 1mL com água ultra-pura, sendo deixados em temperatura ambiente por 48 horas para a avaliação dos nematóides. Os nematóides vivem a uma temperatura ótima entre 10° - 30°C.

A análise dos nematóides foi realizada em câmara de Neubauer, observando a paralisação/inativação ou a mobilidade dos mesmos. Após esta análise foi feita a reanálise das amostras com nematóides paralisados/inativados, centrifugando-os a 3000rpm/5min, descartando o sobrenadante e adicionando 1mL de água ultra-pura e deixando-os por mais 48 horas em temperatura ambiente. Após a segunda análise dos nematóides, se esses voltassem a mover-se, o extrato é considerado com ação nematostática, nos casos onde os nematóides permanecerem paralisados na segunda avaliação o extrato é considerado nematicida.

Os resultados foram calculados de acordo com a fórmula:

$\frac{n^{\circ} \text{ paralisados}}{n^{\circ} \text{ total colocado}}$

$n^{\circ} \text{ total contados (móveis e paralisados)}$

RESULTADOS

. Na figura 16, os juvenis nematóides foram expostos a parte solúvel dos extratos da variedade biquinho, em diferentes concentrações (250/350/400/500ug e

1mg). O painel A representa a análise realizada por 48 horas de exposição aos extratos. O extrato da variedade biquinho apresentou resultados significativos de paralisação dos nematóides quando comparados ao controle com água ultra-pura. No painel B está representada a segunda análise das amostras, onde observamos que os nematóides apresentaram mobilidade em todas as concentrações indicando que o extrato da variedade biquinho tem propriedades nematostáticas.

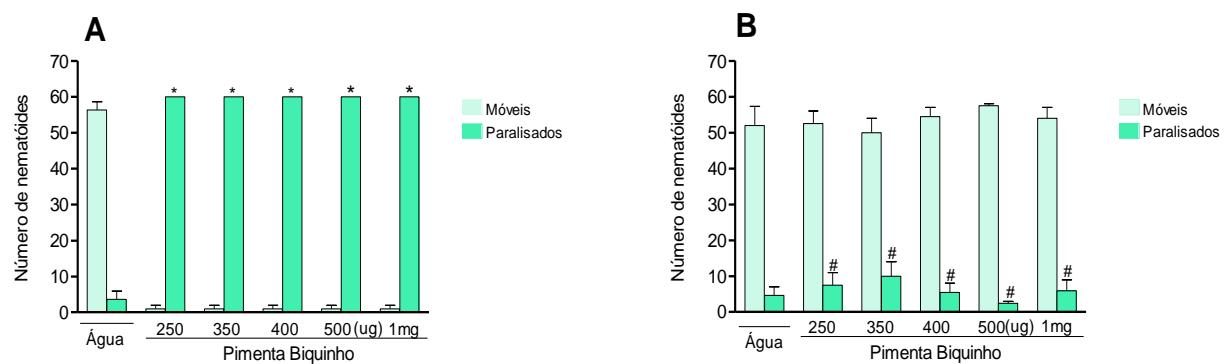


FIGURA 16: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto da *Capsicum chinense* variedade Biquinho. A análise (A) dos juvenis nematóides como inativados ou mortos ocorreu após serem expostos a diferentes concentrações (250/350/400/500ug e 1mg) da parte solúvel do extrato bruto etanólico da pimenta biquinho, sendo avaliados após 48 horas de exposição, contendo aproximadamente 60 nematóides. A reanálise (B) dos nematóides foi realizado após a leitura e observado nematóides paralisados nas amostras. Esta avaliação foi realizada centrifugando os tubos eppendorfs (3000 rpm por 5 minutos) e descartando o sobrenadante e adicionando ao pellet água ultra-pura, armazenando novamente por 48 horas. Os nematóides foram avaliados em câmara de Neubauer em microscópio óptico na objetiva de 40 vezes, classificando-os em paralisados/inativados ou móveis. Os resultados estão expressos em número de nematóides paralisados ou móveis (média ±EPM) *p<0,05 quando comparados ao grupo controle tratado com água ultra-pura.

