Atividades biológicas das partes aéreas de *Ipomoea cairica* (Convolvulaceae)

FERREIRA, A.A.[1]; OLIVEIRA, P.M.[1]; EVANGELISTA, E.A.[1]; ALVES, R.B.[1]; PIZZIOLLO, V.R.[2]; BRASILEIRO, B.G.[2]; RODRIGUES, F.M.O.[1]; SILVEIRA, D.[3]; RASLAN, D.S.[1*].

[1] Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG, CEP.: 31270-901, Brasil, Tel.: 31-34995746, e-mail: aafagni777@yahoo.com.br [2] Faculdade de Ciências Biológicas, UNIVALE, Governador Valadares, MG, Brasil [3] Faculdade de Ciências da Saúde, UnB, Brasília/DF, CEP.:70910-900, Brasil

Resumo: O extrato etanólico, frações e compostos isolados das partes aéreas de *Ipomoea cairica* foram avaliados quanto uma possível atividade antimicrobiana e citotóxica. Testes realizados mostraram a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e atividade citotóxica, quando utilizado o modelo de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina*. Do extrato etanólico foram isoladas as substâncias 3-*O*-glicopiranosídeo do b-sitosterol (**3**) e o trachelosídeo (**5**), ainda não descritas nessa espécie.

Palavras-chave: *Ipomoea cairica*, Convolvulaceae, atividade antimicrobiana, atividade citotóxica

ABSTRACT: Biological activities of aerial parts of *Ipomoea cairica* (Convolvulaceae). The ethanol extract, fractions, and isolated compounds from the aerial parts of *Ipomoea cairica* were investigated for possible antimicrobial and cytotoxic activity. The results showed the inhibition of the growth of *Staphylococcus aureus* and toxicity to *Artemia salina* brine shrimp. From the ethanol extract were isolated â-sitosterol 3-*O*-glycopyranoside (**3**) and tracheloside (**5**), which are first reported in this species.

Key words: *Ipomoea cairica,* Convolvulaceae, antimicrobial activity, cytotoxicity activity.

INTRODUÇÃO

A família Convolvulaceae possui cerca de 59 gêneros, com mais de 1800 espécies. A literatura descreve o isolamento de diversas classes de fitoconstituíntes nessa família, dentre os quais podem ser citados policetídeos, terpenóides, esteróides, flavonóides, xantonas, alcalóides, lignanas e, mais recentemente, glicolipídeos e ésteres de oligossacarídeos (Lima & Braz-Filho, 1987; Pereda-Miranda, 1997, Pereda-Miranda & Hernández-Carlos, 2002).

Ipomoea cairica (L.) Sweet, pertencente a essa família, é uma planta trepadeira que cresce em regiões tropicais e subtropicais do mundo.Conhecida popularmente como corda-de-viola, é considerada uma espécie invasora (Procópio et al., 2003), mas existem vários relatos da sua utilização na medicina popular brasileira. A infusão feita com as folhas é utilizada popularmente no tratamento de erupções cutâneas, especialmente aquelas acompanhadas por febre (Thomas et al., 2004). Remédios preparados com as raízes, além de serem utilizados para as condições clínicas citadas, também são usados na hepatite (Alonso, 1988). Alonso (1988) ainda atribui tanto às folhas quanto às raízes de *I. cairica*, uma ação purgativa, embora Pio Correia (1978) relate a utilização dessa espécie como antidiarréico e antissifilítico. Franco e Fontana (1997) citam a utilização das partes aéreas da planta como antiinflamatório e anti-reumático.

