

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS GRADUAÇÃO"



PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae) (Wild) D.C (Unha-de-gato) POR DIFERENTES MÉTODOS

Ana Cecília Calixto Donelardy¹, Carla de Fatima Alves Nonato², Maria Inácio da Silva³, Mariana Pereira da Silva⁴, Ana Maria Fernandes Duarte⁵, Joice Barbosa do Nascimento⁶, Johnatan Wellisson da Silva Mendes⁷, José Jonas Ferreira Viturino⁸, José Galberto Martins da Costa⁹

Resumo: A *Uncaria tomentosa* Wild. D.C. (Rubiaceae), conhecida como unha-de-gato é uma espécie muito usada pela medicina popular. Alguns metabólitos secundários são encontrados nesse produto e podem ter ação protetora ao estresse oxidativo geral. No entanto, pouco se sabe sobre a sua composição química e atividades biológicas. Portanto, esse estudo se objetiva em avaliar sua atividade antioxidante por diferentes métodos, assim como realizar sua caracterização química. A atividade antioxidante será determinada por métodos de sequestro de radicais livres (DPPH e ABTS) e pela capacidade quelante e redutora do ferro. A caracterização dos compostos presentes será avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência. O perfil fenólico será avaliado por interpolação da absorbância da amostra contra a curva de calibração obtida com padrão de ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) e expressos como equivalência de ácido gálico por g de extrato (mg.EAG/g.Ext). Diante dos resultados que serão obtidos nesse trabalho será possível avançar na área de produtos naturais, propondo possíveis substâncias úteis qualificadas na área de interface de Química-Biológica.

Palavras-chave: *Uncaria tomentosa*, perfil químico, atividade antioxidante.

1. Introdução

Há milhares de anos, produtos naturais são utilizados como formas de combater alterações do estado fisiológico do corpo (Lucca *et al*, 2020). O estresse oxidativo pode ser correlacionado com a etiopatogenia de algumas doenças (Vasques, *et al*, 2018). Os antioxidantes podem ser definidos como

1 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: cecilia.donelardy@urca.br

2 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: carla.nonato@urca.br

3 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: maria.i.silva@urca.br

4 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: mariana.pereira@urca.br

5 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: ana.fernandes@urca.br

6 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: joice.barbosa@urca.br

7 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: johnatan.mendes@urca.br

8 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: jonas.ferreira@urca.br

9 Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Produtos Naturais - LPPN. email: galberto.martins@urca.br

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS GRADUAÇÃO"



moléculas naturais que, presentes em baixas concentrações, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo. Espécies antioxidantes agem nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos, como a complexação de íons metálicos, a captura de radicais livres, a decomposição de peróxidos, entre outros (Oliveira *et al*, 2009).

Ao longo dos últimos anos, uma série de plantas medicinais têm sido extensivamente investigadas quanto à presença e atividade de polifenóis e outros antioxidantes. Nesse contexto, a *Uncaria tomentosa* (Will.) D.C, comumente conhecida como Unha-de-gato, é indígena das áreas tropicais do Sul da América Central do Brasil e amplamente utilizada no tratamento de diversas doenças (Pilarsk *et al*, 2005). Esta se encontra com possível potencial antioxidante, e pela escassez de estudos químicos dessa espécie, são necessários novos estudos para caracterização química e avaliação de sua atividade de sequestrar radicais livres por diferentes métodos, como esse trabalho procura exercer.

2. Objetivo Geral

Identificar o perfil químico e avaliar a ação antioxidante do extrato etanólico e frações das folhas de *Uncaria tomentosa* por diferentes métodos.

2.1 Objetivos Específicos

- Preparar o extrato etanólico das folhas de *U. tomentosa* e obter frações por diferentes solventes orgânicos;
- Determinar o conteúdo total de fenólicos e flavonoides;
- Identificar os compostos químicos presentes no extrato com uso de Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas;
- Determinar atividade antioxidante pelo método ABTS+;
- Determinar atividade antioxidante pelo método DPPH;
- Determinar a atividade quelante de íon Fe^{+2} e poder redutor de íon Fe^{+3} ;

3. Metodologia

3.1 Obtenção do extrato etanólico de *U. tomentosa*, preparação das frações e análise por LC-MS

As folhas de *U. tomentosa* serão coletadas no Parque Estadual Sítio Fundão, na cidade de Crato, Sul do Estado do Ceará, Brasil. O material vegetal (folhas) será submetido à secagem em estufa em temperatura média de 40 °C durante 72h. esse material será submetido à maceração exaustiva, utilizando-se etanol 95% como solvente. Sucessivas extrações serão realizadas, renovando-se o solvente a cada 72 horas. A solução será filtrada e destilada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, com temperatura entre 50 à 70 °C. Posteriormente, o extrato será fracionado por cromatografia em coluna (CC) usando-se sílica gel 60 como fase estacionária e os solventes Hexano

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS GRADUAÇÃO"



(Hex), diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) com a fase móvel em ordem crescente de polaridade, para a obtenção das frações. Para a separação e caracterização dos compostos presentes no extrato e frações de *U. tomentosa* pretende-se utilizar a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas – CLAE (Vékey, 2001).

