



Produção, Caracterização e Perfil de Segurança de Extrato de *Araucaria angustifolia* Visando

BIC-UCS

Aplicação em Nanomedicina – NANOFITO

Autores: Pedro Henrique Zatti, Carina Cassini, Valeria Weiss Angeli, Mirian Salvador, Cátia dos Santos Branco

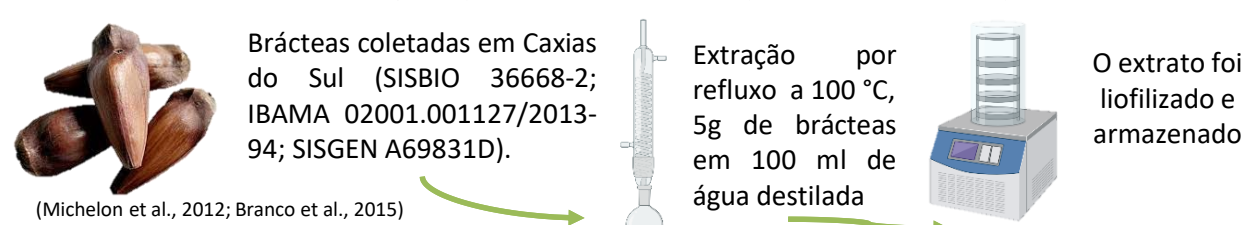


INTRODUÇÃO / OBJETIVO

Os compostos fenólicos apresentam reconhecida atividade biológica e são metabólitos secundários presentes nas plantas, a exemplo da *Araucaria angustifolia*. Apesar de seus potenciais efeitos terapêuticos e preventivos, a baixa biodisponibilidade oral desses compostos representa uma limitação importante que reduz seus efeitos *in vivo*. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi definir a faixa segura de extrato de *Araucaria angustifolia* (EAA) a ser utilizada no desenvolvimento de uma nanoformulação de uso oral para o tratamento e/ou prevenção de desordens crônicas associadas ao estresse oxidativo.

METODOLOGIA

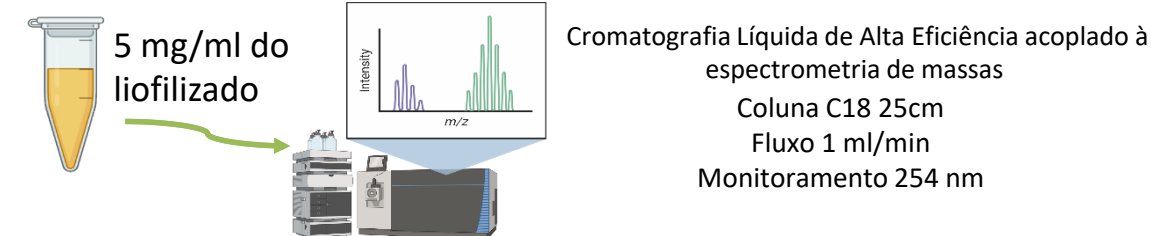
Extrato de *Araucaria angustifolia* (EAA): obtenção e caracterização



