

ÓLEOS ESSENCIAIS PRESENTES NAS RAÍZES DE ESPÉCIES DE *Philodendron* SCHOTT (ARACEAE)

Jéssica Ingrid de Moraes SILVA¹; Maria de Lourdes da Costa Soares MORAIS²; Cecilia Veronica NUNEZ³
¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Bolsista PAIC/FAPEAM-INPA; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Orientadora CBIO; ³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Co-Orientadora LABB/COTI

1. Introdução

A família Araceae Juss. possui uma distribuição subcosmopolita, com 106 gêneros e cerca de 3.500 espécies (Croat 1998), sendo a maioria destas distribuídas na América do Sul. No Brasil, o conhecimento das Araceae encontra-se ainda bastante incompleto por falta de estudos intensivos de coleta e identificação; entretanto, em levantamentos recentes nos herbários brasileiros, Mayo *et al.* (no prelo) citam 30 gêneros e 402 espécies nativas ao país, tendo, assim, uma alta diversidade ao nível genérico, representando quase um terço de todos os gêneros da família. Dentre os gêneros com maior número de espécies se destacam *Anthurium* e *Philodendron*, com muitos representantes nativos do Brasil. Foram identificadas 55 espécies de Araceae na Reserva Ducke distribuídas em 12 gêneros, onde *Philodendron* constam 28 espécies (Soares e Mayo 1999).

As folhas de *Philodendron* Schott têm uso na medicina popular como purgativas drásticas, diuréticas, anti-hidrópicas e adstringentes, úteis na erisipela, no reumatismo, nas otites e na epidermite, mas seu uso exige cuidados (Corrêa, 1984), devido à presença de resorcinóis, são os constituintes majoritários em várias espécies do gênero, sendo responsáveis por vários tipos de alergias (Liu 1993; Yoshikaqa 1992). O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial dos óleos extraídos das raízes de algumas espécies de *Philodendron*, identificando seus constituintes químicos e avaliando a atividade antimicrobiana, através do método de bioautografia, frente à *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium glutamicum*, *Edwardsiella tarda*, *Escherichia coli*, *Nocardia brasiliensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Providencia rettgeri*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*.

2. Material e Métodos

Foram coletadas raízes de dois indivíduos de *Philodendron maximum* e um indivíduo de *Philodendron solimoesense* no Bosque da Ciência - INPA em setembro de 2012, que e serão citadas no texto como espécimes 1, 2 e 3, respectivamente. Parte do material foi armazenado em freezer e a outra parte secou em temperatura ambiente. Foram coletadas raízes de *P. goeldii* e *P. solimoesense* em Urucu-AM em outubro de 2012 que serão citadas como espécime 4 e 5. As espécies foram identificadas pela especialista do grupo, Dra. Maria de Lourdes da Costa Soares Morais (CPBO - INPA)

O material coletado foi cortado em pequenos pedaços e pesado. A extração do óleo foi através da técnica de destilação por arraste a vapor (Simões *et al.* 1999), a amostra foi colocada em um balão de três litros, e coberta por água destilada. A extração do óleo foi feita através de arraste por hidrodestilação em sistema Clevenger modificado; qual o balão de destilação foi aquecido por cerca de quatro horas. O óleo essencial extraído foi seco com sulfato de sódio, e armazenado em frasco âmbar e depois refrigerado.

O hidrolato também foi coletado e para a amostra do espécime 3, foi utilizado o método de partição ou extração líquido-líquido (ELL). Na extração líquido-líquido, utilizou-se um funil de separação, onde foi adicionado um litro de hidrolato e a mesma quantidade do solvente acetato de etila (AcOEt). Após esse processo obteve-se a fase aquosa que foi concentrada em liofilizador e a fase acetato de etila, que foi concentrada no equipamento rotaevaporador, depois foram feitas análises por cromatoplas, onde se colocou a amostra com a ajuda de capilares, as placas foram colocadas em uma cuba com os seguintes eluentes: DCM/ AcOEt em proporção 1:1.

As placas foram reveladas com iodo, as classes de compostos orgânicos que são reveladas pelos vapores de iodo são entre outros cumarinas e seus derivados, polifenóis, xantinas, alcalóides (Collins *et al.*, 1990); cloreto de alumínio (AlCl₃) se observado no UV 365 nm uma intensificação da fluorescência, indica a possível presença de flavonoides; anisalaldeído, cores como lilás e rosa indicam a presença de terpenos; sulfato cérico (Ce(SO₄)₂) é um revelador universal, cores entre lilás, laranja, vermelho e rosa indicam a presença de terpenos; cloreto férrico (FeCl₃) esta solução revela indícios da presença de terpenos, compostos fenólicos e taninos nas cores lilás ou rosa; e Dragendorff (DRG) com o surgimento da cor laranja, é um indicativo de alcalóides, compostos heterocíclicos de nitrogênio e amins quaternárias.

