

SCREENING FITOQUÍMICO E ATIVIDADE MOLUSCICIDA *Diploptropis ferruginea* BENTH (FABACEAE)

Gilberto Santos Cerqueira¹
Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida²
Tânia Maria Sarmiento da Silva³
José Maria Barbosa Filho⁴
Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz⁵

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo realizar um screening fitoquímico com a casca do caule de *Diploptropis ferruginea* procurando sistematizar ou rastrear os principais grupos de constituintes químicos que compõem o extrato vegetal, além de avaliar a atividade moluscicida dos extratos frente ao molusco *Biomphalaria glabrata*. O extrato etanólico bruto foi obtido através de maceração exaustiva com etanol a 95% e concentrado em rota evaporador. Para realização do *screening* fitoquímico foi utilizada a metodologia preconizada por Matos 1997, enquanto que para avaliação da atividade moluscicida utilizou-se metodologia adotada pela Organização Mundial de Saúde, 1995. No “*screening*” fitoquímico foram detectadas a presença de flavonóides, taninos, esteróides e terpenóides, e o extrato hexânico, na concentração de 100 µg/ml, apresentou atividade moluscicida.

Palavras-chave: *Diploptropis ferruginea*; *biomphalaria glabrat*; *atividade moluscicida*.

ABSTRACT

The aim of the study is to accomplish phytochemical *screening* with the stem bark of *Diploptropis ferruginea* trying to systematize or to trace the main groups of chemical representatives that compose the vegetable extract, besides evaluating the activity molluscicidal of the extracts front to the mollusk *Biomphalaria glabrata*. The gross extract alcoholic was obtained through exhaustive maceration with ethanol at 95% and concentrated in route-vapor. For accomplishment of the phytochemical *screening* the methodology was used by Matos 1997, while for evaluation of the activity molluscicidal methodology was used adopted by the World Organization of Health 1995. In the *screening* phytochemical they were detected the presence of flavonoids, tannins, steroids and terpenes and the extract hexânic in the concentration of 100 µg/ml presented activity molluscicidal.

Key words: *Diploptropis ferruginea*; *biomphalaria glabrata*; molluscicidal Activity.

¹ Farmacêutico. Mestrando em Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba.

² Farmacêutico. Mestrando em Química Orgânica de Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba.

³ Farmacêutica. Doutora em Química Orgânica. Pesquisadora do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba.

⁴ Farmacêutico. Pós-Doutor em Química. Pesquisador do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica. Professor da disciplina Farmacognosia II do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB.

⁵ Médica e Farmacêutica. Doutora em Produtos Naturais. Pesquisadora do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica. Professora da disciplina Farmacodinâmica II do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB.

INTRODUÇÃO

Pesquisas de novos compostos moluscicidas de origem vegetal vêm sendo desenvolvidas em diversos laboratórios, visando um tratamento profilático desta doença. O controle da população dos moluscos hospedeiros intermediários do helminto *Biomphalaria glabrata*, tem sido feito com moluscicidas sintéticos que trazem danos ao ecossistema por não terem especificidade de seu alvo, atingindo não só o molusco, mas também o plâncton, e animais que dependem dele, criando muitas vezes desequilíbrio na cadeia trófica. Por outro lado, as drogas administradas aos pacientes, até o presente momento, reduzem a morbidade, mas não controlam a transmissão da doença, pois não imunizam o paciente, além de provocarem, na maioria das vezes, reações colaterais desagradáveis. (MENDONÇA, 1999).

Em busca de novas drogas no controle dos moluscos hospedeiros intermediários da esquistossomose mansônica, as plantas são sempre lembradas como fontes alternativas. Apesar do aumento de estudo nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (SOEYARTO, 1996). A esquistossomose mansônica é uma doença parasitária causada pelo *Schistosoma mansoni* que afeta, atualmente segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 200 milhões de pessoas nas áreas tropicais e subtropicais, ocupando o segundo lugar depois da malária, pela sua importância e repercussão econômica (PASSOS, 1998). No Brasil, esta doença ocorre do nordeste ao centro sul do País, e afeta cerca de 8 a 12 milhões de pessoas (KATZ, 1997).

A família Fabaceae possui cerca de 12000 espécie subordinadas a 482 gêneros, com distribuição nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (HEYWOOD, 1996; DI STASI, 2003). Muitas espécies de Fabaceae são empregadas na medicina popular, sendo algumas conhecidas pela sua toxicidade.

O gênero *Diploptropis* faz parte da família Fabaceae, possuindo cerca de 23 espécies, entre as quais está a *Diploptropis ferruginea* Benth, uma árvore encontrada na zona de vegetação de mata mesófila e mata de cipó, dos municípios brasileiro de Pedra Azul, Vitória da Conquista e Caraúbas, cidades pertencentes aos estados de Minas gerais,

Bahia e Rio Grande do Norte, respectivamente. (LEWIS, 1997; CERQUEIRA, 2003). No Nordeste brasileiro, esta espécie é conhecida como “sucupira preta”, sendo popularmente empregada para o tratamento de reumatismo, artrite e diabetes (CORRÊA, 1984).

