

## ESTUDO QUÍMICO DAS CASCAS DE *VISMIA SPRUCEI* SPRAGUE VISANDO SUBSTÂNCIAS COM O POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANO

Orleyson Cunha GOMES<sup>1</sup>; Jaqueline Inês Alves de ANDRADE<sup>2</sup>; Pierre Alexandre dos SANTOS<sup>3</sup>; Cecília Veronica NUNEZ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/ FAPEAM/ INPA; <sup>2</sup>Bolsista CNPq; <sup>3</sup>Co-Orientador CPPN/INPA; <sup>4</sup>Orientadora CPPN/INPA

### 1. Introdução

O conhecimento sobre plantas medicinais é muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. De maneira indireta esse tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, a botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem o conhecimento sobre inesgotável fonte medicinal (Maciel, 2002). A flora amazônica vista como detentora de uma variedade de espécies vegetais e considerada o grande repositório de plantas medicinais, tem sido pouco explorada em termos de pesquisas tanto química quanto biológica. Assim urge intensificar o número de estudos químicos e biológicos com as plantas da Região Amazônica, pois essa vem sendo ameaçada pelo desmatamento, que por ano, em média, 20 mil quilômetros quadrados de floresta são desmatados – a cifra tem flutuado entre 19 e 27 mil quilômetros quadrados nos últimos anos. A Amazônia está perdendo sua biodiversidade em ritmo frenético, que muitas espécies da sua flora correm o constante risco de serem extintas antes mesmo de serem estudadas pela ciência (Ângelo, 2008), além disso, a biopirataria cresce vertiginosamente nessa região (Brasil, 2004). Com o intuito de se buscar substâncias bioativas a partir de espécies da floresta Amazônica, escolheu-se para o presente estudo a espécie *Vismia sprucei* Sprague, conhecida popularmente com lacre. Árvores dessa espécie podem chegar a medir de 2 a 15 metros, e são encontradas principalmente em toda a Amazônia brasileira, na Colômbia e no Equador (Mobot, 2009). A infusão das cascas do tronco é usada na medicina popular para o combate de reumatismo, dermatoses como as impigens (*Tinea corporea*) e ferimentos por inseto (Santos, 2007). Estudos biológicos mostram a grande capacidade que plantas medicinais possuem quanto à atividade antibacteriana, pois os antibacterianos presentes no mercado estão cada vez mais se tornando ineficiente graças ao aparecimento de cepas com resistência aos seus princípios ativos, o que se torna uma preocupação mundial (Andrade, 2008).

O objetivo deste estudo foi o isolamento e a identificação ou determinação estrutural de substâncias que possuem atividade antioxidante e/ou antibacteriana, presentes no extrato metanólico das cascas de *V. sprucei*.

### 2. Material e métodos

As cascas de *V. sprucei* foram coletadas no Estado do Maranhão e identificadas taxonomicamente pela Coordenação de Pesquisas em Botânica (CPBO) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA. O material vegetal foi seco a temperatura ambiente, moído e extraído com solventes em polaridade crescente, diclorometano (DCM), metanol (MeOH) e água (H<sub>2</sub>O), utilizando banho de ultrassom por 20 minutos, para cada extração. Após a filtração os extratos foram concentrados utilizando-se rotaevaporador. Os extratos diclorometânico, metanólico e aquoso das cascas de *V. sprucei* foram analisados quantitativamente em testes antioxidantes utilizando DPPH (1,1-difenil-2-picrizil-hidrazila) que emprega um radical estável em solução. Após a adição do antioxidante com capacidade de seqüestrar esses radicais que foram produzidos ocorre a descoloração da solução. Essas soluções são passíveis e análises espectrofométricas e os resultados podem ser comparados quantitativamente com padrões de antioxidante comerciais e/ou naturais (Miller e Rice Evans, 1997). O reagente DPPH foi usado como oxidante para comparação da capacidade redutora dos extratos, o qual é um radical livre com considerável estabilidade usado na quantificação da capacidade antioxidante em plasma sanguíneo e em extratos vegetais (Molineux, 2004).

