



**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES E TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Operculina alata* (Ham) Urban**

*EXTRACTON AND CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OIL OF ROOTS AND BIOLOGICAL ACTIVITY TESTS OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Operculina alata* (Ham) Urban*

**Angélica Gomes Coelho<sup>1</sup>; Rivelilson Mendes de Freitas<sup>2,\*</sup>; José Arimatéia Dantas Lopes<sup>2</sup>; Lorena Citó Lopes Resende de Santana<sup>3</sup>; Fernando Aécio de Amorim Carvalho<sup>3</sup>; Joaquim Soares da Costa Júnior<sup>4</sup>; Bruno Quirino Araújo<sup>5</sup>; Antônia Maria das Graças Lopes Cito<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia da UFPI.

<sup>3</sup>Laboratório de Atividade Antileishmania do Centro de Ciências da Saúde da UFPI.

<sup>4</sup>Departamento de Química do Instituto Federal do Piauí - IFPI; <sup>5</sup>Departamento de Química da UFPI.

\*Autor para correspondência: rivelilson@pq.cnpq.br

**Recebido em 15/11/2010, Aceito em 25/08/2011.**

RESUMO: Popularmente conhecida como batata-de-purga, *Operculina alata*, pertence à família Convolvulaceae e apresenta ação purgativa. Além dessa ação, há o uso dessa planta pela população no tratamento da leucorréia e na prevenção da hidropsia. Por sua atividade laxante *O. alata* é comercialmente explorada na forma de tintura. Tendo em vista a carência de estudos relativos a essa espécie, apesar de sua ampla comercialização como fitoterápico, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o óleo essencial (OE) extraído das raízes dessa planta e

realizar testes de citotoxicidade de seu extrato hidroalcoólico das raízes (EHR). Foram coletadas duas amostras de *O. alata*, no município de Água Branca, Piauí. As exsiccatas (Número 26.873) foram depositadas no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí. Para extração do OE da amostra utilizou-se o método de hidrodestilação. Para a análise do OE foi realizado a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A identificação dos constituintes do OE foi feita por meio da análise dos dados de CG-EM. Também foi preparado o EHR liofilizado para a realização do ensaio de citotoxicidade sobre *Artemia salina* Leach e nas formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Foram identificados os principais constituintes (fenilmetanol (2,16%), feniletanol (4,54%), timol (18,59%), carvacrol (26,62%),  $\beta$ -farneseno (2.34%), eicosano (1.17%), ácido palmítico (7,66%) e hexadecadienoato de metila (2.33%)) presentes no OE das raízes de *O. alata*. Os bioensaios realizados com EHR demonstraram atividade contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* e atividade citotóxica por meio do teste de *Artemia salina*, indicando possível atividade antitumoral.

PALAVRAS-CHAVES: *Operculina alata*, Convolvulaceae, Óleo essencial, Extrato hidroalcoólico, Citotoxicidade.

ABSTRACT: Popularly known as the potato-to-drain, *Operculina alata*, belongs to the family Convolvulaceae and has purgative action. Besides this action, there is the use of this plant by the population in the treatment of leucorrhoea and prevention of hydropsy. Due its laxative activity, *O. alata* is commercially exploited in tincture form. There are few studies on *O. alata*, in despite of its widespread commercialization as herbal medicine, therefore the present work aimed to characterize the essential oil (EO) extracted from the roots of this plant and perform tests of cytotoxicity of its hydroalcoholic extract of roots (HER). We collected two samples of *O. alata* in the municipality of Agua Branca, Piauí. The voucher specimen (Number 26.873) was deposited in the Herbarium Graziela Barroso of Federal University of Piauí. For extraction of the OE sample, we used the method of hydrodistillation. The analysis of EO was performed in a gas chromatography/ mass spectrometry equipment. The identification of the OE was done by analyzing the GC-MS. The dried HER was also prepared to perform the test cytotoxicity on *Artemia salina* Leach and the promastigotes of *Leishmania amazonensis*. It was identified the major components (phenylmetanol (2.16%) 2-phenylethanol (4.54%), thymol (18.59%), carvacrol (26.62%),  $\beta$ -farnesene

(2.34%), eicosane (1.17%), palmitic acid (7.66%) and hexadecadienoato methyl (2.33%) present in the EO roots of *O. alata*. Bioassays performed with HER showed activity against the promastigotes of *L. amazonensis* and cytotoxic activity through the test of *A. salina*, indicating a possible anticancer activity.