Em estudos farmacológicos realizados com extrato etanólico da casca do caule de *Diplotropis ferruginea*, o extrato promoveu o relaxamento, inibindo as contrações induzidas por acetilcolina e histamina, em preparações de íleo isolado de cobaia. (LIMA et al., 2003). Já em estudos toxicológicos pré-clínicos realizados com a casca do caule de *Diplotropis ferruginea*, o extrato etanólico causou baixa toxicidade aguda em camundongos tratados com doses de até 5g/Kg via oral e 2g/kg via intraperitonal (CERQUEIRA et al., 2003).

Almeida et al. (2003), em estudo fitoquímico inicial com as casca do caule de *Diplotropis ferruginea*, isolaram um flavonóide inédito, codificado inicialmente como DPTN-370, cuja estrutura foi elucidada utilizando técnicas de RMN e cristalografia de raios-X. Devido à existência de poucos estudo químicos, farmacológicos e toxicológicos, associados ao fato desta espécie ser utilizada freqüentemente na medicina popular para o tratamento de sintomas de diabetes, artrite, reumatismo e diarreia – além da inexistência de dados referente ao screening fitoquímica dessa espécie – foi motivado a realização desse procedimento e avaliação da atividade moluscicida de *Diplotropis ferruginea* Benth.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As cascas de *Diplotropis ferruginea* Benth, foram coletadas no município de Caraúbas no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, durante o mês de maio de 2003. O material botânico desta espécie foi identificado pela Professora Dra. Maria de Fátima Agra, no setor de botânica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, onde se realizou o estudo taxonômico da *Diplotropis ferruginea*, um exemplar da espécie foi depositado no Herbário Lauro Pires Xavier (JPB) sob o número AGRA (9999).

Preparação dos Extratos

As cascas de *Diplotropis ferruginea* foram secas a 40°C, em estufa de ar circulante e em seguida pulverizados no moinho de faca pelo princípio de corte, em sistema contínuo, com velocidade de rotação de 5 a 18 m s⁻¹. O pó foi submetido à maceração exaustiva com etanol, a 95%, em uma temperatura ambiente (25° - 30°C), durante 3 dias. Foram realizados três processos de extração. O extrato etanólico, obtido da planta, foi concentrado em evaporador rotatório, obtendo-se um resíduo viscoso, denominado de extrato etanólico bruto. Esse foi mantido em dessecador até sua utilização nos experimentos. Todas as doses dos extratos foram preparadas 30 minutos antes dos experimentos através da diluição dos extratos em solução de Tween-água, sendo estes veículos empregados nos grupos controles no teste de atividade moluscicida.

Avaliação fitoquímica preliminar dos constituintes químicos

Foi realizada uma triagem fitoquímica procurando sistematizar ou rastrear os principais grupos de constituintes químicos que compõem um extrato vegetal. É um exame rápido e superficial, através de reagentes de coloração ou precipitação, que irão revelar ou não a presença de metabólitos secundários presentes em um extrato. A triagem fitoquímica preliminar foi realizada com o extrato etanólico bruto, utilizando a metodologia descrita por Matos (1997).

Avaliação da atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata*

Para esta realização, foram utilizados moluscos criados em aquário, de tamanho uniforme, adultos medindo entre 10-13mm, da espécie *Biomphalaria glabrata*, provenientes do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba; foram submetidos às soluções dos extratos na concentração de 100µg/ml em duplicata. O bioensaio foi realizado conforme a metodologia citada nas normas da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1965), para testes de atividade moluscicida, sendo examinados 5 caramujos nos testes preliminares e 20 caramujos nos teste definitivos. Nestes testes foram avaliados os extratos etanólico, clorofórmicos e hexânicos, preparados

a partir da casca do caule de *Diplotropis ferruginea* Benth, além do grupo controle que foi tratado com a solução de Tween-água.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo fitoquímico biomonitorado da casca do caule de *Diplotropis Ferruginea* Benth revelou a presença de metabólitos secundários, da classe dos flavonóides, taninos, esteróides e terpenóides, e ausência de alcalóides e saponinas, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado referente à triagem fitoquímica, realizada com o extrato etanólico bruto das cascas do caule de *Diplotropis ferruginea* Benth.

