

EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS MEDICINAIS USADAS COMO FITOTERÁPICOS EM GATOS (*Felis silvestres catus*)

Ana Laura Moura Rodrigues (PIBIC-AF/CNPq/FA/UEM), Érica Marusa Pergo Coelho (Orientadora). E-mail: empcoelho@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Umuarama, PR.

Centro de Ciências Agrárias, Medicina Veterinária

Palavras-chave: *Aloysia triphylla*; compostos fenólicos; HPLC/MS

RESUMO

Aloysia triphylla, originária do Chile, é amplamente utilizada devido às suas propriedades adstringente, aromática, bactericida e inseticida, além de atividades farmacológicas associadas a compostos fenólicos, como ação anestésica, antioxidante e anti-inflamatória. Suas folhas têm uso tradicional na medicina humana no tratamento de resfriados, insônia, ansiedade e como analgésico, sedativo e tônico, e recentemente vêm sendo investigadas na medicina veterinária para manejo do estresse animal. Este estudo teve como objetivo extrair, identificar e quantificar metabólitos secundários da espécie por UHPLC-MS. Dos 38 fenólicos padronizados, 18 foram detectados no extrato aquoso, destacando-se o ácido fumárico e o ácido málico (>250 ppb), o ácido p-cumárico (259,0 ppb) e, de forma inédita, o ácido nicotínico (171,3 ppb). Este último representa um achado relevante, uma vez que não havia relatos anteriores de sua ocorrência em *A. triphylla* e possui potencial promissor em estudos com animais, especialmente gatos.

INTRODUÇÃO

Segundo Cagol, 2020, a *Aloysia triphylla*, conhecida como erva-limão ou erva-luíza, é originária do Chile e possui propriedades adstringentes, aromáticas, bactericidas e inseticidas. Apesar de seu potencial, ainda é pouco explorada na medicina veterinária. Seu óleo essencial é rico em citral (principal composto), além de limoneno, citronelol, geraniol, pinenos, cineol, entre outros. Também apresenta compostos fenólicos, como flavonoides e ácidos fenólicos, responsáveis por atividades farmacológicas como ação analgésica, antioxidante e anti-inflamatória.

Tradicionalmente, suas folhas são usadas em infusões contra resfriados, insônia, ansiedade e dores. Estudos apontam que o óleo essencial exerce efeito anestésico e sedativo sobre neurônios entéricos, já testado em camarões e peixes, mostrando eficácia na redução do estresse (BRANDÃO, 2020).

Na medicina veterinária, destaca-se a possibilidade de aplicação em gatos, animais naturalmente suscetíveis ao estresse durante consultas. Esse estresse compromete exames e diagnósticos, motivo pelo qual a busca por alternativas fitoterápicas, como a *A. triphylla*, tem se mostrado promissora para proporcionar um atendimento mais tranquilo (NASCIMETO, 2022).

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta das folhas de *Aloysia triphylla* foi realizada ao horto da UEM/ fazenda Estr. Paca-Jardim São Cristóvão, Umuarama - Paraná, 87507-190. Após a coleta das folhas, no laboratório de Bioquímica, estas foram lavadas e selecionadas quanto a viabilidade, e foram cortadas em pequenas partes, colocadas em recipientes e levadas para o ultra-freezer à temperatura de -34°C , onde foram armazenadas. Após foram também liofilizadas no Liofilizador LS 3000 e permaneceram no ultra-freezer à -34°C . Após a liofilização, as amostras foram extraídas pelo método de Ultrassom. No ultrassom, as amostras de folhas secas foram mantidas em agitação pela sonda por uma hora com temperatura máxima de 40°C . Na extração utilizada a amostra foi extraída em água (10g/100mL), metodologia adaptada no laboratório de Bioquímica/UEM, Umuarama (DAMIÃO et. al. 2024).

Após o protocolo de extração, o extrato foi preparado, filtrado, centrifugado e diluído em metanol para análise em MS/UHPLC (Shimadzu), empregando método gradiente com coluna C18, detecção no modo MRM com 38 padrões de fenólicos, e posterior identificação dos metabólitos no software Lab Solution/Insight.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na tabela 01 que foram identificados dos 38 compostos fenólicos padronizados, apenas 18 fenólicos, no extrato aquoso de *Aloysia triphylla*. E dos 18 fenólicos encontrados neste trabalho, o ácido fumárico e o ácido málico, se destacaram em quantidades, pois apresentaram uma concentração acima de 250ppb (partes por bilhão), acima da curva de calibração feita com os padrões. Outros fenólicos que se destacaram também em quantidades foram o ácido nicotínico com 171,30 ppb e o ácido p-cumárico com 259,00 ppb.

Tabela 1 - Identificação e Quantificação de compostos fenólicos no extrato aquoso de *Aloysia triphylla*, utilizando curva de calibração de 38 fenólicos no HPLC/MS.