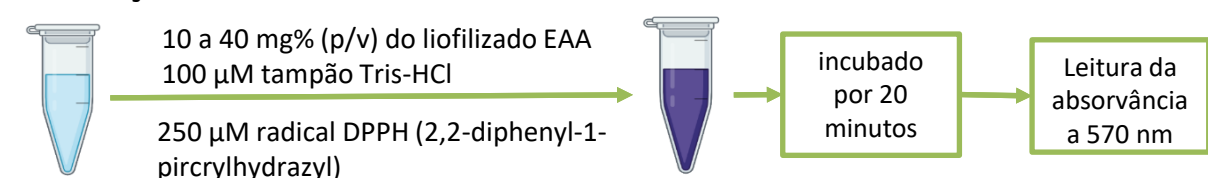
Análise do Conteúdo Fenólico Total



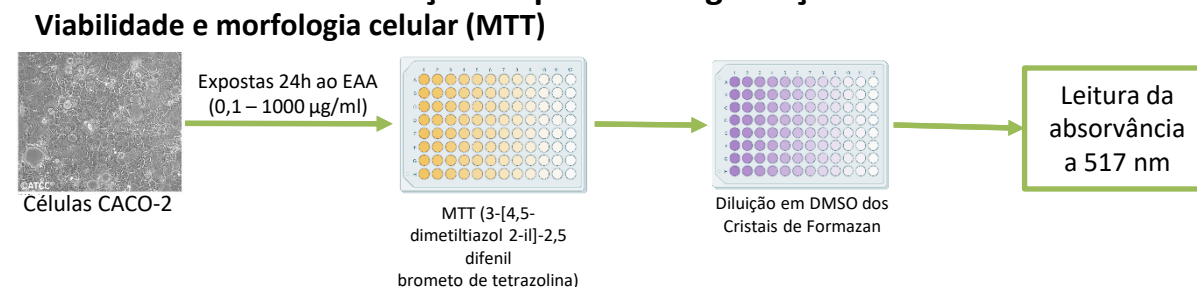
Identificação dos compostos majoritários por CLAE-MS/MS



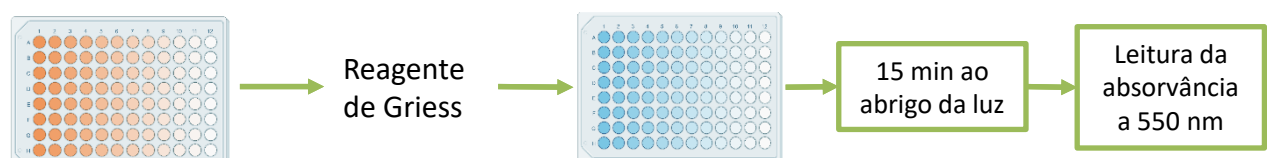
Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro* - DPPH



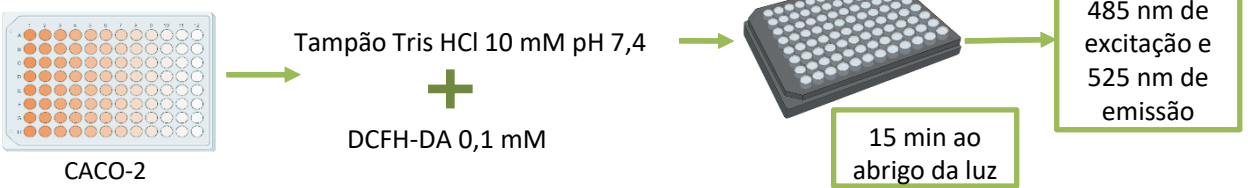
Cultura de células e Avaliação do perfil de segurança do extrato



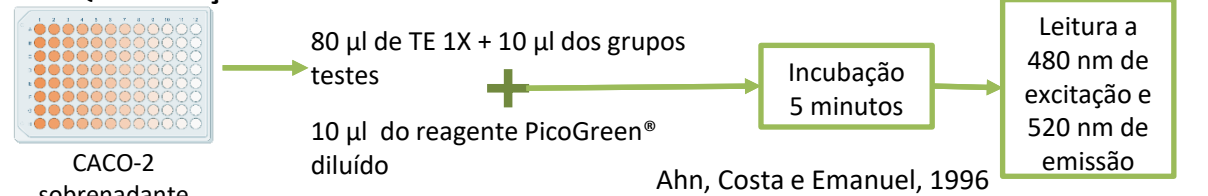
Avaliação do estresse nitrosativo e inflamação – óxido nítrico (NO*)



Avaliação do estresse oxidativo DCFH-DA



Quantificação de ds-DNA livre extracelular



RESULTADOS E DISCUSSÃO

- A quantidade de polifenóis totais do EAA foi de 11,97 mg/g de bráctea. Foram encontrados compostos fenólicos das classes flavan-3-óis, flavonols e biflavonoides em sua matriz química (Tabela 1). A EC₅₀ (concentração efetiva de extrato capaz de neutralizar em 50% o radical livre DPPH*) foi de 545,5 mg% de bráctea (Figura 1).
- No perfil de segurança, o extrato não foi citotóxico para as células intestinais CACO-2 nas condições estudadas, até a concentração de 500 µg/mL (Figura 2A). Resultados semelhantes foram encontrados para os níveis de óxido nítrico (Figura 2B). Não foram observadas alterações significativas nos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Figura 2C) e nenhuma dose testada foi genotóxica (Figura 2D).

