

CONSTITUINTES VOLÁTEIS E ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Hypnea musciformes* DO LITORAL DO PIAUÍ

Gubbio Matos da Silva (bolsista ICV/ CNPq), Dr. Fernando Áécio de Amorim Carvalho (colaborador, Depto. de Bioquímica e Farmacologia – UFPI) Bernardo de Melo Neto (colaboradora, Laboratório de Atividade Anti-leishmania – UFPI), Margarida Maria Monteiro Vasconcelos (colaboradora, Laboratório de Tecnologia do Pescado – UFPI), Lorena Citó Lopes Resende Santana (colaborador, Depto. de Química –UFPI), José Arimatéia Dantas Lopes (colaborador, Depto. de Química – UFPI), Antônia Maria das Graças Lopes Citó (Orientadora, Depto. de Química – UFPI)

INTRODUÇÃO

No reino Plantae são encontrados organismos pluricelulares, eucariontes e autótrofos, sendo classificadas em três filós: *Chlorophyta*, *Rhodophyta* e *Phaeophyta*. O filo *Rhodophyta* é composto pelas algas vermelhas, quase que exclusivamente pluricelulares e marinhas cuja principal característica é a presença do pigmento ficoeritrina em suas células, responsável pela coloração avermelhada destes organismos. (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004). Dentre as espécies de rodofíceas destacam-se as *Hypneas* por estarem presentes na costa brasileira. O gênero *Hypnea* apresenta constituintes químicos como: ácidos graxos, esteróides (FLEURY et al, 1996), fenóis, como: benzenossulfonatos (FELÍCIO et al., 2008), polissacarídeos com propriedades geleificante, estabilizante, espessante ou emulsificante (REIS et al., 2003). Seus constituintes químicos halogenados e sulfatados são substâncias bioativas que geralmente apresentam diversas atividades farmacológicas. (FELÍCIO et al., 2008). As leishmanioses são doenças endêmicas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* o que torna relevante pesquisas de substâncias com atividade antileishmania. Neste contexto este trabalho teve por objetivo estudar os constituintes voláteis de *Hypnea musciformes* coletada em áreas costeiras do litoral piauiense, e avaliar a atividade antileishmania de extrato etanólico.

METODOLOGIA

Coletou-se amostra de *Hypnea musciformes*: no mês de setembro 2009, no litoral piauiense, na praia do Coqueiro. O óleo essencial, e a partição foi realizada como mostra a Figura 1.0.

Os constituintes voláteis foram analisados por CG/EM, onde injetou-se 1 µL do óleo essencial. A temperatura do injetor foi de 220 °C, a do detector de 240 °C e a temperatura da coluna de 60 °C com taxa de aquecimento de 3 °C/min até 240 °C. O hélio foi o gás de arraste, com vazão de 1 mL/min. Os constituintes voláteis foram tentativamente identificados por comparação dos espectros de massas (maiores índices de similaridades) obtidos com os registros da biblioteca computacional Wiley229. Para a preparação do extrato etanólico, pesou-se 6,3 g da amostra e transferiu-se para erlenmeyer. Adicionou-se no mesmo cerca de 80 mL de etanol e 20 mL de água. O sistema foi sonificado por um período de 30 minutos a cada dia, durante



Figura 1.0. Fluxograma do procedimento de obtenção dos voláteis e de partição do decocto

três dias. O extrato etanólico de *Hypnea musciformes*: foi filtrado e concentrado, a avaliação da atividade antileishmania do extrato etanólico foi realizado sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, cepa PH8. Para o monitoramento do crescimento das formas promastigotas, os parasitos foram repicados para placas de 96 poços contendo meio Schneider com diferentes concentrações de decoto (400, 200, 100 e 50 µl/ml) de *Hypnea musciformes* e em triplicata, com inóculo inicial de 1×10^6 promastigotas/mL. Paralelamente, como controle, foi analisado o crescimento do parasita na ausência do extrato. As promastigotas foram incubadas a 26°C, e a cada 24 horas de cultivo eram retiradas alíquotas das suspensões, diluídas em solução isotônica e quantificadas em câmara de Neubauer. A quantificação foi feita por contagem direta do número de células por campo em microscópio óptico com aumento de 40x. A média da contagem era utilizada para calcular o número de parasitas contidos em 1,0 ml de cultura. Considerando como 100% o crescimento observado no controle, foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento de promastigotas na presença do extrato. Paralelamente, as formas promastigotas de *Leishmania* eram avaliadas sob microscopia óptica. Os resultados obtidos foram lançados em uma base de dados estatística como o objetivo de avaliar a concentração inibitória (IC50)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os constituintes voláteis identificados no óleo essencial de *Hypnea musciformes* estão apresentados na Tabela 2.0.

