

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO**

**CURSO DE MEDICINA**

**Declaração de entrega do Trabalho de Conclusão de Curso**

Declaro que o trabalho intitulado *Análise das Atividades Biológicas e dos Peptídeos Bioativos da Planta *Ananas comosus* (Abacaxi)* realizado pela aluna **Caroline Baptista Tanganelli** está apto para entrega, apresentação e avaliação das bancas nomeadas.

**Prof. Dr. Marcelo Andreetta Corral**

**Assinatura do Orientador do Trabalho**

---

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO**

**Curso de Medicina**

**Caroline Baptista Tanganelli**

**ANÁLISE DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS E DOS PEPTÍDEOS  
BIOATIVOS DA PLANTA *Ananas comosus* (ABACAXI)**

**São Paulo**

**2024**

**Caroline Baptista Tanganelli**

**ANÁLISE DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS E DOS PEPTÍDEOS  
BIOATIVOS DA PLANTA *Ananas comosus* (ABACAXI)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título Bacharel em Medicina. Orientador(a) Prof. Dr. Marcelo Andreetta Corral

**São Paulo**

**2024**

T169a Tanganelli, Caroline Baptista.  
Análise das atividades biológicas e dos peptídeos bioativos da planta *Ananas comosus* (Abacaxi) / Caroline Baptista Tanganelli. – São Paulo, 2024.  
24 p. : il., color.  
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Andreetta Corral.  
  
TCC Graduação. (Curso Superior em Medicina) - Universidade Santo Amaro, 2024.  
Bibliografia incluída.  
  
1. *Ananas comosus*. 2. Peptídeos. 3. Atividade antioxidante.  
I. Corral, Marcelo Andreetta. orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

CDD 575

**Caroline Baptista Tanganelli**

**ANÁLISE DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS E DOS PEPTÍDEOS  
BIOATIVOS DA PLANTA *Ananas comosus* (ABACAXI)**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da  
Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do  
título Bacharel em Medicina.**

**Orientador: Prof. Dr. Marcelo Andreetta Corral**

**São Paulo, 21 de junho de 2024**

**Banca Examinadora**

**Prof. Dr. Marcelo Andreetta Corral**

**Orientador**

**Profa. Dra. Gecilmara Salviato Pileggi**

**Avaliadora**

**Profa. Dra. Patricia Colombo de Souza**

**Avaliadora**

**Conceito Final**

---

Caroline Baptista Tanganelli, Marcelo Andreetta Corral. *Análise das Atividades Biológicas e dos Peptídeos Bioativos da Planta Ananas comosus (Abacaxi)*. [Trabalho de Conclusão de Curso]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade Santo Amaro, 2024.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** *Ananas comosus*, mais conhecido como abacaxi, é uma infrutescência muito comum no Brasil e na América do sul, é utilizado na dieta brasileira principalmente nas formas *in natura* e de suco de sua polpa. Com o passar do tempo, seus benefícios medicinais tradicionais começaram a chamar a atenção de alguns pesquisadores, principalmente por suas propriedades farmacológicas em doenças que acometem o mundo todo, como o câncer. No entanto, as pesquisas com essa planta ainda são ínfimas e insuficientes perante seu grande potencial ainda inexplorado. Tratamentos em vigor, além de onerosos e impactarem no sistema de saúde, ainda possuem grande taxa de morbimortalidade, sinalizando a grande necessidade do trabalho árduo de pesquisadores do mundo todo em encontrar novas alternativas. Assim como diversos vegetais, o abacaxi apresenta um grande conteúdo proteico, destacando-se enzimas proteolíticas como a Bromelina, e apresenta uma composição que é favorável à atividade antioxidante e antitumoral. **METODOLOGIA:** Foram realizados ensaios bioquímicos e biofísicos, *in vitro*, a fim de analisar a atividade antioxidante dos extratos do abacaxi. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Foi obtida reposta antioxidante pelos métodos empregados, com o predomínio de atividade oxidante na casca macerada pelo método de Folin, porém reduzida em relação ao miolo quente pelo método DPPH, apesar de não se constatar um consumo global significativo deste reagente. **CONCLUSÃO:** Os resultados obtidos sugerem o potencial terapêutico dos extratos de abacaxi e indicam a importância de estudos adicionais para explorar sua eficácia e aplicabilidade clínica, especialmente no contexto da prevenção e tratamento do câncer.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus*. Peptídeos. Atividade antioxidante. Atividade anticâncer.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** *Ananas comosus*, better known as pineapple, is a very common fruit in Brazil and South America, primarily consumed fresh or as juice. Over time, its traditional medicinal benefits have attracted the attention of researchers, particularly for its pharmacological properties in diseases such as cancer, which affect people worldwide. However, research on this plant is still scarce and insufficient given its untapped potential. Current treatments, besides being costly and straining healthcare systems, also have high morbidity and mortality rates, highlighting the urgent need for researchers worldwide to find new alternatives. Like many vegetables, pineapple contains high levels of protein, including proteolytic enzymes like Bromelain, and has a composition favorable to antioxidant and antitumor activity. **METHODOLOGY:** Biochemical and biophysical assays were conducted in vitro to analyze the antioxidant activity of pineapple extracts. **RESULTS AND DISCUSSION:** Antioxidant response was observed through both methods, with predominant antioxidant activity in the macerated peel by the Folin method, although reduced compared to the hot core by the DPPH method, although no significant overall consumption of this reagent was observed. **CONCLUSION:** The results suggest the therapeutic potential of pineapple extracts and emphasize the importance of further studies to explore their efficacy and clinical applicability, especially in the prevention and treatment of cancer.

