

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Palicourea coriacea* (RUBIACEAE)

GOMES, Mislene da Silva¹; LIÃO, Luciano Morais²

Palavras-chave: : *Palicourea coriacea*, ácido ursólico, calicantina, ácido strictosidínico-3',4''-sacarose.

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

As plantas das Rubiaceae podem apresentar-se como arbustos, ervas, lianas ou trepadeiras. Esta família é a quarta maior entre as plantas floridas no mundo e no Brasil possui aproximadamente 110 gêneros e 1700 espécies. Na maioria dos estados brasileiros esta família é uma das maiores em número de espécies. Nos Estados de Goiás e Tocantins foram encontrados, até o momento, 53 gêneros (4 cultivados). Entre os gêneros encontrados destaca-se o *Palicourea* que inclui cerca de 285 espécies, entre arbustos e árvores de pequeno porte e destaca-se por sua toxicidade aos animais (DELPRETE, 2003).

Palicourea coriacea é uma espécie da família Rubiaceae conhecida na região de Goiás como douradinha e utilizada pela população do Cerrado no tratamento de cálculo renal, bem como diurético. Essa espécie tem hoje um grande valor comercial por conter substâncias químicas, como as metilxantinas, de interesse das indústrias de medicamentos (Grupo de estudos e pesquisas de plantas aromáticas, medicinais e tóxicas – Faculdade de Farmácia/UFG).

Como parte dos estudos fitoquímicos e avaliação biológica das plantas do cerrado goiano, descrevemos o isolamento e a identificação de seis metabólitos sendo um alcalóide quinolínico (calicantina), um triterpeno ursano (ácido ursólico), três esteróides (β -sitosterol – 3, estigmasterol – 4 e campesterol) e um alcalóide indólico monoterpênico glicosilado (ácido strictosidínico-3',4''-sacarose).

2. METODOLOGIA

2.1 - Coleta e identificação do material

A espécie *Palicourea coriacea* foi coletada em regiões de cerrado no município de Goiânia/GO e identificada pelo Professor Heleno Dias Ferreira, do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Goiás, em março de 2003. Uma exsiccata encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica - ICB/UFG, sob número 27153.

2.2 – Secagem e moagem

O material botânico, previamente separado (folhas e raízes), foi submetido à secagem em estufa com ventilação forçada a 40°C e, em seguida pulverizado em moinho de facas com granulação definida, 362 e 77 gramas respectivamente.

Uma parcela das flores foi triturada fresca, obtendo-se 287 gramas, enquanto que a outra porção foi colocada em estufa a 40°C para secagem, gerando 28,8 gramas de material.

2.3 – Obtenção dos extratos

As folhas pulverizadas foram extraídas à temperatura ambiente, por maceração com etanol (3 x 24h). A evaporação do etanol sob pressão reduzida forneceu o extrato bruto etanólico das folhas (41,3g).

As raízes pulverizadas foram submetidas à extração contínua em Soxhlet (6h), utilizando-se como solvente: hexano, acetato de etila e metanol, respectivamente.

Flores frescas de *P. coriacea* (303 g) foram trituradas em liquidificador e submetidas à extração contínua em Soxhlet (6h), utilizando-se como solvente uma solução de

metanol/água (1:1). Após a extração, o metanol foi evaporado em rotoevaporador e a fração aquosa extraída com clorofórmio. A evaporação deste, resultou no extrato bruto das flores (1,0 g).

Flores secas de *P. coriacea* (28,8 g) foram trituradas e submetidas à extração em Soxhlet (6h), utilizando-se como solvente: hexano, dicloro metano e metanol, respectivamente.

2.4 – Fracionamento dos extratos e estudo cromatográfico

O extrato bruto etanólico das folhas, foi submetido à extração ácido-base. O extrato diclorometânico básico (CH_2Cl_2), proveniente da extração, foi analisado por CCDA (cromatografia em camada delgada analítica) e fracionado em placa preparativa (CCDP – sílicagel, 1,0 mm). Aplicou-se a quantidade de 46 mg de extrato. As placas foram eluídas utilizando a fase orgânica do sistema $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ (37:1:2). Desse procedimento, foi isolado 17mg de calicantina.

O extrato metanólico das raízes foi fracionado em coluna cromatográfica (sílica 100-230Mesh) com diâmetro 1,5 cm por 1,2 altura, em solvente: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ gradiente. Coletando-se 30 frações de 30mL, analisadas por CCDA e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico. O refractionamento da fração 29, resultou no isolamento do alcalóide ácido strictosidínico-3',4"-sacarose, além de uma mistura de alcalóides não identificados.

O extrato metanólico das flores foi fracionado em CC (sílica 100-230 Mesh) com diâmetro 3,2cm por 4,2cm altura, coletando-se 8 frações de 30mL. As frações 4-5 após lavagem com CHCl_3 permitiram o isolamento do triterpeno ácido ursólico. A frações 6-8 apresentaram uma mistura dos esteróides β -sitosterol, estigmasterol e campesterol.