Embora *I. cairica* seja amplamente utilizada na medicina popular, poucas informações são encontradas na literatura sobre suas atividades biológicas. Por outro lado, alguns compostos isolados desta espécie mostraram-se eficientes quando submetidos a testes biológicos. O óleo essencial dessa espécie apresentou propriedades larvicidas contra larvas de *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes aegytpi*, *Anopheles stephensi* e *Culex quinquefasciatus* (Thomas et al., 2004). As lignanas, (-)-trachelogenina (**1**) e (-)-arctigenina (**2**), apresentaram inibição da replicação do vírus da

Recebido para publicação em 03/12/2004
Aceito para publicação em 31/05/2005

https://doi.org/10.70151/mntrss22

imunodeficiência humana tipo I (HIV-1; cepas HTLV-III B) *in vitro* (Schroder et al., 1990), atividade antagonista de Ca^{2+} (Páska et al., 1999) e atividade citostática em sistema de células linfomáticas de ratos (L5178y) (Trumm et al., 1989). A arctigenina apresentou uma atividade neuroprotetiva *ex vivo* significativa contra toxicidade induzida por glutamato em cultura de células corticais de ratos. (Jang et al., 2002; Cho-Minkyung et al., 2004).

O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *I. cairica*, e isolar substâncias biologicamente ativas, utilizando um estudo químico biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* (TAS).

MATERIAL E MÉTODO

1. Material botânico

Partes aéreas de *I. cairica* foram coletadas em maio de 2000 na cidade de Governador Valadares (Minas Gerais, Brasil). A espécie foi identificada por Beatriz Gonçalves Brasileiro e uma exsicata (Nº BHCB 16525) está depositada no Herbário do Museu de História Natural do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

2. Extração, isolamento e identificação dos constituintes químicos.

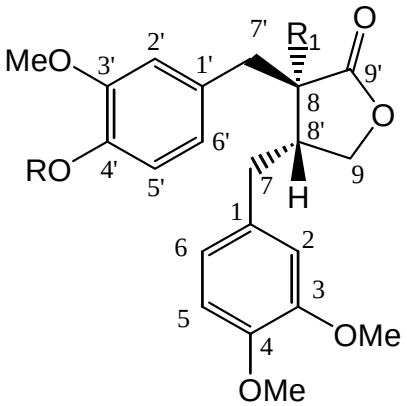
O material botânico (3,3 kg) foi secado à temperatura ambiente, pulverizado em moinho de facas e macerado em etanol por sete dias. Após filtração e destilação do solvente, foram obtidos 250,0 g do respectivo extrato bruto. Parte desse extrato (100,0 g) foi submetido à partição trifásica utilizando hexano:CH_3CN:$CHCl_3$:H_2O (2:3,4:1:1), fornecendo três frações: hexânica (15,0 g), CH_3CN:$CHCl_3$ (8,5 g) e aquosa (57,0 g). Em seguida, 4,0 g da fração hexânica foi submetido a cromatografia em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluído com mistura de solventes de polaridade crescente (hexano:AcOEt). Após purificação e recristalização, foram obtidos 22,0 mg de friedelina e 92,0 mg de b-sitosterol. Parte da fração CH_3CN:$CHCl_3$ (7,0 g) foi cromatografada em coluna de sílica, eluída com hexano:AcOEt:MeOH em gradiente, da qual foram obtidos 3b-friedelanol (9,0 mg), sacarose (3,0 mg), trachelogenina (**1**, 325,0 mg), arctigenina (**2**, 241,0 mg) e 3-*O*-glicopiranosídeo do b-sitosterol (**3**, 72,0 mg). Parte da fração aquosa (37,0 g) foi cromatografada em coluna de sílica usando um gradiente iniciado com a mistura CH_2Cl_2:MeOH:H_2O (79:20:1), sendo a polaridade gradualmente aumentada para CH_2Cl_2:MeOH:H_2O (10:78:12). Foram obtidos 94,0 mg de arctiina (**4**) (4´-*O*-glicopiranosídeo da arctigenina) e 320,0 mg do trachelosídeo (**5**) (4´-*O*-glicopiranosídeo da trachelogenina).

A caracterização das substâncias isoladas (Figura 1) foi possível pela análise dos dados espectrométricos de EM, IV, UV, RMN de ^1H e ^{13}C, COSY, HSQC, HMBC e NOESY, e comparação com aqueles encontrados na literatura (Gunatilaka *et al.*, 1984; Lima *et al.*, 1997; Flamini et al., 2001; Han *et al.*, 1994; Nishibe et al., 1993).

