

ESTUDO FITOQUÍMICO DE *PLATONIA INSIGNIS* (BACURI) NA BUSCA DE FUTUROS MEDICAMENTOS PARA DOENÇA DE ALZHEIMER

Lays Rodrigues Moura (Bolsista PIBIC/CNPq), Chistiane Mendes Feitosa (Orientadora, Departamento de Química/UFPI), Patrícia Régia Pereira dos Santos (Colaborador, UFPI)

Introdução

A planta *Platonia insignis* Mart. pertencente à família Clusiaceae é popularmente chamada bacurizeiro, uma espécie frutífera e madeireira (CAVALCANTE, 1996). O óleo extraído das sementes do fruto é bastante utilizado na medicina popular como cicatrizante e anti-inflamatório (SHANLEY E MEDINA, 2005).

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). O tratamento para a DA é sintomático e consiste na tentativa de restauração da função colinérgica; a elevação do nível da acetilcolina pode se mostrar útil na melhora da deficiência da aprendizagem, um dos sinais da doença. Inibidores da acetilcolinesterase (AChE) são amplamente usados baseados na hipótese colinérgica (SERENIKI et al., 2008).

Realizou-se neste trabalho o estudo fitoquímico monitorado por atividades da enzima acetilcolinesterase dos extratos da banha extraída das sementes do bacuri.

Metodologia

Foram coletadas na cidade de Água Branca cerca de 1,0 kg de frutos da espécie: *P. insignis*. As sementes do bacuri foram separadas dos frutos e após secagem das sementes a 50°C estas foram trituradas e a banha extraída com hexano através do sistema Soxhlet.

Realizou-se uma partição com 100,0916 gramas do extrato diclorometano da banha do bacuri com a finalidade de isolar os constituintes químicos pelo processo de cromatografia em coluna de gel de sílica. Usou-se apenas a fração de diclorometano, que após a partição foi concentrada no rotoevaporador à pressão de 500 mmHg, rotação de 60 rpm e temperatura entre 60°C e 70°C.

Foram realizadas então colunas de cromatografia em sílica gel usando os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, respectivamente, sempre aumentando a polaridade em 10 %, com o objetivo de separar os compostos químicos. A cada coluna eluída, realizou-se análise em cromatografia em camada delgada em gel de sílica e revelou-se em iodo e com outro revelador de sulfato sérico. Por haver impregnação de substâncias presentes nos extratos na sílica da coluna, realizou-se com as frações obtidas a reação de acetilação em algumas frações com o objetivo de diminuir a polaridade dos constituintes.

Após a reação de acetilação com as frações de peso 0,4438 gramas chamada de fração 3 e 0,0794 gramas chamada de fração 4, foram feitas colunas de cromatografia em sílica gel usando os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, respectivamente, aumentando a polaridade em 5%, com o objetivo de separar ainda mais os compostos químicos. Com a coluna de cromatografia em sílica gel da fração 4 foram obtidas 46 frações. Da fração 3, conseguiu-se separar 26 frações, das quais juntou-se da 15ª fração à 18ª fração e fez-se uma nova coluna de cromatografia em sílica gel. Juntou-se também da fração 19ª à 21ª e fez-se outra coluna de cromatografia em sílica gel.

A partir da coluna feita com a junção das frações 15° a 18°, separou-se 23 frações. Juntou-se as frações 5 e 6, 7 e 8 e por último a 9 e 10, para fazer o teste de inibição da acetilcolina juntamente com as frações 20 à 26, 27 à 30 e 38 à 41 da coluna com a fração 4.

No teste de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase inicialmente cortou-se a placa com tamanho 6x7 centímetros e eluiu-se a placa com as 6 amostras e mais a cafeína usada como a padrão com o eluente clorofórmio-metanol 9:1. O segundo passo foi borrifar nas placas a mistura de 10 mL da solução tampão TRIS (hidróxi-metil-metano) de pH 8 mais 2,9 miligramas de iodeto de acetilcolina e por último 4 miligramas de 5,5' dithiobis (2 nitro benzoic acid). Após esse processo deixou-se as placas secarem e borrifou-se nas placas a enzima Acetilcolinesterase mais 1 mL de solução tampão.

