

# EXTRAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Chenopodium ambrosioides*, *Lippia alba* e *Mentha villosa*, PLANTAS MEDICINAIS DA REGIÃO DE PICOS-PI

Marina Maria de Oliveira (bolsista do PIBIC/UFPI), Chistiane Mendes Feitosa (Orientadora, CCN – UFPI)

## INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) atinge pessoas de todo mundo, é uma patologia neurodegenerativa, compromete inicialmente a memória, a capacidade de raciocínio e a comunicação. A DA está associada à redução de alguns neurotransmissores cerebrais, como acetilcolina, noradrenalina e serotonina (INGKANINAN, 2000). A Galantamina, é um produto natural da classe dos alcalóides oriundo de plantas da família *Amaryllidaceae*, apresenta uma longa ação seletiva, reversível, e competitiva para inibir a acetilcolinesterase (AChE). A busca de novos inibidores de origem vegetal é uma alternativa interessante e viável (FEITOSA, 2005; RHEE *et al.*; 2001; TREVISAN *et al.*, 2002). A atividade da AChE pode ser observada através do Método de Ellman (ELLMAN, 1961), modificado por Rhee para cromatografia em camada fina (RHEE *et al.*; 2001).

As plantas medicinais que selecionamos para estudo *Chenopodium ambrosioides* (mastruço), *Lippia alba* (erva cidreira) e *Mentha villosa* (hortelã) apresentam as atividades inseticida, antiinflamatória, analgésica e antioxidante. Plantas e constituintes com atividades farmacológicas relacionadas a desordens cognitivas incluindo o aumento da função colinérgica no sistema nervoso central, antiinflamatórias e antioxidantes, estão relacionadas com a Doença de Alzheimer (HOUGHTON *et al.* 2003; VALE *et al.* 2002) e são fontes promissoras de medicamentos naturais que poderão ser utilizados no tratamento desta doença (HOUGHTON *et al.*, 2003).

Testes com a enzima acetilcolinesterase, aliada a estudos comportamentais, avaliação do efeito antidepressivo, avaliação dos efeitos ansiolítico, hipnótico, neuroléptico e avaliação dos efeitos antioxidantes fornecem importantes resultados para o tratamento de doenças neurodegenerativas, tais como a doença de Alzheimer.

Realizou-se neste trabalho extração, identificação dos constituintes, testes de citotoxicidade e testes de atividade anticolinesterásica de óleos essenciais das plantas medicinais *Chenopodium ambrosioides* (mastruço), *Lippia alba* (erva-cidreira) e *Mentha villosa* (hortelã), utilizadas popularmente no município de Monsenhor Hipólito, micro-região de Picos-PI.

## METODOLOGIA

As plantas medicinais *Chenopodium ambrosioides*, *Lippia alba* e *Mentha villosa* tiveram suas folhas frescas trituradas e submetidas à extração do óleo essencial pelo processo de hidrodestilação por cerca de 3h. O óleo essencial obtido foi seco com sulfato de sódio anidro e reservado para

análise de cromatografia gasosa (CG), testes de citotoxicidade e testes com a enzima acetilcolinesterase.

As espécies *Chenopodium ambrosioides* (mastruço), *Lippia alba* (erva-cidreira) e *Mentha vilosa* (hortelã), foram coletadas no município de Monsenhor Hipólito na micro-região de Picos-PI. Seus respectivos óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em sistema tipo Clevenger, e analisado por CG-EM (Shimadzu, GC-17A /MS-QP5050A). Os constituintes presentes nos óleos essenciais foram identificados por comparação de seus respectivos espectros de massas com os registros da biblioteca computacional Wiley229 e pela determinação experimental dos índices de Kovats, com padrões de n-alcenos e comparação com dados da literatura (ADAMS, 2005), a análise foi realizada na Universidade Federal do Piauí, no Laboratório de Petróleo (LAPETRO) em Teresina-PI.

