

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO E MAPEAMENTO DE POSSÍVEIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA MAPIRUNGA (*Cordia sp.*)

Érick Caique Santos Costa (1); Tácia Thaisa de Lima Silva (2); Cláudia Patrícia Fernandes dos Santos (3); Daniela Maria do Amaral Ferraz e Navarro (4).

¹Mestrando em Ciências Naturais e Biotecnologia Universidade Federal de Campina Grande – UFCG - CES. Cuité – PB. erick.ca.ique@hotmail.com

²Mestre em Ciências Naturais e Biotecnologia Universidade Federal de Campina Grande – UFCG - CES. Cuité – PB. thaciathaisa@gmail.com

³Professora adjunta da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG - CES. Cuité – PB. santosclaudia0412@gmail.com

⁴professora adjunta da Universidade Federal do Pernambuco – UFPE – CCEN/DQF. Recife – PE. dmafn@ufpe.br

RESUMO

A utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos é uma das práticas mais remotas da civilização e, atualmente, em diversas regiões do mundo, o uso de medicamentos e compostos bioativos provenientes de plantas ainda é altamente importante. A MapiRUNGA (*Cordia sp.*) é uma planta utilizada pela população do Curimataú Paraibano para fins medicinais, especificamente, como agente anti-inflamatório e, apresenta características peculiares como a liberação de um odor característico semelhante ao expelido pela Tacaca (*Conepatus semistriatus*). Desse modo, o presente estudo objetivou-se em investigar os aspectos botânicos e fitoquímicos da MapiRUNGA, afim de mapear possíveis atividades biológicas relacionadas a esta espécie. Utilizou-se a literatura para investigação botânica e a Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa para a análise química do óleo essencial das folhas. A MapiRUNGA demonstrou características morfológicas e filotaxonômicas semelhantes à das *Cordias*, da família das *Boraginaceae*, bem como, apresentou mais de 100 compostos químicos em seu óleo essencial, sendo possível realizar a identificação de apenas 10 desses compostos. A maior parte dos compostos identificados apresentam, de acordo com a literatura, propriedades anti-inflamatórias, antibacteriana, antifúngica e antitumoral. O *trans*-Caryophyllene, composto majoritário que representa 23,67% do óleo essencial, atribui a MapiRUNGA a grande possibilidade de atuar como um potente anti-inflamatório.

Palavras chave: *Cordia*, sesquiterpenos, plantas medicinais.

INTRODUÇÃO

Descrição da espécie em estudo

A Mapirunga (figura 18) é um arbusto, que pode chegar até 3 metros de altura. Possuem folhas simples, alternas, lanceoladas, bordas inteiras, com estípulas e glândulas secretoras de óleo essencial em seu limbo. Geralmente é encontrada as margens de rios ou em ambientes úmidos e, mais raramente, em locais secos, porém sombreados. Possui um odor forte e característico, semelhante ao expelido pela tacaca (*Conepatus semistriatus*). Contudo, com o período de seca vivido na região, a floração não ocorreu, o que dificultou a sua identificação botânica. Entretanto, as características observadas na morfologia da planta sugerem que seja uma espécie do gênero *Cordia*, da família Boraginaceae (Jussieu. Gen. Pl. 143. 1737).

A família Boraginaceae possui uma grande riqueza de espécies acumulando cerca de 130 gêneros e 2.500 espécies que se difunde pelos trópicos e regiões temperadas. No Brasil, é encontrado 9 gêneros e 150 espécies sendo o gênero *Cordia* L. o mais abundante no país. As *Cordias* apresentam-se como arbustos ou árvores, e é um dos mais importantes gêneros desta família, sendo reconhecidas na medicina popular por possuírem atividades biológicas como agentes cicatrizantes, antiinflamatórios, diuréticos, antialérgicos e larvicidas por apresentam em sua composição química diterpenos, sesquiterpenos e flavonóides.

Considerada rara pela população do Curimataú Paraibano, a Mapirunga é tida pela medicina popular local como uma planta que possui excelentes aplicabilidades farmacológicas, em especial, como agente anti-inflamatório natural (SEVERO, 2014).