Grupos químicos	Reagentes aplicados	Resultados
Alcalóides	Bouchardat	-
	Mayer	-
	Dragendorff	-
	Ácido sílico-tungstico	-
Esteróides e terpenóides	Lieberman-Buchard	++
Taninos	Cloreto férrico 2%	++
Flavonóides	Shinoda	+++
	Oxalo-bórico	+++
Saponinas	Teste de espuma	-

* Nos resultados dos testes foram utilizadas as seguintes convenções: (-) Reação negativa (+) Reação fracamente positiva (++) Reação positiva (+++) Reação fortemente positiva.

O extrato hexânico da casca do caule de *Diplotropis Ferruginea* Benth apresentou atividade moluscicida na concentração de 100 µg/Kg, podendo, portanto, ser empregado satisfatoriamente como moluscicida natural. A principal vantagem da utilização deste extrato seria o baixo custo de obtenção e a não-poluição do meio ambiente, por ser obtido de uma fonte renovável da natureza. Resultados similares com extrato bruto de espécies de plantas da família Fabaceae foram encontrados utilizando a mesma metodologia. (DE LIMA, 2003) e colaboradores, utilizando a metodologia da OMS, verificaram a atividade moluscicida do extrato hexânico, espécie *Annona squamosa*. Com

relação aos extratos etanólico e clorofórmico de *Diploptropis ferruginea*, os mesmos não apresentaram atividade moluscicida satisfatória, não sendo, portanto, viável para utilização como moluscicida de origem natural. Os resultados estão demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade Moluscicida dos extratos etanólico, clorofórmicos e hexânico da casca do caule de *Diploptropis ferruginea* Benth.

Extrato	Parte utilizada	Tempo de exposição	Diâmetro do caramujo (mm)	Mortalidade em (%) para testes preliminares	Mortalidade em (%) para testes definitivos	Atividade
Etanólico	Casca do Caule	72 h	10-12 mm	0 %	0 %	Inativo
Clorofórmico	Casca do Caule	72 h	10-13 mm	0 %	0 %	Inativo
Hexânico	Casca do Caule	24 h	10-13 mm	100 %	100 %	Ativo
Hexânico	Casca do Caule	72 h	10-13 mm	100 %	100 %	Ativo
Controle	Casca do Caule	72 h	10-13 mm	0 %	0 %	Inativo

* Todos os teste foram realizados em duplicatas

Com a realização do bioensaio com *Biomphalaria glabrata*, foi constatada a atividade moluscicida do extrato hexânico da casca do caule de *Diploptropis ferruginea*, enquanto que no *screening* fitoquímico foi constatada a presença de flavanóides, taninos, esteróides e terpenóides. Serão realizados ainda mais testes com o extrato hexânico de *Diploptropis ferruginea*, porém, em menores concentrações e, a partir deste testes, serão determinadas a DL₉₀, DL₅₀, DL₁₀ desse extrato.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. R. G. S. et al. Diplotropin, a new furanoflavan from *Diplotropis ferruginea* Benth. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 26., Poços de Caldas/MG. **Resumos**. Poços de Caldas/MG, 2003.

CERQUEIRA, G. S. et al. Determinação da toxicidade aguda e triagem farmacológica da casca de *Diplotropis ferruginea*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA, 4., Salvador/BA. **Anais**. Salvador/BA, 2003.

CORRÊA, M.P. **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**, vol I, II e III. Imprensa Nacional do Rio de Janeiro, Brasil, 1998.

DE LIMA, M.R.F; LA, J.S; SANT'ANA, A. E.G. Estudo da atividade moluscicida do ácido caurenóico isolados da espécie *Annona squamosa*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA, 4., Salvador/BA. **Anais**. Salvador/BA, 2003.

DI STASI, L.C; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na mata atlântica**. 2. ed. São Paulo: UNESP, 2003.

HEYWOOD, V.H. **Flowering plants of the world**. Londres: BT Batsford,1996.

KATZ, N. Vacina Polivalente Anti-helmintos?. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, 1, (2), 1997. p. 34-35.

LEWIS,G.P. **Legumes of Bahia**. Londres: Royal Botanic Gardens, Kew:, 1987. 369 p.

LIMA. J.T. et al. Investigation of the spasmolytic activity of *diplotropis ferruginea* BENTH. **Brazilian Jor. Pharma Science**, v.39, supl 2, 2003. p.158.

MATOS, F.J.A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**, Fortaleza: UFC, 1997.

MENDONÇA, R. P.C. et al. Avaliação da atividade moluscicida e nematocida de *Pithecolobium Avaremotemo*. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., Poços de Caldas/MG. **Anais**. Poços de Caldas/MG, 1999.

PASSOS, A. D. C. **Controle de esquistossomose: diretrizes técnicas**. 2. ed. Brasília. Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 1998. p.28.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity propecting and benefit sharing: pespectives from the fiel. **J. Ethnopharmacol**, v.51, , 1996. p.15.

WHO, Moluscicide screening and evaluation, **Bull. World Health Organization**, 33, 1995. p. 565-581.