O óleo essencial de cada espécie nas concentrações de 1000µg, 100µg e 10 µg foi diluído em metanol e adicionado em cromatografia em camada delgada para o teste com a enzima AChE. O teste foi realizado utilizando-se os reagentes: ácido 5,5'-Ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB ou reagente de Ellman) e ATCI (Iodeto de acetiltiocolina), com borrifação posterior da enzima (AChE), o resultado positivo da inibição foi obtido através da visualização de um campo amarelo na placa com manchas brancas (ELLMAN *et al.*, 1961; INGGANINAN *et al.*, 2000).

Estudos de citotoxicidade com células tumorais, foram realizados em colaboração com pesquisadores do laboratório de oncologia (UFC). No estudo, foram utilizadas as seguintes células : HCT-8 (cólon - humano), SF-295 (glioblastoma - humano) e MDA-MB435 (Melanoma – humano), cedidas pelo *Instituto Nacional do Câncer* (NCI - EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>. As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas na concentrações de 1000 µg/mL, 100 µg/mL e 10 µg/mL. Análise de citotoxicidade foi feita pelo método do MTT; método rápido, sensível e barato. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996). A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais (OE) das espécies *Chenopodium ambrosioides* (mastruço), *Lippia alba* (erva-cidreira) e *Mentha villosa* (hortelã), foram identificados por comparação de seus respectivos espectros de massas com os registros da biblioteca computacional Wiley229 e pela determinação experimental dos índices de Kovats, com padrões de n-alcenos e comparação com dados da literatura (ADAMS, 2005). A análise por CG-EM, indicou os principais constituintes da espécie *Lippia alba*: Nerol (4,13%), citronelol (5,59%), neral (20,43%), geraniol (7,51%), geranial (23,07%), beta-elemene (3,10%), elemol (5,67%), e óxido de cariofileno (2,88%). O resultado positivo de inibição da enzima AChE foi comprovado pela visualização de um campo amarelo na placa com manchas brancas (teste de Elman) nas concentrações de 1000 µg/mL, 100 µg/mL e 10 µg/mL de todas as

espécies testadas. Estudos de citotoxicidade com as linhagens tumorais utilizadas, cólon, glioblastoma e melanoma humanos não apresentaram inibição nas linhagens testadas na concentração de 10 µg/mL do OE das espécies supracitadas.

## CONCLUSÃO

O resultado de inibição da enzima AChE apresentado pelos OE das espécies mastruço, erva-cidreira e hortelã em todas as concentrações testadas aliado aos estudos comportamentais que serão futuramente realizados poderão fornecer subsídios, particularmente na área dos transtornos de ansiedade e depressão, aspectos relevantes para o tratamento de doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer. Os estudos com as células tumorais utilizadas com OE s das espécies não apresentaram inibição nas linhagens testadas na concentração de 10 µg/mL.

AGRADECIMENTOS: Nosso agradecimento a UFPI pela bolsa concedida à aluna Marina M. Oliveira

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P., *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. 4th Edition. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois, USA, 2005.

ELLMAN, G. L., Courtney, D. K., Andres, V. Jr., Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology** 7, p 88-95, 1961.

FEITOSA, C. M. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, 385p, 2005.

HOUGHTON, P. J. Howes, M. J. R. Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 75, p 513-527, 2003.

INGKANINAN, K., Hazekamp, A., de Best, C. M., Irth, H. Tjaden, U. R. van der Heijden, R., van der Greef, J., Verpoorte, R. The application of HPLC with on-line UV-MS-biochemical detection for isolation of an acetylcholinesterase inhibitor from *Narcissus "Sir Winston Churchill"*. **Jornal of Natural Products**. 63, p.803-806, 2000.

RHEE, I. K., van de Meent, M., Ingkaninan, K., Verpoorte, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**. 915, p.217-223, 2001.

TREVISAN, M.T.S.; Macedo, F. V. V.; **Quimica Nova**, 26, 301, 2003.

VALE, T. G.; Furtado, E. C.; Santos, Jr.; J.G; Viana, G.S.B. C. **Phytomedicine** 9, 709-714, 2002.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer. Método de Ellman. Mastruço . Erva-cidreira . Hortelã. Enzima acetilcolinesterase