Tabela 1. Determinação dos compostos majoritários do extrato (CLAE-MS/MS).

NOME QUÍMICO	NOME IUPAC	ESTRUTURA QUÍMICA
Catequina	(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol	
Galaxolidone	4,6,6,7,8,8-hexamethyl-4,7-dihydro-3H-cyclopenta[g]isochromen-1-one	
Epicatequina	(2R,3R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol	
Quercetina	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one	
Bi-flavonoide	5-hydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methoxyloxy-2-yl]oxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxychromen-4-one	

Figura 1. Percentual de varredura do radical DPPH* de diferentes concentrações do extrato de EAA.

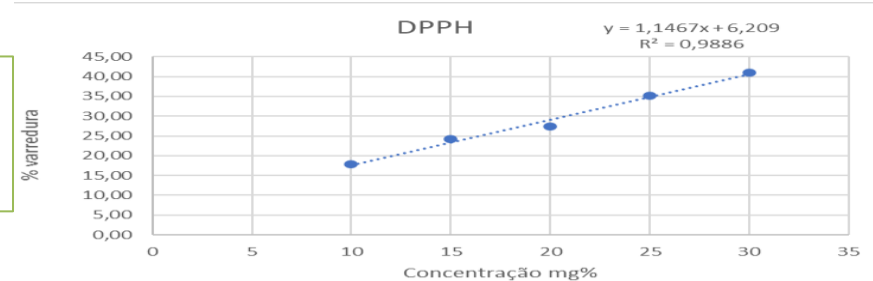
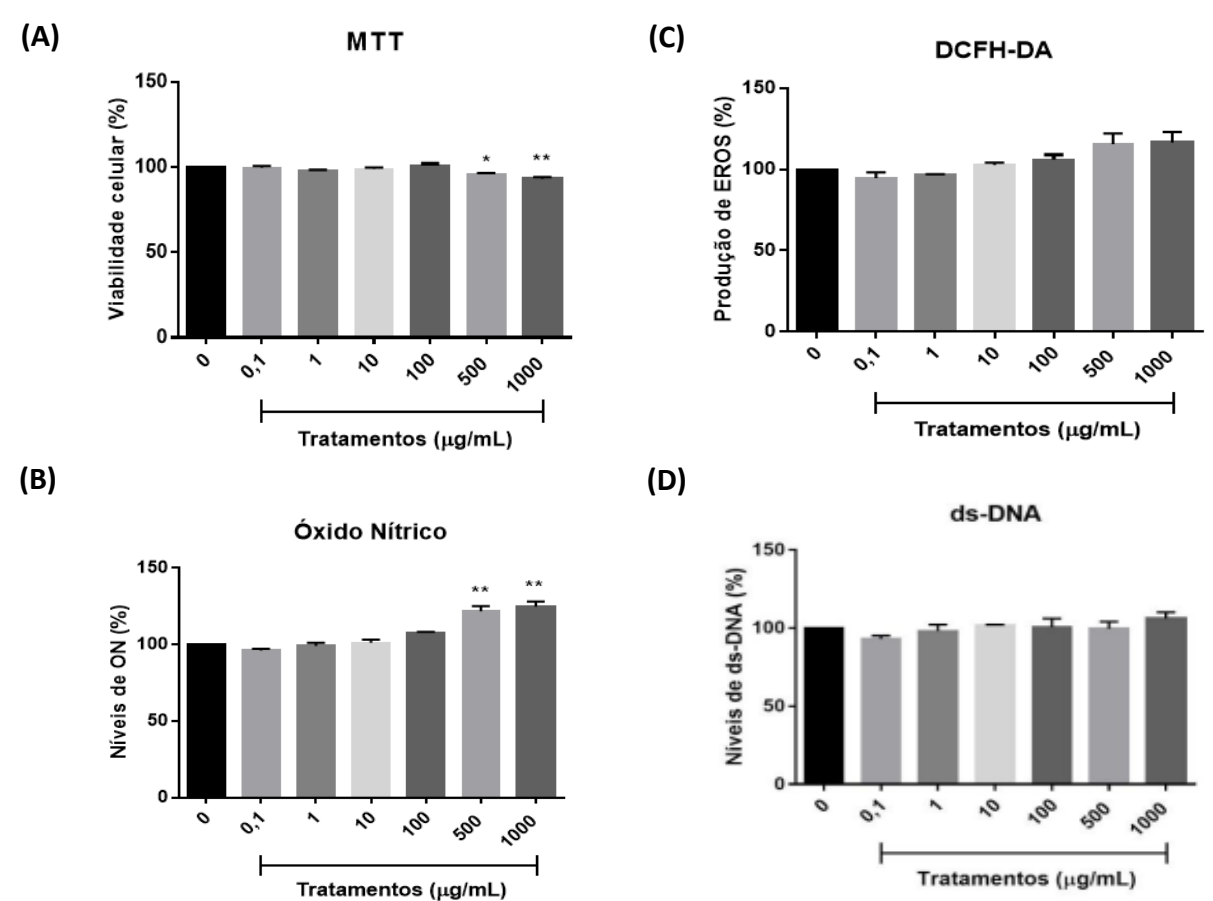


