

## AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Spermacoce poaya* (Rubiaceae)

**COSTA, L. M.<sup>1</sup>; CARVALHO, A. M.<sup>2</sup>; PEREIRA, R. C.<sup>3</sup>; DELPRETE, P. G.<sup>4</sup>; OLIVEIRA, C. M. A.<sup>5</sup>; SILVA, C. C.<sup>6</sup>; KATO, L.<sup>7</sup>;**

Palavra-chave: *poaia verdadeira*, alcalóides, bioautografia, citotoxicidade.

### 1. INTRODUÇÃO

A família *Rubiaceae* representa a quarta maior família dentre as angiospermas, com ampla distribuição geográfica ocupando, principalmente, as regiões tropicais e subtropicais e com aproximadamente 650 gêneros e 13000 espécies sendo que muitas espécies possuem grande importância econômica e farmacêutica; é conhecida como a família do café ou da quina; quimicamente é rica em metabólitos secundários, especialmente pertencentes à classe dos iridóides, terpenóides, flavonóides, taninos, quinonas e principalmente alcalóides. Esses compostos já foram detectados em diversas espécies, com significativas variações estruturais entre as diferentes subfamílias (*Rubioideae*, *Cinchonoideae*, *Antirheoideae* e *Ixoroideae*) (Inouye et al, 1988). Os alcalóides constituem-se num vasto grupo de metabólitos nitrogenados com grande diversidade estrutural, possuindo atividade biológica tais como: antiinflamatório, antioxidante (Shaeen et.al,2005), broncodilatadora (Zhu, et al, 2005). Devido à larga variedade de alcalóides produzidos de quase todas as espécies, muitas são utilizadas como fontes primárias de medicamentos naturais, alucinógenos e venenos (Delprete, 2004).

O grupo de produtos naturais do IQ/UFG, buscando estudo fitoquímico de espécies desta família, isolou os alcalóides valeasiachotamina de *Palicourea rígida* (VENCATO, 2006) e alcalóides indólicos e triterpenos de *P. coriacea*, (VENCATO, et al, 2004) e iniciou o estudo fitoquímico de *Spermacoce poaya*.

O gênero *Spermacoce* (incluindo *Borreria*), possui mais de 300 espécies. *Spermacoce poaya* floresce desde novembro até fevereiro e possui distribuição geográfica no Paraguai e na Argentina, bem como no Brasil, em Goiás, Minas Gerais, São Paulo até Rio Grande do Sul. Ocorrem principalmente em lavouras anuais, cafezais, pomares, terrenos baldios, bem como lugares úmidos, tanto como beira de canais, jardins, pomares e beira de estradas. Apresentam nítida preferência por solos ácidos, tolerando certo grau de sombreamento. *S. poaya* é popularmente conhecida como poáia, poáia-do-campo, poáia-do-arador, poáia-do-cerrado, poáia rasteira, canela de judeu, perpétua do mato, poáia-verdadeira e é usada como substituta da verdadeira Ipecacuanha (*Psychotria ipecacuanha*) (Delprete, 2005). O extrato das folhas da poáia apresenta um sabor inicialmente muito doce e finalmente ácido e é utilizado na forma de chá para curar cólicas e outras dores internas;

Espécies deste gênero são muito usadas na medicina caseira no tratamento de câimbras de sangue, colite, feridas, para picada de cobras, furúnculos, úlceras e gonorréia, (França, 2004), sendo que o chá das folhas é geralmente diurético, e é utilizado para o tratamento de diarreias e esquistossomose; algumas espécies também são abortivas e o óleo extraído de suas folhas inibe o desenvolvimento de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Delprete,2005). Da espécie *Spermacoce verticillata* syn. *Borreria verticillata*, usualmente utilizada na medicina tradicional como antipirético e analgésico, foram isolados alguns compostos tais como: espermacoceina, borerina, borreverina e isoborreverina, além de iridóides e

monoterpenóides. Esta espécie apresenta atividade antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa* (BENJAMIM, 1979)

No cerrado brasileiro existem registros de ocorrência das espécies *S. poaya*, *S. brachystemonóides*, *S. suaveolens*, *S. tenella* e *S. warmingii*, sendo que não há registro na literatura do estudo fitoquímico de *S.poaya*.

