



## 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

#### Isolamento de compostos fenólicos a partir do resíduo de *Agave sisalana* Perrine (sisal) e atividade anticolinesterásica

**Larissa Mimaes Carneiro Souza<sup>1</sup>; Alexsandro Branco<sup>2</sup>; Francianne Oliveira Santos<sup>3</sup>**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [larissamimarescs@gmail.com](mailto:larissamimarescs@gmail.com)
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [branco@uefs.br](mailto:branco@uefs.br)
3. Participante do projeto, e-mail: [francy\\_medvet@yahoo.com.br](mailto:francy_medvet@yahoo.com.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** *Agave sisalana*; Compostos fenólicos; CLAE.

#### INTRODUÇÃO

O gênero *Agave*, família Agavaceae, compreende mais de 480 espécies distribuídas nas regiões áridas e tropicais do mundo, principalmente na América central e na América do Sul (ABDEL-GAWAD; EL-SAYED; ABDEL-HAMEED, 1999). Muitas espécies de *Agave* apresentam diversas aplicações comerciais, desde fornecedoras de fibras duras e bebidas alcoólicas, à fonte de matéria-prima esteroideal para indústria farmacêutica (DING et al, 1993; PEÑA-ALVAREZ et al, 2004). Do ponto de vista biosintético, este gênero produz compostos fenólicos, hidrocarbonetos, esteróides, sacarídeos e saponinas (SIMMONS-BOYCE; TINTO, 2007; CHEN et al, 2009).

Entre estas espécies, *Agave sisalana* Perrine se destaca pelo fornecimento de fibras duras, sendo o Brasil responsável por mais de 50 % da produção mundial de sisal. O sisal é a principal fibra dura produzida no mundo, correspondendo a aproximadamente 70% da produção comercial de todas as fibras desse tipo. É cultivado em larga escala no Nordeste brasileiro, sendo o estado da Bahia responsável por cerca de 95 % (IBGE, 2011).

A cultura do sisal (*Agave sisalana*) apresenta uma significativa importância para a economia nordestina do Brasil por tornar produtivas áreas com poucas opções para exploração de outras culturas, devido às condições climáticas desfavoráveis da região. Durante o processamento das folhas para a produção de fibras apenas 5 % são aproveitados, sendo o restante descartado na forma de resíduo (BANDEIRA; SILVA, 2006).

Nessa perspectiva, estudos que abrangem otimização do isolamento de compostos fenólicos serão importantes, pois estes compostos agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também por causa de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de ácidos graxos e de óleos (SOARES, 2008 *apud* CUVÉLIER et al.,1992; MAILLARD et al.,1996). Além disso, a proposta de trabalho abrange o reaproveitamento dos resíduos do sisal, este mercado consumidor de produtos químicos gerados a partir de fontes renováveis tem aumentado e valorizado, devido a crescente preocupação sobre as questões ambientais.

## **MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)**

O extrato bruto foi elaborado com 70 Kg de resíduo úmido sendo extraídos com água destilada (70 L), a 90 °C, por três horas. Após este procedimento, o extrato foi filtrado e obteve-se o extrato bruto do precipitado. Este foi fracionado por cromatografia de coluna aberta (CC) e eluído com mistura de etanol e água. Das 40 amostras obtidas, após serem unidas restaram 10 que foram analisadas utilizando técnicas espectroscópicas e espectrométricas como as técnicas de CLAE-DAD e RMN (Ressonância Magnética Nuclear) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

A atividade anticolinesterásica foi determinada por espectrofotometria segundo metodologia descrita por Ellman et al. (1961) modificado por Wright e Ahrens (1988).

## **RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)**

O extrato bruto (precipitado) do resíduo de *A. sisalana* foi submetido à Cromatografia em Coluna (CC) aberta. Foram utilizados os solventes etanol e água em diferentes proporções. As 40 frações obtidas foram unidas, restando 10 frações.

As amostras foram analisadas por CLAE-DAD e após análise, em função do perfil cromatográfico obtido, a fração 7 (junção das frações 32-37) foi submetida à Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Foram utilizados os solventes CDCl<sub>3</sub> e metanol-D<sub>4</sub> e TMS como referência interna. As análises espectroscópicas foram realizadas em parceria no Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Os espectros da RMN 1D e 2D estão sendo analisados.

Enquanto a fração 5 (junção das frações 22-26) foi selecionada para um fracionamento por cromatografia em permeação em gel, em coluna de vidro empacotada com Sephadex LH 20 e eluída em diferentes solventes obtendo 15 frações, sendo a fração 12 utilizada para avaliação do perfil químico. Este foi realizado por CLAE-DAD.

De acordo com os resultados da CLAE-DAD, a fração 12 foi analisada CL-EM/EM. Os resultados obtidos a partir da investigação sobre os componentes químicos ativos presentes na fração 12 foram comparados com a literatura e sugerem a presença dos glicosídeos fenólicos.

A literatura relata que espécies do gênero *Agave* sintetizam homoisoflavonoides, flavonóides e ácidos fenólicos com atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica, imunomoduladora, anti-helmíntica, apresentando uma potencial aplicação como nutracêutico em alimentos e bebidas e no desenvolvimento de produtos com propriedades medicinais para os seres humanos e animais (ALMARAZ-ABARCA *et al.*, 2013).

A fração 6 (junção das frações 27-31) foi utilizada para os ensaios biológicos. As teleóginas de *R. microplus* foram coletadas manualmente de bovinos de uma propriedade rural no município de Feira de Santana (Bahia). As fêmeas foram acondicionadas em vasilhames de plásticos perfurados. As teleóginas foram lavadas em água destilada, secas em papel absorvente e separadas para oviposição para realização do teste de imersão de larvas.