Dentro desta perspectiva, este trabalho teve como finalidade contribuir para investigação botânica e para o estudo das atividades biológicas da Mapirunga, mapeando através do estudo fitoquímico possíveis atividades atribuídas aos compostos encontrados em seu óleo essencial.

Portanto, o presente estudo foi de extrema relevância para investigar se as indicações populares do uso da Mapirunga possui fundamento científico, assim como, para elucidação de possíveis compostos com atividades biológicas que possam ser úteis no desenvolvimento de novos fármacos e/ou produtos naturais, tendo em vista que, produtos de origem vegetal possuem menor custo, possibilitando assim o fácil acesso ao produto e também a viabilização de novas substâncias.

Figura 1: fotos de ramos e folhas de Mapirunga.



METODOLOGIA

Coleta da planta

A coleta da planta foi realizada no município de Sossego-PB (figura 18), situado na Microrregião do Curimataú Paraibano e na Mesorregião Agreste Paraibano do Estado da Paraíba. Possui uma área 155 km² e está localizado entre as coordenadas 36.25° S e 6.76° W. O clima é quente e seco, típico do semi-árido, com uma altitude de aproximadamente 480m. O sítio São Bento, local exato da coleta, fica na zona rural de Sossego a uma distância de aproximadamente 6 km da sede municipal. Foram coletados ramos de acordo com a metodologia descrita por Rotta et al., (2008). A exsicata foi depositada no herbário da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, campus de Cuité-PB. Além disso, foram coletados 600 g de folhas, as quais foram colocadas em sacos plásticos vedados e refrigeradas a uma temperatura de aproximadamente 5 °C.

Extração

Para a extração dos compostos presentes nas folhas da Mapirunga, utilizou-se o método da hidrodestilação.

Neste método, 500 g de folhas previamente trituradas foram adicionadas em um balão volumétrico, juntamente com 2500 mL de água destilada, e colocadas no aparelho graduado de Clevenger com temperatura inicial de 100°C até a saída da primeira gota do líquido, reduzindo-se posteriormente para 70 °C, por um período de aproximadamente 3 horas. Ao final, os óleos essenciais foram então coletados com uma pipeta e armazenados em eppendorf protegidos da luz

com papel alumínio e colocados rapidamente no freezer à temperatura aproximada de $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, o extrato aquoso foi retirado do balão volumétrico e acondicionado em um frasco de vidro na geladeira a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para a determinação do rendimento do óleo essencial extraído para cada 500 g das espécies vegetais, pesou-se inicialmente o eppendorf vazio em balança analítica e posteriormente os eppendorfs com os óleos essenciais extraídos da planta.

3.3 Análise Química do Óleo Essencial

A análise Química do óleo essencial foi feita por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM) através de um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG-EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0.25 μm espessura da película), realizado no laboratório de cromatografia do Departamento de Química Fundamental (DQF) da Universidade Federal do Pernambuco (UFPE).

Inicialmente, foi injetado $1\mu\text{L}$ em split (1:20) do óleo essencial com concentração na faixa de 1000 a 2000 ppm. Posteriormente, injetou-se $1\mu\text{L}$ em split (1:20) da mistura de padrões de hidrocarbonetos: $\text{C}_9\text{-C}_{34}$. E finalmente, injetou-se a mistura do óleo essencial e a mistura de padrões de hidrocarbonetos, $1\mu\text{L}$ (0.2 μL de alcanos e 0.8 μL de óleo) em splitless. A temperatura do CG-EM foi mantida em $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 min, depois foi aumentada de $2.5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $240\text{ }^{\circ}\text{C}$ sendo mantida por 10 min nesta. Manteve-se o fluxo de hélio a pressão constante de 100 kPa. A interface do EM foi definida em $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e os espectros de massa registrados em 70eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de $0.5\text{ scan}^{-\text{s}}$ de m/z 20-350.

