

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICOLINESTERÁSICA DAS FRAÇÕES DO EXTRATO HEXÂNICO DE *Polygala boliviensis*.

Carol Anne Pereira Silva¹; Hugo Neves Brandão²; Danielle Figuerêdo da Silva³; Verena Alves Da Silva⁴ e Lara Amanda Rodrigues de Oliveira⁵

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: carolanneps@gmail.com

2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: hugo@uefs.br

3. Doutoranda do PPG/RGV, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: danielle.figs@gmail.com

4. Graduanda em Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, e-mail: veca_alves@hotmail.com

5. Graduanda em Farmácia, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lara.amanda@live.com

PALAVRAS-CHAVE: *Polygala boliviensis*; anticolinesterásica; antioxidante

INTRODUÇÃO

Plantas medicinais representam historicamente uma das principais e mais disseminadas fontes de medicamentos utilizadas pela população em geral e, apesar do aumento no uso de medicamentos sintéticos nos últimos anos, muitas populações no mundo inteiro optam pelo uso dos vegetais, sendo para algumas a única fonte de tratamento (HALBERSTEIN, 2005; WANG, 2008 *apud*. KONRATH, 2011). A família Polygalaceae consiste em um táxon de angiospermas da ordem Fabales e está classificada no reino Plantae. Estudos fitoquímicos com espécies dessa família descrevem presença de saponinas, xantonas, derivados de pironas, cumarinas, ácidos graxos, fenóis e alcaloides (ROCHA *et al.*, 2012). A espécie *Polygala boliviensis* é nativa do Brasil e se encontra no bioma da caatinga. É uma erva pouco estudada no ponto de vista químico e farmacológico, mas apresenta potencial fitoterapêutico, visto que outras espécies do gênero *Polygala* exibem atividades analgésica, expectorante, sedativa, antifúngica, entre outras. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as atividades anticolinesterásica e antioxidante das frações semi-purificadas do extrato hexânico de *P. boliviensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal:

O extrato hexânico, que foi objeto deste estudo, já havia sido obtido anteriormente, através da elaboração inicial do extrato metanólico por maceração, utilizando material vegetal seco e pulverizado da espécie *P. boliviensis*, o qual foi com fracionado com solventes de diferentes polaridades (hexano, clorofórmio e acetato de etila) de acordo com metodologia descrita por Cechinel Filho e Yunes (1998).

Obtenção das frações e substâncias isoladas:

O extrato hexânico foi fracionado, por cromatografia em coluna (CC). Nas colunas cromatográficas utilizadas para separação dos constituintes químicos foram

empregadas sílica gel 60 com o diâmetro de partícula entre 0,063-0,200 µm (70-230 mesh), utilizando sistema de solvente de ordem crescente de polaridade hexano/acetato de etila para o extrato hexânico e hexano/acetona para as sub-frações. Nas cromatografias em camada delgada comparativa (CCDC) foram utilizadas placas pré-fabricadas 20x20 de gel de sílica 60. As cromatoplasas foram reveladas com irradiação da luz ultravioleta de comprimentos de onda de 254 e 366 µm e vapor de iodo. A eluição foi realizada com diferentes sistemas de solvente, como hexano/acetato de etila, hexano/acetona e clorofórmio/metanol.

Atividade anticolinesterásica:

As amostras obtidas do extrato hexânico foram submetidas ao teste de atividade anticolinesterásica elaborado através de adaptações do método desenvolvido por Ellmann em 1961 (ALVES, 2012). Os resultados foram comparados com o padrão comercial eserina (fisiostigmina). O percentual de inibição foi obtido através da fórmula: %inibição = (AChE – AchI) X 100/AChE, em que AChI é a atividade obtida na presença do inibidor e AChE na ausência do inibidor. Todo o teste foi realizado em triplicata.

Avaliação da atividade antioxidante:

A investigação da atividade antioxidante de substâncias ou de extratos vegetais pode ser realizada em laboratório, utilizando-se diferentes metodologias. Neste estudo foi utilizado o teste da inibição da auto-oxidação do β-caroteno, conforme metodologia descrita por Hidalgo (1994) com adaptações, utilizando como padrão o propilgalato. A atividade antioxidante (AA) foi expressa em porcentagem e calculada de acordo com a fórmula: $AA = 100 [1 - (A0 - Af) / (A0B - AfB)]$, sendo que: A0 = Absorbância inicial da amostra, Af = Absorbância final da amostra, A0B = Absorbância inicial do branco e AfB = Absorbância final do branco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção das frações e substâncias isoladas

Do primeiro fracionamento foram obtidas 91 frações através da coluna cromatográfica e, após a realização da CCDC, estas foram unidas com base na semelhança do perfil cromatográfico, reduzindo então para 32 amostras nomeadas de **FHPB 1** a **FHPB 32**. Após análise por CCDC das frações unidas, foi escolhida a fração **FHPB 11**, com massa 4,300g, por apresentar um melhor perfil cromatográfico. A coluna cromatográfica do **FHPB 11** resultou em 63 frações, as quais, de acordo com os perfis cromatográficos obtidos por CCDC foram reunidas em 11 frações, nomeadas de **FHPB11 A** a **FHPB11 K**. Foi realizada outra análise por CCDC das frações unidas, sendo escolhidas as sub-frações **FHPB11 D** e **FHPB11 E** para segmento do estudo com CC, por apresentarem características cromatográficas diferentes das demais frações. Foram obtidos cristais provenientes das CC das frações **FHPB11 D** e **FHPB 11 E**, que foram enviadas para a análise dos espectros de RMN ¹H e ¹³C.