**Keywords:** *Ananas comosus*. Peptides. Antioxidant activity. Anticancer activity.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
1.1 <i>Ananas comosus</i> (abacaxi).....	11
1.2 Potencial medicinal do abacaxi.....	12
1.3 Câncer .....	12
1.3.1 Antioxidantes e as células tumorais.....	13
1.4 Bromelina e os principais antioxidantes do abacaxi .....	14
2. METODOLOGIA .....	16
2.1. Obtenção dos extratos.....	16
2.2 Atividade antioxidante.....	16
2.3 Quantificação de compostos fenólicos .....	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
3.1 Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo Folin-Ciocalteu.....	18
3.2 Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH.....	19
3.3. Análise .....	20
4. CONCLUSÃO .....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22

ANÁLISE DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS E DOS PEPTÍDEOS BIOATIVOS DA  
PLANTA *Ananas comosus* (ABACAXI)

ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITIES AND BIOACTIVE PEPTIDES OF  
THE *Ananas comosus* (PINEAPPLE) PLANT.

TANGANELLI, Caroline Baptista<sup>1</sup>

CORRAL, Marcelo Andreetta<sup>2</sup>

## RESUMO

*Ananas comosus*, mais conhecido como abacaxi, é uma infrutescência muito comum no Brasil e na América do sul, é utilizado na dieta brasileira principalmente nas formas *in natura* e de suco de sua polpa. Com o passar do tempo, seus benefícios medicinais tradicionais começaram a chamar a atenção de alguns pesquisadores, principalmente por suas propriedades farmacológicas em doenças que acometem o mundo todo, como o câncer. No entanto, as pesquisas com essa planta ainda são ínfimas e insuficientes perante seu grande potencial ainda inexplorado. Tratamentos em vigor, além de onerosos e impactarem no sistema de saúde, ainda possuem grande taxa de morbimortalidade, sinalizando a grande necessidade do trabalho árduo de pesquisadores do mundo todo em encontrar novas alternativas. Assim como diversos vegetais, o abacaxi apresenta um grande conteúdo proteico, destacando-se enzimas proteolíticas como a Bromelina, e apresenta uma composição que é favorável à atividade antioxidante e antitumoral. Foram realizados ensaios bioquímicos e biofísicos, *in vitro*, a fim de analisar a atividade antioxidante dos extratos do abacaxi. Foi obtida reposta antioxidante através de ambos os métodos, com o predomínio de atividade oxidante na casca macerada pelo método de Folin, porém reduzida em relação ao miolo quente pelo método DPPH, apesar de não se constatar um consumo global significativo deste reagente. Os resultados obtidos sugerem o potencial terapêutico dos extratos de abacaxi e indicam a importância de estudos adicionais para explorar sua eficácia e aplicabilidade clínica, especialmente no contexto da prevenção e tratamento do câncer.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus*. Peptídeos. Atividade antioxidante. Atividade anticâncer.

## ABSTRACT

*Ananas comosus*, better known as pineapple, is a very common fruit in Brazil and South America, primarily consumed fresh or as juice. Over time, its traditional medicinal benefits have attracted the attention of researchers, particularly for its pharmacological properties in diseases such as cancer, which affect people worldwide. However, research on this plant is still scarce and insufficient given its untapped

---

<sup>1</sup> Graduando em Medicina da Universidade Santo Amaro. carol.acupfit@gmail.com

<sup>2</sup> Professor Orientador. Doutor, Universidade Santo Amaro -SP – mcorral@prof.unisa.br

potential. Current treatments, besides being costly and straining healthcare systems, also have high morbidity and mortality rates, highlighting the urgent need for researchers worldwide to find new alternatives. Like many vegetables, pineapple contains high levels of protein, including proteolytic enzymes like Bromelain, and has a composition favorable to antioxidant and antitumor activity. **METHODOLOGY:** Biochemical and biophysical assays were conducted in vitro to analyze the antioxidant activity of pineapple extracts. **RESULTS AND DISCUSSION:** Antioxidant response was observed through both methods, with predominant antioxidant activity in the macerated peel by the Folin method, although reduced compared to the hot core by the DPPH method, although no significant overall consumption of this reagent was observed. **CONCLUSION:** The results suggest the therapeutic potential of pineapple extracts and emphasize the importance of further studies to explore their efficacy and clinical applicability, especially in the prevention and treatment of cancer.