Partindo da análise dos tempos de retenção dos compostos na amostra do óleo essencial, dos padrões de hidrocarboneto e da combinação do óleo essencial com a mistura de padrões, calculou-se o índice de retenção para cada componente do óleo, de acordo com a equação de Kratz. (ADAMS, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

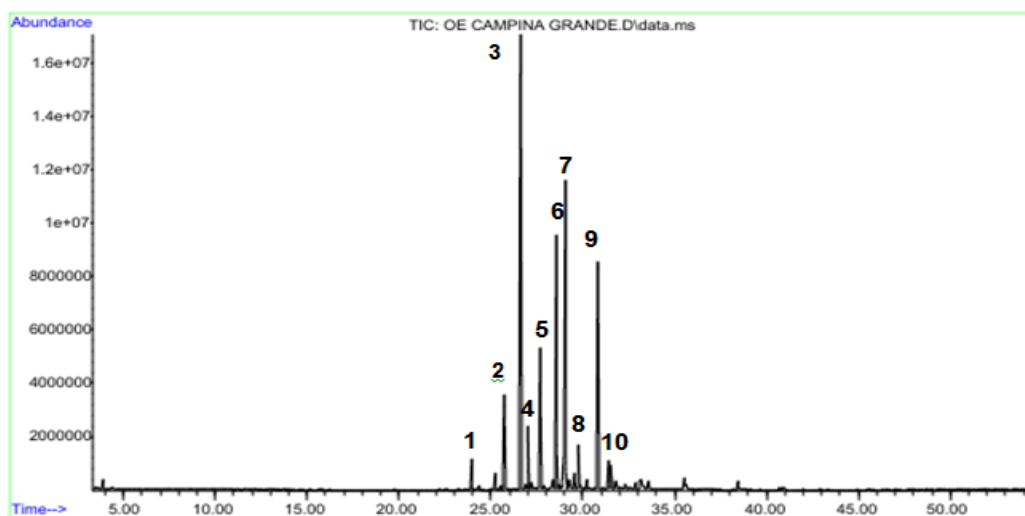
Caracterização Fitoquímica do Óleo Essencial

O rendimento de óleos essenciais provenientes de diversas espécies de vegetais está relacionado com a época de coleta, tipo de solo, clima da região e umidade relativa do ar (OLIVEIRA, 2011). Experimentalmente, o rendimento do óleo essencial das folhas de Mapiirunga foi de 5,8%, um bom rendimento, tendo em vista as altas temperaturas climáticas e o período de seca vivido na região. Apesar de se ter obtido um bom rendimento, tais fatores podem ter afetado diretamente a composição do óleo essencial, especificamente, em termos quantitativos.

O óleo essencial da Mapiirunga apresenta algumas características destacáveis como cor amarelada, aparência límpida e aroma característico da planta que se assemelha ao da tacaca (*Didelphis albiventris*).

Na análise química do óleo essencial das folhas de Mapiirunga por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa foram identificados os compostos majoritários, representando 82,3% do total de compostos presentes no óleo, os quais estão representados na figura 2, seguindo a ordem de eluição.

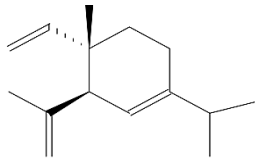
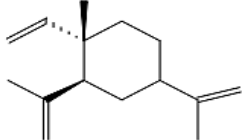
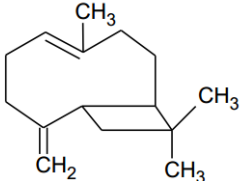
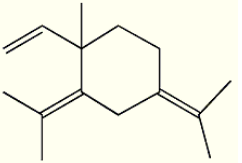
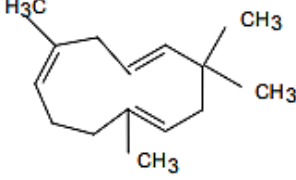
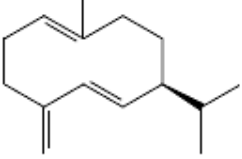
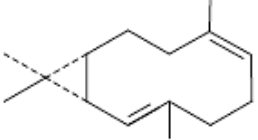
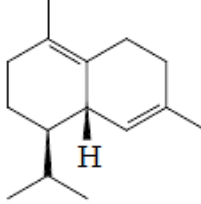
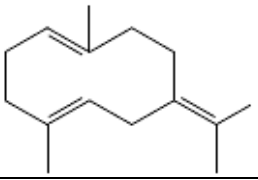
Figura 2. Cromatograma do óleo essencial, obtido por CG-EM.