Atividade anticolinesterásica (AA):

O teste de AA foi realizado com as frações provenientes do primeiro fracionamento do extrato hexânico de *P. boliviensis*. Avaliando essas frações com relação a atividade anticolinesterásica, observou-se que estas variaram de inativas a potentes inibidores. A figura 1 mostra a classificação das frações de acordo com seu potencial de inibição da enzima AChE. O resultado do teste de inibição da AChE apresenta baixa atividade quando comparado ao padrão eserina, porém algumas frações se enquadram como potentes inibidores, tendo inibição acima de 50%, sendo isso um indicativo para a continuidade dos testes em tais frações, destacando, que neste teste a fração que teve melhor desempenho foi a **FHPB31**. As diferenças de inibição da AChE entre as frações podem estar relacionadas a polaridade das diversas fases de solvente utilizadas na cromatografia em coluna para obtenção das frações, que proporcionaram a separação do extrato em frações com composição química diferente e, conseqüentemente, potencial de inibição distintos.

Avaliação da atividade antioxidante:

Os resultados do teste da atividade antioxidante das frações estão expressos na figura 2. Analisando os resultados obtidos, pode-se observar que 53,5% das frações não apresentaram atividade antioxidante, 10,7% das frações apresentaram baixa atividade (entre 0,9 e 2,4% de atividade) e 35,8% boa atividade antioxidante. No entanto, nenhuma fração teve atividade comparada ao padrão Propilgalato, que no mesmo tempo teve atividade de 64,4%. Dá-se o destaque a fração **FHPB01** com melhor desempenho neste teste, apresentando 50,34% de inibição a auto-oxidação do β -caroteno. O teste de atividade antioxidante foi realizado com apenas 28 frações do primeiro fracionamento do extrato hexânico, pois as demais não possuíam massa suficiente para a realização do mesmo. Considerando a afinidade dos compostos fenólicos por extratos de maior polaridade, tal como observado com a fração acetato de etila (SILVA, 2015), compreende-se que estes frequentemente possuem maior atividade antioxidante. Conseqüentemente, no extrato hexânico que possui polaridade baixa, tende a não obter resultados tão expressivos quanto às frações mais polares, devido à baixa concentração dos metabólitos polifenólicos neste.

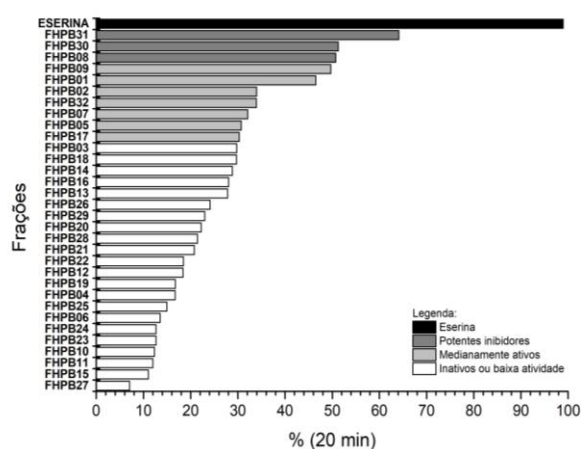


Figura 1: Efeito da inibição das frações sobre a enzima AChE. Para as frações, foi utilizada uma concentração de 1mg/mL e para o padrão eserina foi utilizada uma concentração de 500 μ M.

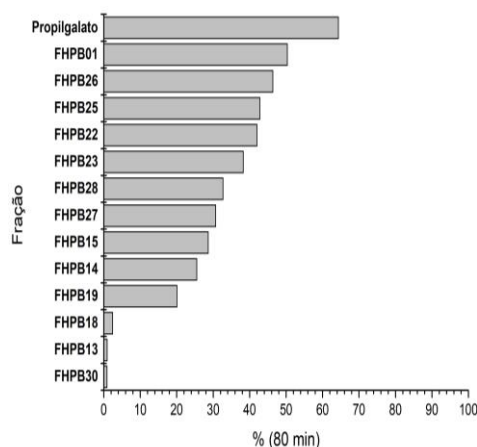


Figura 2: Efeito da inibição da auto-oxidação do β -caroteno das frações. Para as frações foi utilizada uma concentração de 10mg/mL e para o padrão propilgalato uma concentração de 1mg/mL.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Polygala boliviensis* é uma espécie pouco estudada 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. De acordo com os resultados apresentados observa-se que a *P. boliviensis* possui potencial anticolinesterásico e antioxidante, levando em consideração que algumas das frações testadas ofereceram resultados satisfatórios para as concentrações utilizadas. Os resultados então obtidos junto com dados já existentes na literatura, mostram a riqueza e 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

- ALVES, C.Q. 2012. Estudo químico e avaliação biológica de duas espécies de Leguminosae: *Dioclea virgata* e *Cenostigma macrophyllum*. 202 p. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador.
- CECHINEL FILHO, V.; 1998. 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, n.1, p. 99-105,
- HIDALGO, M. E.; FERNANDÉZ, E.; QUILHOT, W.; LISSI, E. 1994. Antioxidant activity of depsides and depsidones. *Phytochemistry*, v. 37, p. 1585-1587.
- KONRATH, E.L. 2011. Química e atividades antioxidante e anticolinesterásica de espécies de Huperzia e Lycopodium. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- ROCHA, J.L.C.; PASTORE, J.F.B.; BRANDÃO, H.N.; AZEREDO, A.; DAVID, J.P.; SANTOS, E.O.; DAVID, J.M. 2012. Quantificação de salicilato de metila em quatro gêneros de Polygalaceae por CLAE-DAD. *Química Nova*, v.35, n.11, p. 2263-2266, Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol35No11_2263_32-AR12440.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2017.
- SILVA, D.F. 2015. Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Polygala boliviensis* A.W. Benn. (Polygalaceae). 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.