Objetivando avaliar a termoestabilidade do extrato da variedade biquinho da *C. chinense*, esse foi aquecido overnight (50°) e as diferentes concentrações (250/350/400/500ug e 1mg) empregadas nos ensaios. Na figura 17, painel A, similar ao descrito anteriormente, observa-se que os nematóides expostos aos extratos aquecidos apresentam-se paralisados, com resultados significativos em todas as concentrações avaliadas quando comparados ao controle (água ultra-pura). A reanálise destas amostras (painel B) mostrou que os nematóides expostos ao extrato aquecido apresentaram-se móveis na segunda avaliação. Os resultados sugerem que não houve alterações químicas e nas ações do extrato induzidas pelo calor.

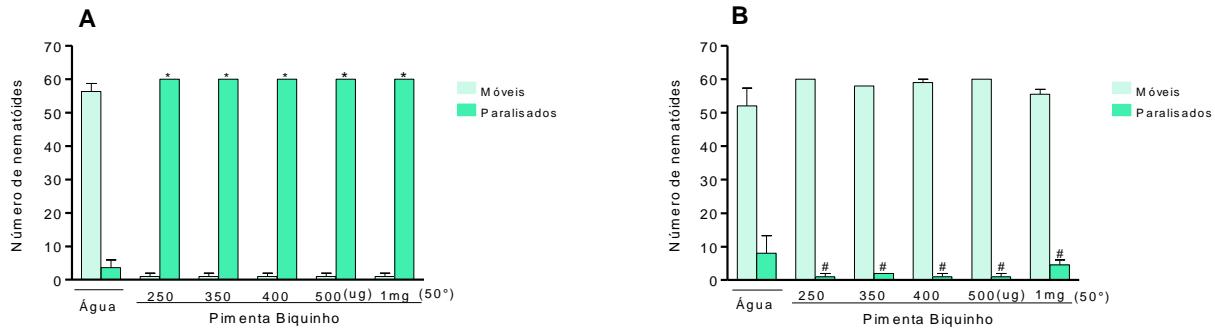


FIGURA 17: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto aquecido da *Capsicum chinense* variedade Biquinho. A análise (A) dos juvenis nematóides como inativados ou mortos ocorreu após serem expostos a diferentes concentrações (250/350/400/500µg e 1mg) da parte solúvel do extrato bruto etanólico da pimenta biquinho, mantidos overnight a 50°C, sendo avaliados após 48 horas de exposição, contendo aproximadamente 60 nematóides. A reanálise (B) dos nematóides foi realizado após a leitura e observado nematóides paralisados nas amostras. Esta avaliação foi realizada centrifugando os tubos eppendorfs (3000 rpm por 5 minutos) e descartando o sobrenadante e adicionando ao pellet água ultra-pura, armazenando novamente por 48 horas. Os nematóides foram avaliados em câmara de Neubauer em microscópio óptico na objetiva de 40 vezes, classificando-os em paralisados/inativados ou móveis. Os resultados estão expressos em número de nematóides paralisados ou móveis (média ±EPM) *p<0,05 quando comparados ao grupo controle tratado com água ultra-pura