2.5 Ensaio biológicos

As frações foram submetidas a ensaios microbiológicos, utilizando-se a Bioautografia como método de detecção. Os microorganismos testados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Micrococcus luteus* (ATCC 9341) e *Escherichia coli* (ATCC 8739), utilizando-se como controle positivo o cloranfenicol (5 μ g). Como os ensaios bioautográficos foram realizados de forma qualitativa, ensaios de determinação da Concentração inibitória Mínima (CIM) utilizando microplacas com 96 poços, foram empregados para quantificar a atividade dos extratos e frações que apresentaram resultados positivos nos ensaios bioautográficos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Substâncias Isoladas das folhas

O estudo fitoquímico das folhas de *P. coriacea* levou à identificação do alcalóide calicantina, purificado do extrato diclorometânico básico por meio de CCDP (17 mg). A estrutura molecular da calicantina isolada desta fração foi proposta através da análise dos dados registrados nos espectros de RMN^1H e RMN^{13}C (1D e 2D).

3.2 - Substâncias Isoladas das raízes

O estudo das raízes de *P. coriacea* levou ao isolamento do ácido strictosidínico-3',4"-sacarose, um alcalóide glicosilado pertencente à classe dos indólicos monoterpênicos. Essa substância foi isolada como um sólido amarelo, visível sob luz UV ($\lambda = 254\text{nm}$) e apresentando reação positiva frente ao reagente de Dragendorff, indicativo da presença de alcalóides. Sua estrutura foi proposta com base nos espectros na região do infravermelho, RMN^1H , RMN^{13}C , HMBC e COSY. Na literatura, até o presente momento, não foram encontrados relatos da existência de alcalóides indólicos monoterpênicos contendo uma unidade trissacarídica, indicando que a substância é inédita.

3.3 – Substâncias Isoladas das flores

O estudo fitoquímico das flores secas de *P. coriacea* levou à identificação de um triterpeno ursano e três esteróides.

O triterpeno ursano isolado é um sólido branco, amorfo, não visível no UV ($\lambda = 254$ e 366nm) e apresentou cor azul, quando revelado em anisaldeído. Os espectros na região do infravermelho, RMN¹H e RMN¹³H discutidos permitiram a identificação da substância como sendo o ácido ursólico, um triterpeno derivado da α -amirina.

A mistura das substâncias campesterol, β -sitosterol e estigmasterol se apresenta como um sólido branco na forma de agulhas, não visível sob luz UV ($\lambda = 254$ e 366nm) e coloração azul, quando revelado em anisaldeído. A amostra foi submetida à análise por espectroscopia na região do infravermelho e por cromatografia gasosa com detector de massa (CG/EM).

3.4 – Estudo da atividade antibacteriana

Os extratos brutos das folhas e das raízes apresentaram substâncias que inibiram o crescimento de bactérias gram positivas: *S. aureus*, *B. subtilis* e *M. luteus*. Observou-se que o extrato bruto das flores apresentou halos de inibição para *M.luteus* e *S. aureus*, na região do ácido ursólico. O ácido ursólico apresentou CIM entre 125,0 e 62,5 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus* e entre 6,2 e 3,1 $\mu\text{g/mL}$ para *M. luteus*. Ensaio comparativos realizados com o antibiótico cloranfenicol, utilizado com padrão de referência nos ensaios, indicaram CIM entre 6,2 e 3,1 $\mu\text{g/mL}$ para *S. aureus* e 1,6 e 0,8 $\mu\text{g/mL}$ contra *M. luteus*.

4. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico de várias partes vegetais de *Palicourea coriacea* conduziu, à determinação estrutural e identificação de seis metabólitos secundários, sendo um alcalóide quinolínico (calicantina – 1), um triterpeno ursano (ácido ursólico – 2), três esteróides (β -sitosterol – 3, estigmasterol – 4 e campesterol – 5) e um alcalóide indólico monoterpênico glicosilado (ácido strictosidínico-3',4"-sacarose – 6). Dentre essas substâncias destaca-se a de número 6, por ser inédita. Os resultados obtidos comprovam a atividade antimicrobiana do ácido ursólico determinada anteriormente por Chattopadhyay e colaboradores (2002).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHATTOPADHYAY, D.; ARUNACHALAM, G.; MANDA, A. B.; SUR, T. K.; MANDAL, S. C; BHATTACHARYA, S. K. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore: mollus peltatus leaf extrat, v. 82, p. 229-237, 2002.

DELPRETE, P.G.; Estudo das Rubiáceas dos estados de Goiás e Tocantins: mini-curso 14-19 abril, 2003.

Grupo de estudos e pesquisas de plantas aromáticas, medicinais e tóxicas – Faculdade de Farmácia/UFMG. Coordenação da Professora Maria das Graças Lins Brandão. www.manuelzao.ufmg.br/jornal, Raízes da vida, Riquezas do cerrado mineiro.

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIBIC

¹ Bolsista de iniciação científica. Instituto de Química - IQ - Laboratório de Produtos Naturais, quimis@hotmail.com

² Orientador/Instituto de Química/UFMG, luciano@quimica.ufg.br