

ESTUDO FITOQUÍMICO BIOMONITORADO DE ALGUMAS ESPÉCIES DE PIPERACEAE NA REGIÃO AMAZÔNICA. CONSTRUÇÃO DE UM BANCO DE EXTRATOS.

Luciana de Castro ⁽¹⁾; Sergio M. Nunomura ⁽²⁾ & Adrian M. Pohlit ⁽³⁾

⁽¹⁾ Bolsista CNPq/INPA; ⁽²⁾ Orientador/pesquisador CNPq/INPA; ⁽³⁾ Coorientador/pesquisador CPPN/INPA

Espécies da família Piperaceae apresentam um vasto número de usos na medicina popular e estudos científicos já demonstraram o potencial farmacológico de várias dessas espécies. Podemos destacar as seguintes atividades: antimicrobiana de *Piper aduncum* (Okunade *et al.* 1997), antichagásica de *Piper solmsianum* (Martins *et al.* 2000), moluscicida e inseticida de *Piper tuberculatum* (Debonisi *et al.* 2000), antitumoral (Mongelli *et al.* 1999) e antimalárica (Sala-Neto *et al.* 1992) de *Pothomorphe peltata*.

Tais atividades nos motivaram a realizar um estudo biomonitorado de espécies amazônicas da família Piperaceae. Entre os objetivos estão: 1) a avaliação da atividade biológica (antifúngica, antimalárica, antitumoral e moluscicida) dos extratos de algumas dessas espécies, 2) a realização de fracionamentos cromatográficos e análises espectroscópicas para a caracterização química dos constituintes bioativos das espécies de maior interesse, e ainda, 3) a contribuição na construção do banco de extratos de plantas medicinais do Lab. 18 / CPPN.

O material vegetal silvestre foi coletado na Reserva Adolpho Ducke e no Campus I do INPA e identificado junto ao Herbário do INPA, sendo depositadas exsiccatas de cada material coletado. O estudo químico foi conduzido no Lab.18/ CPPN. Após a coleta, o material vegetal foi seco à sombra e sofreu triagem e moagem, resultando na serragem, a qual foi acondicionada em sacos plásticos. Duas porções de cada serragem foram pesadas e a partir de uma porção foi preparado o extrato aquoso por infusão (15 min) com água desionizada fervente (400 mL), seguida de filtração à quente (lavagem com 200 mL de água quente). A partir da outra porção da serragem foi preparado o extrato metanólico (3 extrações de 6 horas, trocando-se o solvente) em aparelhagem de Soxhlet. Após a extração, os solventes foram removidos por evaporação rotatória seguida de liofilização. Os teores extrativos foram calculados (Tabela.1) e os extratos depositados no banco de extratos do grupo Lab.18.

Os ensaios de atividade antifúngica, antitumoral e moluscicida foram efetuados em colaboração com o grupo do Prof. Dr. Massuo Jorge Kato do Instituto de Química da USP. A metodologia básica para a avaliação da atividade antitumoral com linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* está descrita na legenda da Tabela 3. Para o teste antifúngico,

EtOH/H₂O (1:1) e particionado inicialmente com CHCl₃ e posteriormente com n-BuOH. As respectivas frações foram concentradas, liofilizadas e testadas para atividade contra *Artemia franciscana*. Apenas a fração CHCl₃ mostrou-se ativa nas concentrações de 500 µg / mL e 50 µg / mL, com mortalidades de 62 % e 5 %, respectivamente.

Tabela 2. Extratos ativos no ensaio de atividade antifúngica (*Cladosporium sphaerspermum*).

Espécie	Parte utilizada	Extrato	R _f	Potencial
<i>Piper dilatatum</i>	Folhas	Metanólico	0,66/0,92	forte/forte
<i>Piper hostmanianum</i>	Folhas		0,77/0,92	forte/forte
	Galho		0,77/0,92	média/média
<i>Piper tuberculatum</i>	Folha		0,88	forte
	Galho		0,77/0,92	forte/forte
	Fruto		0,77/0,92	forte/forte

Sistema de solvente utilizado CHCl₃:MeOH (9:1) /CDD sílica. Os R_f citados na tabela acima correspondem as regiões da placa cromatográfica que apresentaram inibição do crescimento do fungo.

