



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76  
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

## XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

### Caracterização química e avaliação das atividades antioxidante e anticolinesterásica de extratos do cultivar BRS Porã

**Carol Anne Pereira Silva<sup>1</sup>; Clayton Queiroz Alves<sup>2</sup>; Dayse Alessandra Almeida  
Silva<sup>3</sup>, Danielle Figuerêdo da Silva<sup>4</sup> e Joice Souza de Sena<sup>5</sup>.**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: carolanneps@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: cleiroz@gmail.com
3. Doutoranda do PPG/Biotecnologia, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: dayse.aasilva@hotmail.com
4. Doutoranda do PPPG/RGV, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: danielle.figs@gmail.com
5. Graduanda em Farmácia, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: Joice.s.sena@gmail.com

**PALAVRAS-CHAVE:** fitoquímica; anticolinesterase; antioxidante

### INTRODUÇÃO

As Bromeliaceae são consideradas a segunda maior família de monocotiledôneas epífitas. As espécies desta família apresentam grande importância na utilização como fonte de fibras, alimentos, forragens, ornamentais e medicamentos. O Brasil abriga cerca de 40% do total de espécies das Bromeliaceae, sendo 40 gêneros registrados no território nacional (FORZZA, 2005). Algumas espécies de plantas da família Bromeliaceae já foram estudadas química e farmacologicamente e, com isto, muitos compostos foram isolados e identificados. Sendo assim, diferentes classes de compostos orgânicos existentes nessas espécies foram relatadas, incluindo triterpenos, esteroides, flavonoides, derivados de ácidos cinâmicos, gliceróis, entre outros. Contudo, comparado com a grande representatividade de espécies da família Bromeliaceae no Brasil, os estudos químicos e farmacológicos ainda são bastante incipientes (MANETTI; DELAPORTE; LAVERDE JUNIOR, 2009). O cultivar estudado foi o BRS Porã (HGo.PL05 - 739 x 17), um híbrido melhorado geneticamente oriundo do cruzamento de *A. comosus* var. *erectifolius* x *A. comosus* var. *bracteatus* coletado no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, situada em Cruz das Almas, Ba, em função da disponibilidade, massa, características agrônômicas e carência de estudos em relação à espécie. O objetivo principal desse trabalho é avaliar as atividades antioxidante e anticolinesterásica das frações semi-purificadas dos extratos de BRS Porã.

### METODOLOGIA

**Material Vegetal:** O preparo do extrato foi realizado previamente com base na metodologia descrita por Cechinel Filho e Yunes (1998) com maceração com metanol, seguida de partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes (hexano, diclorometano e acetato de etila).

**Obtenção das frações e/ou substâncias isoladas:** Os extratos foram submetidos à Cromatografia em Coluna (CC) empregando-se gel de sílica 60 como suporte, e como fase móvel uma mistura de solventes em grau crescente de polaridade. Foi utilizada a Cromatografia em Camada Delgada comparativa (CCDC) para monitoramento das frações obtidas e avaliação dos perfis cromatográficos das mesmas.

**Atividade Anticolinesterásica:** O teste foi realizado pelo método de Ellmann (1961) adaptado. De acordo com o método a acetilcolinesterase (AChE), iodeto de acetilcolina e ácido 5,5'-ditiobis [2-nitrobenzoico] (DTNB), foram usados para verificar a atividade inibitória da enzima conforme descrito. O sistema, contendo tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7, DTNB 0,1 mM, AChE (0,5 U) e as amostras teste em concentração de 1000 µg/mL, foram incubados por 10 min a 37°C. A reação foi iniciada pela adição de iodeto de acetilcolina. A hidrólise de acetiltiocolina foi monitorada no comprimento de onda 405nm após 60 minutos, através da formação do 5-tio-2-nitrobenzoato (cor amarela), resultante da reação do DTNB com a tiocolina, liberada pela hidrólise enzimática da acetiltiocolina.