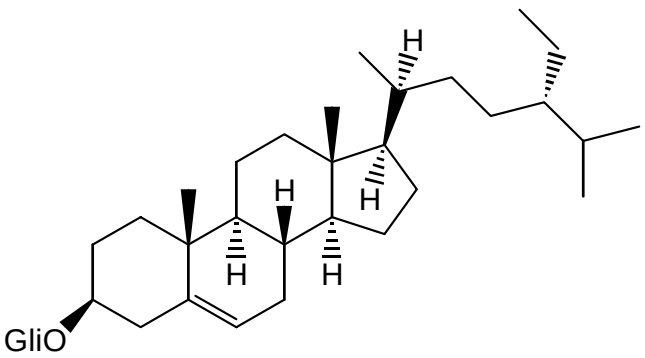
3. Atividade biológica

3.1. Atividade antimicrobiana

3.1.1. Microorganismo - Foram realizados testes de inibição microbiana para as bactérias gram positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25985) e gram



1 R= H; R_1= OH
2 R= R_1= H
4 R= Gli; R_1= H
5 R= Gli; R_1= OH



3

FIGURA 1 – Constituintes químicos isolados do extrato etanólico das partes aéreas de *I. cairica*.

negativa *Escherichia coli* (ATCC 25922). Para o crescimento e manutenção das linhagens foram utilizados caldo simples, ágar simples (com 0,5% de NaCl) e ágar Mueller Hinton (Acumedia Manufacturers, Inc. Baltimore, Maryland 212200), preparados conforme fabricante. A partir das culturas estoque, as bactérias foram repicadas, sendo então incubadas a 37ºC por 12 horas. Para o método de difusão em meio sólido, a cultura de bactéria foi ajustada para aproximadamente 1,5 x 10^8 bactérias/mL, Escala McFarland nº 0,5. Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), a cultura de concentração conhecida foi diluída em série, utilizando solução salina estéril até obtenção da suspensão contendo 10^3 UFC/mL. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3.1.2. Método de difusão em disco - O extrato etanólico bruto foi dissolvido em solução aquosa a 10% de DMSO para uma concentração final de 200,0 mg/mL. Discos de papel Whatmann com 6,0 mm de diâmetro foram impregnados com 100,0; 50,0 e 25,0 mL desta solução, para que fossem obtidas, respectivamente, 20,0; 10,0 e 5,0 mg/disco de concentração final do extrato analisado (Ali-Shtayen et al., 1998). O controle positivo foi feito com uma solução de cloranfenicol (Cecon) em DMSO aquoso (10%) a uma concentração de 30,0 mg/disco. O inóculo contendo 1,5 x 10^8 bactérias/mL de células foi espalhado, com swab, em placas de Petri, previamente impregnadas com o extrato e o antibiótico. As placas foram, então, incubadas a 37ºC por 24 horas.

3.1.3. Concentração inibitória mínima (CIM) - O extrato etanólico bruto foi dissolvido em solução aquosa de DMSO a 10%, para uma concentração final de 200,0 mg/mL (solução estoque). Várias diluições contendo 2000,0, 1000,0, 500,0 e 200,0 mL/mL foram preparadas em tubos contendo caldo simples, para obter, respectivamente, 40,0, 20,0, 10,0 e 4,0 mg/mL. Tubos contendo solução estoque sem inóculo e o meio inoculado sem extrato foram incluídos no teste como controles. Todos os tubos foram inoculados com 25,0 mL da cultura de microorganismo e incubados a 37ºC por 14 horas, após as quais os valores de CIM foram determinados utilizando a escala de McFarland (Miguel et al., 1996).

