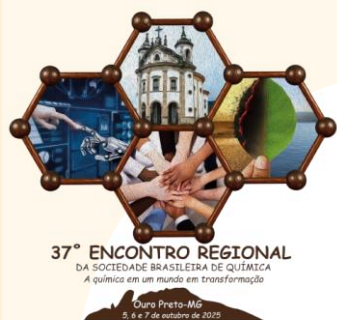




Avaliação do Potencial Inibidor de Acetilcolinesterase de Extratos de *Coffea arabica* L.

Gabriela M. Furlani (PG),^{1*}, Guilherme de O. Ferraz (PG),¹ Luana L. Dutra (PQ),² João Paulo V. Leite (PQ),² Beatriz F. Laranjeira (G),¹ Isabelly R. Monteiro (G),¹ Eduardo V. V. Varejão,¹ Antonio J. Demuner,¹ e Marcelo H. Dos Santos (PQ)¹.

¹ Departamento de química, UFV; ² Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV.
gabriela.furlani@ufv.br

RESUMO

Os metabólitos secundários presentes no café apresentam uma ampla gama de atividade biológicas. Considerando isso, neste trabalho foi realizado o estudo químico dos grãos de *Coffea arabica* L., a partir do qual foram obtidos dois extratos: o hexânico e etanólico. O extrato hexânico é constituído basicamente de triacilgliceróis e diterpenos, nele foi possível identificar o cafestol e o kahweol. No extrato etanólico identificaram-se principalmente a cafeína e o ácido clorogênico. Os extratos e frações obtidas, assim como a cafeína, foram avaliados quanto à atividade antiacetilcolinesterase. A fração F2 e o extrato etanólico apresentaram inibição significativa de 49,29% e 38,17%, respectivamente, em concentração próxima de 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Este resultado destaca o potencial uso desses componentes naturais no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., metabólitos secundários, acetilcolinesterase.

Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo progressivo, sendo a principal causa de demência em idosos. Os sintomas associados incluem perda de memória, diminuição da função cognitiva e de habilidades de comunicação (1,2). Neste contexto, pesquisas voltadas à identificação de potenciais inibidores da AChE é de grande importância como etapa preliminar para o desenvolvimento de novos medicamentos (3). Considerando esse cenário, temos como destaque o café, que dá origem a uma bebida amplamente consumida e apreciada em todo mundo, não só pelo seu sabor, mas também pelo seu efeito estimulante (4). O grão de café apresenta uma composição química muito complexa (5). Estima-se que tal grão possua cerca de 2.000 substâncias que são responsáveis por diversas atividades biológicas (4,6), incluindo atividade neuroprotetora (7).

Experimental

Obtenção dos extratos e avaliação biológica

Os grãos verdes de *Coffea arabica* L. foram triturados e mantidos em contato com o solvente hexano por sete dias, sendo então realizado o processo de extração, que resultou no extrato EH. Em seguida, os grãos de café previamente extraídos com hexano foram submetidos a extração com etanol, obtendo-se o extrato EE. A partir do extrato EH, foi realizada a reação de saponificação, permitindo a obtenção de uma fração insaponificável. Essa fração, por sua vez, passou por separação em coluna cromatográfica, resultando nas frações F1 e F2. Todas as frações foram analisadas por técnicas espectroscópicas e espectrométrica. Em sequência os extratos e frações obtidos foram avaliados com relação a atividade anti-acetilcolinesterase em concentrações próxima de 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Resultados e Discussão

Análise dos extratos

No extrato hexânico (EH) está presente a fração lipídica constituída principalmente por ésteres diterpênicos e triacilgliceróis. Por meio da análise de ATR foi possível identificar a banda em 1743 cm^{-1} que é referente ao estiramento C=O para ésteres, que está associada aos triacilgliceróis. Além disso, tal banda também pode ser associada ao estiramento C=O dos diterpenos cafestol e kahweol que estão presentes na forma esterificada com diferentes ácidos graxos. Na fração insaponificável, assim como na fração F2 foi possível identificar os compostos kahweol e o cafestol por meio da análise por CG-EM. No espectro obtido da fração insaponificável é possível observar o fragmento em 296 m/z (Figura 1) que é referente a estrutura do kahweol com a perda de H_2O . O fragmento em 298 m/z (Figura 1) corresponde ao cafestol que também teve perda de H_2O .

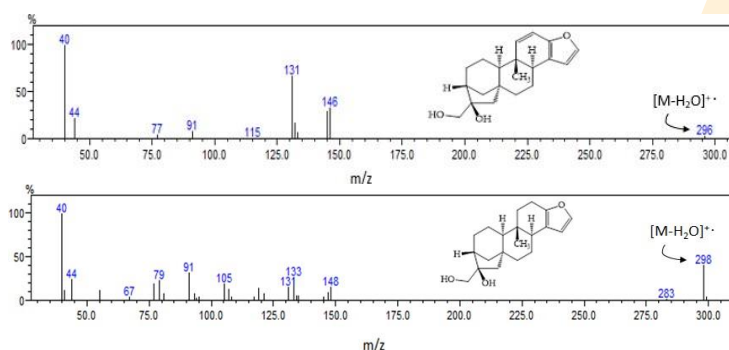


Figura 1. Espectro de massas do kahweol e cafestol (70 eV) obtido por análise da porção insaponificável.