**Atividade antioxidante (AA):** A atividade antioxidante foi determinada pelo método de inibição da reação de co-oxidação do β-caroteno, provocada pela adição de ácido linoleico. A metodologia utilizada foi adaptada pelo método desenvolvido por Marco (1968). Dessa forma, 10 mg do β-caroteno foi dissolvido em 1 mL de CHCl<sub>3</sub>, 1 gota de ácido linoleico e 0,4 mL de Tween 40 e posteriormente submetida a completa evaporação do clorofórmio. Em seguida, foram adicionados 100 mL de água destilada. Em uma placa de 96 poços adicionou-se 10 µL das amostras (na concentração de 10 mg/mL, em etanol) e 250 µL da emulsão de β-caroteno/ ácido linoleico, em cada poço em triplicatas. A primeira leitura foi considerada como tempo zero e foram feitas novas leituras de 10 em 10 minutos até o tempo de 60 minutos em leitor Multiskan™ GO a 470 nm incubando a placa a 45° C.

**Análise Cromatográfica por CLAE-DAD:** As determinações cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a líquido de alta eficiência Varian, consistindo de bomba Varian Polaris, Detector de Arranjo de Diodo Varian ProStar e injetor manual. A separação cromatográfica foi realizada por meio de coluna LiChroCARTPurospherStaR® RP8-e (250mm x 4,6mm i.d.) (5µm) (Merck®, Darmstadt®, Germany®) combinado com pré-coluna LiChroCART 4-4 LiChrospher 100RP18 (5µm) da Merck®. As condições cromatográficas incluíram: fluxo de 1 mL/min, volume de injeção de 20µL, faixa de comprimento de onda de 200-600nm. Para as análises em CLAE foram usados solventes de grau cromatográfico de pureza (Merck® e Vetec®) e água ultra purificada. As condições de análise foram com gradiente de eluição conduzido com fase móvel de solução de ácido acético 0,7% (fase aquosa) e solução de ácido acético 0,7% com acetonitrila (MeCN) na proporção 2:8 v/v (fase orgânica) em diferentes proporções.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Isolamento e identificação dos compostos:** o fracionamento do extrato hexânico resultou em 45 frações que foram reunidas com 12 frações de acordo com a semelhança dos perfis cromatográficos obtido por Cromatografia de Camada Delgada (CCD). O fracionamento do extrato diclorometano resultou em 134 frações, as quais foram reunidas em 12 frações de acordo com a semelhança nos perfis cromatográficos obtidos por CCD. A metodologia utilizada com critério de escolha das frações a serem

fracionadas foi pelo estudo bioguiado, com as frações que apresentaram melhor capacidade de inibição da enzima anticolinesterase. Dos fracionamentos do extrato hexânico não obteve-se precipitado ou cristais. Já no extrato diclorometano obteve-se precipitado nas frações FDHG/I (4,1079g), FDHG/F (0,2618g), FDHG/A (0,1443), FDHG/B (0,1540) e FDHG/E (0,1519) sendo separadas para análise por CLAE.

**Análise Cromatográfica por CLAE-DAD:** Através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de absorção no ultravioleta (UV) de padrões com as frações analisadas foi possível sugerir a presença da substância Vanilina nestas frações. Para a confirmação da substância foi realizado uma dopagem adicionando uma alíquota do padrão na solução, verificando, assim, que o pico relativo à Vanilina aumentou de tamanho.

**Avaliação da Atividade anticolinesterásica:** Avaliando essas frações com relação a atividade anticolinesterásica, observou-se que estas variaram de inativas a potentes inibidores. De acordo com Vinutha e colaboradores (2007), podem ser considerados inativos ou com baixa atividade os extratos que apresentam inibição menor do que 30%, os que apresentam inibição entre 30 e 50% podem ser considerados medianamente ativos, enquanto que os acima de 50% são considerados potentes inibidores.

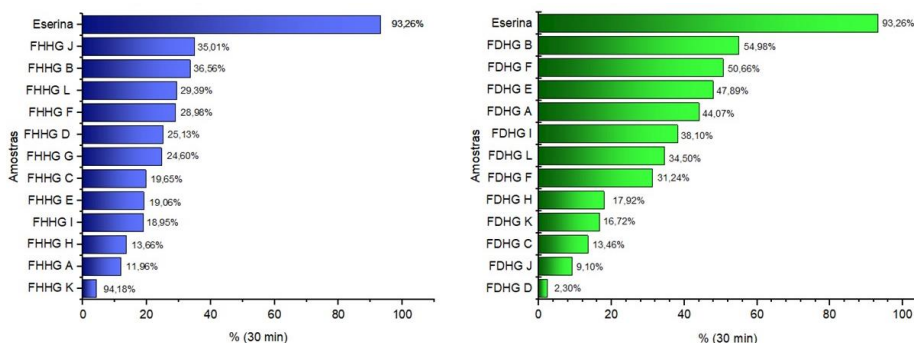


Figura 1: Efeito da inibição das frações FHHG (azul) e FDHG (verde) de BRS Porã sobre a enzima AChE.