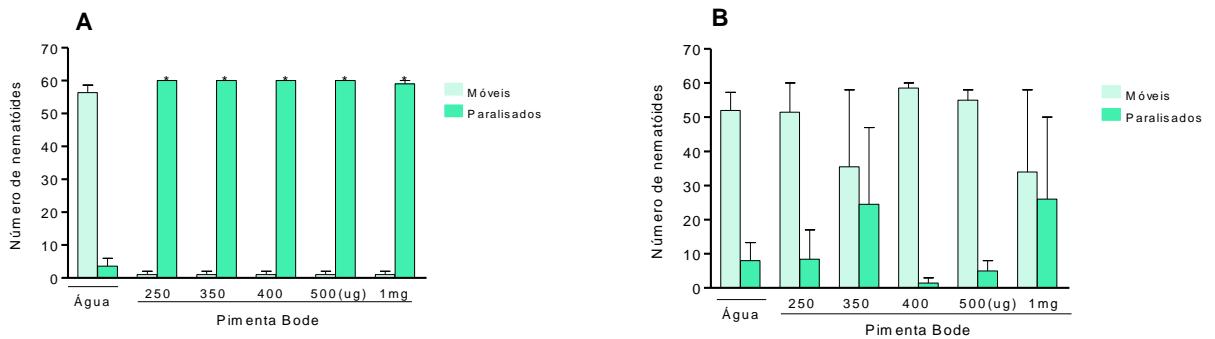


FIGURA 18: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto da *Capsicum chinense* variedade Bode. A análise (A) dos juvenis nematóides como inativados ou mortos ocorreu após serem expostos a diferentes concentrações (250/350/400/500µg e 1mg) da parte solúvel do extrato bruto etanólico da pimenta bode, sendo avaliados após 48 horas de exposição, contendo aproximadamente 60 nematóides. A reanálise (B) dos nematóides expostos a parte solúvel do extrato bruto da pimenta bode em diferentes concentrações (250/350/400/500µg e 1mg) foi realizado após a leitura e observado nematóides paralisados nas amostras. Esta avaliação foi realizada centrifugando os tubos eppendorfs (3000 rpm por 5 minutos) e descartando o sobrenadante e adicionando ao pellet água ultra-pura, armazenando novamente por 48 horas. Os nematóides foram avaliados em câmara de Neubauer em microscópio óptico na objetiva de 40 vezes, classificando-os em paralisados/inativados ou móveis. Os resultados estão expressos em número de nematóides paralisados ou móveis (média ±EPM) *p<0,05 quando comparados ao grupo controle tratado com água ultra-pura.

Na figura 18 (A e B) os nematóides foram expostos a parte solúvel do extrato da variedade bode da *Capsicum chinense*, em diferentes concentrações (250/350/400/500ug e 1mg). A análise (painel A) dos *Meloidogynes* expostos ao extrato evidenciou a paralisação em todas as concentrações, sendo significativo quando comparados ao controle com água ultra-pura. No painel B, foi realizada a reanálise das amostras, onde observamos também efeito nematostático em todas as concentrações do extrato da variedade bode, visto que os nematóides apresentaram mobilidade no momento da avaliação. Porém houve diferença quanto a magnitude do efeito nematostático, visto que nas concentrações de 1mg o extrato da variedade bode foi capaz de manter um maior numero de nematóides paralisados.

