

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ALFAVACA BRAVA (*Ocimum campechianum* MILL.)

Carlos Danniel Freitas PINHEIRO¹; Ézio SARGENTINI Jr²; Carlos Cleomir de Souza PINHEIRO³

¹Bolsista PIBIC/CNPq-INPA; ²Orientador LQAA/CDAM/INPA/MCTI; ³Co-Orientador LTIQPN/COTI/INPA

1. Introdução

Nos últimos anos, a crescente resistência dos patógenos aos antimicrobianos e o aumento da população de pacientes imunocomprometidos tem estimulado a busca de compostos terapêuticos alternativos (Amaral *et al.* 2005; Bertini *et al.* 2005). Diante desta realidade, as plantas medicinais se mostram como uma alternativa na busca de novos agentes, pois são fontes importantes de compostos biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos (Simões *et al.* 2004).

Segundo a literatura, a espécie em estudo já é bastante utilizada na medicina popular, porém o seu uso ainda necessita de suporte científico, então se torna necessário realizar mais testes a esse respeito. Com o objetivo de desenvolver a caracterização química e farmacológica dos extratos orgânicos de *Ocimum campechianum* Mill coletada no estado do Amazonas.

2. Material e métodos

2.1 Coleta e identificação do material botânico

O material vegetal utilizado são as folhas de *Ocimum campechianum* Mill, que foram coletadas em área particular no bairro de Petrópolis, na cidade de Manaus/AM. O material foi identificado botanicamente no Herbário da Coordenação de Pesquisas em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, onde a exsicata se encontra depositada.

2.2 Obtenção dos extratos

O material vegetal (folhas) foi triturado e macerado com uma sequência de solventes de polaridade crescente: diclorometano (CHCl₂), álcool metílico (CH₃OH) e água (H₂O) por 72 horas para cada extração. Após o período de maceração, os materiais foram filtrados em papel de filtro analítico, concentrados no evaporador rotativo e seguidos de secagem em estufa a 40°C para a eliminação do excesso de solventes, para a obtenção dos extratos.

2.3 Extração de óleos essenciais

Foi extraído o óleo essencial por hidrodestilação, utilizando aparelho Clevenger. As folhas foram pulverizadas em moino de facas e pesadas, em seguida o material foi colocado em um balão de fundo redondo com capacidade de 12 l. O volume de água destilada é proporcional à quantidade do material para a hidrodestilação. A temperatura inicial será de 80°C. O volume do óleo essencial extraído é medido em tubos graduados, centrifugado e seco com sulfato de sódio anidro (P.A). Os óleos obtidos foram enviados para análises espectroscópicas de Cromatografia gasosa (CG) e/ou Cromatografia de Alta Resolução (CLAE).

2.4 Análises Fitoquímicas

No Laboratório de Farmacologia e Produtos Naturais, foram feitas as análises dos compostos orgânicos como: cumarina, triterpenos/esteróides, saponinas, alcalóides, taninos e flavonóides revelados por coloração e confirmados por placas de Cromatografia de Camada Delgada (CCD) de acordo com a metodologia de Matos (1980).

3. Resultados e Discussão

3.1 Coleta e Identificação do Material Botânico

A espécie foi confirmada pelo herbário do INPA, de acordo com a exsicata de número de herbário 18742, cujo nome vernacular é “alfavaca” e taxonomicamente classificada como *Ocimum campechianum* Mill.

3.2 Extração do óleo essencial

Após 4 h de hidrodestilação, apresentou o resultado de ordem 2,6%(Tabela 1). O óleo essencial da espécie apresentou uma cor amarelada, de odor característico da espécie e solubilidade em solventes orgânicos apolares. Em água apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas hidrolatos.

Tabela 1-Resultado dos rendimentos do óleo essencial.

