

ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS AROMÁTICAS DA REGIÃO DE PICOS-PI, EXTRAÇÃO E TESTES DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS

Fabrício Custódio de Moura Gonçalves (bolsista do PIBIC/CNPq), Chistiane Mendes Feitosa (Orientadora, CCN – UFPI), Rivellison Mendes Freitas (Co-orientador)

INTRODUÇÃO

Produtos naturais de plantas constituem uma importante fonte de pesquisa visando à extração e identificação de novas substâncias com atividades farmacológicas. A galantamina medicamento constituído especialmente de alcalóide de plantas da família *Amaryllidaceae*, considerado como um dos tratamentos efetivos em patologias neurodegenerativas, tal como a doença de Alzheimer (DA), apresenta menos limitações que outros fármacos utilizados e tendo uma longa ação seletiva, reversível, e competitiva para inibir a acetilcolinesterase (AChE), enzima associada a DA (RHEE, et al. 2001; INKANINAN, 2003).

A busca por novas farmacoterapias de plantas medicinais aromáticas para doenças psiquiátricas progrediu significativamente na década passada. Isto pode ser observado no grande número de medicamentos a base de ervas (MINH TU et al. 2002; MORA et al. 2005). Entre as plantas medicinais, o grupo das “aromáticas” tem despertado muito interesse. Espécies do gênero *Citrus* caracterizam por apresentar amplo espectro de atividades biológicas, incluindo antibacteriana, antioxidante, antiviral, antifúngico, analgésico, inseticida e anti-inflamatórios (EZZAT, 2001; LUZIA; JORGE, 2009). Trabalhos têm relatado que os monoterpenos e seus derivados sintéticos apresentam várias propriedades farmacológicas, onde podemos citar algumas delas no sistema nervoso central (SNC) tais como antinociceptiva; anticonvulsivante e neuroprotetora como: o limoneno (VIANA et al. 2000), o citrionelol (DE SOUSA et al. 2006) e o α -Terpineol (DE SOUSA et al. 2007). Assim, compostos de plantas que apresentam atividades farmacológicas como as citadas e a, a saber: anticolinesterásica são fontes promissoras de medicamentos naturais que poderão ser utilizados no tratamento de patologias mentais.

Assim, o estudo teve como objetivos principais realizar extração, identificação dos constituintes e testes farmacológicos de OE das espécies: *Citrus limon* e *Citrus sinensis*, plantas medicinais utilizadas da região de Picos, Piauí.

MATERIAIS E MÉTODOS

C. limon e *C. sinensis*

As folhas de *C. limon* e de *C. sinensis* para o referido estudo foram coletadas entre o período de setembro de 2010 a agosto de 2011 em hortas medicinais existentes nas proximidades do Campus Senador Helvídio Nunes de Barros da Universidade Federal do Piauí, Picos. As exsicatas da espécie *C. limon* (Número 26.453) e da espécie *C. sinensis* (Número 27.143) foram depositadas no Herbário Graziella Barroso da UFPI do Campus Universitário Ministro Petrônio Portella.

O OE de *C. limon* e *C. sinensis* foram obtidos, partindo-se de folhas frescas trituradas e utilizando-se o sistema de hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger (MATOS et al. 1999) durante o período de quatro horas. O óleo coletado foi subsequentemente seco com sulfato de sódio anidro e mantido sob refrigeração até a realização da análise. O rendimento do óleo *C. limon* foi de 0,17%, calculados com base nos volumes de óleo obtido e do peso do material vegetal fresco. Enquanto que rendimento do óleo de *C. sinensis* foi de 0,29%, calculados com base nos volumes de óleo obtido e do peso do material vegetal fresco. A análise dos constituintes presentes nos óleos foram identificados por cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas, com base de dados usando a biblioteca construída através do espectrômetro Wiley e outros dois computadores utilizando índices de retenção como uma pré-seleção, bem como por comparação visual da fragmentação padrão com aqueles relatados na literatura (ADAMS, 2001).

