

## Composição química e Atividade Antimicrobiana da fração volátil das sementes do fruto de *P. emarginatus* Vogel (Fabaceae)

Suzana Ferreira ALVES<sup>1</sup>, José Realino de PAULA<sup>1</sup>, Pedro Henrique FERRI<sup>2</sup>, Maria Teresa Freitas BARA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, [suzanafal@gmail.com](mailto:suzanafal@gmail.com); [pjrpaula@gmail.com](mailto:pjrpaula@gmail.com); [mtbara@gmail.com](mailto:mtbara@gmail.com)

<sup>2</sup> Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, [pedro@quimica.ufg.br](mailto:pedro@quimica.ufg.br)

### Introdução

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, caracterizados por apresentarem odores característicos e são constituídos por metabólitos secundários de natureza terpênica ou fenilpropanóides. Eles são freqüentemente obtidos por meio de arraste à vapor ou hidrodestilação. Possuem atividades biológicas diversas, destacando-se atividade antisséptica, digestiva, antiespasmódica, carminativa, analgésica, antiinflamatória, entre outras. *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae) conhecida como “Sucupira-Branca” é facilmente encontrada no cerrado brasileiro, sendo suas sementes comercializadas em mercados populares por suas propriedades farmacológicas (ARRIAGA et al., 2000), para o tratamento de dores reumáticas e inflamação (DUARTE et al., 1996; EVANGELISTA et al., 2007). Embora sejam conhecidas as propriedades farmacológicas do óleo essencial de *P. emarginatus* há poucos relatos científicos sobre sua caracterização química e estudos de seu potencial antimicrobiano. O presente estudo tem o objetivo caracterizar o óleo essencial extraído dos frutos de *P. emarginatus* Vogel de exemplar cultivado no cerrado de Correntina-BA, quanto a composição química, bem como avaliar sua atividade antimicrobiana.

### Materiais e Métodos

#### *Material Vegetal*

Os frutos de sucupira foram coletados (após queda espontânea) no estado da Bahia, nos meses de agosto e setembro de 2007. A coleta foi realizada por pessoal do LPPN/FF/UFG e em seguida os frutos foram triturados em moinho de facas e submetidos à extração.

### *Obtenção do Óleo essencial e Identificação dos componentes por CG-MS*

Foram pesados cerca de 60 gramas das sementes e adicionadas em balão de fundo redondo contendo 600 mL de água destilada. O óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger, durante 4 horas. Após a extração, o óleo foi alíquotado em frasco âmbar e mantido em freezer -20°C. O óleo foi submetido à análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). As análises foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu QP 5050A, utilizando-se uma coluna capilar de sílica fundida CBP-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm). A vazão foi de 1,0 mL/min para o Hélio como gás de arraste sob fluxo constante, com temperatura inicial de 60°C, mantida por 2 minutos, e seguida de aquecimento, primeiramente à taxa de 3°C/min até 240°C, seguida de 10°C/min até 280°C e, seguida permanente de 280°C por 10 min, sendo a energia de ionização de 70 eV. O volume de injeção foi de 1 µL da amostra diluída em CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub> na proporção de 1:5. Os componentes individuais do óleo foram caracterizados por comparação dos espectros de massa e os índices de retenção foram calculados com referência a uma seqüência linear de n-alcenos C8 – C36 (ADAMS, 1995).

### *Atividade antimicrobiana*

A atividade antimicrobiana do óleo foi realizada conforme recomendado pelo NCCLS (2003): Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) da fração volátil foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo. Este ensaio foi realizado em microplacas estéreis de 96 cavidades com fundo em “U”. 20 µL do óleo essencial foi solubilizado em DMSO 10% e passados em filtros de 0,45 µm. Após adição de 100 µL de caldo Mueller Hinton foram realizadas diluições seriadas, para obter concentrações finais de 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5µg/mL, 31,25µg/mL, 15,62µg/mL, 7,81µg/mL, 3,90µg/mL, 1,95µg/mL e 0,97µg/mL. O inóculo microbiano (metade do alcance de 1,0 na escala de MacFarland diluídos 1/10 em salina esterilizada) foi preparado a partir de culturas em ágar ASI, e incubados a 37°C por 24h. A CIM será definida como a maior diluição do óleo capaz de inibir o crescimento microbiano.