Quantidade em gramas	Horário de Destilação	Rendimento Volume/Volume	Rendimento Peso/Volume	Percentual de Rendimento
50g	4h	1,3 ml	0,9339 g	2,6%
50g	4h	1,3 ml	0,9339 g	2,6%
50g	4h	1,3 ml	0,9339 g	2,6%
60g	4h	1,6 ml	1,1495 g	2,6%
100g	4h	2,8 ml	2,0114 g	2,6%

3.3 Obtenção dos Extratos

A aplicação da maceração com sequência de solventes com polaridade crescente, foi obtido 700 mL de extrato aquoso, ao qual foi desidratado em um Liofilizador, obtendo o percentual de 12,374% de rendimento. Posteriormente foram feitas as análises fitoquímicas com esse extrato. Com extratos metanólicos, obteve-se um extrato viscoso, com a coloração verde escuro, odor característico e rendimento de 20,57g.

3.4 Cromatografia- CCD

Com a técnica de MATOS (1980), foi identificado a presença de terpenóides, coincidindo com os resultados obtidos de Mazzutti *et al.* (2005), em sua caracterizações químicas do *Ocimum campechianum* Mill. Em contrapartida, não foi possível identificar a presença de alcalóides com o revelador de Drangendorff na espécie estudada.

3.5 Cromatografia Gasosa

Das substâncias presentes, destacou-se uma como majoritária o eugenol, com porcentagem de área de 82,98%, conforme a Tabela 2. As composições apresentam resultados semelhantes aos relatos na literatura (Silva *et al.* 2003). A Figuras 1 e 2 mostram respectivamente o cromatograma e a estrutura molecular do composto majoritário.

Tabela 2: Substâncias identificadas no óleo essencial das folhas *Ocimum campechianum* Mill.

	Tempo	Ind.cal	Ind.Liter	Substância	Área (%)
1	6.876	209031		Oxiranemethanol	0.29
2	7.194	240964		2-Hexyl hydroperoxid	0.33
3	10.342	209466		Eucalyptol	0.29
4	13.145	224734		ALPHA.-TERPINOLENE	0.31
5	16.751	444940		TERPINEOL	0.61
6	17.861	1425857		ALPHA-TERPINEOL	1.95
7	21.222	245187		Citral	0.34
8	21.941	407168		Perillaldehyde	0.56
9	25.144	60584519		Engenol	82.98
10	27.212	299337		trans-Caryophyllene	0.41
11	27.737	213237		Vanillin	0.29
12	30.635	4363006		Naphthalene	5.98
13	30.575	1092738		alpha.-selinene	1.50
14	31.609	274562		alpha.-Panasinsen	0.38
15	34.440	2228020		Caryophyllene oxide	3.05
16	35.635	316658		HUMULENE OXIDE	0.43
17	37.956	233691		Caryophyllene oxide	0.32
					100,0
				73013115	

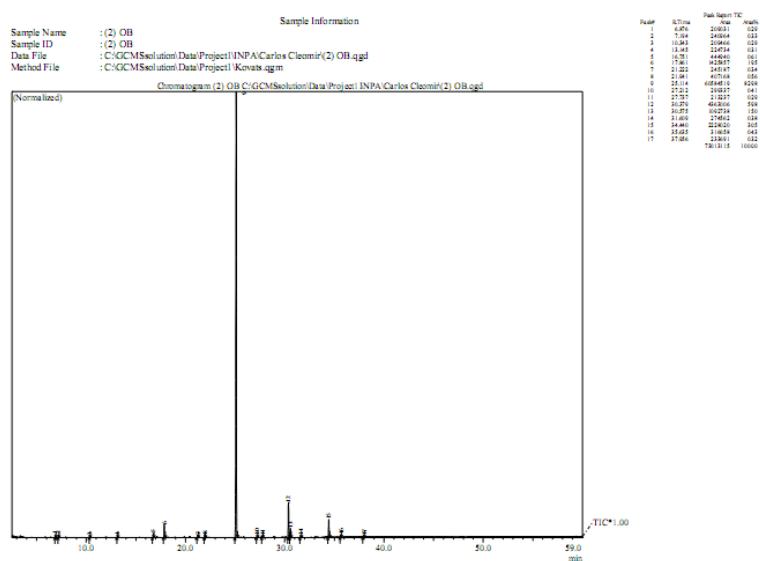


Figura 1: Cromatograma do óleo essencial das folhas de *Ocimum campechianum* Mill.