### 3. Resultados e discussões

O extrato metanólico apresentou elevadíssima atividade antioxidante de 0,73 e 0,72, equivalente em ácido ascórbico (ou seja, o extrato foi mais ativo eu o ácido ascórbico na concentração de 5 mg/mL) como mostra a tabela 1. Destarte, o extrato metanólico foi submetido a uma partição, a fim de se encurtar etapas cromatográficas, obtendo-se quatro fases, diclorometânica, acetato de etila, butanólica e aquosa, da qual a fase diclorometânica quando analisada em CCDC apresentou atividade antioxidante ao ser analisada com DPPH 0,2% em metanol e muito interessante quimicamente. Assim, o extrato diclorometânico foi fracionado utilizando coluna aberta de sílica gel como adsorvente e os gradientes AcOEt em Hexano até AcOEt puro, e de MeOH em AcOEt até MeOH puro. Desse fracionamento foram obtidas 61 frações, as quais foram reunidas após análises em CCDC e reveladas utilizando DPPH. As frações reunidas, 16-17, foram fracionadas em coluna aberta de sílica com os gradientes AcOEt em Hexano até AcOEt puro, e de MeOH em AcOEt até MeOH puro. Desse fracionamento foram obtidas 45 frações, as quais foram testadas e uma alíquota da fração foi enviada para análise por Ressonância Magnética Nuclear. Buscando dar subsídios científicos ao uso da espécie, os extratos diclorometânico, metanólico e aquoso das cascas foram avaliadas também quanto a atividade antibacteriana. São inúmeros os relatos na literatura a respeito de espécies vegetais com atividade contra agentes bacterianos (Mahasneh e El-Oqlah, 1999; Loguercio *et al.*, 2005; Behera *et al.*, 2008; Sisti *et al.*, 2008). Várias pesquisas estão sendo realizadas como o objetivo de purificar e identificar substâncias de origem vegetal com propriedades antibacterianas. Nas literaturas, encontram-se estudos da atividade antibacteriana *in vitro* que demonstram a eficácia de extratos brutos e frações contra bactérias patogênicas (Rauha, 2000; Tanaka *et al.*, 2005; Santos, 2007; Xiang *et al.*, 2008). Todos esses estudos comprovam o grande potencial de espécies vegetais no tratamento de doenças de etiologia bacteriana. O teste de atividade antibacteriana foi realizado em duplicata pelo método de difusão em ágar pela técnica do poço. A bactéria patogênica para peixes, *Aeromonas hydrophila* foi semeada em placa de Petri contendo ágar Muller-Hinton onde foram feitas cavidades com o diâmetro de 6,0 mm. A partir de extrato na concentração de 100 mg/mL, foram feitas diluições das quais 0,1 mL foram inoculadas em cada cavidade gerando as concentrações de 10 mg, 5mg, 1 mg/cavidade. Utilizou-se água destilada estéril como controle negativo e oxitetraciclina (20 µg/mL) como controle positivo. Após aplicação das amostras, as placas foram incubadas em estufa a 30°C de 18 à 24h. Ao final do período de incubação, verificou-se a formação dos halos de inibição de crescimento e mediu-se o diâmetro com o auxílio de uma régua. Como resultado do teste com *V. sprucei* verificou-se a halo de inibição de 6 mm em 10 mg/disco.

### 4. Conclusão

O presente trabalho avaliou quantitativamente e qualitativamente a atividade antioxidante do extrato metanólico das cascas de *V. sprucei*. O extrato apresentou atividade antioxidante e antibacteriana bastante promissora. Portanto, é importante continuar o estudo de tal espécie devido a sua elevada atividade antioxidante e antibacteriana.

Tabela 1: Resultados da atividade antioxidante com médias de equivalência de ácido ascórbico das extratos vegetais de *V. sprucei*

Extrato Vegetal	DPPH		
	/ΔABS <sub>517</sub>	[AA] eq	Equivalência
DCM	0.256	2.299	2.176
MeOH	0.824	6.853	0.730
H <sub>2</sub> O	0.779	6.492	0.770

### 5. Referências Bibliográficas

Andrade, J.IA., 2008. *Triagem de Espécies Vegetais, Purificação e Caracterização das Substâncias com Atividade Antibacteriana contra Aeromonas hydrophila, Bactérias Patogênicas de Peixes*. Universidade Federal do Amazonas. 04p.

Angelo, C; *Amazônia*. 2006. *Ciências Dilemas e Impactos*. 2º Ed. São Paulo, 06p.

Behera, B.C.; Verma, N.; Sonone, A.; Makhija, U.2008. *Antioxidant and Antibacterial Properties Of Some Cultured Lichens*. Bioresource Technology, Vol.99, 776-784 p.

Brasil, Ministério Da Casa Civil. 2004. *Plano de Ação para a Preservação e Controle do Desmatamento da Amazônia Legal*. 156p.

Loguercio, A. P.; Batistin, A.; Vargas A.C.; Henzel, A.; Witt N.M. 2005. *Atividade Antibacteriana do Extrato Hidro-Alcoólico de Folhas de Jambolão, (Syzygium cumini(L.) Skells)*. Ciência Rural, Santa Maria.2002: 371-376p.

Maciel, M.A, 2002. *A Necessidade de Estudos Multidisciplinares*. Química Nova, São Paulo, Vol. 25. N. 3.

Mahasneh, A.M.; El-Oqlah, A.A. 1999. *Antimicrobial Activity Of Extractos Of Herbal Plants Used In The Traditonal Medicine Of Jordan*. Journal Of Etthnopharmacology, 64, 271-276p.

Miller, N.J.; Rice Evans, C.A. 1997. *Factores Influencing The Antioxidant Activity Determined By The ABTS Radical Cation Assay*. Free Radical Research. 26, 195-199p.

Mobot, 2009. Vismia. (www.mobot.com) Acesso: 21/01/2009

Molyneux, P.2004. *The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrilhydrazyl( DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin Journal Of Science Tecgnology.Vol. 26, 211-219p.

Rauha, J.P. 2000. *Antimicrobial Effects of Finnishn Plant Extracts Containing Flavonoids And Other Phenolic Comprounds*. International Journal Of Food Mycrobiology, 56: 3-12p

Tanaka, J.C.a.;Silva, C.C.; Filho, B.P.d.; Nakamura, C.V.;Carvalho,J.E.;Foglio, M.A. 2005. *Constituintes Químicos De Luehea divaricata Mart.(Tiliaceae)*. Química Nova, 28: 834-837p.

Santos, A.L.2007. *Ensaio Microbiológico dos Extratos e Frações de Vismia guianenses Clusiaceae (Aubl) Pers*. Resumo da 30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

Sisti, A.L.; De Santi, M.; Fraternali, D.;Ninfali,P.;Scoccianti,V.; Brandi, G.;2008. *Antifugal Activity Of Rubus ulmifolius Schott Standardized in Vitro Culture*. LWT. 41: 946-950p.

Xiang, W.; Song, Q.; Zhang, H.;Guo, S.2008. *Antimicrobial Anthraquinones From Morinda angustifolia*. Fitoterapia, 79: 501-504