Temos como objetivos nesse trabalho, estudar quimicamente a espécie *S. poaya*, visando o isolamento e a identificação das principais substâncias presentes na parte aérea e subterrânea, bem como, elucidar as estruturas dos metabólitos e avaliar a atividade antibacteriana de extratos, frações e substâncias isoladas, utilizando-se as técnicas de Bioautografia (Hamburger e Cordell,1986) e de atividade citotóxica.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Coleta e identificação do material vegetal**

A espécie *Spermacoce poaya* foi coletada (parte aérea e subterrânea) no setor Itanhangá, região do cerrado, próxima a Universidade Federal de Goiás, município de Goiânia/GO, em outubro e novembro de 2005, e também, na reserva Serra Dourada (Pé da serra - região de cerrado), município da cidade de Goiás/GO, em novembro de 2005. Identificação dos materiais foi realizada pelo professor Dr. Piero G. Delprete (ICB/UFG). A exsicata está depositada no herbário do ICB/UFG.

O material botânico (folhas/caule/flores e raízes) de Itanhangá e de Serra Dourada foi seco separadamente em estufa de ventilação forçada a 40 °C e pulverizado em moinho de facas, fornecendo respectivamente 58,4 g e 145,0 g de parte aérea; 60,5 g e 165,6 g de raízes.

### **2.2 Materiais, obtenção e tratamento preliminar dos extratos brutos de Serra Dourada e Itanhangá.**

A parte aérea (F) e subterrânea (R) de *S. poaya* coletadas em Serra Dourada (SD) e Itanhangá (I), foram extraídas separadamente por 48 horas em etanol a temperatura ambiente. Os extratos foram concentrados à pressão reduzida em evaporador rotativo, fornecendo respectivamente 5,71 (FSD) g e 4,23 g (FI) de extrato das folhas e 3,41 (RSD) g e 1,47 (RI) g de extrato etanólico das raízes.

### **2.3 Análise cromatográfica das substâncias**

A identificação dos metabólitos isolados, correlacionando a que classes pertencem, foi realizada através da técnica de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizando-se como agentes reveladores reativos de coloração. As análises foram realizadas em cromatoplasmas comerciais, recortadas no tamanho de 1,5 x 3,0 cm, tendo sílica gel como suporte cromatográfico. As fases móveis utilizadas foram basicamente: hexano, diclorometano, éter etílico, clorofórmio, acetona e metanol.

O extrato etanólico das folhas foi submetido a uma partição líquido-líquido, com solventes em ordem crescente de polaridade (Hexano, CHCl<sub>3</sub> e CH<sub>3</sub>OH - sob agitação), fornecendo respectivamente 0,981g de extrato hexânico (E. Hex.), 1.62g de clorofórmico (E. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e 1,98g de metanólico. (E. CH<sub>3</sub>OH) Todavia, o extrato das raízes foi submetido a uma extração por partição com diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>),

(à temperatura ambiente sob agitação), fornecendo 1g de diclorometânico e 3,13g de etanólico.

Os extratos foram submetidos a sucessivas separações por (CC) cromatografia em coluna, Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) e Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), utilizando-se sílica gel como fase estacionária e os solventes: hexano (Hex.), diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), éter etílico ((C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O), clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>), acetona (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O) e metanol (CH<sub>3</sub>OH) como sistema eluente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo fitoquímico:

Após obtenção dos extratos a partir da parte aérea e subterrânea de *S. poaya* iniciou-se o estudo por CCDA dos extratos com intuito da avaliação de sua pureza e da correlação metabólito/classe e após sucessivas purificações e avaliações por CCDA, utilizando-se como revelador anisaldeído, observou-se manchas de coloração púrpura típica de terpenóides. Outro reagente utilizado foi o reagente de Dragendorff, que indica a presença de nitrogenados, especificamente de alcalóides. Observou-se que as frações mais polares apresentavam coloração laranja (positivo para alcalóides) nas manchas correspondente aos compostos mais polares (R<sub>f</sub> menor). Os extratos obtidos da partição por solventes foram então submetidas à purificação por sucessivas CC e CCDP e monitoradas por CCDA.