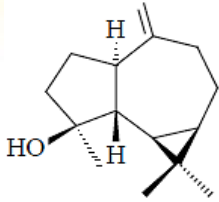


Os compostos apresentados na figura 2 estão listados na tabela 1, bem como seus índices de retenção e a percentagem que cada composto representa da massa total do óleo.

Tabela 1. Identificação dos constituintes do óleo essencial e seus respectivos tempos de retenção

PICO	TEMPO DE RETENÇÃO (min)	COMPOSTO	ESTRUTURA	ÁREA
------	-------------------------------	----------	-----------	------

1	24	δ -Elemene		1,49
2	26	β -Elemene		4,70
3	26,75	<i>trans</i> -Caryophyllene		23,67
4	27	γ -Elemene		2,84
5	27,75	α -Humulene		6,47
6	28,75	Germacrene D		12,31
7	29	Bicyclogermacrene		15,82
8	30	δ -Cadinene		2,24
9	31	Germacrene B		11,35

10	31,5	Spathulenol		1,41
----	------	-------------	--	------

Nota-se a partir da tabela 1, que o *trans*-Caryophyllene que representa 23,67% do total do óleo e o Bicyclogermacrene representando 15,82%, são os principais compostos majoritários. No entanto, compostos como Germacrene D (12,31%) e Germacrene B (11,35) representam também uma boa quantidade do óleo. Os demais compostos não estão presentes em grandes quantidades, o que não significa que não possam ser responsáveis por quaisquer atividades biológicas atribuídas a planta.

O δ -Elemene é um sesquiterpeno, com atividade antitumoral, consideravelmente eficaz no tratamento do câncer de pulmão e o β -Elemene, componente ativo da droga anti câncer Elemene, é um sesquiterpeno encontrado em plantas que apresentam uma baixa toxicidade. Sua principal aplicação farmacológica é como agente antitumoral.

Diversos estudos recentes têm demonstrado que o β -Elemene é altamente eficaz no tratamento de múltiplos tipos de câncer. De acordo com Liu et al.,(2011), este composto mostrou atividade significativa, podendo inibir em humanos a proliferação de células gástricas cancerosas através da apoptose, servindo como uma opção terapêutica favorável para o câncer gástrico avançado quando combinado com um inibidor da autofagia. Em estudos mais recentes, Lee *et al.* (2013) afirmam que o β -Elemene inibe por meio de apoptose o desenvolvimento e a sobrevivência de células cancerígenas no ovário humano. Além destes, outros estudos demonstram que o β -Elemene apresenta também atividade contra células leucêmicas, câncer no pulmão, na laringe, cérebro, próstata e colo retal (LIU et al. 2011; LEANDRO et al. 2012).

O *Trans*-Caryophyllene, composto majoritário encontrado no óleo essencial da Mapirunga, é um sesquiterpeno que apresentou atividade antiinflamatória satisfatória em diversos estudos. Fernandes et al., (2007) diz que o *Trans*-Caryophyllene foi capaz de inibir significativamente o parâmetro inflamatório em diferentes modelos experimentais, podendo representar uma importante ferramenta no tratamento de diversas doenças inflamatórias. Este também, em alguns estudos, compõe predominantemente substâncias que apresentam atividades biológicas como: repelente, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, anti-úlceras, antiespasmódico e mio-relaxante (SILVA, 2010).

O γ -Elemene, quarto composto eluído, é mais um isômero do sesquiterpeno Elemeno presente em drogas vegetais que tem se mostrado eficiente no tratamento de diversos tipos de câncer.

α -Humulene é um sesquiterpeno presente em plantas medicinais que possui excelente atividade anti-inflamatória, como a erva baleeira (*Cordia verbenacea*). Em estudos realizados por MEDEIROS et al., (2007), o α -Humulene foi capaz de inibir a migração de neutrófilos além de dificultar a produção de citocinas pró-inflamatórias. Alguns estudos sugerem que, misturas que possuem a presença de α -Humulene apresentaram atividade antitumoral, a qual é resultante da contribuição deste (PARISOTTO, 2011; HADRI et al., 2010).

