



UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ

JOANNA SIEVERS

**EXTRATOS DE FRUTOS DE *Ardisia elliptica*: PERFIL
FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIDEPRESSIVO.**

Itajaí

2017

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS
BIOATIVAS

JOANNA SIEVERS

EXTRATOS DE FRUTOS DE *Ardisia elliptica*: PERFIL
FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIDEPRESSIVO.

Dissertação submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dra. Angela Malheiros
Coorientador: Prof. Dra. Márcia Maria de Souza

Itajaí, outubro 2017

Ficha Catalográfica
Bibliotecária Eugenia Berlim Buzzi – CRB- 14/963

S Sievers, Joanna, 1986-

1 Extratos de frutos de *ardisia elliptica* [manuscrito]: perfil fitoquímico e avaliação
9 do potencial antidepressivo / Joanna Sievers. – Itajaí, SC. 2017.

e

79 f. ; il. ; tab. ; graf. ; fig.

. Bibliografias f. 67-78

Cópia de computador (Printout(s)).

Dissertação submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

“ Orientador: Prof. Dra. Angela Malheiros .”

“ Coorientador: Prof. Dra. Márcia Maria de Souza.”

1. Plantas medicinais. 2. Depressão. 3. Ácidos graxos
- I. Universidade do Vale do Itajaí. II. Título.

CDU: 616.89-008.454

EXTRATOS DE FRUTOS DE *Ardisia elliptica*: PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO.

Joanna Sievers

‘Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Produtos Naturais e Substâncias Bioativas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Vale do Itajaí.’

Clóvis Antonio Rodrigues, Dr
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Apresentado perante a Banca Examinadora composta pelos Professores:


Prof. ^a . Dra. ANGELA MALHEIROS (UNIVALI) – Presidente e Orientadora

Prof. ^a . Dra. MARCIA MARIA DE SOUZA (UNIVALI) – Coorientadora

Prof. Dr. JOSE ROBERTO SANTIN (UNIVALI) – Membro Interno

Prof. ^a . Dra. TANIA MARI BELLÉ BRESOLIN (UNIVALI) – Membro Interno

Prof. ^a . Dra. IEDA MARIA BÉGNINI (FURB) – Membro Externo

Itajaí (SC), 30 de outubro de 2017.

**Dedico este trabalho à quem sempre
esteve ao meu lado, incondicionalmente,
compreendendo os momentos de ausência
e me dando forças pra seguir em frente,
meu noivo, Gustavo.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a todos que fizeram parte deste desafio, em especial:

À Deus, por iluminar meus passos e me dar forças para continuar;

À minha orientadora, professora Angela Malheiros, pelos ensinamentos, pela dedicação, pelo profissionalismo, pela paciência, por fazer parte do meu crescimento profissional e principalmente pela amizade que construímos;

À professora Marcia Maria de Souza, pelos ensinamentos na farmacologia;

Aos professores José Roberto Santin, Tania Mari Bellé Bresolin e Christiane Meyre, pelas contribuições;

Aos membros da banca, por aceitarem o convite e pelas considerações;

Aos técnicos dos laboratórios, Pedro, Clarissa, Samanta, Davison, pela ajuda e parceria;

Aos colegas de mestrado e doutorado, Duda, Ingrid, Adri Campos, Ana Elisa, Marcel, por tornarem o trabalho mais leve;

Às colegas e amigas Marina e Ivi, presentes do mestrado para a vida;

Aos alunos da graduação, Brida, Miguel, Suzana, Júlia, Lucas pela ajuda e dedicação com nossa planta;

Aos professores das disciplinas, que muito me ensinaram e ajudaram a enriquecer este trabalho;

À coordenação do mestrado e aos colaboradores Juliano e Helenize pelo apoio;

Aos meus alunos, fonte da minha inspiração diária;

Aos meus colegas de trabalho da Univali e Uniasselvi, pelo apoio e amizade;

Às minhas amigas, Lari e Kelli, e às Ninks, pelo carinho de sempre e por compreenderem tantas ausências;

Aos meus pais e meu irmão, exemplos de vida e apoio constante;

Ao meu amor, Gustavo, pela parceria, incentivo, paciência, carinho e amor inigualáveis, por estar presente em todos os momentos, por acreditar mais em mim do que eu mesma, por me amar como sou e por ser parte desta conquista.

