

1.06.01 – Química / Química Orgânica

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cryptocarya aschersoniana* Mez. (LAURACEAE)

Priscila M. de Andrade^{1*}, Ana E. T. Alcoba¹, Daiana C. de Melo¹, Mayker L. D. Miranda², Carlos H. G. Martins³.

1. Estudante de IC do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais.
2. Pesquisador do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais.
3. Pesquisador da Universidade de Franca – UNIFRAN.

Resumo:

O presente trabalho objetivou estudar o óleo essencial (OE) das folhas de *Cryptocarya aschersoniana* Mez, uma Lauraceae ocorrente no sul do Estado de Minas Gerais. Foi realizada a determinação da composição química e a avaliação de seus efeitos: anticariogênico, antimicobacteriano, leishmanicida e citotóxico *in vitro*. O OE foi obtido por hidrodestilação em aparato clevenger e analisado por CG-EM. Foram identificados 35 constituintes químicos. A atividade antibacteriana e antimicobacteriana foram avaliadas frente às bactérias: *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *Mycobacterium tuberculosis*, *M. avium* e *M. kansasii*. A atividade leishmanicida foi avaliada frente às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. A atividade citotóxica foi determinada sobre macrófagos peritoneais de camundongos. Os resultados obtidos revelaram atividades biológicas promissoras para o óleo essencial estudado, sendo este uma fonte rica em compostos bioativos.

Autorização legal: Procedimento aprovado pelo Conselho Nacional de Comitê de Ética da Universidade de Franca sob o protocolo número 010/14.

Palavras-chave: Óleo essencial, *Cryptocarya aschersoniana*, atividades biológicas.

Apoio financeiro: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Pouso Alegre.

Introdução:

A família Lauraceae é designada como pantropical, sendo constituída por cerca de 50 gêneros e 2.750 espécies, composta por árvores e arbustos. Somente no Brasil são encontrados cerca de 20 gêneros e 390 espécies¹. O gênero *Cryptocarya* tem sido reconhecido pela ampla quantidade de compostos bioativos, através de estudos

fitoquímicos, dentre os quais destacam os flavonoides, piranos, lignanas e alcaloides aporfínicos e benzilisoquinolínicos, que apresentam atividades citotóxicas, antioxidantes e antituberculose².

Os óleos essenciais (OE) são misturas complexas, lipofílicas, e fontes de metabólitos secundários voláteis cuja composição é definida por hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres e ácidos orgânicos fixos, que em determinadas concentrações, podem ser farmacologicamente ativos, possuindo importantes atividades biológicas^{3, 4}. Dentre as plantas produtoras de óleo essencial, destaca-se a espécie *C. aschersoniana*, pertencente a família Lauraceae e trata-se de uma planta popularmente conhecida como canela fogo⁵ e canela batalha⁶.

Este trabalho teve como objetivo, analisar pela primeira vez a composição química e avaliar *in vitro*: as atividades anticariogênica, antimicobacteriana, leishmanicida e citotóxica do óleo essencial das folhas de *C. aschersoniana* Mez uma Lauraceae ocorrente no sul de Minas Gerais.

Metodologia:

As folhas *in natura* da espécie *C. aschersoniana* foram coletadas na região sul de Minas Gerais, na cidade de Machado e foi identificada pelo botânico Dr. Walnir F. G. Junior. Uma amostra foi depositada no Herbário do IFSULDEMINAS sob o registro (GERAES03).

Para a obtenção do óleo essencial, foram processadas 3 porções de 100 gramas das folhas de *C. aschersoniana* Mez. As mesmas foram trituradas em moinho de facas e submetidas ao método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger, por um período de 2 horas, contados a partir da ebulição da água. Em seguida o hidrolato foi submetido à partição líquido-líquido, em funil de separação. Foram realizadas 3 lavagens do hidrolato com 3 porções de 10 mL do solvente

diclorometano. Os óleos essenciais extraídos foram secos com sulfato de sódio anidro, acondicionados em frascos de vidro âmbar e refrigerados até a realização das análises biológicas e química.

Para análise por CG-EM, o óleo essencial obtido foi diluído em hexano e submetido à análise em cromatógrafo gasoso modelo QP-500 da Shimadzu, com detector por espectrometria de massas. A análise foi realizada em coluna capilar de sílica fundida, modelo DB-5 (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 mm de espessura de filme) da Shimadzu, sendo utilizado como gás de arraste o hélio em fluxo de 1,0 mL por minuto. A injeção em modo Split 1:20 foi realizado com injetor a 240° C. A temperatura do detector foi de 270° C e o forno de 60 a 180° C a 3° C por minuto. Para a detecção foi aplicada a técnica de impacto eletrônico a 70 e V.