FENÓLICO	Massa monoisotópica (ideal)	Íons Precusores	Tempo de Retenção (minutos)	Concentração (ppb)
----------	-----------------------------------	--------------------	-----------------------------------	-----------------------

Ácido Cafeíco	180,16 g/mol	-179,20	8,3	89,63
Ácido Ferúlico	194,18 g/mol	-193,20	8,9	109,36
Ácido Fumárico	116.072 g/mol	-115,20	5,5	1.660,50*
Ácido Málico	134,087 g/mol	-133,20	3,9	31.237,00*
Ácido Nicotínico	123.111 g/mol	-122,40	4,6	171,30
		+123,9	4,6	261,50*
Ácido p-cumárico	164,16 g/mol	-163,20	8,8	259,00*
Ácido p-hidroxibenzóico	138,12 g/mol	-137,20	8,3	60,50
Ácido Protocatecuico	154,1 g/mol	-153,20	7,6	38,23
Ácido Siríngico	198,2 g/mol	-197,20	8,4	89,20
Ácido Vanílico	168,1 g/mol	-167,40	8,4	44,28
Cafeína	194,19 g/mol	+194,9	8,5	10,24
Hidroxibenzaldeído	122,12 g/mol	-121,40	8,5	31,72
		+123,10	8,5	48,18
Isovanilina	152,15 g/mol	+153,10	8,7	58,35
Luteolin	286,24 g/mol	-285,00	9,9	32,73
		+286,90	9,9	10,86
Naringenina	272,25 g/mol	+273,00	9,7	6,77
Rutina	610,5g/mol	-609,00	8,9	4,75
Seringaldeído	182,18 g/mol	+183,00	8,7	99,74
Vanilina	152,1 g/mol	-151,40	8,7	57,40

*concentração acima de 250ppb (acima da curva de calibração)

De acordo, com a tabela acima, podemos observar resultados diferentes dos pesquisados, onde o ácido fumárico e o ácido málico se destacaram em nossa pesquisa por apresentar uma alta concentração, e também temos o ácido nicotínico com uma alta concentração, um resultado que de acordo com as pesquisas realizadas, ainda não havia sido relatado.

O ácido fumárico, amplamente usado na indústria, é majoritariamente obtido pela isomerização do ácido maleico, mas cresce o interesse por sua produção fermentativa sustentável (FING et al. 2020). O ácido málico, intermediário do ciclo TCA, é um dos ácidos orgânicos mais comuns em frutas, predominando em espécies como maçãs, bananas, lichias e ameixas (KOVILEIN et al. 2020).

Nos gatos, o ácido nicotínico (niacina, vitamina B3) é essencial, porque diferente de outras espécies eles não conseguem sintetizar quantidades suficientes a partir do triptofano (aminoácido presente em proteínas). Por isso, dependem da ingestão direta da vitamina na dieta (CATAK & YAMAN, 2019).

CONCLUSÕES

A *Aloysia triphylla* é uma erva medicinal pouco estudada, mas já utilizada na medicina humana e em expansão na veterinária; em nosso estudo, identificou-se

pela primeira vez a presença de ácido nicotínico em alta concentração, destacando-se como composto fenólico promissor para pesquisas veterinárias.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por estar presente em todas as dificuldades e conquistas. Agradeço também à minha orientadora, Érica Marusa Pergo Coelho, e à Fundação Araucária pelo apoio essencial para a realização deste projeto. Por fim, agradeço à minha família e ao meu parceiro, que sempre me ouviram, me ajudaram no direcionamento e me ofereceram o apoio necessário.

REFERÊNCIAS

BRANDÃO, F. R. Anestesia e transporte de *Colossoma macropomum* com os óleos essenciais de *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* e *Mentha piperita*. **Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Amazonas**, p.124. 2020.

ÇATAK J. & YAMAN M. Determination of Nicotinic Acid and Nicotinamide Forms of Vitamin B₃ (Niacin) in Fruits and Vegetables by HPLC Using Postcolumn Derivatization System. **Pakistan Journal of Nutrition**, 18: 563-570. 2019.

CAGOL, L., et al. Utilização de óleos essenciais de *Lippia alba* (erva-cidreira) e *Aloysia triphylla* (erva-luiza) para *Macrobrachium rosenbergii*. **Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon**, p.73, 2020.

DAMIÃO, V. H. B., DE ASSUNÇÃO, C. T., CORREIA, D. C. C., DA SILVA, L. DOS S., DA COSTA, A. C. P. R., & COELHO, ÉRICA M. P. Diferentes métodos de extração para obtenção de metabólitos na planta jovem nim (*Azadirachta indica*) por cromatografia líquida de alta eficiência. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, 22(1), 4372–4386, 2024.

FENG G., WU M., DAI Z., ZHANG S., ZHANG W., DONG W., ZHOU J., JIANG M., XIN F. Current advances on biological production of fumaric acid, **Biochemical Engineering Journal**, Volume 153, 2020, 107397.

KÖVILEIN, A., KUBISCH, C., CAI, L. AND OCHSENREITHER, K. Malic acid production from renewables: a review. **J Chem Technol Biotechnol**, 95: 513-526, 2020.

NASCIMENTO ATDB, P.P.L., et al. Estresse em gatos: Revisão. **Pubvet**. v.16, n.12, 2022.