3.2. Ensaio de toxicidade a larvas de *Artemia salina* (BST)

O teste de letalidade a larvas de *A. salina* foi realizado de acordo com o método de Meyer (Meyer et al., 1982), simplificado. Resumidamente, ovos encistados de *A. salina* (Maramar) foram incubados em água marinha artificial. A cultura foi mantida a 28 ºC, sob luz e aeração constantes. As amostras (extrato etanólico bruto, frações e compostos isolados) foram dissolvidas em 200 mL de DMSO e completada a solução com 20 mL de água marinha artificial. Dessa solução foram preparadas diluições seriadas, em triplicata. Larvas em estágio metanauplii (10 unidades) foram adicionadas a cada tubo contendo as diluições e as culturas foram incubadas por 24 horas. Controles contendo 200 mL de DMSO e $K_2Cr_2O_7$ + DMSO foram incluídos no teste (controles negativo e positivo, respectivamente). Os valores de DL_{50} foram determinados em mg/mL, utilizando o programa PROBITOS.

RESULTADO E DISCUSSÃO

1. Estudo químico

As dibenzilbutirolactonas foram as primeiras lignanas descritas no gênero *Ipomoea*. Segundo Lima e colaboradores (1997), as lignanas trachelogenina (**1**) e arctigenina (**2**), são biossintetizadas como fitoalexinas, sugerindo assim, que essas desempenham um importante papel em interações alelopáticas. Estudos *in vitro* com culturas de células de *I. cairica* monitoraram a produção dessas lignanas sob diferentes condições experimentais, sendo a quantidade produzida de trachelogenina (**1**), relacionada com as condições de estresses, às quais as culturas foram submetidas (Páska et al., 1999). Neste trabalho, foram isoladas as lignanas trachelogenina (**1**), arctigenina (**2**), arctiina (**4**) e trachelosídeo (**5**) (Figura 1). Foram isolados também o 3-*O*-glicopiranosídeo do â-sitosterol (**3**), friedelina, â-sitosterol, 3â-friedelanol e sacarose, sendo os compostos **3** e **5** descritos pela primeira vez na espécie.

2. Atividade Antimicrobiana

O extrato etanólico bruto das partes aéreas de *I. cairica* foi avaliado em dois protocolos experimentais quanto à atividade antimicrobiana. Esse foi considerado ativo quando apresentou halo de inibição maior ou igual ao promovido pelo padrão cloranfenicol (20 mg/mL de cloranfenicol promove halo de inibição de 25 mm) medido a partir do centro do disco. O extrato, quando submetido ao método de difusão em disco, promoveu a inibição do crescimento do microorganismo *Staphylococcus aureus* a 20 e 10 mg/disco. A atividade antimicrobiana observada foi confirmada pelo método de concentração inibitória mínima (CIM) nas doses de 40 e 20 mg/mL. Nas mesmas concentrações não foi observada inibição da espécie *Escherichia coli* (Tabela 1).

3. Atividade Citotóxica

Meyer et al. (1982) classificaram extratos brutos como tóxicos quando apresentam $DL_{50} < 1000$ ppm (1 mg/mL) e não-tóxicos quando a $DL_{50} > 1000$

TABELA 1 - Atividade antimicrobiana do extrato etanólico das partes aéreas de *I. cairica*

Microorganismos	Difusão em disco (mg/disco)*			CIM (mg/mL)**			
	20	10	05	40	20	10	04
Staphylococcus aureus	+	+	-	+	+	-	-
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-	-

* + = halo de inibição maior ou igual a 25 mm (medido a partir do centro do disco);
** + = ausência de unidades formadoras de colônia (UFC)

ppm, de acordo com os níveis requeridos para DL_{50} no ensaio TAS. Nos experimentos realizados, foi utilizada essa classificação para extratos brutos. As frações e substâncias puras foram consideradas tóxicas quando apresentaram DL_{50} < 500ppm (0,5mg/mL) (Tabela 2). Baseando nesta classificação, o extrato etanólico bruto (DL_{50} = 104,4ppm; 0,10 mg/mL), as frações CH_3CN:$CHCl_3$ (DL_{50} = 251,57 ppm; 0,26 mg/mL) e aquosa (DL_{50} = 162,14 ppm; 0,16 mg/mL) foram então, considerados tóxicos a larvas de *Artemia salina*.