“O futuro que virou presente, acaba de passar...”
Duca Leindecker

EXTRATOS DE FRUTOS DE *Ardisia elliptica*: PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO.

Joanna Sievers

Outubro/2017

Orientadora: Prof^ª. Dra. Angela Malheiros

Área de Concentração: Produtos naturais e substâncias sintéticas bioativas

Número de Páginas: 86.

RESUMO

As plantas são importantes fontes de compostos bioativos que podem contribuir no desenvolvimento de novos fármacos para doenças que atualmente não são tratadas de maneira eficiente, entre elas distúrbios psiquiátricos como a ansiedade, insônia e a depressão. O objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil químico de extratos de *Ardisia elliptica* visando estabelecer o seu potencial antidepressivo. A planta *A. elliptica* foi coletada no bairro Progresso, município de Blumenau no Estado de Santa Catarina, em abril de 2015. Foram obtidos os rendimentos dos frutos após secagem/desidratação e o rendimento das soluções extrativas dos frutos, folhas, caules e pedúnculos. Realizou-se um *screening* para avaliar o extrato com melhor atividade tipo-antidepressiva. Os ensaios fitoquímicos iniciaram com o fracionamento do extrato por cromatografia em coluna (CC), sendo as frações analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) e reunidas por similaridade no perfil químico. Algumas frações foram analisadas por técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN), Infravermelho (IV) e Cromatografia Gasosa/Espectrometria de massas (CG/EM). Os ensaios farmacológicos para verificar o potencial antidepressivo dos extratos e frações incluíram os testes do nado forçado (TNF), do campo aberto (TCA) e de suspensão pela cauda (TSC). Realizou-se uma curva dose-resposta, a determinação do tempo de ação da atividade tipo-antidepressiva do extrato, bem como um tratamento sub-crônico. Tanto o extrato etanólico das folhas ($p < 0,05$) como dos frutos verdes (EEFV) ($p < 0,001$), promoveram diminuição do tempo de imobilidade dos animais no TNF, demonstrando um possível efeito antidepressivo. Contudo, por demonstrar atividade tipo-antidepressiva mais pronunciada, o EEFV foi escolhido para a continuação dos testes farmacológicos e fitoquímicos. A melhor dose do EEFV foi 150 mg/kg e o tempo de ação antidepressiva foi de 4 h. O EEFV não apresentou ação sedativa inespecífica, não promoveu alterações na performance motora dos animais, e não comprometeu a atividade exploratória dos mesmos. No tratamento sub-crônico, o EEFV continuou promovendo a diminuição do tempo de imobilidade no TNF. Quimicamente, em todas as frações predominam partes de moléculas de hidrocarbonetos de cadeia longa saturados ou insaturados, que podem estar na forma

de ácidos graxos ou compostos fenólicos. Os espectros da fração 1-7 apresentaram características de hidrocarbonetos insaturados. A fração 8-12 apresentou características de triglicérides e também foram detectados os ácidos graxos saturados láurico, palmítico e tridecanóico, e insaturados, como o oleico. Já na fração 13-18, além dos compostos acima descritos, foram encontrados ácidos graxos poli-insaturados, entre eles o ácido linoleico. Nos espectros da fração 24-30 observou-se sinais referentes à hidrogênios e carbonos aromáticos, caracterizando uma mistura de ardisifenóis, sendo possível observar deslocamentos químicos similares ao Ardisifenol C. A composição das frações 31 até a 61, possivelmente inclui ácidos graxos insaturados hidroxilados, não sendo possível sua identificação até o momento. As frações 9-12, 24-30 e 61 não apresentaram atividade tipo-antidepressiva. Sugere-se que ao fracionar o EEFV, sua ação tenha sido alterada, prejudicando a sinergia entre os constituintes da planta, ou, possivelmente, há outras frações ativas não avaliadas. Os extratos das folhas e dos frutos verdes apresentaram atividade tipo-antidepressiva em testes pré-clínicos, excluindo interferência psico-motora. Contudo, o extrato dos frutos apresentou uma atividade mais pronunciada. Nas frações avaliadas predominam hidrocarbonetos saturados ou insaturados de cadeia longa, que estão na forma de ácidos graxos ou compostos fenólicos, sugerindo que a presença destes possa estar relacionada ao efeito tipo-antidepressivo evidenciado.

