

# ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Ocotea odorifera* e *Ocotea catharinensis*

**Thaynara de Souza Oliveira Meira<sup>1</sup>; Ana Francisca Gomes da Silva<sup>2</sup>**

1 Estudante do Curso de Química da UEMS, Unidade Universitária de Naviraí;

E-mail: ; thaynnara\_oliveira@hotmail.com

2 Professora do curso de Química da UEMS, Unidade Universitária de Mundo Novo;

E-mail: ana.francisca@ig.com.br

Área Temática da Pesquisa: Química dos Produtos Naturais.

## **Resumo**

O uso de plantas como medicamento existe desde os primórdios da terra e muitos desses conhecimentos foram passados de geração a geração o que contribuiu para o desenvolvimento de estudos químicos e biológicos de plantas medicinais. O presente projeto visou estudar a composição química e avaliar a atividade biológica das folhas das Lauráceas *Ocotea odorifera* e *Ocotea catharinensis* que ocorrem em Mundo Novo/MS. Os extratos brutos obtidos das folhas foram submetidos a testes analíticos qualitativos, com a finalidade de identificar as principais classes de metabólitos secundários e foram ainda submetidos ao ensaio de toxicidade para *Artemia salina*. Os testes analíticos demonstraram a presença de alcaloides, proteínas e aminoácidos, taninos condensados e saponinas espumidica para ambas as espécies. A classe das cumarinas voláteis apenas em *O. catharinensis*. As duas espécies estudadas apresentaram considerável toxicidade frente *A. salina*.

Palavras-chave: Canela-preta. Canela-sassafrás. *Artemia Salina*.

## **INTRODUÇÃO**

O uso de plantas como medicamento existe desde os primórdios da terra, e muitos desses conhecimentos foram passados de geração a geração o que contribuiu para o desenvolvimento de estudos químicos e biológicos de plantas medicinais. A família Lauraceae compreende 52 gêneros e cerca de 3000 espécies, as quais são predominantemente arbóreas, ocorrendo principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, estendendo-se a regiões de clima temperado. No Brasil é representada por 22 gêneros e aproximadamente 400 espécies (GARCEZ et al., 2009).

Essa família apresenta várias espécies medicinais destacando-se as pertencentes aos gêneros *Ocotea*, *Cinnamomum*, *Aniba* e *Nectandra* as quais apresentam utilização variada, desempenhando diferentes funções contra diversas doenças, tais como anti-reumática, depurativa, tônico, estomáquico e contra abscessos, empregadas como sudorífico, contra flatulência e, no uso externo, em feridas e úlceras (MARQUES, 2001). O gênero *Ocotea* apresenta o maior número de espécies medicinais. Na *Ocotea odorifera* por exemplo é extraído o óleo essencial da canela-sassafrás de onde é extraído o safrol, que é utilizado na medicina no preparo de medicamentos com propriedades sudoríferas, anti-reumáticas, anti-sifilíticas, diuréticas e como repelente de mosquitos. Na Medicina popular o chá das folhas e casca da canela sassafrás é utilizada como estimulante, diurético e em intoxicações metálicas. Índios de várias localidades utilizam o chá da casca para tratar dores em geral e contusões. (INPA, 2011; SOCIEDADE CHAUÁ, 2012).

Quimicamente trata-se de uma família muita rica em metabólitos secundários, destacando-se os pertencentes às seguintes classes: neolignananas e lignanas, alcaloides aporfínicos e benzilisoquinolínicos, flavonoides, sesquiterpenos, e pironas (GARCEZ et al., 2011)

Assim o presente projeto visa contribuir para o conhecimento da composição química e das atividades biológicas de plantas da família Lauraceae, realizando o estudo de *Ocotea odorifera* conhecida popularmente como canela sassafrás e *Ocotea catharinensis* conhecida como canela preta, ambas de ocorrência comum na região do município de Mundo Novo/MS e utilizadas no alívio de dores em geral.