**Keywords:** *Ananas comosus*. Peptides. Antioxidant activity. Anticancer activity.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 *Ananas comosus* (abacaxi)

O abacaxi (*Ananas comosus*) é uma infrutescência que pertence à família Bromeliaceae, originário da América do Sul (Figura 1), ele contém em sua composição, principalmente, água, carboidratos, açúcares, vitaminas A, B, C, beta-caroteno, proteínas, gorduras, fibras e antioxidantes nomeadamente flavonóides, além de ácido cítrico e ácido ascórbico. (SILVA, et al., 2013).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de abacaxi, em 2018 sua produção foi de 2.650.479 toneladas e embora essa planta tenha várias aplicações e grande potencial econômico, poucas espécies de Bromeliaceae têm sido estudadas quanto a seus aspectos químicos e farmacológicos. (RODRIGUES, et al., 2020).

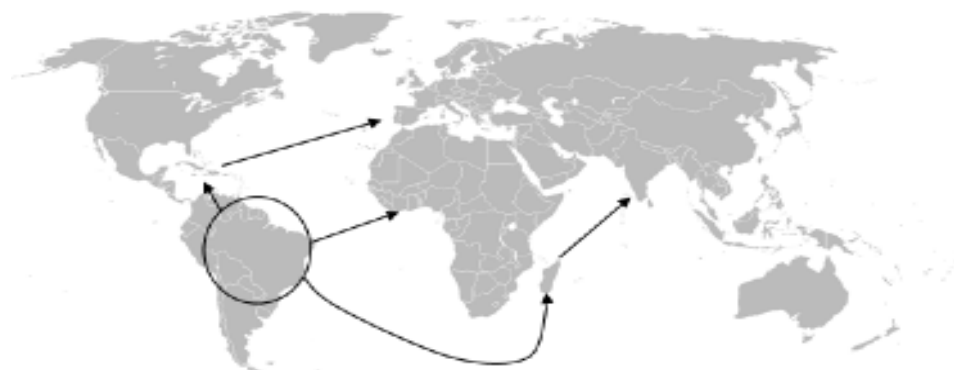


Figura 1- Ilustração do centro de origem do abacaxi e suas rotas de dispersão. Assinalada com o círculo está a origem e as diferentes rotas de dispersão da fruta para as outras regiões do mundo estão demonstradas por meio das setas. (Crestani et al., 2010).

## **1.2 Potencial medicinal do abacaxi**

Os abacaxis são fontes ricas e inexploradas de polifenóis bioativos com atividade antioxidante. Segundo RODRIGUES et al (2020), alguns estudos fotoquímicos relataram a presença de flavonoides, polifenóis, taninos, carboidratos, glicosídeos e proteínas no extrato de folhas do abacaxi que funcionam como bioativos compostos.

Dentro dessas substâncias, a bromelina, uma enzima proteolítica extraída principalmente do caule, tem aplicações em diversas áreas, tais como, na indústria de cosméticos, alimentícia e na medicina. (RODRIGUES, et al., 2020).

Em vários países o extrato do abacaxi tem sido usado na medicina tradicional devido suas propriedades farmacológicas como, antiinflamatório, antioxidante, antibacteriano, antidiabético, antitrombótico, anticoagulante, anti-helmíntico, antimicrobianos e anticâncer. Além disso, estudos mostram que resíduos de algumas frutas, como o abacaxi, podem mostrar uma maior atividade antioxidante do que em sua polpa e estes antioxidantes seriam capazes de prevenir ou inibir processos de oxidação no corpo humano. (RODRIGUES, et al; 2020; SILVA et al., 2013).

## **1.3 Câncer**

Câncer é um termo utilizado para representar mais de 100 doenças, incluindo tumores malignos de diferentes localizações, é definido como uma enfermidade multicausal crônica, em que as células possuem crescimento descontrolado sendo que o desenvolvimento de suas variadas formas resulta de uma interação entre fatores endógenos e ambientais. (ROHENKOHL, Caroline Cavali; CARNIEL, Ana Paula; COLPO, Elisângela, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2024) estima uma incidência de 35,3 milhões de novos casos de câncer em 2050, quantidade de casos 77% maior em relação aos 20 milhões de casos estimados em 2022.

As neoplasias malignas constituem-se na segunda causa de morte na população desde 2003, representando aproximadamente 17% dos óbitos de causa conhecida, notificados no Sistema de Informações Sobre Mortalidade. (ROHENKOHL, Caroline Cavali; CARNIEL, Ana Paula; COLPO, Elisângela, 2011). De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) cerca de 1 em cada 5 pessoas desenvolverá câncer durante a vida; sendo que a proporção de mortalidade chega a 1 em cada 9 homens e 1 em cada 12 mulheres. (OMS, 2024).