O extrato hexânico FSD foi submetido a fracionamento CC utilizando; hexano, éter etílico, acetona e metanol em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas 433 frações das quais após análise por CCDA foram reunidas em 35 novas frações, de acordo com as semelhanças de R<sub>f</sub>, sendo que das frações, denominadas por F.39-45; F.68-76; F.77-95; F.96-101 e F.113-121 foram submetidas a processo de recristalização em éter etílico; destas, analisou-se a F.113-121 por CCDA, que se trata do triterpenóide sitosterol.

O fracionamento por cromatografia em coluna da fração diclorometânica das raízes de Serra Dourada, forneceu 43 frações. Destas, a F.70-83 após análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e DEPT foi identificada como estigmasterol.

A fração etanólica das raízes, após fracionamento por CC, forneceu 305 frações, que após análise por CCDA e forneceu 28 novas frações. Observou-se por CCD que F.49-79 trata-se do sitosterol.

As seguintes frações, após terem sido submetidas a CCDP, foram enviadas para UEM/Maringá/PR e estão sendo analisadas por espectrometria de RMN<sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H, são elas:

- F.102-112 (50,2 mg, de F. Hex. de folhas S. Dourada),
- F.162-169 (70,4 mg, de F. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de raízes S. Dourada),
- F.178-190 (74,4 mg, de F. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de raízes S. Dourada),
- F.30-35 (55,9 mg, de F. 186-281 de F. Etanólica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>));
- F. 86-136 (43,5 mg, de F. 211-221 de F. Etanólica(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>));
- F. 3-4 (28,9 mg, de F. 86-136, de F, 211-221 de F. Etanólica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>));
- F. 61-73 (55,0 mg, de F. 229-242 de F. Etanólica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>))\*;
- SP. 57,7 (20,8 mg, de F. 61-73, de F.229-242 de F. Etanólica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>))

\*. Os cristais desta fração foram retirados e analisados por Difração em raios-X, trata-se de sacarose e uma reserva de 10 mg da amostra depois da retirada dos cristais será analisada por bioautografia.

### **Estudo de atividade biológica:**

O estudo da atividade antibacteriana de *S. poaya* esta sendo realizado utilizando as técnicas de bioautografia (Hamburguer e Cordell 1987), no laboratório de Bioautografia do IQ/UFG. Observou-se a inibição do crescimento das bactérias, ou seja, resultados positivos, para os extratos etanólico parte aérea e subterrânea de Itanhangá e Serra Dourada e fração diclorometânica de Serra Dourada frente a *Kocúria risophila*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

### **4. CONCLUSÕES PARCIAIS**

O estudo inicial do material vegetal conduziu ao isolamento de quatro compostos, sendo um deles sacarose, dois sitosteróis e um estigmasterol, possivelmente ainda serão caracterizados alguns terpenóides, alcalóides, entre outros, visto a coloração típica para esta classe de compostos quando as frações foram analisadas por CCDA e os reativos: anisaldeído e Dragendorff.

Várias frações serão submetidas a análises espectrométricas, como RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, espectrometria de massas, infravermelho e ultravioleta conduzirão a elucidação estrutural dos compostos isolados.

Estudos iniciais de bioatividade, utilizando a Bioautografia mostraram que o extrato etanólico e diclorometânico de *S. poaya* apresenta potencial inibitório do crescimento das bactérias: *Kocúria risophila*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

### **5. PRÓXIMAS ETAPAS**

Obtenção dos dados espectrométricos e análise dos espectros identificação e elucidação estrutural dos compostos isolados.