## Resultados e Discussão

O rendimento do óleo essencial em porcentagem (p/V) foi de 1,66%. Os resultados da análise por CG/EM do óleo essencial extraído das sementes do fruto de *P. emarginatus* mostram que 99,19% dos componentes detectados são classificados como sesquiterpênicos e apenas 0,81% não foram identificados. Santos et al.(2010) detectaram a presença majoritária de sesquiterpenos no óleo essencial das folhas de *P. emarginatus*. Os constituintes majoritários detectados e identificados foram: *trans*-cariofileno (20,30%) também chamado  $\beta$  - cariofileno,  $\beta$  - elemeno (16,58%), espatulenol (13,79%), dauca -5,8 – dieno (9,81%), óxido de cariofileno (8,33%),  $\alpha$  - copaeno (4,74%) e  $\alpha$  - humuleno (4,63%) todos descritos na Tabela 1. Pimenta et al. (2006) detectaram o constituinte  $\beta$ -cariofileno como majoritário no óleo essencial dos frutos de *P. polygaliflorus*. Contudo, segundo Benítez et al. (2009) a composição do óleo essencial está sujeita a variáveis como método de extração, condições geobotânicas, tipo de solo, época de coleta e idade da planta, pois todos esses fatores podem afetar a concentração dos compostos. Na avaliação da atividade antimicrobiana utilizando a técnica de microdiluição verificou-se valores de concentração mínima inibitória (CIM) do óleo de 500  $\mu\text{g/mL}$  para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, 500  $\mu\text{g/mL}$  para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12229, *Micrococcus roseus* ATCC 1740, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis (atropheus)* 6633. Valores superiores a 2000  $\mu\text{g/mL}$  foram encontrados para *Escherichia coli* 8739, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Enterobacter cloacae* HMAFTA/502 e *Salmonella spp.* ATCC 19430. A CIM do óleo foi de 1000  $\mu\text{g/mL}$  para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Pseudomonas aeruginosa* isolado clínico SPMI e *Serratia marcescens* ATCC 14756. Contra os fungos *Candida albicans* isolado clínico 02, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida parapsilosis* isolado clínico 11A apresentaram CIM superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$ . Para aos fungos *Cryptococcus neoformans* ATCC 28957 e *Cryptococcus neoformans* isolado clínico L1 e *Cryptococcus gatti* isolado clínico L2 a CIM do óleo foi de 500  $\mu\text{g/mL}$  de acordo com o estabelecido por Holetz et al. (2002) para CIM entre 500 e 1000  $\text{mg/mL}$  considera-se atividade fraca, frente a bactérias gram-positivas e negativas e contra fungos.

Tabela 1 – Composição química do Óleo Essencial (fração volátil) de *Pterodom emarginatus* Vogel (Fabaceae) determinada por CG/MS.