KEYWORDS: *Operculina alata*, Convolvulaceae, Essential oil, Hydroalcoholic extract, Cytotoxicity.

## INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida como batata-de-purga ou jalapa, *O. alata* pertence à família Convolvulaceae, a qual é composta por 51 gêneros e 1.800 espécies, com distribuição principalmente em regiões tropicais e subtropicais<sup>(1)</sup>. A denominação jalapa advém do fato de que o principal centro de comércio deste vegetal situava-se na cidade mexicana de Jalapa. Além dos Andes Mexicanos, a jalapa é encontrada na região compreendida entre as Antilhas e o Brasil e em vários estados brasileiros, recebendo diversos sinônimos populares, tais como Ipu (Minas Gerais), Purga de Amaro Leite (Goiás), Jalapa-do-Brasil e Batata-de-Purga (em alusão a uma de suas utilizações populares como laxante)<sup>(2)</sup>.

*O. alata* (Convolvulaceae) apresenta raízes tuberosas, grandes, amiláceas e resiníferas. É uma trepadeira de aspecto ornamental, especialmente pelos seus frutos, apresentando caule quadrangular, avermelhado e glabro; folhas longas

pecioladas, inteiras, grandes, glabras, de lobos agudos; flores de corolas amarelas, infundibulares, auxiliares, solitárias e cada fruto, em sua forma estrelada, contém uma a quatro sementes duras e escuras. Embora seja de fácil cultivo, plantando-se as sementes ou o tubérculo, é uma espécie silvestre<sup>(3,4)</sup>.

A resina produzida pelas raízes deste vegetal atua como um mecanismo de defesa contra insetos e parasitas que devoram o amido presente em seus tubérculos. Na constituição química da resina extraída com álcool etílico encontram-se constituintes orgânicos e inorgânicos, que podem ser divididos em duas frações principais, uma solúvel em éter, chamada de jalapina, e outra não solúvel, a convolvulina<sup>(5)</sup>.

Análises fitoquímicas do tubérculo de *O. alata* descrevem a presença de saponinas, amido, sistosterina - glicosídeo, conhecida como ipuranol, fistosterina, mucilagem, manitol, ácido palmítico, ácido málico e ácido caféico, substâncias oleosas, odorantes e

resinosas numa quantidade de 15 a 18%, compostas por 80% de convolvulina e 20% de jalapina<sup>(6)</sup>.

A ação purgativa da batata-de-purga ocorre por meio do aumento do peristaltismo do intestino delgado. Esta ação é causada pelo elevado teor de resina presente no tubérculo, a qual possui em sua constituição glicosídeos que, na presença de bile, hidrolisam-se em açúcar e aglicona, liberando o ácido graxo livre, responsável pela irritação da mucosa intestinal, aumento do peristaltismo e, conseqüentemente, evacuação<sup>(6)</sup>. Além da ação purgativa e laxante da batata-de-purga, há o uso pela população como depurativa contra moléstias da pele, no tratamento da leucorréia, na prevenção de doenças do trato gastrointestinal, na hidropsia e sífilis<sup>(3,7)</sup>.

Por sua atividade laxante a batata-de-purga (*O. alata*) é comercialmente explorada na forma de tintura conhecida como "Aguardente Alemã<sup>®</sup>". Tendo em vista a carência de estudos relativos a *O. alata* (Ham.) Urban, apesar de sua ampla comercialização como fitoterápico, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o óleo essencial extraído das raízes dessa planta e realizar testes de atividades biológicas: citotoxicidade e atividade antileishmania de seu extrato hidroalcoólico.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. Coleta do material vegetal e Preparação da exsicata**

Foram coletadas duas amostras de *O. alata* nos meses de fevereiro e março de 2009, no município de Água Branca, no estado do Piauí. A partir do material vegetal coletado, foi preparada a exsicata por biólogos do Herbário Graziela Barroso do Campus Ministro Petrônio Portella da Universidade Federal do Piauí. As exsicatas depositadas receberam o número de registro 26.873.

