

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *PALICOUREAE RIGIDA* (RUBIACEAE)

SILVA, Francielly Moreira da¹; **KATO**, Lucília², **OLIVEIRA**, Cecília Maria Alves de³, **CORREA**, **FERREIRA**, Heleno Dias⁴, Gracielly Rodrigues⁵, **SILVA**, Cleuza Conceição⁶

Palavras-chave: *Palicoureae* - Alcalóides, Vallesiachotamina,

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

O comércio de plantas medicinais no Brasil é estimulado principalmente pela população carente que as têm como único recurso terapêutico, assim como pelo crescente interesse da população mundial pelos fitoterápicos. No segundo bioma brasileiro em extensão, o Cerrado, plantas que de alguma forma possuem propriedades terapêuticas são usadas indiscriminadamente pela população, sendo que o uso é feito com pouca ou nenhuma preocupação em relação aos possíveis efeitos tóxicos. Assim, a investigação do potencial biológico aliado ao estudo fitoquímico é uma forma de aproveitamento sensato desses recursos. Algumas espécies nativas do Cerrado têm merecido nossa atenção não só pelo uso na medicina popular como também pelo potencial químico e biológico já observados em espécies do mesmo gênero ou família que foram anteriormente estudadas. Nesse caso estamos particularmente interessados em espécies do gênero *Palicourea* pertencentes à família Rubiaceae. Espécies desse gênero vêm sendo estudadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais (IQ - UFG), como parte de um projeto que visa realizar estudos fitoquímicos e microbiológicos de espécies do Cerrado Goiano, espécies estas que na maioria das vezes não possuem nenhum estudo acerca de suas composições químicas. Os alcalóides freqüentemente apresentam atividade farmacológica pronunciada em largo espectro de ação. O grande interesse em alcalóides advém muito provavelmente dessas ações farmacológicas intensas – mesmo quando ainda não se sabia sequer o que era um alcalóide, nos primórdios da civilização. Uma grande variedade de alcalóides foi isolada de espécies do gênero *Palicourea*, porém não foram encontrados alcalóides em *P. rigida*.¹

2. METODOLOGIA

Fitoquímica

2.1 – Coleta e Identificação do Material Botânico: O material vegetal referente foi coletado em 29/05/2004 na região metropolitana de Goiânia, identificado pelo Prof. Ms. Heleno Dias Ferreira do Departamento de Botânica – ICB/UFG, sendo as exsicatas mantidas no Herbário do mesmo instituto.

2.2 - Secagem e Moagem: O material botânico previamente separado foi submetido à secagem em estufa a 40 °C com ventilação forçada e moagem efetuada em moinho de faca com granulação definida.

2.3 - Extração com Solventes: O material botânico, seco e pulverizado foi submetido à extração exaustiva por percolação a frio em etanol 96% ao abrigo

da luz e sob agitação (5 x 24h). A filtração em papel de filtro de porosidade média e evaporação do solvente em evaporador rotativo conduziu ao extrato bruto etanólico.

2.4 - Fracionamento ácido-base: O extrato etanólico foi acidificado com ácido acético (10%) e os componentes neutros e ácidos são removidos com clorofórmio. Após ajuste do pH para 7 e sucessivamente para 9, com adição de bicarbonato de sódio a extração é realizada, em cada um dos casos, com clorofórmio (3x) e em seguida com acetato de etila (no caso de pH 9). O solvente foi então evaporado em rota-evaporador, resultando em extratos ricos em alcalóides.

2.5 - Fracionamento dos extratos: Após uma avaliação prévia da bioatividade antibacteriana usando a Bioautografia, o extrato bruto e as frações alcaloídicas foram submetidos ao fracionamento cromatográfico (repetidas vezes, em coluna e em camada preparativa, utilizando-se como fase estacionária sílica gel).

2.6 - Estudo Cromatográfico – Isolamento e purificação: A purificação das subfrações obtidas no item anterior foi realizada por CCD preparativa (em sílica gel) e reveladas com reagente de Dragendorff (revelador específico para alcalóides). As amostras puras isoladas são submetidas às técnicas espectroscópicas de análise tais como: Espectroscopia Ultravioleta e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (este em colaboração com o Departamento de Química da UEM).