A composição química do óleo essencial foi determinada a partir dos espectros de massas, obtidos por CG-EM. Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos tempos de retenção de hidrocarbonetos lineares (série homóloga de C₁₀-C₂₉) que foram coinjectadas com a amostra. Os índices de retenção e os espectros de massas foram comparados com dados das espectrotescas Wiley e Nst e da literatura⁷.

Para avaliação da atividade leishmanicida, as formas promastigotas de *L. amazonensis* (MHOM/BR/PH8) foram mantidas em meio de cultura RPMI 164 (Gibco) suplementado com 10% de soro fetal bovino. Posteriormente, cerca de 1x10⁶ parasitos foram distribuídos em placas de 96 poços e o óleo essencial foi previamente dissolvido em DMSO (Synth) e adicionado as culturas nas concentrações de 3,12 a 50 µg/mL. Anfotericina B foi adicionada nas culturas nas concentrações de 0,19 a 3,12 µg/mL. Para a atividade citotóxica, a obtenção dos macrófagos peritoneais, foi aplicado em camundongos BALB/c 500 µL de tioglicolato de sódio a 3 %, via intraperitoneal. As atividades biológicas realizadas neste trabalho empregam as mesmas metodologias previamente relatadas na literatura⁸⁻¹⁰.

Resultados e Discussão:

Trinta e cinco constituintes químicos foram identificados no óleo essencial das folhas de *C. aschersoniana*, representando 99,7 % do total de compostos. O óleo essencial apresentou rendimento de 3,5 %.

A análise da composição química demonstrou uma mistura de monoterpenos e

sequiterpenos, cujos componentes majoritários foram: limoneno (42,3%, **1**), linalol (9,7%, **2**) e nerolidol (8,6%, **3**) Figura 1.

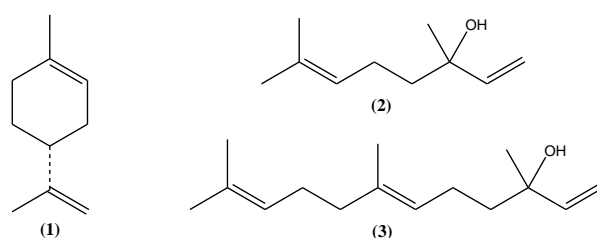


Figura 1 - Estruturas químicas dos três constituintes majoritários identificados no óleo essencial das folhas de *C. aschersoniana*: **(1)** limoneno, **(2)** linalol and **(3)** nerolidol.

Já os compostos minoritários encontrados foram: hex-3(z)-enol (1,5%), alfa-pineno (0,6%), β-pineno (0,9%), p-cimeno (4,6%), eucaliptol (0,8%), λ-terpineno (0,4%), óxido de linalol-trans (1,8%), óxido *trans*-piranoide de linalool (0,3%), terpinen-4-ol (0,3%), dióxido de limoneno (0,5%), α-copaeno (0,5%), β-elemeno (0,7%), β-cubeneno (1,0%), β-cariofileno (0,3%), aromadendreno (0,7%), germacreno-D (0,6%), α-amorfeno (1,3%), β-selineno (0,5%), δ-selineno (0,4%), viridifloreno (1,0%), γ-cadineno (0,4%), δ-cadineno (0,8%), Hedicariol (0,5%), espatulenol (6,6%), guaíol (2,5%), globulol (0,5%), δ-cadinol (1,2%), cubenol (0,4%), isoespatulenol (1,6%), α-cadinol (2,5%), bulnesol (1,5%) e epóxido de isoaromadendreno (0,8%).

A atividade leishmanicida testada contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, foi altamente ativa, apresentado um resultado de CI₅₀ = 4,46 µg/mL, comparada com um padrão de Anfotericina B, de CI₅₀ = 1,88 µg/mL.

Em relação à atividade leishmanicida, é descrito na literatura que amostras que exibem valores de IC₅₀ < 10 µg/mL são consideradas altamente ativas, ativas (10 < IC₅₀ < 50 µg/mL), moderadamente ativa (50 < IC₅₀ < 100 µg/mL) e inativa (IC₅₀ > 100 µg/mL)⁹.

A avaliação da atividade citotóxica sobre macrófagos peritoneais após 24 horas de incubação o OE apresentou CC₅₀ = 7,71 µg/mL sendo considerado altamente citotóxico. É descrito na literatura que amostras com CC₅₀ < 10 µg/mL foram classificadas como altamente tóxicas, tóxicas (10 < CC₅₀ < 100 µg/mL), moderadamente tóxicas (100 < CC₅₀ < 1000 µg/mL) e não tóxicas (CC₅₀ > 1000 µg/mL)⁹.