Avaliação da atividade antibacteriana das substâncias isoladas dos extratos ativos.

Purificação das frações com massas significativas para sucessivas: CC e CCDP.

Nova coleta de material vegetal será realizada para dar prosseguimento aos estudos fitoquímicos e a extração de óleos essenciais de *S. poaya*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENJAMIN, T. V. Fac. Pharm., Univ. Ife, Ibe, Nigeria. Quarterly Journal of Crude Drug Research (1979), 17 (3-4), 135-6. CODEN: QJDRAZ ISSN:0033-5525. Journal written in English. CAN 92: 107404 AN 1980:107404 CAPLUS (Copyright © 2006 ACS on SciFinder ®)
- DELPRETE, P. G. **Rubiaceae**. In: SMITH, N. P.; HEALD, S. V.; HANDERSON, A.; MORI, S. A.; STEVENSON, D. W. Flowering Plant Families of the American Tropics. Princeton University Press/New York Botanical Garden Press, p. 328-333, 2004.
- DELPRETE, P. G. In: SMITH, N. P.; KLEIN, R. M. 2005. **Rubiáceas Volume 2 – Gêneros de G-Z: 20. Gardenia até 46. Tocoyena** (com observações ecológicas por R. Klein, <sup>a</sup> Reis & <sup>o</sup> Iza), pp 345-843. In <sup>a</sup> Reis (ed.), Flora Ilustrada Catarinense [Brasil]. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, Santa Catarina, Brasil. p. 702-776, 2005.
- FRANÇA, S.C. **Abordagens Biotecnológicas para obtenção de substâncias ativas**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS, p. 124-146,2004.
- HAMBURGUER, M.; CORDELL, G. A. **Direct Bioautographic TLC assay for compounds possessing antibacterial activity**. Journal of Natural Products, v. 50, n.1, p.20-22, 1987.
- SHAHEEN, F. et al. **Alkaloids of Aconitum leave and their anti-inflammatory, antioxidant and tyrosinase inhibition activities**, Phytochemistry 66, 935-940,2005.
- VENCATO I, DA SILVA, FM; DE OLIVEIRA, CMA, et. Al; **Vallesiachotamine** Acta Crystallographica, Section E – Structure reports on line, 62: 0429-0431 Part 2, FEB 2006.
- VENCATO, I.; C. LARIUCCI, C.M.A, de OLIVEIRA, L. KATO and C.A.do NASCIMENTO. **Calycanthine monohydrate**; Crystallography Journals on line; *Acta Cryst.* E60, o1023-o1025, 2004.
- ZHU, W. M. et al. **Components of stem barks of Winchia calophylla A. DC. And their bronchodilatadro activities**. Journal of integrative plant biology 47(7): 892-896 Jul 2005.

---

<sup>1</sup>Aluna de mestrado: Instituto de Química – IQ – Laboratório de Produtos Naturais, [tylluquimica2005@hotmail.com](mailto:tylluquimica2005@hotmail.com)

<sup>2</sup>Aluna de IC-PIVIC. Instituto de Química – IQ – Laboratório de Produtos Naturais, [alcina@quimica.grad.ufg.br](mailto:alcina@quimica.grad.ufg.br)

<sup>3</sup>Aluno de IC-PIVIC. Instituto de Química – IQ – Laboratório de Produtos Naturais, [renatocp81@yahoo.com.br](mailto:renatocp81@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Co-orientador / Instituto de Ciências Biológicas – ICB / UFG, [pdelprete@icb.ufg.br](mailto:pdelprete@icb.ufg.br)

<sup>5</sup>Pesquisador colaborador / Instituto de Química / UFG, [cecilia@quimica.ufg.br](mailto:cecilia@quimica.ufg.br)

<sup>6</sup>Pesquisador colaborador / Instituto de Química / UEM / PR, [ccsilva@uem.br](mailto:ccsilva@uem.br)

<sup>7</sup>Orientador / Instituto de Química / UFG, [lucilia@quimica.ufg.br](mailto:lucilia@quimica.ufg.br)