

QUI-03

ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA DE EXTRATOS DE SENNA E CASSIA SPP. (LEGUMINOSAE: CAESALPINIOIDEAE) UTILIZADAS NA MEDICINA POPULAR E INDÍGENA. CONSTRUÇÃO DE BANCO DE EXTRATOS.Patricia de S. Pinto⁽¹⁾, Adrian M. Pohlit⁽²⁾, Sérgio M. Nunomura⁽³⁾, Etienne Quignard⁽³⁾⁽¹⁾Bolsista CNPq/INPA; ⁽²⁾Pesquisador CPPN-INPA; ⁽³⁾Pesquisador-bolsista.

Na Amazônia, a malária é motivo de preocupação nos últimos anos já que esta assume características de epidemia e o *Plasmodium* responsável pela doença torna-se resistente aos medicamentos usuais (Brandão et al.,1993). O conhecimento popular do poder curador das plantas sempre foi fonte de princípios ativos antimalariais úteis como, por exemplo, a quinina (isolada de *Cinchona spp.*) e a artemisinina (*Artemisia annua*) (Krettli,1988). Milliken (1997) cita 12 espécies de *Cassia* e *Senna* em seu levantamento da literatura etnobotânica sobre plantas antimalariais. De acordo com um levantamento da literatura química e farmacológica primária feita por nós, algumas espécies dos gêneros *Cassia* e *Senna* tiveram suas atividades antimaláricas comprovadas em trabalhos científicos: *Cassia tora* por El-Tahir (1999), *Cassia abbreviata* e *Senna pertesiana* por Connely (1996) e *C. occidentalis*, por Tona (1999). De *C. occidentalis* foi isolado um princípio antimalarial ativo, a 1,8 dihidroxiantraquinona (Tona, 1999). Sabe-se que plantas de um mesmo gênero costumam apresentar moléculas das mesmas classes ou até mesmo iguais e, entre outras classes de substâncias, algumas antraquinonas já foram isoladas de espécies de *Cássia*, aumentando a expectativa de que espécies desse gênero produzem antraquinonas antimalariais.

No presente trabalho, têm-se os gêneros *Cassia* e *Senna* como objeto de estudo. Estes gêneros pertencem à família das Leguminosae e sub-família Caesalpinioideae, possuem cerca de 180 espécies com uma distribuição cosmopolita e boa representação aqui no Brasil. Os objetivos são: (I) preparar os extratos polares de plantas amazônicas dos gêneros *Senna* e *Cassia* para inclusão no Banco de Extratos do Lab. 18 / CPPN, (II) determinar a atividade biológica (antimalárica e outras), (III) realizar um estudo fitoquímico sobre uma espécie biologicamente ativa (*C. spruceana*) que no limite poderia levar ao isolamento dos princípios químicos ativos.

O material vegetal foi coletado na Reserva Florestal Adolpho Ducke / INPA, em outras partes de Manaus e no município de Benjamin Constant. A identificação botânica foi feita posteriormente por funcionários do Herbário-INPA através da análise de exsiccatas. No Lab. 18 / CPPN o material vegetal sofreu triagem, secagem á sombra e, em seguida, moagem,

obtendo-se a serragem, a qual foi acondicionada em sacos plásticos para armazenamento. Posteriormente, duas porções de cada serragem foram pesadas, uma foi utilizada na preparação do extrato aquoso e a outra porção utilizada para a do extrato metanólico. Os extratos aquosos foram preparados por infusão (15 min) em água desionizada fervente (400 mL), seguida de filtração à quente com lavagem de água quente (200 mL). Os extratos metanólicos foram preparados por extração sólido-líquida contínua em aparelho Soxhlet (3 extrações de 6 h cada, trocando-se o solvente). Posteriormente, os extratos foram concentrados (evaporação rotatória), congelados e liofilizados (Tabela 01). A partir da massa de cada extrato liofilizado, calculou-se o teor de extrativos ($\text{Teor (\%)} = 100 \times \text{massa extrato liofilizado (g)} \div \text{massa da serragem (g)}$).

Tabela 01. Dados sobre os extratos aquosos e metanólicos preparados.

Nome Comum	Nome Científico	Parte da Planta	Extrato CH ₃ OH		Extrato H ₂ O	
			Massa (g)	Teor (%)	Massa (g)	Teor (%)
Mata-Pasto	<i>C. reticulata</i>	Vagem	10,69	10,7	4,53	8,3
		Folha	12,86	24,7	9,70	16,6
		Flor	3,84	13,2	12,11	24
		Talo	8,96	17,8	5,06	9,5
		Raiz	2,19	5,4	2,71	6
		Galho	2,71	6,8	3,44	6,6
Chuva-de-Ouro	<i>C. fastuosa</i>	Galho	3,85	6,1	1,27	4,3
		Casca	38,39	26,1	12,83	13,2
		Raiz	5,78	12,5	2,19	9,5
		Folha	34,99	48,6	7,64	23,6
Mari-Mari-da-Terra-Firme	<i>C. spruceana</i>	Casca	23,75	19,5	8,74	17,1
		Raiz	9,50	16,2	3,39	7,7
Acácia de Siam	<i>C. siamea</i>	Flor	2,89	32,5	Np	Np
		Folha	11,53	21,8	13,34	27,5
		Galho	2,43	7,4	2,99	7,9
Não é conhecido.	<i>Abarema flaribunda</i>	Flor	4,62	22,4	2,76	25
		Folha	11,05	22	8,21	23
		Galho	Np	Np	1,27	4,7

Np = não preparado ou em fase de preparo.