O germacrene D é um composto pertencente à classe dos sesquiterpenos que pode estar presente em angiospermas, gimnospermas e em briófitas e pode ser precursor de diversos outros tipos sesquiterpenos. Algumas atividades biológicas são atribuídas a este composto, principalmente, antimicrobiana.

O Bicyclogermacrene, segundo composto majoritário (15,82%) encontrado no óleo essencial das folhas de Mapirunga, é um sesquiterpeno que apresenta atividade antifúngica, antimicrobiana, além de ser citado em estudos como componente de óleos essenciais que apresentaram atividade larvicida, antioxidante e anti-proliferativa contra células tumorais.

δ -Cadinene é também um sesquiterpeno encontrado em espécies de plantas que possuem atividades biológicas antifúngicas e bactericidas. Um estudo feito por INNOCENTI (2010) demonstrou que o óleo essencial de *Rhododendron anthopogon* composto por 17 substâncias, dentre as principais o δ -Cadinene, apresentou uma discreta atividade anti-inflamatória tópica, devido à eliminação de algumas bactérias Gram-positivas. Além disso, o óleo foi capaz de reduzir a proliferação de células cancerígenas.

O nono composto obtido no óleo da Mapirunga é o Germacrene B, que representa mais um sesquiterpeno. Este possui estrutura extremamente semelhante a do germacrene D, diferindo apenas na posição da dupla ligação. Em um estudo recente, o óleo essencial de *Curcuma purpurascens* Bl. apresentou atividade antiproliferativa em algumas células tumorais, principalmente contra células HT29, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (HONG et al., 2014). A atividade antitumoral de óleos essenciais que apresentam quantidades consideráveis de Germacrene B também foi comprovada por JE (2013) em modelos experimentais *in vivo* e *in vitro*. Além destas, o Germacrene B possui atividade antibiótica contra bactérias Gram-positivas e negativas (SILVA, 2013).

O Spathulenol foi o composto obtido em menor quantidade no óleo essencial das folhas de Mapirunga (1,41%). Este é um sesquiterpeno que possui importantes atividades biológicas com propriedades antibacterianas e moderada ação citotóxica. O Spathulenol também é um dos componentes majoritários de óleos essenciais que apresentaram atividade antibacteriana, antinociceptiva e antimicrobiana.

Diante da variedade das aplicabilidades biológicas dos compostos identificados no óleo essencial das folhas da Mapirunga, os resultados sugerem diversas possibilidades de aplicação desta planta para fins medicinais. A maioria dos seus compostos identificados apresentam, de acordo com a literatura, propriedades anti-inflamatórias, antibacteriana, antifúngica e antitumoral. Juntos o *trans*-Caryophyllene, Germacrene D, Bicyclogermacrene e o Germacrene B representam 63,15% da composição total do óleo essencial, o que evidencia a importância dos mesmos para diversas atividades biológicas possíveis para a Mapirunga. Estes possuem em comum, propriedades biológicas como antitumoral, antimicrobiana e bactericida.

O *trans*-Caryophyllene, composto majoritário que representa 23,67% do óleo essencial, atribui a Mapirunga a grande possibilidade de atuar como um potente antiinflamatório.

Todavia, apesar de cada composto identificado apresentar funções biológicas específicas que podem ser atribuídas a Mapirunga, não se pode descartar as possibilidades de ocorrer ações sinérgicas que possam evidenciar, atrapalhar ou inibir tais funções, ou ainda, modificar estruturalmente alguns compostos de modo que surjam novas funções.

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir com base no presente estudo, que a Mapirunga possivelmente seja uma planta do gênero *Cordia sp.* da família das Boraginaceae. Esta apresenta em seu óleo essencial um grande número de compostos sesquiterpênicos, sendo encontrados em quantidades majoritárias o *trans*-caryophyllene e o Bicyclogermacrene, os quais podem representar significativamente diversas atividades possíveis a Mapirunga relatadas no presente trabalho.

Além disso, os compostos identificados no óleo essencial abre lacunas para estudos posteriores investigar atividades como antitumoral, antimicrobiana e anti-proliferativa contra células tumorais, pois estes possuem tais atividades em comum e podem atribuir a Mapirunga estas propriedades.