Pelos dados da tabela observa-se que o óleo essencial de *Hypnea musciformes* é rico em hidrocarbonetos de cadeia longa.

O extrato proveniente da alga *Hypnea musciformes* mostrou atividade antileishmania, no entanto, não muito eficaz com concentração inibitória acima de 100 µg/mL contra as formas prosmatigotas da cepa PH8 de *L. amazonensis*, observado na Tabela 1.0. Vale ressaltar que a concentração inibitória (CI₅₀) e a inibição percentual (%) são critérios da atividade antileishmania, no entanto a literatura não cita uma faixa de concentração inibitória eficiente.

Tabela 2.0. Compostos identificados por CG/EM

Composto	Similaridade %	TR	Area %
Metil-benzeno	95	2.529	8.61
Tetracloroetileno	78	2.987	1.63
Laurato de metila	94	3.755	4.34
o-xileno	91	3.903	2.95
N.I	-	4.33	1.17
2,6 dimetilciclo-hexanol	84	10.186	1.74
n-tridecano	93	16.635	3.99
n-tetradecano	94	19.762	3.72
N. I	-	22.13	3.71
Dihidroactinidiolídio	77	23.16	6.68
Hexadecano	88	44.583	1.2
Pentacosano	90	45.718	2
7-hexil-n-eicosano	88	46.691	1.25
n-octacosano	92	47.558	2.44
n-nonacosano	89	49.302	1.52
bis-octilfenil-amina	81	49.681	3.38
Dotriacontano	82	51.665	1.6

Tabela 1.0. Concentração do extrato etanólico de algas vermelhas que inibiu de 50% das promastigotas em função do tempo de exposição

Parâmetro	Exposição (h)	
	24	48
IC ₅₀ (µg/ml)	446,6	269,7

CONCLUSÃO

Os principais constituintes voláteis da alga em estudo foram hidrocarbonetos de cadeia longa, sugerimos que os constituintes de maior volatilidade foram perdidos durante o transporte da amostra, uma vez que a mesma não foi mantida sob baixa refrigeração. Quanto a atividade biológica testada (leishmanicida), o extrato proveniente da alga do gênero *Hypnea musciformes* mostrou atividade, contra as formas prosmatigotas da cepa PH8 de *L. amazonensis* com IC₅₀ igual a 446,6 µg/mL em 24 h e 269,7 µg/mL em 48 h.

APOIO

Ao CNPq e a CAPES; e ao LAPETRO-UFPI pelas análises em CG/EM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FELÍCIO, R.; DEBONSI, H. M.; YOKOYA, N. S. 4-(hidroximetil)-benzenossulfonato de potássio: metabolito inédito isolado da alga marinha *Bostrychia tenella* (*Rhodomelaceae*, *Ceramiales*). **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 837-839, 2008.

FLEURY, B. G.; PITOMBO, L. F.; TEIXEIRA, V. L.; KELECOM, A. Os esteróides das algas pardas marinhas (Classe *Phaeophyceae*). **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 37-42, 1996.

REIS, R. P.; LEAL, M. C. R.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; BELLUCO, F. Efeito de fatores bióticos no crescimento de *Hypnea musciformis* (*Rhodophyta - Gigartinales*). **Acta Botânica Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 279-286, 2003.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p.139-145, 2004.

Palavras-chave: Algas vermelhas, *Hypnea musciformes*, atividade leishmanicida