A identificação das substâncias presentes nos óleos dos espécimes 1, 2, 3, 4 e 5 foi feita através de Cromatografia Gasosa com detecção por Espectrometria de Massa (CG-EM) e Cromatografia Gasosa interfaciado com um detector de ionização por chama (CG-DIC), realizada no Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA). As amostras foram injetadas na concentração de 1 mg/mL nos sistemas CG-EM (GC-MS QP. 2010) e CG-DIC (GC- 2010), utilizando-se hélio como gás de arraste nas mesmas condições nos

dois equipamentos. Para o cálculo do índice de Kovats foi utilizado o padrão de hidrocarbonetos C7-C30 e os espectros de massa das amostras foram comparados ao da leitura especializada (Adams, 2001).

Com o intuito de verificar a atividade antibacteriana dos óleos de *Philodendron* os óleos 4 e 5, foram submetidos à bioautografia. Onde as placas de sílica gel foram cortadas no tamanho de 1,5 cm de largura por 7 cm altura, e receberam 4 mg do óleo essencial, sendo em seguida submetidas ao sistema eluente: Hexano/ DCM 1:1, depois desse processo foram acondicionadas em placas de Petri.

Os microrganismos testados foram inoculados em 3 mL de meio Mueller-Hinton e cresceram por 24 horas em agitador de bancada nas temperaturas de 30 e 37 °C de acordo com a necessidade de cada um. Posteriormente, foram realizadas diluições destes inóculos no mesmo meio de cultura até obter o padrão de turvação 0,5 comparado à escala de McFarland, que corresponde a aproximadamente 150 milhões de bactérias por mL. Foram adicionados 100 µL de cada inóculo a 10 mL de meio Mueller-Hinton Agar antes deste meio gelificar.

O meio de cultura contendo os inóculos foi vertido nas placas de Petri contendo as cromatoplas e após a gelificação, as placas foram levadas à estufa nas temperaturas de 30 e 37 °C durante 24 horas. Após o crescimento dos micro-organismos, foi observada, quando presente, a ocorrência de zonas de inibição do crescimento, que correspondem à atividade antimicrobiana dos extratos. Como controle negativo foi utilizado o solvente no qual os extratos foram dissolvidos; e como controle positivo foi utilizado o antibiótico oxitetraciclina.

3. Resultados e Discussão

Os resultados da quantificação e identificação dos componentes dos óleos essenciais dos cinco espécimes de *Philodendron*, através da análise por CG/EM e CG/DIC, permitiram identificar um total de 77 componentes químicos, distribuídos entre os espécimes: *P. maximum* (óleo 1 e 2), *P. solimoense* (óleo 3), *P. goeldii* (óleo 4) e *P. solimoense* (óleo 5).

Os constituintes majoritários para o óleo 1 foram β -cariofileno com um percentual de 28,29%, germacreno D com 13,22% e 11,52% de α -copaeno. Para o óleo 2 os constituintes majoritários foram Undecanol com concentração de 26,54%, butil butiril lactato com percentual de 12,59%, pentadecanol com 11,94% e octadeceno com 11,82%. O óleo 3 é constituído em sua maioria por undecanol (13,52%), β -bisaboleno (11,64%), *trans*- γ -bisaboleno (10,65%) e β -cariofileno (10,18%). No óleo 4 observou-se a predominância de 42,27% de limoneno, 15,03% de β -cariofileno e 10,40% de α -humuleno. No óleo 5 os principais constituintes foram β -cariofileno com 33,97% e α -humuleno com 18,23%. Os constituintes encontrados em todas as espécies de *Philodendron* neste trabalho foram: undecanol, β -cariofileno e β -acoradieno.

O cariofileno é um sesquiterpeno sintetizado pelas plantas na rota metabólica dos terpenos, sendo também importante constituinte do óleo essencial de outras espécies medicinais, tais como, *Syzygium aromaticum* L. (Barbosa 1998), *Copaifera langsdorfii* Desf. (Feibert e Langenheim 1988) e *Xylopiá brasiliensis* Speng. (Santos *et al.* 2004). O β -cariofileno é um dos principais constituintes químicos encontrados em diferentes espécies do gênero *Plectranthus* (*P. rugosus*, *P. fruticosus*, *P. coleoides*, *P. tenuiflorus*, *P. incanus* e *P. defoliatus*).

Os óleos essenciais apresentam atividades medicinais, podendo ser utilizados, de acordo com as características, para diversas finalidades (Barbosa 1998). O óleo essencial rico em cariofileno, segundo Haslam (1996), pode ser empregado na medicina tradicional como remédio, para o tratamento de diversas moléstias orgânicas. A ocorrência de cariofileno como principal componente do óleo essencial pode estar relacionada ao uso tradicional destas espécies vegetais contra as dores estomacais (Bocardi 2008).

A abundância de substâncias voláteis provém da rota metabólica dos isoprenóides, que culmina na formação do sesquiterpeno cujo precursor é o farnesildifostato. Esse precursor, com a ação de monoxigenases (enzimas ativadas pelo oxigênio), forma *trans*-cariofileno, germacreno-D, α -humuleno, entre outros e compõem a maioria dos compostos voláteis, os quais segundo a literatura apresentam atividades antibacterianas, fungicidas e inseticidas (Almeida *et al.* 2005).