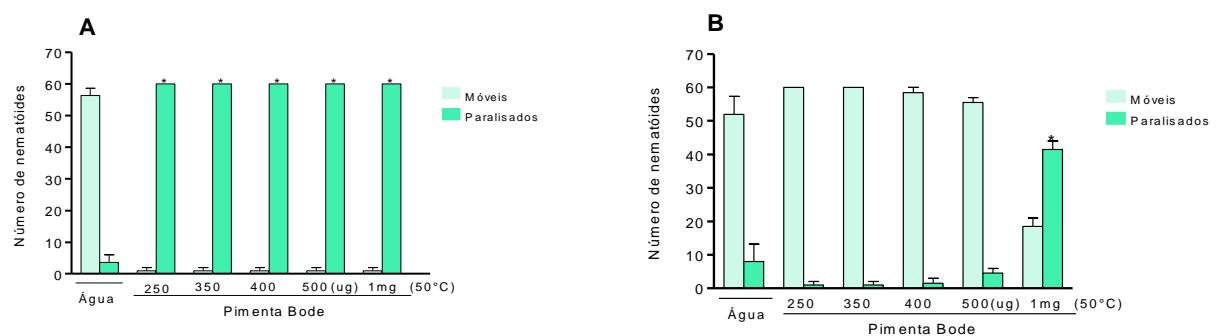


FIGURA 19: Análise e Reanálise da inativação ou morte de juvenis nematóides expostos ao extrato bruto da *Capsicum chinense* variedade Bode. A análise (A) dos juvenis nematóides como inativados ou mortos ocorreu após serem expostos a diferentes concentrações (250/350/400/500ug e 1mg) da parte solúvel do extrato bruto etanólico da pimenta bode, mantidos overnight a 50°C, sendo avaliados após 48 horas de exposição, contendo aproximadamente 60 nematóides. A reanálise (B) dos nematóides expostos a parte solúvel do extrato bruto da pimenta bode em diferentes concentrações (250/350/400/500ug e 1mg) mantidas overnight a 50°C, foi realizado após a leitura e observado nematóides paralisados nas amostras. Esta avaliação foi realizada centrifugando os tubos eppendorfs (3000 rpm por 5 minutos) e descartando o sobrenadante e adicionando ao pellet água ultra-pura, armazenando novamente por 48 horas. Os nematóides foram avaliados em câmara de Neubauer em microscópio óptico na objetiva de 40 vezes, classificando-os em paralisados/inativados ou móveis. Os resultados estão expressos em número de nematóides paralisados ou móveis (média ±EPM) *p<0,05 quando comparados ao grupo controle tratado com água ultra-pura.

Na figura 19 a avaliação (painel A) dos nematóides expostos ao extrato da pimenta bode aquecido overnight a 50°, apresentou resultados de paralisação em todas as concentrações utilizadas, mostrando-se significativo quando comparado ao controle com água ultra-pura. A reanálise (painel B) dos nematóides apresentou parasitas móveis, demonstrando assim que o extrato manteve efeito nematostático sobre os nematóides em todas as concentrações do extrato da pimenta bode, observando que na maior concentração (1mg) alguns nematóides permaneceram paralisados, similar ao observado com o extrato não aquecido.

DISCUSSÃO

O controle dos nematóides com o uso de nematicidas químicos é uma das primeiras formas de controle, mas estes apresentam impactos negativos causados ao homem e ao meio ambiente (Nico 2004). Atualmente várias opções são avaliadas para o desenvolvimento de alternativas ecologicamente sustentáveis para o controle dos fitonematoídes, dentre elas o controle biológico com o uso de plantas antagônicas, extratos de diferentes espécies de plantas medicinais, rotação de culturas e cultivares resistentes (CHARCHAR et al. 2005).

Com isso, uma alternativa para o combate dos fitonematoídes são as pimentas devido as suas características. O gênero *Capsicum*, é representado por pimentas e pimentões encontrados em várias regiões do Brasil, principalmente no Centro-Oeste. Este gênero produz metabólitos secundários, dentre eles, o mais conhecido grupo dos capsaicinóides (LORENZI et al. 2008) podendo ser usados na defesa de plantas contra pragas, insetos e doenças.

Estudos revelam que uma das alternativas no combate de nematóides é o porta-enxerto resistentes, um método efetivo para plantas parasitadas por nematóides. Estudos de porta-enxertos de diferentes acessos de *Capsicum* spp, e cultivares foram testados quanto à resistência a *M. incógnita* e *M. javanica*. Os resultados deste estudo revelaram que acessos de *C. frutescens* são altamente resistentes a espécies de *Meloidogynes*. As diferentes espécies de *Capsicum* referenciadas neste estudo (*C. chacoense*, Charleston quente e *C. annuum*) apresentaram maior resistência ao *Meloidogyne incógnita* apresentando quantidades pequenas de galhas nas raízes (OKA 2004). Entretanto, alternativas para nematicidas são necessários, entre elas, a resistência da planta hospedeira, fornecendo eficácia, economia e ambientalmente o controle de nematóides. Outros estudos isolaram genes de plantas resistentes ao parasita. Os genes isolados da *Capsicum annuum*, mostraram-se altamente específicos e outros foram eficazes contra uma variedade de espécies de *Meloidogynes*. O gênero *Capsicum*, pertence a família Solanaceae, a qual estudos revelam resistência aos fitonematoídes, geralmente associada à hipersensibilidade. (DJIAN-CAPORALINO 1999).