## **OBJETIVOS**

O presente trabalho teve como objetivos realizar o estudo fitoquímico e avaliar a atividade biológica de *O. odorifera* e *O. catharinensis*. Especificamente:

- Realizar testes analíticos qualitativos, através de screening fitoquímico dos extratos etanólicos brutos das folhas para identificar os principais grupos orgânicos presentes.
- Submeter os extratos etanólicos brutos ao ensaio de atividade biológica de toxicidade para *Artemia salina*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As duas espécies selecionadas para este estudo foram coletadas na região de Mundo Novo/MS. A identificação do material foi realizada pelos professores da área de botânica da

Unidade Universitária de Mundo Novo/UEMS e do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

As folhas foram submetidas à secagem ao ar, posteriormente moídas e extraídas exaustivamente com etanol, a frio. Os extratos resultantes foram filtrados e concentrados sob pressão reduzida até consistência xaroposa e então submetidos aos testes analíticos qualitativos, através de screening fitoquímico e ao bioensaio de toxicidade frente *Artemia salina*. A triagem fitoquímica preliminar para detecção das principais classes de metabólitos secundários através de reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias (SIMÕES et al., 2004). Foram realizados testes para açúcares redutores com reativo de Fehling, polissacarídeos usando o reagente Lugol, cumarinas usando hidróxido de sódio. Proteínas e aminoácidos por meio de reações de Molish e de Ninhidrina, taninos usando cloreto férrico, flavonoides por meio da reação Shinoda, sesquiterperlactonas e outras lactonas com os reagentes cloridrato de hidroxilamina e cloreto férrico. Triterpenos e/ou esteroides pela reação de Lieberman-Burchard e os testes para alcaloides com os reativos de Bouchardat, Dragendorff, Bertrand e Mayer. Purinas usando peróxido de hidrogênio, catequinas usando vanilina, antraquinonas por meio da reação de Bornträger e ainda teste para saponina espumídica.

O ensaio de toxicidade para *Artemia salina* com os extratos etanólicos brutos das folhas *O. odorifera* e *O. catharinensis* foi realizado de acordo com a técnica descrita na literatura (McLaughlin, 2008; Meyer et al., 1982). Inicialmente foi preparado 1 litro de solução de sal marinho (38g/L) para incubação dos ovos de *A. salina*, que foram expostos à luz artificial (lâmpada incandescente de 100 watts) durante 48 horas para a eclosão das larvas. Para efetuar o ensaio, foram colocados, em triplicata, dez exemplares de náuplios em poços contendo 5 mL de solução salina, com os extratos nas concentrações de 500, 250, 100 e 50 µg/mL. Um grupo controle também foi preparado nas mesmas condições sem a presença dos extratos. Os poços foram mantidos sob luz artificial e temperatura ambiente por um período de 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem do número de náuplios sobreviventes do grupo controle e dos grupos expostos aos extratos. Com base nos dados obtidos, estimou-se para cada extrato a concentração necessária para matar 50% (DL<sub>50</sub>) das larvas, evidenciando o grau de toxidez das amostras, através do método de Análise de Probitos (Finney, 1971), com 95% de intervalo de confiança, usando software BioStat 2009.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Conhecer a composição química de extratos que utilizam testes químicos qualitativos rápidos e de baixo custo possibilita identificar as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico que estão presentes nos extratos, para que se possa delinear os melhores métodos para identificação das substâncias e os bioensaios a que devem ser submetidas.

Desta forma os testes analíticos preliminares revelaram nos extratos etanólicos brutos das folhas resultados positivos em comum para alcaloides, proteínas e aminoácidos, taninos condensados e saponinas espumidica. Apenas *O. catharinensis* apresentou resultado positivo para cumarinas voláteis. Para os grupos açúcares redutores, polissacarídios, catequinas, flavonoides, sesquiterperlactonas e outras lactonas, triterpenos e/ou esteroides e purinas obteve-se resultados negativos.

O ensaio de toxicidade para *Artemia salina* baseia-se na correlação observada entre a toxidez sobre o microcrustáceo *Artemia salina* e a citotoxicidade sobre células cancerosas do tipo P-388 (Meyer et al., 1982). Trata-se de uma metodologia simples, rápida, barata e reprodutível, como um substituto para os ensaios citotóxicos com células e que pode ser empregada como ensaio biológico inicial para a detecção de constituintes ativos de plantas em extratos brutos.

Meyer et al. (1982) estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média,  $DL_{50}$ , apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima  $1000 \mu\text{g/mL}$ , estes, são considerados atóxicos. Portanto os valores encontrados de  $DL_{50}$  103,27 para *O. catharinensis* e  $DL_{50}$  108,3 para *O. odorifera* indicam potencial tóxico para os extratos testados. Esses resultados sugerem que a considerável toxicidade encontrada pode estar relacionada aos grupos de metabólitos secundários revelados nos extratos, uma vez que tais grupos demonstram grande potencial farmacológico.