**Teste de inibição da co-oxidação do  $\beta$ -caroteno:** Nos gráficos 3 e 4 podem ser vistas as porcentagens de inibição de co-oxidação do  $\beta$ -caroteno de cada uma das amostras analisadas na concentração de 10 mg/mL após 120 minutos de reação. O extrato diclorometano obteve valores de inibição mais altos, relativamente próximos ao do padrão propilgalato, enquanto que o extrato hexânico resultou nos valores menos ativos para a atividade antioxidante.

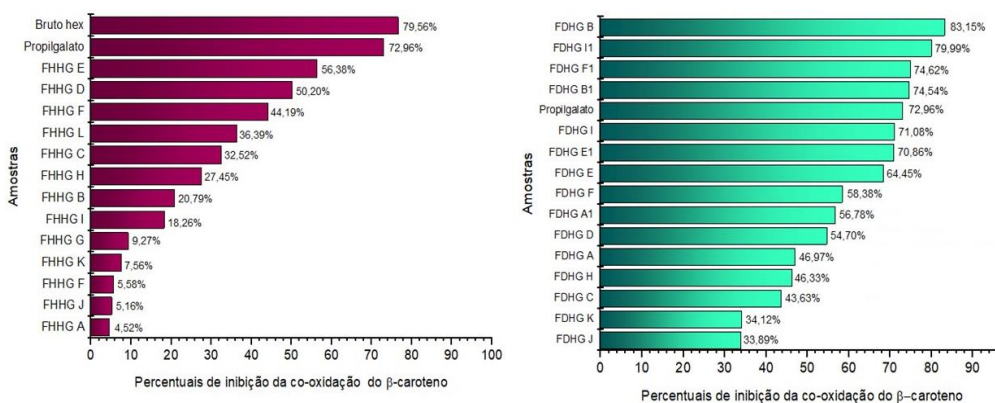


Figura 2: Avaliação da AA% das frações FHHG (vinho) e FDHG (azul) de BRS Porã.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A BRS Porã é um cultivar pouco estudado dos pontos de vista biológico e químico. Dessa forma, este trabalho fornece resultados essenciais e inéditos, servindo de auxílio para outras pesquisas sobre a espécie.

A partir do Extrato Diclorometano (EDHG) das folhas da cultivar BRS Porã (*A. comosus* var. *erectifolius* x *A. comosus* var. *bracteatus*) foi possível identificar nas frações FDHG/A, FDHG/B, FDHG/E e FDHG/F1 por CLAE-DAD a presença da vanilina.

De acordo com os resultados apresentados observa-se que a BRS Porã possui potencial anticolinesterásico e uma elevada atividade antioxidante com o extrato diclorometano, explicado, principalmente pela presença da vanilina em suas frações com maior AA%.

Os resultados então obtidos junto com dados já existentes na literatura, mostram o potencial das plantas, destacando as espécies da flora brasileira, que é rica e vasta, mostrando que as plantas medicinais são fontes naturais de diferentes compostos ativos que podem ser explorados e que poderão servir para desenvolvimento de novos produtos fitoterapêuticos.

## REFERÊNCIAS

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998.

ELLMAN GL, COURTNEY KD, ANDRES VJR., FEATHERSTONE RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**. v.7, p. 88-95, 1961.

FORZZA, R. C. **Revisão taxonômica de Encholirium Mart. Ex Schult. E Shult. F. (Pitcairnioideae- Bromeliaceae)**. Boletim de Botânica da Universidade São Paulo. v.23, p.149, 2005.

MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; LAVERDE JUNIOR, A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, v.32, p. 1885-1897, 2009.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.