PEGARD e colaboradores (2005) revelaram em seus estudos que as diferentes espécies de *Meloidogynes* apresentaram penetrações diferenciadas nas raízes. Os dados demonstraram que pimentas originadas no México (Criollo de morelos)

apresentam dois tipos de resistência a *Meloidogynes*, uma é suprimindo a penetração dos juvenis e a outra é o desenvolvimento de blocos após a penetração. Outras pesquisas realizadas com cultivares de *Capsicum chinense* apresentaram resistência a *Meloidogynes arenaria* com pouca presença de ovos nas galhas. Já a espécie de *M. javanica*, não foi patogênica a qualquer cultivar de *Capsicum chinense*, apresentando nenhuma escoriação de galhas nas raízes (THIES *et al.* 2001).

Portanto, pesquisas revelam que diferentes espécies de pimentas apresentam resistências aos parasitas *Meloidogynes* quando expostos as suas raízes. Sugere-se que componentes existentes nas plantas de pimentas do gênero *Capsicum*, repelem nematóides de várias formas. Nossos resultados demonstraram que os nematóides quando expostos *in vitro* ao extrato dos frutos das variedades de pimentas da espécie *Capsicum chinense* paralisaram seus movimentos, inativando-os, sugerindo que os extratos inibem as funções fisiológicas dos nematóides, podendo levá-los a morte, sem causar danos às plantações, sendo necessários estudos mais avançados para denominação dos compostos com atividades nematostáticas ou nematicidas.

Desse modo, ainda são escassas pesquisas com pimentas no combate aos fitonematóides. Assim, estudos com plantas pertencentes à outra família (Magnoliaceae) apresentaram atividade nematicida contra os nematóides das espécies *P. redivivus* e *B. xylophilus* após exposição de 48 horas. As plantas referidas neste estudo foram *Magnolia grandiflora* e *Michelia hedyosperma*, sendo o primeiro relatório com plantas desta família relacionadas a nematicidas. Os resultados com efeitos nematicidas dependem da parte da planta extraída, podendo existir diferentes componentes químicos em toda a planta (HONG *et al.* 2007).

Entretanto, BEGUM e colaboradores (2011) demonstraram que o isolamento de substâncias da casca, folhas e frutos da planta *Cordia latifolia* deram origem a dois novos componentes com propriedades nematicidas (ácido cordinóico e cordicilínico) contra *Meloidogynes incógnita*.

Atualmente, outros estudos estão sendo realizadas com extratos de plantas no combate de nematóides de outras espécies. Por exemplo, o extrato aquoso da planta *Caryocar brasiliense* que se revelou eficiente na atividade anti-helmíntico em estudos com nematóides em intestinos de ovelhas (NOGUEIRA *et al.* 2012).