Uma pesquisa global da OMS sobre Cobertura Universal de Saúde (UHC, *em inglês*) e Câncer revelou que apenas 39% dos países incluídos fornecem tratamento básico para câncer como parte de seus serviços de saúde financiados para todos os cidadãos. Além disso, apenas 28% desses países oferecem cuidados paliativos, incluindo alívio da dor, não apenas relacionados ao câncer (OPAS, 2024).

Esses dados ressaltam o aumento significativo da carga causada pelo câncer. Isso destaca também o impacto desproporcional que a doença exerce sobre as populações menos favorecidas, evidenciando a urgência em lidar com as disparidades relacionadas ao câncer em escala global.

### **1.3.1 Antioxidantes e as células tumorais**

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, comparadas a de um substrato oxidável, retarda ou inibe significativamente a oxidação deste substrato, as principais enzimas responsáveis pela defesa antioxidante do organismo estão a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx), constituindo a primeira defesa endógena de neutralização das espécies reativas de oxigênio (EROS). (ROHENKOHL, Caroline Cavali; CARNIEL, Ana Paula; COLPO, Elisângela, 2011).

Eles agem nas três linhas de defesa orgânica contra as EROS. A primeira linha de defesa é a de prevenção, caracterizando-se pela proteção contra a formação de substâncias agressoras. A segunda, é a interceptação, os antioxidantes interceptam os radicais livres, os quais uma vez formados iniciam suas atividades destrutivas e a terceira linha de defesa é o reparo que ocorre quando as duas primeiras defesas não foram completamente efetivas e os produtos de destruição pelos EROS estão sendo

continuamente formados e podem se acumular no organismo. (ROHENKOHL, Caroline Cavali; CARNIEL, Ana Paula; COLPO, Elisângela, 2011).

As fases de iniciação, promoção e progressão de carcinogênese têm sido relacionadas ao estresse oxidativo, caracterizado em circunstâncias nas quais o excesso de radicais livres resulta em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos sendo que o organismo encontra-se em estresse oxidativo quando ocorre desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, de maneira que os sistemas pró-oxidantes sejam predominantes. (ROHENKOHL, Caroline Cavali; CARNIEL, Ana Paula; COLPO, Elisângela, 2011).

#### **1.4 Bromelina e os principais antioxidantes do abacaxi**

A bromelaína ou bromelina presente na fruta do abacaxi recebeu o número EC. 3.4.22.33 e é considerada como a bromelaína da fruta (FBM). Já, a bromelaína presente no caule do abacaxi é chamada de bromelaína do caule (SBM) e seu número é EC 3.4.22.32. É a enzima protease principal encontrada na planta do abacaxi, conhecida quimicamente desde 1876 e identificada pela primeira vez por Marcano em 1891. (FERREIRA, et al., 2016).

A bromelaína-tronco (EC. 3.4.22.32) é uma tiol endopeptidase com 23,8 kDa e ponto isoelétrico (pI) 9,55, é conhecida por suas aplicações clínicas terapêuticas principalmente na ação antibiótica, desbridamento seletivo de queimaduras, atividade antiinflamatória, antitrombóticas, fibrinolíticas e na modulação do crescimento de tumores, além de efeitos anti metastáticos. É uma enzima proteolítica, como já citada anteriormente, com aplicações em diversas áreas, além da medicina. A bromelaína do caule possui diferentes propriedades bioquímicas e de composição em comparação à bromelaína da fruta e contém uma mistura variada de diferentes tiol-endopeptidases. (RODRIGUES et al., 2020; NOVAES, et al., 2014; BRESOLIN, et al., 2013; MANZOOR, et al., 2016).

Pesquisadores reconheceram vários mecanismos anticancerígenos da bromelaína, como desligar o sinal do gene essencial NF-kappaB, supressão da expressão de Cox-2, regulação positiva de p53 e Bax e pela iniciação da autofagia. A

bromelaína exibe atividade anti metastática, estimula várias caspases e promove apoptose. (FERREIRA et al., 2016).

Além disso, FERREIRA et al (2016) evidenciou que o uso de bromelaína diminui o tamanho do tumor e resulta em danos reduzidos às células saudáveis possuindo menos efeitos posteriores. Ela promove notavelmente a regressão do tumor para certas linhas celulares, incluindo a leucemia P-388, sarcoma (S-37), carcinoma epidermóide A-431, melanoma A-375, câncer de pulmão de Lewis e câncer de mama ADC-755. Além disso, o uso de bromelaína em conjugação com medicamentos quimioterápicos melhora a eficiência dessas drogas em certa medida.

Dentre os principais propulsores do sistema antioxidante do abacaxi estão o  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno e a criptoxantina presentes que destacam-se pela atividade pró-vitamina A, sendo convertidos em vitamina A ou retinol após a ingestão, os carotenóides têm ação antioxidante, protegendo células e tecidos dos danos causados pelos radicais livres, fortalecendo o sistema imunológico e inibindo o desenvolvimento de certos tipos de câncer. (BRESOLIN, et al., 2013).