### **2. Extração dos constituintes voláteis e Análise do óleo essencial**

Para extração do óleo essencial da amostra, separou-se aproximadamente 200 g do tubérculo que foram cortados e colocados em um balão de fundo redondo de 2 L ao qual adicionou-se água destilada e submeteu-se a hidrodestilação por 3 horas. Em seguida o hidrolato (água + óleo essencial) foi tratado com solvente orgânico para a separação do óleo essencial através de partição com diclorometano, sendo realizada quatro extrações com 125 mL do solvente em cada uma. Adicionou-se à fase orgânica aproximadamente 15 g de sulfato de sódio anidro e após a filtração todo o solvente foi eliminado em evaporador rotatório (Laborota

4000 – Heidolph), acoplado a bomba de vácuo (modelo 34 – Primar), para obtenção do óleo essencial. Para a análise por CG-EM, injetou-se no cromatógrafo cerca de 3  $\mu$ L do óleo essencial obtido.

A identificação dos constituintes do óleo essencial foi feita através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). O equipamento utilizado foi o cromatógrafo gasoso SHIMADZU GC-17A acoplado a um espectrômetro de massa GCMS-QP5050A equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (95% polidimetilsiloxano e 5% de fenil, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro externo, 0,25  $\mu$ m de diâmetro interno). A programação utilizada para injeção e corrida das amostras foi a seguinte: injetor = 220°C, detector = 240°C, coluna = 60°C a 240°C, 3°C min<sup>-1</sup>. O gás de arraste foi o hélio com vazão de 1 mL.min<sup>-1</sup>. Os espectros de massa e índices de Kovats foram comparados com as entradas da biblioteca eletrônica Wiley 229 e com os dados descritos por Adams<sup>(8)</sup>.

### **3. Preparação do extrato hidroalcoólico das raízes de *O. alata*.**

Da amostra de batata-de-purga coletada em março de 2009, no município de Água branca, pesou-se 100 g de tubérculos e transferiu-se

para um erlenmeyer. Adicionou-se cerca de 80 mL de etanol ao erlenmeyer contendo a amostra e 20 mL de água. O sistema ficou sob agitação em aparelho de ultrassom por um período de 30 minutos a cada dia, durante três dias. O extrato hidroalcoólico de *O. alata* foi filtrado e levado ao evaporador rotatório (Laborota 4000 - Heidolph), acoplado a bomba de vácuo (modelo 34 – Primar), para eliminar o solvente. Em seguida foi liofilizado em Liofilizador Micro Modulyo Edwards acoplado a bomba de alto vácuo (ValPump VLP80 Savant), para retirada da água residual.

### **4. Bioensaio de letalidade sobre *A. salina***

Para a realização do ensaio de toxicidade sobre *A. salina*, baseou-se na metodologia descrita por Meyer et al.<sup>(9)</sup>. Inicialmente eclodiu-se os ovos deste microcrustáceo em um mini-aquário contendo uma solução de água do mar e água mineral (1:1) adaptado de forma que os espécimes permanecessem isolados em um dos lados do aquário devido à diferença de iluminação. Prepararam-se as amostras de extrato hidroalcoólico nas concentrações de 1, 5, 10, 50, 100, 125, 250, 500 e 1000  $\mu$ g/mL em triplicata, utilizando-se água destilada como solvente. Colocaram-se 10 espécimes do microcrustáceo em cada

um dos tubos com as concentrações preparadas, bem como aos tubos controles preparados também em triplicata de água-do-mar, água mineral e da água destilada utilizada como solvente. Após 24 horas efetuou-se a contagem do número de espécimes mortos encontrados em cada um dos tubos. Os valores obtidos foram utilizados para a análise de probitos com auxílio do programa de estatística SPSS (versão 15.0) e a partir da análise de probitos obteve-se o valor da dose letal (DL50).