De acordo com dados já descritos na literatura^{8, 10}, o OE das folhas de *C. aschersoniana* exibiu também moderado frente

às bactérias cariogênicas, tuberculosas e não tuberculosas: *Streptococcus mutans* (400 µg/mL), *S. mitis* (400 µg/mL), *S. sanguinis* (400 µg/mL), *S. sobrinus* (400 µg/mL), *S. salivarius* (400 µg/mL), *Mycobacterium tuberculosis* (1000 µg/mL), *M. avium* (1000 µg/mL) e *M. kansasii* (250 µg/mL).

Em suma, as atividades biológicas observadas para o óleo essencial das folhas de *C. aschersoniana* são devidas ao fato de que a maioria dos óleos essenciais possui um grande número de constituintes que não possuem alvos celulares específicos. Em adição, os óleos essenciais possuem caráter apolar e podem facilmente atravessar as paredes celulares e membranas citoplasmáticas. Assim sendo, os componentes dos óleos essenciais atravessam a membrana, causam a coagulação do citoplasma, desnaturam as proteínas, interrompem vias metabólicas como a biossíntese de vários lipídios e podem finalmente levar à morte celular por necrose e apoptose¹¹.

Conclusões:

O resultado da análise da composição do óleo essencial de *Cryptocarya aschersoniana* Mez demonstrou a predominância de monoterpenos e sesquiterpenos com destaque aos constituintes majoritários: limoneno (42,3%), linalol (9,7%) e nerodidol (8,6%). O OE estudado exibiu promissoras atividades biológicas, sendo digna de menção sua altíssima atividade leishmanicida frente às formas promastigotas de *L. amazonensis*. Estudos anteriores sobre o potencial biológico de alguns dos constituintes químicos identificados no óleo essencial de *C. aschersoniana* também corroboram o potencial observado no presente trabalho. Entretanto, ainda são necessários estudos adicionais *in vivo* para justificar e avaliar melhor as propriedades obtidas.

Referências bibliográficas

¹ Alves, M. F.; Sartori, B. L. A. **Nectandra Rol. ex Rottb. (Lauraceae) no Mato Grosso do Sul, Brasil**. Acta bot. bras 2009, 23 (1): 118-129.

² Chou, T. H.; Chen, J. J.; Peng, C. F.; Cheng, M. J.; Chen, I. S. **New Flavanones from the Leaves of *Cryptocarya chinensis* and Their Antituberculosis Activity**. Chem. Biodivers. 2011, 8, 2015.

³ Simões, C. M. O.; Spitzer, V. **Óleos voláteis**. In: Simões, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 1999. Cap.18, p.387-416.

⁴ Raut, J. S.; Karuppaiyl, S. M. **Changes in major bioactive compounds with antioxidant activity of *Agastache feoniculum*, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis* and *Nepeta cataria*: Effect of harvest time and plant species**. Ind. Crops Prod. 2015, 499-507.

⁵ Gibathe, A. **Identificação Dendrológica na Trilha Ecológica Estrada Velha no Recanto Renascer em Francisco Beltrão – Pr**. In: Encontro de Geografia da União (ENGEU), Francisco Beltrão, 2013, Anais. Paraná. V.17.2013.

⁶ Almeida, L. P.; Alvarenga, A. A.; Castro, E. M.; Zanela, S. M.; Vieira, C.V. **Crescimento inicial de plantas de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. Submetidas a níveis de radiação solar**. Ciência Rural, Santa Maria, V.34. 2004.

⁷ Adams, R. P. **In Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy**, 4th ed., Allured Publishing Corporation: Carol Stream. 2007. 804p.

⁸ Estevam, E. B. B.; Miranda, M. L. D.; Alves, J. M.; Egea, M. B.; Pereira, P. S.; Martins, C. H. G.; Esperandim, V. R.; Magalhães, L. G.; Bolela, A. C.; Casal, C. M.; Souza, A. F.; Alves, C. F. F. 2016. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais das folhas frescas de *Citrus limonia* Osbeck e *Citrus latifolia* Tanaka (Rutaceae)**. Rev. Virtual Quim 8: 1842-1854.

⁹ De lima JPS, Pinheiro MLB, Santos AMG, Pereira JLS, Santos DMF, Barison A, Silva-Jardim I and Costa EV. 2012. ***In vitro* antileishmanial and cytotoxic activities of *Annona mucosa* (Annonaceae)**. Rev Virtual Quim 4: 692-702.

¹⁰ Alves, J. A.; Mantovani, A. L. L.; Martins, M. H. G.; Abrão, F.; Lucarini, R.; Crotti, A. E. M.; Martins, C. H. G. **Antimycobacterial Activity of Some Commercially Available Plant-Derived Essential Oils**. Chem. Nat. Compd. 2015, 51, 353.

¹¹ Raut JS and Karuppaiyl SM. 2014. **A status review on the medicinal properties of essential oils**. Ind Crops Prod 62: 250-264.