O teste de inibição da enzima acetilcolinesterase foi realizado seguindo-se a metodologia de 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 OE de *C. sinensis* foi testado nas concentrações de 100 mg/mL, 50 mg/mL, 40mg/mL, 30mg/mL, 20mg/mL, 10 mg/mL, 1 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,01 mg/mL e 0,001 mg/mL. Os testes de inibição *in vivo* foram realizados após tratamento dos camundongos por um período de 30 dias com OE de *C. sinensis* nas doses de 50 mg/Kg, 100 mg/Kg e 200 mg/Kg e retirada do cérebro para análise das três áreas: hipocampo, córtex frontal e corpo estriado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química e testes da AChE com óleo essencial de *C. limon* e *C. sinensis*

Foram identificados no OE de *C. limon*: os constituintes limoneno (52,77%), acetato de geraniol (9,92%), *trans*-óxido limoneno (7,13%), neral (6,85%), geraniol (5,49%), nerol (4,04%), citronelol (2,77%), *cis*-óxido limoneno (2,68%) e linalol (1,73%) e no óleo de *C. sinensis* os constituintes: limoneno apresentou uma concentração de 20,14% assim como descrito na literatura para outras espécies de *Citrus*. Obteve-se ainda mirceno (0,64%), *trans*-beta-ocimeno (0,73%), linalol (2,58%), citronelal (1,23%), citronelol (30,42%), neral (1,71%), geraniol (31,42%) e beta-cariofileno (2,04%).

O óleo *C. sinensis* não apresentou inibição da enzima AChE nas concentrações de 1mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,01mg/mL, 0,001mg/mL e 0,0001 mg/mL. Foram observadas inibições nas doses de 100 mg/mL, 50 mg/mL, 40 mg/mL e 30 mg/mL. Os testes de comportamento (ansiedade e depressão) *in vivo* em camundongos administrando OE de *C. sinensis*, em três doses diferentes, 50mg/Kg; 100 mg/ Kg e 200 mg/Kg [$p < 0,05$] durante 30 dias em áreas centrais de camundongos, houve uma diminuição significativa na atividade da AChE. Por sua vez, em relação à atividade antioxidante, observou-se, que houve uma redução significativa de 20% na dose de 150 mg/kg na peroxidação lipídica, reduzindo assim o estresse oxidativo, bem

como a formação de nitrito que teve redução significativa em todos os grupos, promovendo uma proteção hipocámpal contra os danos cerebrais produzidos pelos radicais livres produzidos durante o estabelecimento e manutenção das doenças neurodegenerativas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante a identificação dos compostos majoritários com OE das espécies estudadas, percebe-se que o composto limoneno apresentou em concentrações consideráveis, podendo representar um possível componente ao isolamento para testes individuais. Em relação à avaliação do potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro* dos óleos das folhas de *C. sinensis* foram observados inibição da enzima AChE nas concentrações de 100mg/mL, 50mg/mL, 40mg/mL e, 30mg/mL, sendo que não foi detectada inibição AChE nas outras concentrações testadas. Os testes seguindo-se a metodologia de Elman até aqui realizados com OE de limão e laranja demonstraram eficientes na busca de novos inibidores da AChE, e que possivelmente possam apresentar poucos efeitos colaterais e bom nível de eficácia no tratamento do mal de Alzheimer.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem a UFPI e ao CNPq pela infra-estrutura disponível e financiamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. **Baylor University**. Allured, 2001.

DE SOUSA D. P. et al. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. **Neurosci Lett** 2006; 401: 231 - 235.

DE SOUSA, D. P.; QUINTANS, J.L.; ALMEIDA, R.N. Evaluation of the anticonvulsant activity of alfa-Terpineol. **Pharm Biol**, 2007; 45: 69 – 70.

LUZIA, D.M.M.; JORGE, N. Atividade antioxidante do extrato de sementes de limão (*Citrus limon*) adicionado ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. **Química Nova** v. 32, n. 4, p. 946-949, 2009.

MATOS, F.J.A. et al. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. **Journal of Essential Oil Research** 11: 41-44, 1999.

MINH, TU. et al. Volatile constituents of *Vietnamese pummelo*, orange, tangerine and peels oils. **Flavour Frag J.** 2002; 17: 169 – 174.

MORA, S. et al. Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats. **Pharm Biochem Behav**, 2005; 82: 373 – 378.

VIANA, G. S. B. et al. Anticonvulsant activity of essential oils and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (MILL.) NE BROWN. **Biol Pharmac Bull.** 2000; 23: 1314 - 1317.

Palavras-chave: Óleo Essencial. Mal de Alzheimer. Anticolinesterase.