No extrato etanólico (EE) foi possível identificar principalmente a presença de cafeína e ácido clorogênico, por meio da análise por infravermelho e cromatografia em camada delgada (CCD) (Figura 2).

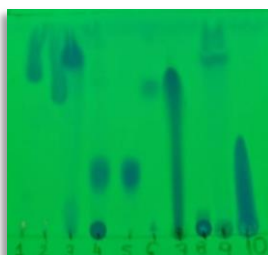


Figura 2 – Cromatografia em Camada Delgada (CCD) utilizando como fase estacionária sílica-gel e fase móvel AcOEt. Revelação em câmara de luz ultravioleta (254 nm). 1.Extrato hexânico, 2. Insaponificável, 3.F2, 4.Extrato etanólico, 5.Cafeína, 6.Cafestol, 7.Ácido cafeico, 8.Ácido clorogênico, 9.β-sitosterol, 10.Trigonelina.

Ensaio de inibição enzimática da acetilcolinesterase

Tabela 1. Inibição dos extratos e frações obtidos do *Coffea arabica* L. contra acetilcolinesterase (*Electrophorus electricus*, tipo VI).

Extratos	Concentração (µg/mL)	Inibição (%)	Desvio padrão
EH	400,00	0	0
EE	405,49	49,29	3,82
INSAP	400,00	0	0
F1	400,00	0,086	0,47
F2	402,31	38,17	0,82
Cafeína	50	0	0
Fisostigmina	15	81,7	1,46

A fração F2 foi isolada do extrato hexânico (EE). Considerando que os dados sobre o efeito neuroprotetor do kahweol e cafestol são bastante limitados na literatura (8) e sabendo que tais substâncias não apresentaram inibição da enzima AChE na concentração testada, a atividade da fração F2 não pode ser justificada pela presença dos diterpenos cafestol e kahweol. Logo, não foi possível definir quais compostos influenciaram na inibição da AChE.

O extrato etanólico (EE) é constituído principalmente de cafeína, compostos fenólicos como os ácidos clorogênicos (ACG) e trigonelina (9). In vitro, o ácido clorogênico inibe a atividade da acetilcolinesterase com IC₅₀ = 98,17 µg/mL (10) e a trigonelina inibe fracamente a AChE (11). Sendo assim, a atividade deste extrato pode ser justificada pela presença dos compostos fenólicos (ácidos clorogênicos) e a trigonelina, mas não pela presença da cafeína, já que tal xantina não apresentou atividade de inibição nesse ensaio.

Conclusões

Foi realizado o estudo químico do *Coffea arabica* L. sendo possível identificar diversos compostos. Além disso, os extratos e frações obtidos foram avaliados quanto a ação inibitória da enzima acetilcolinesterase. A fração F2 e o extrato etanólico apresentaram atividade significativa de 38,17 e 49,29%, respectivamente. Sendo assim, esse trabalho valoriza um recurso agrícola de grande importância econômica e cultural no Brasil e no mundo, estimulando o uso sustentável e com maior valor agregado dos grãos de café. Além disso, abre caminho para o aproveitamento de compostos naturais do café no desenvolvimento de produtos fitoterápicos ou nutracêuticos direcionados à saúde cerebral.

Referências

1. A. Moradi, et al. *Medicinal Chemistry Research*. **2018**, 27, 1741–1747.
2. A. Rampa, et al. *Molecules*, **2016**, 21,1–16.
3. C. R. Araújo; V. Santos, A. Gonsalves. *Revista Virtual de Química*, **2016**, 8, 1818–1834.
4. Y. Ren, et al. *Trends in Food Science and Technology*. **2021**, 111, 280–291.
5. R. C. Alves; Casal, S.; Oliveira, *Química Nova*, **2009**, 32, 2169–2180.
6. L. Febrina; N. Happyana; Y. Maolana Syah. *Food Chemistry*, **2021**, 355, 129496.
7. S. M. Carneiro; M. B. P. P Oliveira; R. C. Alves. *Trends in Food Science and Technology*, **2021**, 113, 167–179.
8. K. Socała, et al. *International Journal of Molecular Sciences*. **2021**, 22, 1–64.
9. I. Moreira, et al. *Química Nova*. **2014**, 37, 39–43.
10. S. H. Kwon, et al. *European Journal of Pharmacology*. **2010**, 649, 210–217.
11. J. Zhou; L. Chan, & S. Zhou. *Current Medicinal Chemistry*. **2012**, 19, 3523–3531.

Agradecimentos