| Constituintes                                   | Tempo de Retenção (min) | Índice de Kovatz | (%) Relativa na fração volátil |
|---|-------------------------|------------------|--------------------------------|
| $\alpha$ - cubebeno                             | 22,51                   | 1348             | 0,90                           |
| $\alpha$ - copaeno                              | 23,68                   | 1376             | 4,74                           |
| $\beta$ - elemeno                               | 24,40                   | 1390             | 16,58                          |
| Trans – Cariofileno<br>( $\beta$ - cariofileno) | 25,60                   | 1419             | 20,30                          |
| $\alpha$ - humuleno                             | 27,01                   | 1452             | 4,63                           |
| Cariofileno 9-Epi-E                             | 27,33                   | 1466             | 2,99                           |
| $\gamma$ - muuroleno                            | 28,00                   | 1479             | 1,20                           |
| Dauca -5,8 - dieno                              | 28,20                   | 1472             | 9,81                           |
| Biciclogermacreno                               | 28,85                   | 1500             | 3,89                           |
| $\alpha$ - muuroleno                            | 28,98                   | 1500             | 1,21                           |
| $\gamma$ - cadineno                             | 29,55                   | 1513             | 1,98                           |
| $\delta$ - cadineno                             | 29,93                   | 1523             | 3,82                           |
| Espatuleno                                      | 32,18                   | 1578             | 13,79                          |
| Oxido de Cariofileno                            | 32,38                   | 1583             | 8,33                           |
| Globulol  | 33,18                   | 1590             | 0,52                           |
| Humuleno Epóxido II                             | 33,40                   | 1608             | 1,86                           |
| $\alpha$ - cadinol                              | 35,16                   | 1654             | 1,16                           |
| Cariofileno 14-hidroxi-9-Epi-E                  | 35,81                   | 1669             | 0,51                           |
| Farnesol  | 37,68                   | 1715             | 0,96                           |
| TOTAL   |                         |                  | 99,19                          |
| Não identificados                               |                         |                  | 0,81                           |
| Sesquiterpenos                                  |                         |                  | 99,19                          |

## Conclusão

Mediante os resultados obtidos, podemos inferir que o óleo essencial de *P. emarginatus* Vogel é composto por sesquiterpenos caracterizados por apresentar boa atividade antimicrobiana e que o método de microdiluição em caldo utilizado para a fração volátil pela primeira vez, foi bastante sensível, demonstrando a confiabilidade dos dados gerados.

## Apoio financeiro:

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI) pela concessão de bolsa de Mestrado.

## Referências:

ARRIAGA, A.M.C.; CASTRO, M.A.B.; SILVEIRA, E.R.; BRAZ-FILHO, R. Further diterpenoids isolated from *Pterodon polygalaeflorus*. *Journal Brazilian Chemical Society*, v.1, p. 187-190, 2000.

BENÍTEZ, N.P.; MELENDEZ, E.; STASHENKO, E.E. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Piper lanceaefolium*, planta

usada tradicionalmente en Colombia. *Botetim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, v.8 (4), p. 301-304, 2009.

DUARTE, I.D.G.; FERREIRA-ALVES, D.L.; VELOSO, P.D.; NAKAMURA-CRAIG, M. Evidence of the involvement of biogenic amines in the antinociceptive effect of a voucapan extracted from *Pterodon polygalaeflorus* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 55, p.13-18, 1996.

EVANGELISTA, G.L.; SOUZA, A.N.C.; SANTOS, C.F.; CARDOSO, J.H.L.; LOPES, E.A.B.; SANTOS, M.V.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P.J.C. Essential oil of *Pterodon polygalaeflorus* inhibits electromechanical coupling on rat isolated trachea. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, p. 515-522, 2007.

Holetz, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.C.; NAKAMURA, C.V.; FILHO, B.P.D. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97(7), p. 1027-1031, 2002.

PIMENTA, A.T.A.; SANTIAGO, G.M.P.; ARRIAGA, A.M.C.; MENEZES, G.H.A.; BEZERRA, S.B. Estudo Fitoquímico e avaliação da atividade larvicida de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 16(4), p. 501-505, 2006.

SANTOS, A.P.; ZATTA, D.T.; MORAES, W.F.; BARA, M.T.F.; FERRI, P.H.; SILVA, M.R.R.; PAULA, J.R. Composição química, atividade antimicrobiana do óleo essencial e ocorrência de esteróides nas folhas de *Pterodon emarginatus* Vogel, Fabaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20(6), p. 891-896, 2010.

NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition*. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.