## 5. Bioensaio de atividade Antileishmania

Na avaliação do extrato hidroalcolico das raízes de *O. alata* sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*, as formas promastigotas em sua fase logarítmica de crescimento foram

distribuídas em placas para cultivo celular, na quantidade de  $1 \times 10^6$  unidades de leishmania por poço. Em seguida, amostras de extrato hidroalcolico de *O. alata* foram adicionadas aos poços, em diluições seriadas na escala de 1:2. As placas foram incubadas em estufa com demanda bioquímica de oxigênio B.O.D. a temperatura de 26°C e observadas por 24, 48 e 72 horas para o acompanhamento do respectivo crescimento e da viabilidade das leishmanias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise cromatográfica do óleo essencial extraído das raízes de *O. alata* possibilitou a identificação dos constituintes voláteis apresentados na tabela 1.

**Tabela 1.** Constituintes voláteis identificados no óleo essencial das raízes de *O. alata*.

Constituintes	Tempo de Retenção (TR)	Área relativa (AR)	Índice de Kovats calculado (IK <sub>cal</sub> )
Fenilmetanol	13.481	2,16	1032
2-Feniletanol	16.486	4,54	1106
Timol	22.998	18,59	1231
Carvacrol	23.350	26,62	1239
β-farneseno	24.921	2.34	1274
Eicosano	36.570	1.17	2000
Ácido Palmítico	41.883	7,66	1960

**Hexadecadienoato de metila**

43.585

2.33

1738

---

Os compostos (timol e carvacrol) apresentam áreas relativas acentuadas no cromatograma obtido por CG-EM. Ambos são terpenos fenólicos com propriedades antimicrobiana, anti-séptica e antileishmania<sup>(10,11)</sup>. O primeiro trata-se de um fenol usado como estabilizante em preparações farmacêuticas, sendo muito utilizado devido as suas ações anti-sépticas, antibacterianas e antifúngicas<sup>(12)</sup>. Observa-se ainda considerável quantidade de ácido palmítico no óleo essencial analisado, o que pode ser relacionado à atividade laxante da *O. alata*, uma vez que este composto influencia sobre a consistência das fezes e, por conseguinte, facilita a evacuação<sup>(13)</sup>.

Na análise de constituintes bioativos, utilizou-se o bioensaio de toxicidade sobre *A. salina* (TAS). Diversos trabalhos tentam correlacionar a toxicidade sobre *A. salina* com atividades como antifúngica, viruscida e antimicrobiana, parasiticida, tripanossomicida, entre outras. Este bioensaio tem sido utilizado na avaliação prévia de extratos de plantas conhecidas como antitumorais. As frações ou substâncias ativas são posteriormente testadas em diferentes culturas de células tumorais, obtendo-se uma boa

correlação<sup>(14)</sup>. Em nossos experimentos foi detectado baixo valor da DL<sub>50</sub>, indicando que posteriormente é necessário realizar novos testes com células tumorais. O extrato hidroalcoólico de *O. alata*, obtido a partir da amostra vegetal, foi submetido ao ensaio de toxicidade sobre *A. salina* (TAS), obtendo-se uma DL<sub>50</sub> de 315,06 µg/L. Substâncias submetidas ao ensaio de TAS que apresentem uma dosagem letal média, ou seja, uma dose que leve à morte metade dos espécimes (DL<sub>50</sub>) menor que 1000 µg/mL, são consideradas ativas, tendo assim um bom potencial de atividade antitumoral<sup>(15)</sup>. O valor de DL<sub>50</sub> foi calculado após os dados (concentração do extrato, número de artemias mortas e o número de artemias expostas) serem submetidos ao programa de estatística SPSS (versão 15.0).

