



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

Estudo Fitoquímico e Avaliação das Atividades anticolinesterásica do extrato das flores de *Dioclea virgata*

Marilia Lima Conceição¹; Vania Rastelly de Sousa²

1. Bolsista PROBIC, Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: marilia_limaa@hotmail.com
2. Orientador, Departamento DEXA, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: vaniaras@yahoo.com.br

PALAVRAS-CHAVE: *Dioclea Virgata*; Anticolinesterase; Artemia.

INTRODUÇÃO

O gênero *Dioclea* pertence à família Leguminosae (Fabaceae) e possui cerca de 50 espécies distribuídas em zonas tropicais, sendo a maioria encontrada na América Central e do Sul, especialmente na Amazônia. As espécies deste gênero são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diversos males, como no tratamento de doenças dos rins e da próstata. Apesar do grande interesse pelo estudo de plantas com reconhecida atividade medicinal, ainda existem espécies do gênero *Dioclea* que não foram estudadas do ponto de vista fitoquímico, nem avaliadas quanto ao seu potencial biológico. Alguns efeitos farmacológicos foram observados em espécies do gênero *Dioclea*, tornando relevante o aprofundamento do estudo fitoquímico visando um melhor conhecimento das classes de metabólitos produzidos por estas espécies, bem como na busca de compostos bioativos oriundos de plantas.

Um teste de atividade *in vitro* que está sendo difundido é o teste de Inibição da enzima Acetilcolinesterase (AChE) (Ellman, 1961). A AChE é a principal enzima envolvida na hidrólise do neurotransmissor Acetilcolina (ACh), conseqüentemente substâncias capazes de inibir a AChE têm sido utilizadas para o tratamento da doença de Alzheimer. Artigos recentes têm reportado que alguns extratos de plantas possuem atividade inibitória da AChE (Dohi et al., 2009).

O objetivo deste trabalho é realizar o isolamento e identificação das substâncias presentes no extrato das flores de *Dioclea Virgata* (Rich) e realizar avaliação de inibição da enzima anticolinesterásica *in vitro* com o extrato, frações e substâncias isoladas, contribuindo assim, para a quimiosistemática do gênero *Dioclea*.

METODOLOGIA

Além do estudo do extrato das flores de *Dioclea Virgata*, os extratos metanólico e hexânico das folhas também foram avaliados. O extrato clorofórmico das flores e o extrato

metanólico das folhas foram submetidos a fracionamentos em coluna e as frações obtidas analisadas por CCD.

Para os testes com *Artemia Salina*, foram utilizadas as frações CFIDVB1 (0,1473g), CFIDVB2CD3 (0,2857g) e CFIDVB2CD1E4 (0,0942g) sendo estas provenientes do extrato clorofórmico das flores. Além destas, a fração MFDVA3 (1,1626g), proveniente do extrato metanólico da folhas também compôs o teste.

Para os teste de inibição da enzima anticolinesterásica, foram utilizadas as frações CFIDVB2CD3 (0,2857g) sendo esta proveniente do extrato clorofórmico das flores, as frações MFDVB1CD7 (0,1641g), MFDVB1CD4 (0,1707g), MFDVB1CD5 (0,1655g), MFDVA24 (2,2831g), MFDVB4 (0,2586g) e MFDVB3(0,2509g) provenientes do extrato metanólico das folhas e as frações HFDVA2(1,4372g) e HFDVA11(1,1288g), provenientes do extrato hexânico das folhas. Vale ressaltar que o critério para escolha das frações tanto para o teste de toxicidade frente à *Artemia Salina* quanto para a avaliação de inibição da enzima anticolinesterásica foi a maior quantidade em massa, além de boa resolução em cromatografia em camada delgada comparativa.