3.2 Determinação do teor de compostos fenólicos e flavonoides

A determinação de fenóis totais (FT) do extrato seguirá o método de Folin-Cicalteau proposto por Bonoli et al. (2004). O teor de FT será determinado por interpolação da absorbância da amostra contra uma curva de calibração obtida com padrões de ácido gálico (10 a 350 $\mu\text{g/mL}$) e expressos como mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por g de extrato. A quantificação dos flavonoides será realizada de acordo com a metodologia descrita por Kosalec, (2004) com adaptações. Cada extrato será preparado em uma concentração inicial de 20 $\mu\text{g/mL}$ e diluída para 10, 5, 2 e 1 $\mu\text{g/mL}$. As amostras serão adicionadas 760 μL de metanol, 40 μL de acetato de potássio a 10% ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$), 40 μL de cloreto de alumínio a 10% de 1.120 mL de água. O resultado será expresso como equivalente de quercetina (mg) por gramas de extrato. As amostras serão incubadas à temperatura ambiente e as leituras serão realizadas em espectrofotômetro a 415 nm.

3.3 Ensaio da descoloração do radical ABTS^{•+}

Para a realização da análise será utilizado o cátion radical ABTS^{•+}, que apresenta coloração azul-esverdeada forte e pode ser formado pela oxidação do sal diamônio do ABTS (ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) com persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (RE et al., 1999). Este ensaio baseia-se na capacidade do composto antioxidante em reduzir o ABTS^{•+} pela doação de um elétron ao radical, causando a descoloração da solução e conseqüente diminuição da absorbância em 734 nm.

3.4 Atividade sequestradora de radical livre DPPH

A atividade sequestradora de radical livre será determinada pelo método fotolorimétrico de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil), conforme (CHOI et al., 1994), com modificações, e ácido ascórbico como antioxidante padrão. A inibição do DPPH por antioxidantes é seguida pelo desaparecimento da sua absorção, a troca da cor é proporcional a concentração e potência do antioxidante.

3.5 Ensaio de atividade quelante do íon Fe^{2+} e poder redutor de íon Fe^{3+}

A capacidade em quelar (Fe^{2+}) ou reduzir Fe^{3+} será determinada através do ensaio da o-fenantrolina. O ensaio baseia-se na reação de Fe^{2+} livre com 1,10 o-fenantrolina (ophe) para formar um complexo laranja-vermelho chamado com frequência ferroína ($\text{ph})_3\text{Fe}^{2+}$, o qual é medido por leituras de absorbância a 510 nm.

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS GRADUAÇÃO"



3.6 Análise de dados

As análises para todos os dados dos ensaios antioxidantes *in vitro*, serão realizadas em triplicata e os dados expressos como média ($n=3$) \pm desvio padrão (DP) usando a Análise de Variância (ANOVA) sucedida pelo teste de Tukey de comparações múltiplas para dados com distribuição normal e desvios padrões significativamente semelhantes, utilizando o programa GraphPad Prism 6. Os valores estatísticos considerados serão aqueles com valores de p inferiores a 0,05 ($p < 0.05$).

4. Resultados esperados

A espécie *Uncaria tomentosa* é uma planta medicinal amplamente utilizada na medicina popular do Brasil. Portanto, ela pode ser considerada relevante para o desenvolvimento de trabalhos no campo da química-biológica. A partir do desenvolvimento desse projeto, têm-se como perspectiva a identificação de substâncias ativas que possam atuar como antioxidantes naturais e dessa forma contribuir para o desenvolvimento de novas pesquisas para elaboração de novos fármacos com essa atividade.

5. Considerações finais

A realização desse projeto vai contribuir para a valorização dos recursos naturais extraídos de plantas da Caatinga nordestina, onde a espécie de estudo é encontrada. Dessa forma, esse trabalho oferece contribuição ao conhecimento químico e biológico da espécie *U. tomentosa* subsidiando o seu uso na prática popular e contribuindo para o uso racional e seguro desse recurso natural. Não obstante, o projeto propicia a integração com foco no desenvolvimento científico e propõe avanços na área de estudo com produtos naturais, identificando possíveis substâncias úteis para a farmacologia com efeitos positivos desde seu perfil químico à sua performance antioxidante.

6. Agradecimentos

O presente projeto irá desenvolver-se com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) através da concessão de bolsa de estudo de iniciação científica e colaboração dos integrantes do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Regional do Cariri (URCA).

7. Referências

CHOI, Jae Sue; LEE, Hee Jung; KANG, Sam Sik. Alatemin, cassiaside and rubrofusarin gentiobioside, radical scavenging principles from the seeds of *Cassia tora* on 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. **Archives of Pharmacal Research**, v. 17, n. 6, p. 462-466, 1994.

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS GRADUAÇÃO"



PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26(9-10): 1231-1237, 1999.

OLIVEIRA, A. C. DE . et al.. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009

VASQUES M.A.A, Fonseca E.B.M. Estresse oxidativo, exercício físico e saúde encefálica. **Revista Medicina e Saúde de Brasília**. v. 7 n. 1, p.76-98. maio 2018.

LUCCA *et al.* **Produtos naturais em síndrome metabólica**. *HU Rev.* 2020; 46:1-11. DOI: 10.34019/1982-8047.2020.v46.32296

PILARSK, R. *et al*, **Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC**. *Rev. Jornal de Etnofarmacologia* 104 (2006) 18–23