A atividade antileishmania do mesmo extrato hidroalcoólico foi avaliada pela inibição do crescimento de formas promastigotas após 24, 48 e 72 h de incubação a 26°C, pela contagem do número total de promastigotas vivas. A contagem foi comparada com o controle do crescimento das formas promastigotas sem o extrato. Os resultados foram expressos como concentração inibitória do crescimento

parasitário (CI<sub>50</sub>). O melhor resultado da CI<sub>50</sub> foi de 4,16 µg/mL em 48 horas, indicando que o extrato hidroalcoólico de *O. alata* possui eficácia contra as formas promastigotas, com valores muito baixos de CI<sub>50</sub>.

## CONCLUSÃO

Na análise por CG-EM foi possível determinar os principais constituintes químicos do óleo essencial das raízes de *O. alata*, destacando-se timol (18,59%),

carvacrol (26,62%) e ácido palmítico (7,66%), tendo os dois primeiros atividades biológicas comprovadas. Os bioensaios realizados demonstraram excelente atividade do extrato hidroalcoólico das raízes contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* e atividade citotóxica por meio do teste de *A. salina*, indicando possível atividade antitumoral, no entanto, novos estudos devem ser realizados para uma melhor compreensão da atividade biológica dos constituintes de *O. alata*.

## REFERÊNCIAS

1. Joly AB. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal, 2<sup>a</sup> ed., Editora da Universidade de São Paulo: São Paulo, 1975.
2. Planchon L, Bretin P. Préis de Médicale, 1<sup>a</sup> ed. Paris: Librairie Maloine; 1937.
3. Braga R. Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará. 3<sup>a</sup> edição comemorativa ao II Congresso Brasileiro de Florestas Tropicais, coleção mossoroense - volume XLII. Mossoró: Rio Grande do Norte, 1976.
4. Matos FJA. Farmácias vivas. 2<sup>a</sup> ed. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 1994.
5. Shellard EJ. The chemistry of some convolvulaceous resins Part 1. Vera Cruz Jalap. Planta Med. 1961;9(1):102-116.
6. Teske M, Trenttini AMM. Compêndio de Fitoterapia. 3<sup>a</sup> ed. Paraná: Herbarium; 1997.



Coelho, A. G. De Freitas, R. M. Lopes, J. A. D. De Santana, L. C. L. R. Carvalho, F. A. A. Júnior, J. S. C. Araújo, B. Q. Cito, A. M. G. L. Revista Eletrônica de Farmácia Vol. VIII (3), 1 – 9, 2011.

7. Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JEAL. Plantas medicinais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2000.

8. Adams RP. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Carol Stream, IL, USA: Allured Publishing Corporation; 2007.

9. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med. 1982;45(1):31-34.

10. Matos FJA. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 2 st ed. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2000.

11. Medeiros MGF, Silva AC, Citó AMGL, Borges AR, De Lima SG, Lopes JAD, et al. *In vitro* antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Parasitol. Inter. 2011;60(3):237-241.

12. Filho F, Moraes SM, Fonseca SGC, Mota OML. Preparação e avaliação clínica de um anti-séptico bucal à base do óleo essencial da planta medicinal *Lippia sidoides* Cham (Alecrim pimenta). Rev. ABO nac. 1998;6(5):323-325.

13. Camieli VP, Iuijendijk IHT, Van Goudoever JB, Sulkers EJ, Boerlage AA, Degenhart HJ, et al. Structural position and amount of palmitic acid in infant formulas: effects on fat, fatty acid and mineral balance. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1996; 23(5):553-560.

14. Siqueira JM, Bomm MD, Pereira NFG, Garcez WS, Boaventura MAD.. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. Quím. Nova 1998;21(5):557-559.

15. Citó AMGL, Souza AA, Lopes JAD, Chaves MH, Costa FB, Souza SAA, et al. Resina de *Protium heptaphyllum* March (Burceraceae): Composição química do óleo essencial e avaliação citotóxica frente a *Artemia salina* Leach. In: Anais da Associação Brasileira de Química 2003; 52(2):74-76.