Apesar do período de seca e das altas temperaturas vividas atualmente no Curimataú Paraibano, a quantidade de óleo essencial presente nas folhas não foi insignificante, o que pode ser característico de uma espécie nativa resistente a variações climáticas da região.

Diante da intensa busca por novos compostos que apresentem atividades biológicas e da frequente utilização de plantas para fins medicinais, o presente estudo contribui satisfatoriamente para a evolução deste ramo da ciência, assim como, do conhecimento popular quanto à aplicabilidade biológica da Mapirunga. No entanto, ainda não existem dados suficientes que permitam a utilização desta de forma segura, nem mesmo que definam os seus efeitos adversos e/ou contra indicações, o que propicia um holístico caminho de pesquisas e a necessidade de acompanhamentos especiais realizados por profissionais da saúde qualificados, para conscientizarem e instruir a população quanto ao uso de plantas medicinais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- JUSSIEU, A. L. **genera lantarum ordines naturales disosita, justa methodum in horto régio parisiensis exaratum.** Herissant Typographum. Paris. Pg. 498. 1789.
- SEVERO, A. M. et al. **Conhecimento Popular e Uso de Plantas Medicinais no Município de Cuité/PB.** Semana Nacional de Ciência e Tecnologia, UFCG-CES, 2014.
- ROTTA, E. et al. **Manual de Prática de Coleta e Herborização de Material Botânico.** Embrapa Florestas. Colombo, PR, 2008.
- ADAMS, R.P. 2009. **Identification of essential oil omponents by Gas Chromatography Quadupole 988 Mass Spectroscopy.** Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, 804p.
- OLIVEIRA, M.M.M. et al. **Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais. Botucatu. v .13. n .1. pg.8-16. 2011.
- LEE, R. X.; LI, Q.Q.; REED, E. **β -Elemene Effectively Suppresses the Growth and Survival of Both Platinum-sensitive and -resistant Ovarian Tumor Cells.** Anticancer Pg. 3103–3113. 2013.
- LIU, J. et al. **δ -Elemene-induced autophagy protects human gastric cancer cells from undergoing apoptosis.** BMC Cancer. 2011.

LEANDRO, L. M. et al. **Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) Oleoresins.** Revista Molecules, N°.17.Pg. 3866-3889.2012.

FERNANDES, E. S. et al. **Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*.** Eur J Pharmacol. Pg. 228-36. 2007.

SILVA, T.S.; FREIRE, E.M.X. **Abordagem etnobotânica sobre plantas medicinais citadas por populações do entorno de uma unidade de conservação da caatinga do Rio Grande do Norte, Brasil.** Revista Brasileira de Plantas Medicinai. Botucatu. v. 12. n.4. pg. 427-435. 2010.

PARISOTTO, E. B. **Avaliação da Atividade Antitumoral do Extrato Bruto e Supercrítico de *Cordia Verbenacea*.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2010.

HADRI A, et al. **Cytotoxic activity of α -humulene and transcaryophyllene from *Salvia officinalis* in animal and human tumor cells.** An. R. Acad Nac Farm. 2010;76:343-56.

INNOCENTI, G. **Chemical Composition and Biological Properties of *Rhododendron anthopogon* Essential Oil.** Revista Molecules, n .15. Pg. 2326-2338.2010.

HONG, S. L. et al. **Essential Oil Content of the Rhizome of *Curcuma purpurascens* Bl. (Temu Tis) and Its Antiproliferative Effect on Selected Human Carcinoma Cell Lines.** The Scientific World Journal. 2014.

SILVA, A. N.; UETANABARO, A. P.; LUCCHESI, A. M. **Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from *Myrcia Alagoensis* (Myrtaceae).** Nat Prod Commun. 2013.

GUEDES, V.R. **Estudo Fitoquímico do Extrato Hexânico e dos óleos voláteis de *Acrítópappus micropappus*.** Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2004.

CRAVEIRO, A. A. et al. **Óleos essenciais de plantas do nordeste.** UFC. pg 210. 1981.

MEDEIROS, R., et al. **Effect of two active compounds obtained from the essential oil of *Cordia verbenacea* on the acute inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw.** British journal of pharmacology. p. 618-627. 2007.