O abacaxi também apresenta altos níveis de outros antioxidantes, como compostos fenólicos e vitamina C, a vitamina C é um antioxidante natural que pode inibir o desenvolvimento de condições clínicas graves, como doenças cardíacas e alguns tipos de câncer. Os compostos fenólicos responsáveis pelo amargor, adstringência, sabor, cor e estabilidade oxidativa de frutas e vegetais têm mostrado efeito na proteção da saúde, não só com atividade antioxidante pela eliminação dos radicais livres, mas também inibindo enzimas hidrolíticas e oxidativas e funções antiinflamatórias em células humanas. (BRESOLIN, et al., 2013).

Estudos em áreas menos exploradas cientificamente e com grande potencial de viabilidade como no caso de plantas como o abacaxi, são extremamente importantes, principalmente quando estes podem diminuir a taxa de mortalidade e incidência do câncer no Brasil e no mundo. Além do ganho humanitário, através da maior chance de preservação de vidas, o aspecto econômico também é beneficiado, principalmente no Brasil onde a população pode utilizar o SUS (Sistema Único de Saúde), considerando o alto custo dos tratamentos vigentes, otimizando substancialmente a economia do país, gerando menos gastos para os estados e municípios.

De acordo com dados da *American Cancer Society* (ACS, 2020), o câncer é a segunda doença mais onerosa nos Estados Unidos, sendo seu custo anual de, aproximadamente, 157 bilhões, perdendo apenas para o custo das doenças cardíacas. No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2022) estima que os gastos totais com três tipos de câncer (mama, colorretal e endométrio, entre os mais incidentes do País) serão de R\$ 2,5 bilhões em 2030 e R\$ 3,4 bilhões, em 2040.

Assim, há a necessidade da continuidade e empenho dos pesquisadores para a descoberta de novos caminhos que levem à diminuição da mortalidade dos pacientes, bem como à prevenção desta doença.

Diante de disso os objetivos deste estudo são avaliar as atividades biológicas dos extratos e produtos da planta *Ananas comosus* (abacaxi). Para isso será necessário obter extratos aquosos do miolo da planta *Ananas comosus* (abacaxi) e produtos dos diferentes estágios de maturação da casca do abacaxi para realizar análises físico-químicos e os testes laboratoriais e realizar análises para avaliação de concentração de compostos fenólicos hidrossolúveis e lipossolúveis e a atividade antioxidante do material.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. Obtenção dos extratos**

Serão analisados dois tipos de extratos, sendo eles preparados de forma quente a 100°C e de forma macerada. Para a produção dos extratos aquosos, serão batidos 10g das amostras do miolo da planta *Ananas comosus* em 100 mL de água. O material será homogeneizado em liquidificador, filtrado em algodão e o volume acertado. Os extratos serão concentrados ou diluídos em água, conforme a necessidade, e serão mantidos em *freezer* até a realização das análises.

### **2.2 Atividade antioxidante**

Será testada a atividade sequestrante de radicais livres dos extratos aquosos utilizando o modelo fotocolorimétrico in vitro do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) adaptado para microplacas de 96 poços, conforme PIRES et al, 2017.

Primeiramente são realizadas as curvas de padronização, em triplicata. Os reagentes utilizados para o preparo das curvas são: DPPH, ácido ascórbico e água destilada, seguindo os volumes e concentrações de acordo com o protocolo (PIRES et al, 2017). Após o processo, deve-se incubar por 30 minutos protegido da luz direta e em temperatura ambiente. Em seguida, realiza-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro de microplacas UV/vis a absorbância a 517 nm.

Os reagentes utilizados para o ensaio de DPPH em microplaca para a avaliação do potencial dos extratos/compostos são: DPPH, amostra, água destilada. adicionando os volumes indicados de acordo com o protocolo (PIRES, et al, 2017). Após o preparo do ensaio de DPPH em microplaca com os extratos, é necessário a incubação por 30 min protegido da luz direta, em temperatura ambiente. Em seguida, realiza-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro de microplacas UV/vis a absorbância a 517 nm.

### **2.3 Quantificação de compostos fenólicos**

Serão quantificados os compostos fenólicos dos extratos pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado para microplaca de 96 poços, conforme apresentado em PIRES, et al., 2017.

O preparo das curvas padrões serão realizados em triplicata, utilizando os reagentes: água destilada, reagente Folin-Ciocalteu, ácido tânico ( $C_{76}H_{52}O_{46}$ ) e carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ), seguindo os volumes de reagente mencionados no protocolo.<sup>12</sup> Será adicionado ácido tânico ( $C_{76}H_{52}O_{46}$ ) sendo o substituto do ácido gálico ( $C_7H_6O_5$ ) em uma concentração de ( $0,2mg.mL^{-1}$ ), e a solução saturada (10%) de carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ) que deve ser sempre a última a ser adicionada ( $60\mu L$ ). Após o preparo das curvas é necessário incubação da placa por 20 minutos em temperatura ambiente, protegido da luz direta (PIRES et al, 2017).