✓ **Ensaio de toxicidade utilizando *Artemia salina*, de acordo com o método proposto por Meyer e colaboradores (1982).**

Os ensaios foram realizados seguindo o protocolo proposto por Meyer e colaboradores (1982). O teste foi feito em triplicata nas concentrações iniciais de 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 100 µg/mL e em seguida testadas em novas concentrações: 300 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 75 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL e 10 µg/mL.

✓ **Avaliação de inibição da enzima anticolinesterásica *in vitro*, seguindo uma adaptação da metodologia desenvolvida por Ellman et al. (1961).**

Esta avaliação consiste na hidrólise promovida pela enzima Acetilcolinesterase, no substrato acetilcolina, gerando como produto a tiocolina, que reage com o reagente de Ellman, que podem ser quantificados espectrofotometricamente em comprimento de onda 405 nm. (ARAUJO; SANTOS; GONSALVES, 2016). O protocolo indica a pesagem de 10mg (0,01g) e solubilização em 100µl de etanol, obtendo assim uma concentração final de 1 mg/mL.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

✓ **Ensaio de toxicidade utilizando *Artemia salina*, de acordo com o método proposto por Meyer e colaboradores (1982).**

O comportamento das frações mencionadas anteriormente, foram avaliadas de acordo com os gráficos elaborados a partir do Excel, pode-se perceber que o teste de toxicidade utilizando *Artemia salina*, de acordo com o método proposto por Meyer e colaboradores (1982), não apresentou êxito em nenhuma das frações estudadas. Pode-se concluir isto, através da avaliação do coeficiente de determinação (R^2).

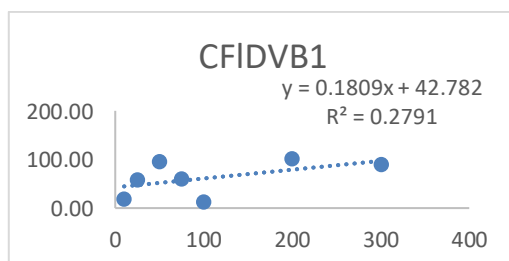


Figura 1- Toxicidade de CFIDVB1 frente a *Artemia Salina*

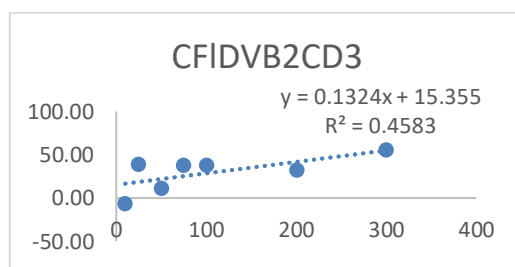


Figura 2- Toxicidade de CFIDVB2CD3 frente a Artemia Salina

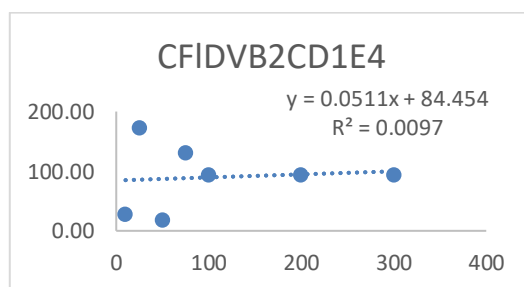


Figura 3 - Toxicidade de CFIDVB2CD1E4

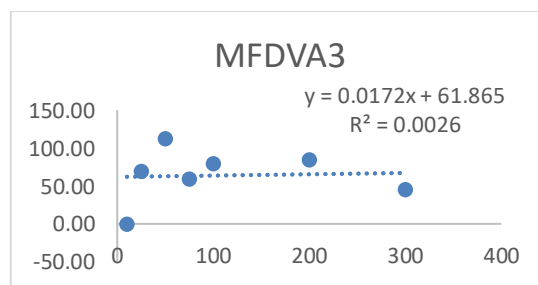


Figura 4 - Toxicidade de MFDVA3 frente a Artemia Salina

- ✓ **Avaliação de inibição da enzima anticolinesterásica *in vitro*, seguindo uma adaptação da metodologia desenvolvida por Ellman et al. (1961).**