Tabela 3. Extratos ativos no ensaio de atividade antitumoral (*Saccharomyces cerevisiae*)

Espécie	Parte	Extrato	RAD ⁺	RAD 52Y	RAD 321
<i>Pothomorphe peltata</i>	Folha	Aquoso	inativo	13	inativo
	Galho	Metanólico	inativo	15	inativo
	Raiz	Metanólico	inativo	14	12
	Fruto	Metanólico	inativo	15	inativo
<i>Piper tuberculatum</i>	Folha	Aquoso	inativo	12	inativo
	Galho	Metanólico	inativo	12	inativo
	Fruto	Aquoso	inativo	16	inativo
		Metanólico	12	13	12
Piper dilatatum	Folha	Aquoso	inativo	16	inativo
	Galho	Aquoso	inativo	12	inativo
	Raiz	Aquoso	inativo	12	inativo
<i>Piper hostmanianum</i>	Folha	Metanólico	12	13	12

Uma amostra é considerada com potencial atividade antitumoral quando apresenta um halo de inibição igual ou superior a **12 mm** a favor de pelo menos uma das linhagens deficientes na reconstituição da seqüência do DNA (RAD 52Y e RS321) em comparação com a selvagem não modificada (RAD⁺). Se houver inibição nas 3 linhagens, o extrato testado será ativo contra a levedura e não contra suas formas modificadas.

Com relação aos teores extrativos (Tabela 1), observou-se que os mais elevados foram encontrados na extração das folhas (27,6 – 8,5 %) e os mais baixos na extração os galhos (11,16 – 3,86 %). Nota-se também, que em 90% dos casos os teores extrativos dos extratos metanólicos foram superiores aos dos extratos aquosos. No total, foram preparados 37 extratos, sendo 17 metanólicos e 20 aquosos.

Os testes farmacológicos realizados nos extratos revelaram várias espécies ativas. No teste de atividade antitumoral as espécies mais ativas foram *Pothomorphe peltata*, *Piper tuberculatum* e *Piper dilatatum* e as espécies *Piper tuberculatum* e *Piper hostmanianum* apresentaram atividade contra a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O teste de atividade antifúngica revelou a espécie *Piper dilatatum*, entre outras, como fortemente ativa.

Os dados de atividade biológica e também o fato de ser uma espécie muito pouco estudada (Terreaux *et al.* 1998), foram a base de escolha para iniciar o estudo fitoquímico de folhas da espécie *Piper dilatatum*.

Em conclusão, uma grande número de extratos foram depositados no banco de extratos do Laboratório 18 e muitos desses já foram testados para atividade biológica. Algumas das espécies de Piperaceae estudadas tiveram sua atividade antitumoral e antifúngica caracterizadas por bioensaios, com destaque para a espécie *Piper dilatatum*, cujo estudo fitoquímico foi iniciado, por apresentar forte atividade antifúngica, antitumoral e ainda ser ativa contra *Artemia franciscana*.

Navickiene, H.M.D., Alécio, A.C., Kato, M.J., Bolzani, V.S., Young, M.C.M., Cavalheiro, A.J. e Furlan, M. (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 55: 621-626.

Martins, R.C., Sartorelli, P., Latorre, L.R. e Kato, M.J. 2000. Phenylpropanoids and Tetrahydrofuran lignans from *Piper solmsianum*. *Phytochemistry*.

Mongelli, E., Romano, A., Desmarchelier, C., Coussio, J. e Ciccia, G. 1999. Cytotoxic 4-nerolidylcatechol from *Pothomorphe peltata* inhibits topoisomerase I activity. *Planta Medica* 65(4): 376-378.

Okunade, A.L., Hufford, C.D., Clark, A.M. e Lentz, D. 1997. Antimicrobial properties of constituents of *Piper aduncum*. *Phytotherapy Research* 11(2):142-144.

Sala-Neto, F., Siqueira da Silva, J., Pires, R.O., Nascimento, B.C., Boubil, J.P. and Tosta, C.E. 1985. Uma nova metodologia para avaliação antimalárica de produtos vegetais: Aplicação ao estudo de 83 espécimes da floresta brasileira. *Ciência e Cultura* 37 (Supl II): 1152-1163.

Terreaux, C., Gupta, M.P. e Hostettmann, K. (1998). Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. *Phytochemistry* 49(2): 461-464.