Para a técnica de dosagem de fenóis adaptada para microplaca de 96 poços serão realizados ensaios em triplicata, e testadas em três concentrações diferentes

do extrato bruto, com a finalidade de estimar a concentração de extrato com melhor potencial antioxidante.

Os reagentes utilizados para a técnica de dosagem de fenóis serão: ácido tânico, água destilada, reagente Folin-Ciocalteu, amostra (extrato ou composto), carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), adicionando os volumes indicados no protocolo (PIRES et al, 2017). Após a realização da dosagem de fenóis, é necessário a incubação da microplaca com as amostras por 20 minutos, em temperatura ambiente e protegido da luz direta. Em seguida, realiza-se a leitura das absorvâncias em espectrofotômetro de microplacas UV/vis a 630nm.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo Folin-Ciocalteu**

Os resultados (Figura 2) mostraram que a amostra da casca macerada em temperatura ambiente do abacaxi conferiu maior grau de compostos fenólicos, apresentando resposta de 8,642512077 ug de ácido tânico, enquanto a casca quente apresentou 0,896940419 ug.

Isso mostra a presença de compostos antioxidantes no extrato de abacaxi, sendo a amostra de casca macerada em temperatura ambiente quase dez vezes maior que na amostra com casca quente. Já nas amostras do miolo, os resultados apresentaram uma quantidade reduzida dos compostos fenólicos em relação a casca em torno de 75%.

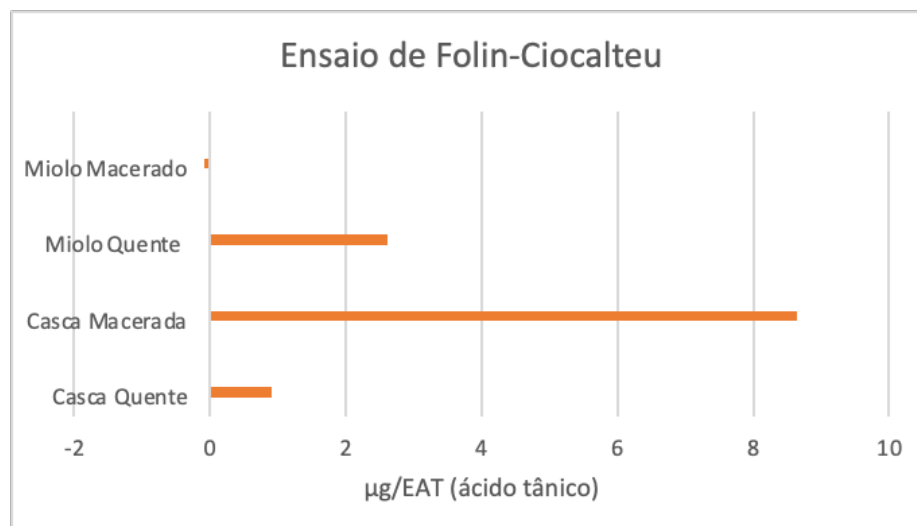


Figura 2. Gráfico sobre as absorvâncias dos extratos de miolo macerado, miolo quente, casca macerada e casca quente por µg de ácido tânico.

### 3.2 Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH

À medida que o radical DPPH é reduzido, a absorvância (Abs) da reação a 517 nm diminui. Portanto, ao calcular a porcentagem de atividade antioxidante (% AAO) do material, é necessário substituir os resultados dos ensaios na seguinte fórmula: (PIRES, et al, 2017).

$$\% \text{ AAO} = \frac{(\text{Abs Controle DPPH} - \text{Abs Amostra}) \times 100}{\text{Abs Controle DPPH}}$$

A partir dos resultados obtidos na equação, para cada amostra, observou-se uma predominância de atividade antioxidante no miolo, principalmente no miolo quente. Já na amostra da casca macerada, os resultados apresentaram uma quantidade reduzida de antioxidantes em relação ao miolo, cerca de 50% (Figura 3).