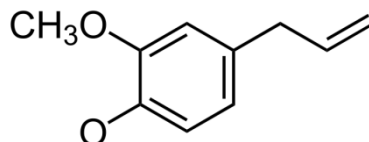


Figura 2: Estrutura Eugenol, majoritária no óleo essencial.

3.6 Atividade Citotóxica

O teste de Citotoxicidade do óleo essencial em náuplios de *Artemia salina* apresentou toxicidade levemente tóxica como mostra a Tabela 3. A dose letal média (DL50) foi de 411,5µg/mL constitui um parâmetro importante dentro da Farmacologia e Toxicologia.

Tabela 3. Citotoxicidade em larvas de *Artemia salina* em diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum campechianum* Mill.

Nº de náuplios	Concentração µg/mL	Mortalidade (%)	
		24h	48h
90	500	60,0	87,7
	400	30,0	63,7
	300	0	0

Todavia, o teste de Citotoxicidade com o extrato DCM não apresentou efeito citotóxico como mostra a Tabela 4, sendo também parâmetro importante dentro da Farmacologia e Toxicologia.

Tabela 4. Citotoxicidade em larvas de *Artemia salina* em diferentes concentrações do extrato diclorometano *Ocimum campechianum* Mill.

Nº de náuplios	Concentração µg/mL	Mortalidade (%)	
		24h	48h
90	500	0,0	0,0
	1000	0,0	0,0
	1500	0,0	0,0

Dessa mesma forma, ocorreu com o extrato metanólico, pois apresentou toxicidade fraca como mostra a Tabela 4, a dose letal foi de 3138,9µg/mL também sendo parâmetro importante dentro da Farmacologia e Toxicologia.

Tabela 5. Citotoxicidade em larvas de *Artemia salina* em diferentes concentrações do extrato metanólico *Ocimum campechianum* Mill.

N° de náuplios	Concentração µg/mL	Mortalidade (%)	
		24h	48h
90	500	0	0
	1000	0	0
	1500	0	10

4. Conclusão

Em virtude dos dados obtidos, pode-se verificar que o óleo essencial da espécie vegetal, possui um grande percentual de rendimento (2,6%) e do composto bioativo Eugenol (82,98%) em comparação com os dados da literatura. Sua atividade citotóxica em relação aos extratos, mostra que possui baixo grau de citotoxicidade. Dessa forma mostra-se necessário o aprofundamento na pesquisa, em virtude do seu potencial terapêutico observado na literatura.

5. Referências Bibliográficas

- Amaral, M.F.Z.J.; Bara, M.T.F. 2005. *Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. Revista Eletrônica de Farmácia*, 2(2): 5-8.
- Bertini, L.M. Pereira, A.F.; Oliveira, C.L.L.; Menezes, E.A.; Morais, S.M.; Cunha, F.A.; Cavalcanti, E.S.B. 2005. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*, 17(3/4): 80-83.
- Grayer, R.J.; KITE, G.C.; Goldstone F.J.; Bryan, S.E.; Paton, A.; Putievsky, E. 1996. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in Sweetbasil, *ocimumbasilicum*. *Phytochemistry*, 43(5): 1033-1039.
- Matos, F.J. 1997. *Introdução à fitoquímica experimental*. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC. 141p.
- Lapa, A.J., Soucar, C., Landman, M. T., Castro, M.S., Lima, T.C. 2008. *Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais*. São Paulo: Lagoa Editora Ltda.
- Lorenzi, H.; Matos, F.J. 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Instituto Plantarum.
- Meyer, B.N.; Ferrigni; Putam, J.E; Jacobson, L.B.; Nichols, D.E.; Mclaughlin, J.L.; Shrimp, B. 1982. A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45: 31-4.
- Mazutti, M.; Beledelli, B.; Mossi, A.J.; Cansian, R.L.; Dariva, C.; Oliveira, J.V. 2005. Caracterização Química De Extratos de *Ocimum basilicum* L. Obtidos Através De Extração Com CO₂ A Altas Pressões. *Quim. Nova*, 29(6): 1198-1202.
- Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. 2004. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC.
- Silva, F.; Santos, R.H.S.; Diniz, E.R.; Barbosa, L.C.A.; Casali, V.W.D.; Lima, R.R. 2003. Teor e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 6: 33-38.