Os testes de memória: Esquiva Passiva, teste do labirinto em T elevado (PLUS MAZE) e labirinto aquático de morrison, in vivo em ratos administrando o concentrado da fração de diclorometano do extrato da casca da semente de *Platonia insignis* adicionado de Tween 80 a 0,05% foram administradas em três doses diferentes (100mg/Kg; 200 mg/ kg e 300 mg/kg) durante 27 dias de tratamento em três grupos de oito animais.

Resultados e Discussão

No teste do labirinto em T, os 3 grupos de animais apresentaram bastante *grooming*. O menor tempo de permanência no Braço Aberto foi de 20 segundos e o maior foi de 240 segundos, já no Braço fechado o menor tempo de permanência foi de 60 segundos e o maior foi 280 segundos.

No aparelho gerador de choque insight, foi realizado o primeiro teste de esquiva passiva, na gaiola 1 (dose 100mg/kg) o menor tempo de permanência foi de 5 segundos e o maior de 4 minutos e 31 segundos. Após 15 minutos foi realizado o mesmo teste onde o menor tempo de permanência foi de 16 segundos e o maior foi de 5 minutos e depois de 24 horas foi realizado o último teste o qual dos 8 animais 7 permaneceram 5 minutos. Na gaiola 2 (dose 200mg/kg) o teste inicial o menor tempo foi de 4 segundos e o maior foi de 5 minutos, no segundo teste após 15 minutos o menor tempo foi de 3 segundos e o maior foi de 5 minutos e no terceiro teste 24 horas depois do primeiro teste dos 8 animais 4 permaneceram por 5 minutos. Na gaiola 3 (dose 300mg/kg) o menor tempo de permanência, no teste inicial, foi de 8 segundos e o maior de 5 minutos, após 15 minutos o menor tempo de permanência foi 28 segundos e o maior 5 minutos e no último teste dos 8 animais 6 permaneceram por 5 minutos.

Os testes de memória in vivo apresentaram até o momento resultados bastante promissores o que nos motiva a continuar a identificar nestes extratos compostos inibidores da enzima Acetilcolinesterase.

Com o teste de Inibição da Acetilcolinesterase, obteve-se resultado positivo para a inibição as amostras 5 e 6, 7 e 8, 9 e 10 da fração 3, e da fração 4 os resultados positivos para a inibição foram das amostras 4.38 à 4.41. Essas amostras foram obtidas através da partição de 100,0916 gramas do extrato diclorometano da banha do bacuri, que após fazer a coluna de cromatografia em sílica gel a fração 3 foi obtida com o solventes diclorometano a 50% e acetato de etila a 50% e a fração 4 com o solvente acetato de etila a 100%.

Conclusão

ÁREA: CV (X) CHSA () ECET ()

Considerando-se que a extração pelo processo de cromatografia em coluna de gel de sílica clássica, uma técnica bastante lenta, não foi possível até o momento a obtenção do isolamento do constituinte químico responsável por inibição da enzima Acetilcolinesterase.

Temos como continuidade do projeto o estudo de extratos promissores tal como o acetato de etila, inibitório da enzima Acetilcolinesterase.

Referências

CAVALCANTE, P. B. Frutas comestíveis da Amazônia. 6ed. Belém:CNPq/Museu Paraense Emílio Goeldi, 279p.(ColeçãoAdolpho Ducke), 1996.

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.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. *Revista de psiquiatria do Rio Grande do Sul*, v.30, p. 1-55, n.1, 2008.

SHANLEY, P., MEDINA, G. Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica. Pará: Belém, p. 54,2005.

Palavras-chave: *Platonia Insignis*. Cromatografia. Doença de Alzheimer.