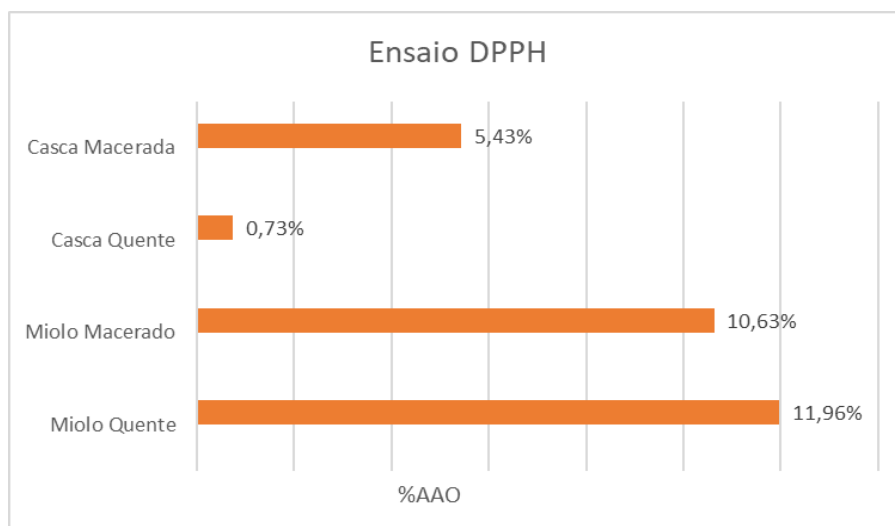


Figura 3. Gráfico sobre as absorbâncias dos extratos de miolo macerado, miolo quente, casca macerada e casca quente por  $\mu\text{g}$  de ácido tânico.

### 3.3. Análise

Em uma recente revisão sobre a bioatividade dos compostos do abacaxi no câncer de mama (KUMAR et al., 2023) reafirmou a importância da enzima bromelaína como agente antimetastático. Com resultado anterior semelhante (HAIYAN, et al., 2020), a bromelaína, principal endopeptidase extraída do abacaxi e que possui diversas propriedades anti-inflamatórias, atuou sobre o crescimento tumoral pela inibição da expressão de p53, Bax, Cox-2 e Bcl2, ligadas diretamente a processo metabólico de multiplicação neoplásica. Apesar dessas premissas, pouca investigação se faz sobre efeitos antioxidantes do abacaxi em neoplasias, tão pouco sobre a extração de seus bioativos.

Atualmente, o ensaio de Folin-Ciocalteu é um dos mais aceitos e utilizados para avaliar a atividade indireta do potencial antioxidante de uma amostra, utilizando como princípio medir o poder redutor em extratos vegetais. (KARAKAYA, 2004).

Dessa forma, neste estudo buscou-se verificar se nos extratos da planta *Ananas comosus* (abacaxi) existem substâncias fenólicas, apresentando em sua estrutura anéis aromáticos com uma ou mais hidroxilas ligadas a ela, conferindo assim, atividade redutora, que podem atuar doando elétrons ou agindo no sequestro de radicais livres (antioxidantes).

Os compostos fenólicos do abacaxi são encontrados em suas diversas partes, sendo a bromelina do talo frequentemente usada na indústria a despeito das encontradas no fruto, (DEVAKATE et al., 2009) e pouco se sabe sobre os compostos fenólicos da casca do abacaxi. Notadamente, a partir da metodologia empregada, os resultados obtidos neste estudo são a favor de uma extração de compostos fenólicos mais bem sucedida quando utilizada a casca macerada a temperatura ambiente. Interessante notar que entre os poucos estudos que consideram a análise da extração da bromelina na casca (NOVAES, 2013) foi concluído que a estabilidade da molécula se dá a 20°C, apesar de uma metodologia diferente utilizada, de sistema de duas fases aquosas (SDFa).

O DPPH é caracterizado por sua estabilidade e baixa taxa de deterioração, apresentando pouca reatividade com a maioria dos compostos. Por isso, somente reagentes redutores fortes têm a capacidade de atuar sobre esse radical. A baixa absorbância, conforme indicado por SANTOS et al. (2007), sugere uma atividade sequestrante de radicais livres.

BORGES et al. (2020) em uma pesquisa sobre a atividade antioxidante dos compostos bioativos do abacaxi, pela utilização do método DPPH, alcançou uma ação moderada na redução desse radical, assim como, em estudo semelhante, ao avaliar a atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroetanólico frente ao DPPH sobre os compostos fenólicos na polpa e casca de duas variedades do abacaxi (DE OLIVEIRA JUNIOR, et al., 2020), também não constatou um consumo significativo desse reagente. Porém, mesmo corroborando em parte com a literatura, em relação a moderada ação antioxidante dos extratos frente ao método, em nosso estudo houve uma diferença considerável na extração do miolo quente, principalmente em relação à casca macerada. Já pelo ensaio de Folin-Ciocalteu, os teores de compostos fenólicos totais avaliados nos extratos da casca em ambos os estudos foram relativamente maiores do que os extratos da polpa, resultado similar ao encontrado no desenvolvimento desse projeto.

#### **4. CONCLUSÃO**

A partir da metodologia laboratorial aplicada, na obtenção de extratos aquosos do miolo da planta *Ananas comosus* e produtos dos diferentes estágios de maturação da casca, assim como a realização de análises comparativas para avaliação de concentração de compostos fenólicos diversos, conclui-se que a partir dos resultados alcançados, através do método de captura de radicais livres DPPH, foi obtido uma relativa quantidade de atividade antioxidante nas amostras examinadas, principalmente no miolo. Contudo, no emprego do método de Folin-Ciocalteu, verificou-se que os teores de compostos fenólicos totais nos extratos da casca macerada foram mais elevados em comparação com os demais extratos analisados, evidenciando o potencial de atividade antioxidante do abacaxi, sobretudo na casca.