Palavras-chave: *Ardisia elliptica*. Depressão. Ácidos graxos. Compostos fenólicos.

***Ardisia elliptica* FRUIT EXTRACTS: PHYTOCHEMICAL PROFILE AND EVALUATION OF ANTIDEPRESSIVE POTENTIAL.**

ABSTRACT

Plants are important sources of bioactive compounds, which may contribute to the development of new drugs for diseases that are not treated efficiently at present, including depression. The aim of this study was to evaluate the chemical profile of extracts of *Ardisia elliptica* in order to establish its antidepressant potential. The *A. elliptica* plant was collected in the Progresso neighborhood of the city of Blumenau, in the State of Santa Catarina, in April 2015. The phytochemical tests started with the fractionation of the extract by column chromatography (CC), and the fractions were analyzed by thin layer chromatography (TLC) and combined by similarity in the chemical profile. Some fractions were analyzed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Infrared (IV) and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Pharmacological tests for the antidepressant potential of extracts and fractions included the Forced Swim (FST), Open Field Arena (OFA) and Tail Suspension (TST) tests. A dose-response curve was created, determining the action time of antidepressant activity of the extract, as well as a sub-chronic treatment. Both the ethanolic extract of the leaves ($p < 0.05$) and the green fruits ($p < 0.001$) promoted a decrease in immobility time of the animals in the FST, demonstrating a possible antidepressant effect. However, because it showed more pronounced antidepressive activity, the ethanolic extract of the green fruit (EEGF) was selected for the continuation of the pharmacological and phytochemical tests. The best dose of EEGF was 150 mg/kg and the antidepressant-type action time was 4 hours. EEGF did not show nonspecific sedative action, did not promote changes in performance of the animals, and did not jeopardize their exploratory activity. In the sub-chronic treatment, EEGF continued to promote a reduction in immobility time in the FST. According to the phytochemical analysis, all saturated or unsaturated long-chain hydrocarbon molecules predominated in all fractions, which may be in the form of fatty acids or phenolic compounds. The NMR spectra of fractions 1-8 showed unsaturated hydrocarbon characteristics. Fraction 9-12 presented triglyceride characteristics and saturated fatty acids (lauric, palmitic and tridecanoic), and unsaturated (oleic) acids were also detected. In fractions 13-18, in addition to the compounds described above, polyunsaturated fatty acids were found, among them linoleic acid. In the spectra of fractions 24-30, signs were observed relating to hydrogens and aromatic carbons, characterizing a mixture of arithiiphenols, and chemical displacements were observed, similar to Ardisifenol C. The composition of fractions 31-61 are possibly hydroxylated unsaturated fatty acids, but its identification has not been possible so far. Fractions 9-12, 24-30 and 61 showed no antidepressive-type activity. It is suggested that by fractionating EEGF, its action may be altered. This may be justified by the synergy between the plant constituents, or possibly other non-evaluated active fractions. *A. elliptica* exhibits antidepressant potential, and the

EEGF presented antidepressive-type activity in preclinical tests, excluding psychomotor interference. Phytochemical analysis showed a predominance of long chain saturated or unsaturated hydrocarbons, in the form of fatty acids or phenolic compounds, whose presence may be related to the evidenced antidepressant effect.

Keywords: *Ardisia elliptica*. Depression. Fatty acids. Phenolic compounds.