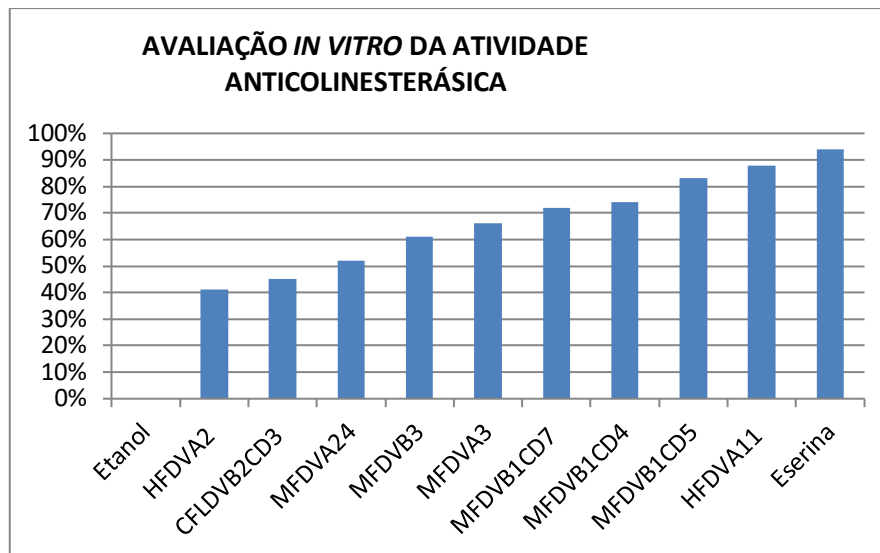


Figura 5- Avaliação in vitro da atividade anticolinesterásica

A partir do gráfico, pode-se concluir que as apenas as amostras MFDVA24; MFDVB3, MFDVA3, MFDVB1CD7, MFDV4B1CD4, MFDVB1CD5 e MFDVA11 são considerados candidatos a futuros fracionamentos para isolamento de princípios ativos capazes de inibir a enzima acetilcolinesterase, uma vez que possuem porcentagens superiores a 50% de inibição.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com a avaliação de inibição da enzima anticolinesterásica *in vitro*, percebe-se que o gênero *Dioclea Virgata* deve ser alvo de mais pesquisas, uma vez que apresentou boa porcentagem de inibição da Acetilcolinesterase, podendo contribuir para os estudos que controlam a doença de Alzheimer. Devido as inconformidade do teste de Artemia, onde não foi possível verificar a toxicidade das frações, será necessária a repetição desses ensaios. Pode-se concluir que os objetivos propostos foram alcançados neste trabalho, uma vez que os extratos foram fracionados, os testes realizados e dessa forma ampliou-se as informações fitoquímicas e de atividades biológicas da espécie.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, Cleônia Roberta M.; SANTOS, Victória L. A.; GONSALVES, Arlan A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico. **Revista Virtual de Química**, Petrolina, v. 6, n. 8, p.1818-1834, nov. 2016.

DOHI, S., TERASAKI, M., MAKINO, M. **Acetylcholinesterase Inhibitory Activity and Chemical Composition of Commercial Essential Oils**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 4313-4318, 2009.

ELLMAN, George L. et al. GEORGE L. ELLMAN, K. DIANE COURTNEY, VALENTINO ANDRES, JR. and ROBERT M. FEATHERSTONE. **Biochemical Pharmacology**, San Francisco, v. 7, n. , p.88-97, jan. 1961.

MEYER B. N, Ferrigni N. R, Putnam J. E, Jacobsen L. B, Nichols D. E, Mclaughlin J.L. **Brine shrimp: a convenient general bioassay for active-plant constituents**. *Planta Medica* v. 45, p. 31-34, 1982.