CONCLUSÃO

Nossos dados sugerem que os nematóides da espécie *Meloidogynes incognita* apresentam paralisia de seus movimentos quando expostos aos extratos etanólicos das duas variedades da *Capsicum chinense* Jacq. (Pimenta Biquinho e Bode), concluindo que as variedades de pimentas apresentam atividade nematostática sobre os *Meloidogynes incognita*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, H. O. **Identificação de peptídeos antimicrobianos de folhas de berinjela para o controle de patógenos de plantas.** 128p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.
- BEGUM, S.; PERWAIZ, S.; SIDDIQUI, B. S.; KHAN, S.; FAYYAZ, S.; RAMZAN, M. Chemical constituents of *Cordia latifolia* and their nematicidal activity. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, 2011.
- BONTEMPO, M. Pimenta e seus benefícios à saúde. São Paulo: **Editora Alaúde**, 2007.
- BRASS, F. E. B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E.; BOSQUÊ, G. G. Aspectos biológicos do *Meloidogynes* spp. relevantes à cultura de café. **Revista Científica de Agronomia**, v.14, 2008.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B. Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) - Botânica da Embrapa Hortaliças. Brasília, DF: **Embrapa Hortaliças**, 2004.
- CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de batata a uma infestação mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.21, 39-48, 1997.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Metodologia para seleção de hortaliças com resistência a nematóides: Alface/*Meloidogyne* spp. **Comunicado técnico, EMBRAPA**, 2005.

CHARCHAR, J. M.; OLIVEIRA, V. R.; ARAGÃO, F. A. S. Extração dos espécimes de *Meloidogyne* das raízes de tomateiros pela técnic do liquidificador. **Nematologia Brasileira**, v.30, 245-250, 2006.

Djian-Caporalino, C.; Pijarowski, L.; Januel, A.; Lefebvre, V.; Daubeze, A.; Palloix, A.; Dalmasso, A.; Abad, P. Spectrum of resistance to root-knot nematodes and inheritance of heat-stable resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). **Tag Theoretical and Applied Genetics**, v.99, 496-502, 1999.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogynes javanica*. **Journal of Nematology**, v.31, 241-263, 1999.

HONG, L.; LI, G.; ZHOU, W.; WANG, X.; ZHANG, K. Screening and isolation of a nematicidal sesquiterpene from *Magnolia grandiflora* L.. **Pest. Management Sience**, v.63, 301-305, 2007.

KIEWNICK, S.; SIKORA, R. A. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. **Biological Control**, v.38, 179-187, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticos**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

LOVATTO, P. B.; GOETZE, M.; THOMÉ, G. G. H. Efeito de extratos de plantas silvestres da família Solanaceae sobre o controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (Brassica Oleraceae Var. Acephala). **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 34, 971-978, 2004.

NICO, A. I.; JIMNEZ-DÍAZ, R. M.; CASTILHO, P. Controlo of root-knot nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. **Crop Protection**, v.23, 581-587, 2004.

NOGUEIRA, F. A.; FONSECA, L. D.; SILVA, R. B.; FERREIRA, A. V. P.; NERY, P. S.; GERASEEV, L. C.; DUARTE, E. R. In vitro and in vivo efficacy of aqueous extract of *caryocar brasiliense* camb. To control gastrointestinal nematodes in sheep. **Parasitol Res.** 2012.

OKA, Y.; OFFENBACH, R.; PIVONIA, S. Pepper rootstock graft compatibility and response to *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v.36, 137-141, 2004.

PEGARD, A.; BRIZZARD, G.; FAZARI, A.; SOUCAZE, O.; ABAD, P.; DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. **Phytopathology**, v.95, 2005.

PERUCKA, I.; MATERSKA, M. Antioxidant vitamin contents of *Capsicum annuum* fruit extracts as affected by processing and varietal factors. **Acta Sci.Pol., Technol. Aliment.**, v.6, n.4, p.67-73, 2007.

THIES, J. A.; FERY, R. L. Characterization of *Capsicum chinense* cultigens for resistance to *Meloidogynes arenaria*, *Meloidogynes hapla* and *Maeloidogynes javanica*. **Plant Disease**, v.85, 267-270, 2001.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A perspectiva do presente estudo é avaliar a citotoxicidade dos extratos sobre as células animais, a atividade mutagênica, e para ampliar as propriedades farmacológicas realizar testes com células tumorais e atividades antioxidantes. Assim, realizar o fracionamento dos extratos brutos e se possível a quantificação dos compostos capsaicinóides.