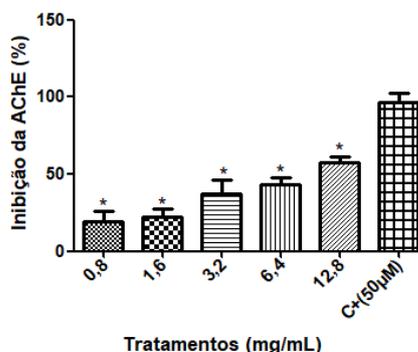
O teste de imersão de larvas foi realizado segundo a metodologia preconizada por Souza et al. (2008). A determinação da concentração foi baseada em resultados obtidos de experimentos anteriores, através dos quais se obteve uma maior concentração de 8 mg/mL. Etanol 70% foi utilizado como controle negativo, e fipronil (fenilpirazole) para controle positivo conforme recomendação do fabricante. Para cada tratamento as larvas foram imersas

durante 5 minutos. Em seguida, foi retirado o líquido excedente da seringa e colocada na estufa durante 24 horas (27°C). No dia seguinte, as larvas foram retiradas das seringas e foi realizada a contagem das larvas vivas e mortas através da avaliação da motilidade.

A partir dessa contagem foram obtidos os percentuais de mortalidade na concentração testada (8mg/mL), e nenhuma diferença significativa ( $p > 0,05$ ) foi observada entre a fração de sisal e o controle negativo (etanol 70%), apresentando 94% e 98% de larvas vivas, respectivamente.

A atividade anticolinesterásica da fração 6 foi determinada por espectrofotometria segundo metodologia descrita por Ellman et al. (1961) modificado por Wright e Ahrens (1988). O efeito inibitório da acetilcolinesterase foi significativo em todas as concentrações testadas. A fração inibiu a atividade da AChE em 57,6% na maior concentração (12,8 mg/mL), com Concentração Inibitória 50% (CI50) de 10,05 mg/mL. Os percentuais de inibição enzimática entre a maior e menor concentração foram 57,6; 43,4; 37,6; 22,6 e 19,4% (Figura 1). A técnica para atividade da Glutathione-S-transferase, encontra-se em fase de padronização.

**Figura 1** Percentuais de inibição da enzima acetilcolinesterase (média  $\pm$  desvio padrão) da fração de saponina obtida do resíduo de *Agave sisalana*.



\* Diferença estatisticamente significativa em relação ao controle positivo ( $p < 0,05$ ), teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

A partir desses resultados podemos inferir que os estudos a cerca desse tema foram de grande valia para enriquecer ainda mais o reaproveitamento dos resíduos do sisal e incentivar para que novos estudos possam ser realizados, nessa e em outras linhas de pesquisa para que venha a contribuir para novos isolamentos de compostos, elucidação estrutural, utilização dos constituintes como um excipiente na formulação de algum produto industrializado. Uma melhor exploração do sisal poderá contribuir para a diversificação do setor agropecuário brasileiro, por agregar valor aos produtos manufaturados e preservar o meio ambiente pelo o uso racional desses resíduos.

### REFERÊNCIAS

ABDEL-GAWAD, M. M.; EL-SAYED, M. M; ABDEL-HAMEED, E. S. Molluscicidal steroidal saponins and lipid content of *Agave decipiens*. **Fitoterapia**. v. 70. p. 371- 381, 1999.

BANDEIRA, D.A. e SILVA, O.R.R.F. Aproveitamento de resíduos/Using waste material. In: ANDRADE, Wilson (Org. e Coord.). **O Sisal do Brasil**. Salvador: SINDIFIBRAS, 2006.

ALMARAZ-ABARCA, N. DELGADO-ALVARADO, E.A.; ÁVILA-REYES, J.A.; URIBESOTO, J.N.; GONZÁLEZ-VALDEZ, L.S. The phenols of the genus *Agave*

(Agavaceae). **Journal of biomaterials and nanobiotechnology**.v.4p. 9-16, 2013.

CHEN, P.Y. et al. Isolation and immunomodulatory effect of homoisoflavones and flavones from *Agave sisalana* Perrine ex Engelm. **Molecules**. v. 14, 1789-1795, 2009.

DING, Y. et al. Two new steroidal saponins from dried fermented residues of leafjuices of *Agave sisalana* forma Dong No. 1. **Chem-Pharm-Bulletin(Tokyo)**. v.41 n.3. p. 557-560,1993.

ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7. p. 88–95, 1961.

IBGE, **Censo Agropecuário**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 20 de Março de 2018.

PEÑA-ALVAREZ et al., Characterization of three *Agave* species by gas chromatography and solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1027 p. 131–136, 2004.

SIMMONS-BOYCE, J. L. & TINTO, W. F. Steroidal Saponins and Sapogenins from the Agavaceae. **Natural Product Communications**. v. 2. n.1. p. 99 -114, 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, jan. 2002.

SOUZA, A.P.; VEIGA, L.P.H.N.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; CARDOSO, C.P.; NUNES, A.P.O. Proposta para teste carrapaticida por imersão de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: avaliação em cipermetrina e amitraz. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17. p. 242-245, 2008.

WRIGHT, F. C.; AHRENS, E. H. Cholinesterase insensitivity: a mechanism of resistance in Mexican strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) against coumaphos. **Journal of Medical Entomology**, v. 25. p. 234-239, 1988.