Figura 2. Análise da viabilidade (A), níveis de óxido nítrico (B), geração de espécies reativas de oxigênio (C) e índice de genotoxicidade (D) em células intestinais expostas a extrato de *Araucaria angustifolia* (EAA) por 24 h. Diferença estatística pela análise de variância (ANOVA) e post hoc de Tukey para *p < 0,05 e ** p < 0,001.



CONCLUSÃO

O EAA apresenta uma matriz química robusta e é eficaz no combate as EROs, sendo um candidato promissor no desenvolvimento de nanoformulações. Quando administrado em células intestinais diferenciadas em enterócitos (CACO-2), o EAA foi seguro até a dose de 500 µg/mL e não foi genotóxico. Esses achados são de grande importância para a delimitação das faixas seguras a serem adicionadas em formulações de base nanotecnológica para uso oral no tratamento de desordens centrais e sistêmicas associadas ao estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DENIZOT, François; LANG, Rita. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. *Journal Of Immunological Methods*, [s.l.], v. 89, n. 2, p. 271-277, maio 1986. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90368-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(86)90368-6)

EVERETTE, Jace D.; BRYANT, Quinton M.; GREEN, Ashlee M.; ABBEY, Yvonne A.; JANGILA, Grant W.; WALKER, Richard B. Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin-Ciocalteu Reagent. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [S.L.], v. 58, n. 14, p. 8139-8144, 28 jul. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf1009335>

GREEN, L.; TANNENBAUM, GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. *Science*, [s.l.], v. 212, n. 4490, p.56-58, 3 abr. 1981. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.6451927>

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH* - estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicináveis*, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 36-44, mar. 2015. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_165

PIRES, Janaina S. et al. Ensaio em micropalca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas. 2017. 5 f. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/324452676>. Acesso em: 01 set. 2020.

VEBER, J.; PETRINI, L.A.; ANDRADE, L.B.; SVEIRO, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini*). *Revista Brasileira de Plantas Edicinais*, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 267-273, jun. 2015 http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_181

ZHANG, H. - Thin-Film Hydration Followed by Extrusion Method for Liposome Preparation - Gerard G.M. D'Souza (ed.), *Liposomes: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, vol. 1522, DOI 10.1007/978-1-4939-6591-5_2, Springer Science+Business Media New York 2017.