Portanto, considerando-se as possibilidades terapêuticas na utilização desses extratos, se faz necessária a continuação e aprimoramento de estudos, a fim de melhorar a reprodutibilidade e acurácia dos ensaios, assim como verificar a aplicabilidade da casca comparativamente ao miolo em novos testes *in vitro*, como também, em células neoplásicas, a fim de tornar viável o uso dos bioativos do abacaxi, sobretudo na medicina preventiva contra o câncer, assim como no tratamento de neoplasias já em progressão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN CANCER SOCIETY. Cancer Statistics. Disponível em: <https://cancerstatisticscenter.cancer.org>. Acesso em: 24 fev 2024.

BORGES, R. B. G., MORAIS, R. A., SOARES, C. M. D. S., SANTOS, A. L. D., MARTINS, G. A. D. S., & SILVA, J. F. M. D. Universidade Federal do Tocantins, 2020. Bioactive compounds of pineapple (*Pineapple comosus*) and girl finger pepper (*Capsicum baccatum*) and their correlation with antioxidant activity. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3210>. Acesso em: 15 jan.2024

BRESOLIN, Iara R.A.P. et al. Isolation and purification of bromelain from waste peel of pineapple for therapeutic application. Braz. arch. biol. technol., Curitiba, v. 56, n. 6, p. 971-979, Dec. 2013.

CRESTANI, Maraisa et al. Das Américas para o Mundo - origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. Ciência Rural, Santa Maria, Américas para o Mundo -

origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.6, p.1473-1483, jun, 2010

DE OLIVEIRA JÚNIOR, Charles Ivo et al. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro da casca e polpa de abacaxi pérola e abacaxi havaiano. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás. *Periódico Tchê Química*, v. 17, n. 34, 2020

DEVAKATE, R.V. PATIL, V.V., WAJE, S.S., THORAT, B.N. Purification and drying of bromelain, *Separation and Purification Technology*, Volume 64, Issue 3, Pages 259-264, 2009.

FERREIRA, Ester A. et al. BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PINEAPPLE FRUIT OF DIFFERENT CULTIVARS. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v. 38, n. 3, e-146, 2016 .

HAIYAN, S., FUNING M., KEMING, L. et al. Growth of Breast Cancer Cells Inhibited by Bromelains Extracted from the Different Tissues of Pineapple. *Folia Biol (krakow)* 68(3):81–88.,2020.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estatísticas de Câncer. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>. Acesso em: 25 fev. 2024

KARAKAYA, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical. Rev. F. Sci. Nutr.* 44: 453- 464, 2004.

KUMAR, V., KUMAR, D., GARG,V., & DUREIA, H. An updated review of pineapple and its bioactive compounds in breast cancer. *Cancer Adv*, 6, e23005, 2023.

MANZOOR, Zoya et al. Bromelain: Methods of Extraction, Purification and Therapeutic Applications. *Braz. arch. biol. technol.*, Curitiba, v. 59, e16150010, 2016

NOVAES, Letícia C. L. et al. The influence of pH, polyethylene glycol and polyacrylic acid on the stability of stem bromelain. *Braz. J. Pharm. Sci.*, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 371-380, jun, 2014.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Carga global de câncer aumenta em meio à crescente necessidade de serviços. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/brasil>. Acesso em: 25 fev. 2024

PIRES, Janaina; TORRES, Priscila B.; dos Santos, Déborah Y.A.C.; Chow, Fungyi. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017. Disponível em:

[https://www2.ib.usp.br/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=72&Itemid=98](https://www2.ib.usp.br/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=72&Itemid=98). Acesso em 16 jun. 2021

RODRIGUES Caroline. I, et al. Assessment of in vitro anthelmintic activity and bio-guided chemical analysis of BRS Boyrá pineapple leaf extracts. *Vet Parasitol.* 2020 Sep; 285:109219.

ROHENKOHL, Caroline Cavali; CARNIEL, Ana Paula; COLPO, Elisângela. Consumo de antioxidantes durante tratamento quimioterápico. *ABCD, arq. bras. cir. dig.*, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 107-112, jun, 2011.

SANTOS, M. H. D., BATISTA, B. L., DUARTE, S. M. D. S., ABREU, C. M. P. D., & GOUVÊA, C. M. C.P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). *Química Nova*, 30(3), 604-610, 2007

SILVA, Diogo, NOGUEIRA, Geraldo., DUZZIONI, Alexandre.G., BARROZO, Marcos., 2013. Changes of antioxidant constituents in pineapple (*Ananas comosus*) residue during drying process.