2.7 – Bioautografia: Os microorganismos *Escherichia coli* ATCC 8759 (gram-negativa), *Staphylococcus aureus* ATCC 29737, *Bacillus subtilis* ATCC 6699 e *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (gram-positivas), utilizados nos ensaios antibacterianos foram fornecidos pelo IPTSP/UFG. Extrato e frações foram submetidos a bioensaios contra as bactérias acima mencionadas

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Fitoquímica

O material botânico foi seco, moído e submetido à extração etanólica assim como descrito na metodologia. O extrato bruto foi submetido à extração ácido-base e os extratos obtidos foram analisados por Cromatografia (CC e CCD). O extrato CHCl_3 básico foi submetido à CCD em escala preparativa e a partir deste processo, foi isolada a substância que foi submetida a teste com reagente de Dragendorff, evidenciando a presença de um alcalóide. Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos no Depto. de Química da UEM/PR. A elucidação estrutural do alcalóide foi realizada pela análise dos espectros RMN ^1H e ^{13}C e experimentos 2D (COSY; HMBC) e a comparação com dados da literatura levou à estrutura da Vallesiachotamina. Cálculos de deslocamento de ^1H foram feitos (e comparados com o da literatura²) Pelo valor observado do a fim de deduzir se a estrutura elucidada seria cis ou trans em relação ao grupo aldeídico presente. Pelo valor observado de $\delta_{\text{Hcis}} = 6,66$ ppm e $\delta_{\text{Hcis}} = 6,57$ ppm calculado, conclui-se que a substância isolada é a cis-vallesiachotamina.

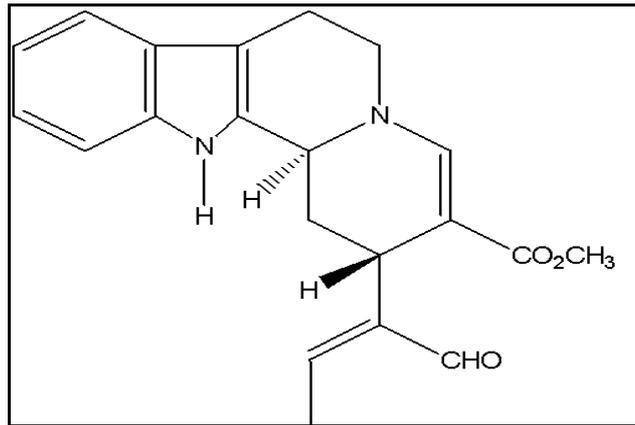


Figura 1: Estrutura da Vallesiachotamina

4. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico dos extratos de *P. rigida*, mostra a presença de alcalóides de alta polaridade, o que dificulta o isolamento e purificação por cromatografia. O isolamento e a caracterização estrutural do composto de *P. rigida* foi realizado e conclui-se que o composto isolado é a cis-vallesiachotamina. Daremos continuidade ao projeto, fracionando o extrato das raízes, as frações alcaloídicas e as frações provenientes da separação por coluna cromatográfica, usando a CCP como técnica de fracionamento. Os resultados preliminares obtidos nos ensaios de Bioautografia evidenciaram a potencialidade dos extratos de *Palicourea rigida* em diferentes bactérias patogênicas humanas, mostrando que os halos de inibição ocorrem principalmente em substâncias de alta polaridade que possivelmente são alcalóides

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FARIAS, F. M.; HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; KONRATH, E. L.; LOPES, S.; MORENO, P.; von POSER, G. L.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J. A. S.; **Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae)**. *Biochemical Systematics and Ecology* v. 32, p. 1187-1195. 2004.
2. SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. Sexta edição. Editora LTC. Rio de Janeiro, 2000.

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIBIC

¹ Bolsista de iniciação científica. Instituto de Química - Laboratório de Química de Produtos Naturais, franci@quimica.grad.ufg.br

² Orientadora/Instituto de Química/UFG, lucilia@quimica.ufg.br

³ Instituto de Química/UFG, cecilia@quimica.ufg.br

⁴ Instituto de Ciências Biológicas/UFG

⁵ Bolsista de iniciação científica. Instituto de Química - Laboratório de Química de Produtos Naturais

⁶ Departamento de Química/ Universidade Estadual de Maringá.