4 REFERENCIAS

ALMEIDA, H. O. **Identificação de peptídeos antimicrobianos de folhas de berinjela para o controle de patógenos de plantas.** 128p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.

BONTEMPO, M. Pimenta e seus benefícios à saúde. São Paulo: Editora Alaúde, 2007.

BOSLAND, P. W.; VOTATA, E. **Peppers: vegetable and spice Capsicums**, New York: CABI Publishing, p.66-83, 1999 In: KUMAR, R.; DWIVEDI, N.; SINGH, R. K.; KUMAR, S. RAI, V. P.; SINGH, M. A review on molecular characterization of pepper for capsaicin and oleoresin. **Internation Jounal of Plant Breeding and Genetics**, v.5, 99-110, 2011.

BRASS, F. E. B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E.; BOSQUÊ, G. G. Aspectos biológicos do Meloidogynes spp. relevantes à cultura de café. **Revista Científica de Agronomia**, v.14, 2008.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazillian Journal of Medicinal and Biological Research**, v.33, 179-189, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, 131-134, 2005.

CHARCHAR, J. M.; MOITA, A. W. Reação de cultivares de batata a uma infestação mista de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.21, 39-48, 1997.

CHARCHAR, J. M.; OLIVEIRA, V. R.; ARAGÃO, F. A. S. Extração dos espécimens de *Meloidogyne* das raízes de tomateiros pela técnic do liquidificador. **Nematologia Brasileira**, v.30, 245-250, 2006.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v.31, 241-263, 1999.

KIM, C. S.; KAWADA, T.; KIM, B. S.; HAN, I. S.; CHOE, S. Y.; KURATA, T.; YU, R. Capsaicin exhibits anti-inflammatory property by inhibiting I κ B- α degradation in LPS-stimulated peritoneal macrophages. **Cellular Signalling**, 15, 299-306, 2003.

LI, M.; WU, X.; XU, X. C. Induction of apoptosis in colon cancer cells by cyclooxygenase-2 inhibitor NS398 through a cytochrome c-dependent Pathway. **Clinical Cancer Research**, v.7, 1010-1016, 2001.

LOPES, G. C.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; MELLO, J. C. P. Estudo físico-químico, químico e biológico de extrato das cascas de *Stryphnodendron polypyllum* Mart. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, 24-27, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

LUO, X. J.; PENG, J.; LI, Y. J. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology**, 650, 1-7, 2011.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quimica Nova**, v.25, 429-438, 2002.

MORASSUTTI, C.; AMICIS, F.; SKERLAVAJ, B.; ZANETTI, M.; MARCHETTI, S. Production of a recombinant antimicrobial peptide in transgenic plants using a modified VMA intein expression system. **FEBS Letters**, 519, 141-146, 2002.

NICO, A. I.; JIMNEZ-DÍAZ, R. M.; CASTILHO, P. Controlo of root-knot nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. **Crop Protection**, v.23, 581-587, 2004.

OMENA, M. L. R. A. Ensaio Etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originárias do Bioma Caatinga. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.2, 92-107, 2007.

PERUCKA, I.; MATERSKA, M. Antioxidant vitamin contents of Capsicum annuum fruit extracts as affected by processing and varietal factors. **Acta Sci.Pol., Technol. Aliment.**, v.6, n.4, p.67-73, 2007.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, 45-61, 2002.

REIFSCHEIDER, F. J. B. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: **Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças**, 2000.

SHARMA, R. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; GOMES, A. C. Nematóides nocivos ao Maracujazeiro. **Comunicado Técnico EMBRAPA: Ministério da Agricultura e do Abastecimento**, n.4, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora Universidade/UFRGS, 2001.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v.20, 135-142, 2006.

VIEGAS Jr, C.; BOLZANI, V. S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v.29, 326-337, 2006.