Os triterpenos e/ou esteroides, por exemplo, apresentam atividade antimicrobiana, antileishmanicida, candidacida, antiinfamatória e analgésica (Lima et al., 2009). Plantas ricas em esteroides podem também ser empregadas pelas indústrias farmacêuticas como moléculas de partida para a obtenção de fármacos esteroidais semi-sintéticos, como os anticoncepcionais, antiinfamatórios esteroidais e anabolizantes (Oliveira, 2007). Compostos fenólicos, tal como taninos e cumarinas são incluídos na categoria de bloqueadores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação (Shahidi et al., 1992).

Os alcaloides são metabólitos secundários estruturalmente bastante diversificados e caracterizam-se por apresentar uma ampla gama de atividades biológicas como

anticolinérgica, emética, antimalárica, anti-hipertensiva, hipnoanalgésica, amebicida, estimulante do SNC, antiviral, miorelaxante, anestésica, antitumoral, antitussígeno, colinérgica, dentre outras (Barbosa-Filho et al. 2006). Plantas contendo alcaloides devem ser consideradas potencialmente tóxicas (Robbers et al., 1997). Num relato anterior os efeitos analgésico e antiinflamatório observados foram atribuídos, principalmente, a um complexo de saponinas (Gené et al., 1996).

## CONCLUSÕES

Os testes analíticos preliminares realizados neste trabalho indicaram a presença de alcaloides, proteínas e aminoácidos, taninos condensados e saponinas espumidica nos extratos etanólicos brutos das folhas de *O. catharinensis* e *O. odorifera* e cumarinas apenas no extrato de *O. catharinensis*. Ambos os extratos mostraram toxicidade frente às larvas de *Artemia salina*. Estes resultados podem explicar o uso medicinal das espécies, uma vez que, os grupos orgânicos identificados nos extratos da planta apresentam inúmeras atividades farmacológicas. Porém estudos posteriores são necessários, a fim de isolar e identificar as substâncias presentes nas plantas responsáveis pela sua ação farmacológica.

## AGRADECIMENTOS

UEMS- Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, unidades de Naviraí e Mundo- Novo e a UFMS- Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo apoio técnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbosa-filho, J. M., Piuvezam, M. R., Moura, M. D., Silva, M. S., Lima, K. V. B., Cunha, E. V. L. da, Fachine, I. M.; Takemura, O. S. 2006. Antiinflammatory activity of
- Finney, D. J. Probit Analysis. 3ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1971. p.76-80.
- Garcez, F. R.; Garcez, W. S.; Hamerski, L.; Miguita. C. H. 2009. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Quim. Nova**, v. 32, p. 407.
- Garcez F. R; Da Silva A. F. G; Garcez W. S; Linck G; Matos, F. M. C, Santos E. C; Queiroz, L. M. 2011. Cytotoxic Aporphine Alkaloids from *Ocotea acutifolia*. **Planta Med.** v. 77, p. 383.

- Gené RM, Cartañá C, Adzet T, Marín E, Parella T, Cañigueral S 1996. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. *Planta Med* 62: 232-235.
- Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA. 2011. **Estudo da adaptação da espécie *Piper hispidinervum* C. DC. (pimenta longa) à região do Vale do Itajaí – SC, através da composição química do óleo essencial obtido por hidrodestilação por micro-ondas e convencional.** Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672011000200016&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672011000200016&script=sci_arttext) (último acesso 20-08-12)
- Lima, J. M.; Silva, C. A.; Rosa, M. B.; Santos, J. B.; Oliveira, T. G.; Silva, M. B. Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. *Planta Daninha*, 27: 7-11, 2009.
- Marques, C. A. 2001. Importância Econômica da Família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente** v. 8, p. 195.
- Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp – a convenient general bioassay for active-plant constituents. **Planta Med.** v. 45, p. 31.
- Robbers, J. E.; Speedie, M. K.; Tyler, V. E. 1997. Farmacognosia e Farmacobiotecnologia. São Paulo: Premier, 372 p. alkaloids: a twenty-century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16: 109-134.
- SHAHIDI, F., JANITHA, P.K. & WANASUNDARA, P.D. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit Ver. Food Sci. Nutr.*, 32: 67-103.
- Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. 2004. **Farmacognosia – da Planta ao Medicamento.** 2a. ed. Porto Alegre/Florianópolis, Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC.
- Sociedade Chauá. 2012. **Canela-sassafrás.** Disponível em: <http://www.chaua.org.br/especie/canela-sassafras>. (último acesso em 20-08-12).
- Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2008. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II.** 2. ed. Nova Odessa, São Paulo, Instituto Plantarum.
- Oliveira, B. H. de. 2007. Obtenção de novos fármacos através da biotransformação de produtos naturais. In: Yunes, R. A. & Chechin Filho, V (Org.). *Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia.* 1. ed. Itajaí: UNIVALI, 303 p.