Os óleos 4 e 5 foram submetidos ao teste de bioautografia, frente às seguintes bactérias: *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Corynebacterium glutamicum*. Apenas para esta última foi observada atividade antimicrobiana.

4. Conclusão

Os rendimentos dos teores dos óleos essenciais de *Philodendron* foram bem distintos, ao comparar a extração de raízes secas e frescas. Os óleos extraídos de raízes frescas tiveram um rendimento maior, por volta de 0,2%, já os óleos de raízes secas tiveram menor rendimento, a maioria 0,1%, sendo que uma extração teve o menor rendimento 0,03%. Isso pode se dever ao fato da raiz ter sido a última a ter seu óleo extraído, e ficou muito tempo em temperatura ambiente após a sua coleta.

Com o estudo pode-se concluir que os cinco óleos extraídos de raízes de *Philodendron* apresentam diferenças significativas quanto à constituição química, pois indivíduos da mesma espécie (*Philodendron maximum*) coletados do mesmo local (Bosque da Ciência) não compartilham todos os constituintes. Um exemplo é o germacreno D, que está presente no óleo 1, e constitui 13,22% de sua composição, e não está presente nos outros óleos. Também espécies iguais (*Philodendron solimoense*) coletadas em locais diferentes não compartilham todos os constituintes, como: α -humuleno presente no óleo 5 (coletado no Bosque da Ciência) com um percentual de 18,23%, e ausente no óleo 3 (coletado em Urucu).

Pode-se observar que o β -cariofileno é o componente que se apresenta em todos os óleos analisados, com um percentual variando de 33,97 a 4,04 %.

Neste estudo foi possível avaliar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de *Philodendron goeldii* (óleo 4) e *Philodendron solimoesense* (óleo 5) fracionados por cromatografia em camada delgada, onde somente o óleo 4 inibiu moderadamente o crescimento da *Corynebacterium glutamicum* que não é uma bactéria patogênica ao homem. No entanto, este ensaio pode servir como modelo para selecionar extratos, que possam ser ativos contra a bactéria *C. diphtheria*, que é patogênica para humanos e causa difteria. Este óleo apresentou na sua composição química o limoneno como principal constituinte (42,27%). Este resultado incentiva a avaliação do limoneno sobre *C. glutamicum* a fim de determinar se é o responsável pela atividade observada.

5. Referências Bibliográficas

- Adams, R.P. 2001. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. Carol Stream: Allured Publ. Corp.
- Almeida, L.F.R.; Delachave, M.E.A.; Marques, M.O.M. 2005. Composição do óleo essencial de rubim (*Leonurus sibiricus* L. - Lamiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 8(1): 35-8.
- Barbosa, L.C.A. 1998. *Química orgânica: uma introdução para as ciências agrárias e biológicas*. Viçosa: UFV, 354p.
- Bocardi, J.M.B. 2008. *Etnofarmacologia das plantas medicinais de céu azul e composição química do óleo essencial de Plectranthus neochilus Schltr.* Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 101p.
- Collins, C.H.; Braga, G.L.; Bonato, P.S. 1990. *Introdução a métodos cromatográficos*. 4. ed. Campinas: Editora da Unicamp.
- Corrêa, M.P. 1984. *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, vols II e III.
- Croat, T.B. 1998. History and current status of systematic research with Araceae. *Aroidiana*, 21: 26-145.
- Feibert, E.B.; Langenheim, J.H. 1988. Leaf resin variation in *Copaifera langsdorffii*: relation to irradiance and herbivory. *Phytochemistry*, 7(8): 2527-2532.
- Haslam, E. 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, 59: 205-15.
- Liu, Y.M.; Sheu, S.J.; Chiou, S.H.; Chang, H.C.; Chen, Y.P. 1993. A comparative study on comercial samples of *Ephedrae* Herba. *Planta Medica*, 59: 557.
- Mayo, J.S.; Nadruz, C.M.; Ramalho, F.C.; Sakuráqui, C.M.; Soares, M.L.C.; Andrade, I.M.; Barros, C.S.S.; Gonçalves, G. *Checklist da Família Araceae do Brasil* (prelo).
- Santos, B.R. et al. 2004. Aspectos da anatomia e do óleo essencial em folhas de pindaíba (*Xylopiá brasiliensis* Spreng.). *Ciência e Agrotecnologia*, 28(2): 345-349.
- Simões, C.M.O. et al. 1999. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 1ª Ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed.Universitária/UFRGS/Ed.UFSC, 821p.
- Soares, M.L.C.; Mayo, S.J. 1999. *Araceae*. In: Ribeiro, J.E.L.S.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D.; Martins, L.H.P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E.C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R.; Procópio, L. (Eds). *Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra – firme na Amazônia Central*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. p.672-687.
- Yoshikaqa, K.; Kishi, K.; Arihara, S. 1992. Limonoids and protolimonoids from the fruits of *Phyllodendron amurense*. *Phytochemistry*, 31: 1335-1338.