No trabalho fitoquímico, a serragem da raiz de *C. spruceana* (1,50 kg) foi macerada em etanol (6 L) a frio por 7 dias. O extrato foi filtrado da serragem e macerou-se a serragem mais 7 dias em etanol (6 L) e filtrou-se como na primeira maceração. Posteriormente, os filtrados foram combinados, evaporados, congelados e liofilizados. Obteve-se uma massa de 127,3 g de extrato liofilizado o que representa um teor de extrativos de 8,49%. Um estudo em placas de cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando diversos sistemas de eluentes revelou o alto teor de substâncias de polaridade média, como poucas substâncias polares e apolares. A seguir, 3 g deste extrato foram armazenados no banco de extratos e os outros

124,3 g foram dissolvidos em MeOH / H₂O (1:2) e sofreram partição com éter dietílico, gerando as frações etérea e hidroalcoólica. Essas frações foram concentradas (evaporação rotatória) e após a liofilização, serão pesadas e testadas para atividade antimalárica e contra *Artemia franciscana*.

O teste para letalidade à *A. franciscana* consiste em contabilizar as larvas (segundo estágio) de *A. franciscana* que sobrevivem em contato com o extrato na concentração de 500 µg de extrato por mL de meio de cultura em placas de teste, após 24h. Após esse tempo, as percentagens de sobrevivência ($S\% = 100 \times \text{no. larvas vivas após 24h} \div \text{no. larvas inicialmente}$) e de mortalidade ($M\% = 100 - S\%$, Tabela 2) foram avaliadas.

Entre os resultados mais importantes alcançados foi a preparação de 35 extratos polares liofilizados de espécies amazônicas dos gêneros *Cassia* e *Senna* e seu depósito no banco de extratos do Lab. 18 / CPPN (Tabela 1). Na maioria das vezes, os extratos metanólicos demonstraram maiores teores extrativos (5 – 48 %) do que os extratos aquosos (4 – 27 %) das mesmas espécies e partes, o que era de esperar devido ao maior poder de extração do metanol.

Entre as espécies coletadas (Tabela 1) encontra-se a espécie *Abarema flaribunda*, coletada por apresentar características das plantas do gênero *Cassia* (folhas compostas, folíolos opostos e paripinados), porém identificada posteriormente no herbário INPA. Foi decidido terminar o trabalho de extração dessa espécie, que já havia sido iniciado, devido à existência de espécies antimalárias no gênero *Abarema* (Milliken, 1997).

A maior toxicidade para *A. franciscana* foi revelada nos extratos de *C. fastuosa* (raiz, folha); *C. spruceana* (casca, raiz) e *A. flaribunda* (folhas) de acordo com os resultados dos testes, apresentados na Tabela 2. Esses dados demonstram a atividade biológica desses extratos e no futuro espera-se poder verificar se essa atividade tóxica estende-se para outros organismos, tais como protozoários, bactérias e fungos.

A *C. spruceana* é uma espécie encontrada nas matas da Reserva Ducke (Ribeiro *et al.*, 1999) cuja raiz é utilizada na medicina popular no tratamento de febres (Milliken, 1997) e para a qual não foram encontrados dados fitoquímicos ou farmacológicos. O teste de toxicidade contra *A. franciscana* mostrou que seu extrato aquoso é ativo, porém pouco.

Em conclusão, algumas espécies ativas contra *A. franciscana* foram descobertas e o trabalho químico sobre a *C. spruceana* foi iniciado. Finalmente, todos extratos preparados já foram submetidos ao IMT-AM e estamos aguardando a realização dos testes.

Tabela 02. Resultados dos testes de atividade contra *Artemia franciscana*.

Nome Comum	Nome Científico	Parte da Planta	Mortalidade	
			Aquoso (%)	MeOH (%)
Mata-Pasto	<i>C. reticulata</i>	Vagem	0	0
		Folha	0	0
		Flor	0	0
		Talo	0	0
		Raiz	0	0
		Galho	0	0
Chuva-de-Ouro	<i>C. fastuosa</i>	Galho	0	0
		Casca	0	0
		Raiz	42	16
		Folha	7	71
Mari-Mari-da-Terra-Firme	<i>C. spruceana</i>	Casca	17	0
		Raiz	5	0
Acácia de Siam	<i>C. siamea</i>	Flor	Não testado	0
		Folha	2	2
		Galho	0	0
Não é conhecida	<i>Abarema flaribunda</i>	Flor	0	0
		Folha	11	0
		Galho	0	Não testado

Brandão, M.G.L., Carvalho, L.H., Krettli, A. U. 1993. Antimaláricos de Uso Popular na Amazônia. *Ciência Hoje*, v.13, n.78, pp.9-11.

Connelly, M. P. E., E. Fabiano, et al. 1996. Antimalarial activity in crude extracts of Malawian medicinal plants. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 90(6): 597-602.

El-Tahir, A., G. M. H. Satti, et al. 1999. Antiplasmodial activity of selected sudanese medicinal plants with emphasis on *Acacia nilotica*. *Phytotherapy Research* 13(6): 474-478.

Krettli, A. U. 1988. A malária e as plantas medicinais. *Ciência Hoje*, v.8, n.44, pp.8-9.

Milliken, W. 1997. Plants for Malaria. Plants for Fever: Medicinal species in Latin America-a bibliographic survey. The Royal Botanical Gardens Kew

Ribeiro, J.E.L.S., Hopkins, M.J.G., 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. e Procópio, L.C. 1999. Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia central. *Manaus INPA, INPA DFID*, p. 181-183.

Tona, L., Ngimbi, N. P., Tsakala, M., Mesia, K., Cimanga, K., Apers, S., De Bruyne

T., Pieters, L., Totte, J., Vlietinck, A. J. 1999. Antimalarial activity of 20 crude extracts from nine African medicinal plants used in Kinshasa, Congo. *Journal of Ethnopharmacology*. v.68 (1-3).pp193-203.