A metodologia de fracionamento biomonitorado permitiu a identificação dos constituintes citotóxicos da fração CH_3CN:$CHCl_3$, como sendo as substâncias trachelogenina (**1**) (DL_{50} = 83,28 ppm; 0,08 mg/mL) e arctigenina **(2**) (DL_{50} = 126,45 ppm; 0,13 mg/mL), previamente descritas (Páska et al., 1999) (Tabela 2). Os glicosídeos destas lignanas arctiina (**4**) e trachelosídeo (**5**), obtidos da fração aquosa, não apresentaram atividade citotóxica. Esses resultados permitem estabelecer uma relação estrutura-atividade, sugerindo assim, que a hidroxila na posição 4' das lignanas **1** e **2** esteja diretamente relacionada à toxicidade dessas substâncias.

CONCLUSÃO

O extrato etanólico bruto, frações e substâncias isoladas de *I. cairica*, em uma triagem preliminar, apresentaram atividades antimicrobiana e citotóxica significativas nas doses investigadas, o que pode justificar algumas das informações etnofarmacológicas dessa planta. A metodologia de biomonitoramento, utilizada nesse trabalho, permitiu detectar pelo método TAS, que a trachelogenina (**1**) e a arctigenina (**2**) são substâncias tóxicas presentes na fração CH_3CN:$CHCl_3$. Não foi constatada, nas condições do ensaio, a citotoxicidade das substâncias isoladas da fração aquosa, arctiina (**4**) (4´-*O*-glicopiranosídeo da arctigenina) e trachelosídeo (**5**) (4´-*O*-glicopiranosídeo da trachelogenina), fato que sugere que a 4´-*O*-glicosilação dessas substâncias leva a perda de suas propriedades tóxicas frente a larvas de *Artemia salina.*

Os compostos 3-*O*-glicopiranosídeo do â-sitosterol (**3**) e o trachelosídeo (**5**) isolados da fração aquosa das partes aéreas de *I. cairica*, ainda não haviam sido descritos para essa espécie.

AGRADECIMENTO

Ao Dr. José Dias de Souza Filho, Ivana Lula, Ângela Cristina Assunção e João Edmundo Guimarães por seus valiosos comentários e assistência técnica. Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

TABELA 2 - Atividade citotóxica do extrato etanólico, frações e substâncias obtidas das partes aéreas de *I. cairica*

Amostra	Origem	Rendimento[a]	DL_{50} [b] (ppm)	TR[c] (%)
Extrato etanólico	Partes aéreas	75,83	104,41	95
Fração hexânica	Extrato etanólico	11,37	> 500	-----
Fração CH_3CN:$CHCl_3$	Extrato etanólico	19,72	251,57	36
Fração aquosa	Extrato etanólico	43,22	162,14	56
Arctigenina	Fração CH_3CN:$CHCl_3$	0,68	83,28	109
Trachelogenina	Fração CH_3CN:$CHCl_3$	0,92	126,45	72
3-*O*-glicopiranosídeo do β-sitosterol	Fração CH_3CN:$CHCl_3$	0,20	> 500	-----
Arctiina	Fração aquosa	0,11	> 500	-----
Trachelosídeo	Fração aquosa	0,37	> 500	-----
$K_2Cr_2O_7$[d]		-----	90,88	100

[a] Rendimento em mg/g de material vegetal seco; [b] Dose letal para 50% da população; [c] Toxicidade relativa; [d] Controle.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALI-SHTAYEN, M.S. et al. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, **Journal of Ethnofharmacology**, v.60, p.265-71, 1998.

ALONSO, J.R. Estudios etnofarmacologicos del genero *Ipomoea*. 1988. Disponível em: <www.plantasmedicinales.org/>. Acesso em: 19/04/2005.

CHO-MINKYUNG et al. Arctigenin, a phenylpropanoid dibenzylbutyrolactone lignan, inhibits MAP kinases and AP-1 activation via potent MKK inhibition: the role in TNF-alpha inhibition. **International Immunopharmacology.** v.10/11, n.1419-29, 2004.

JANG, Y.P. et al. Arctigenin protects cultured cortical

neurons from glutamate-induced neurodegeneration by binding to kainate receptor. **Journal of Neuroscience Research**, v.68, n.2, p.233-40, 2002.

MIGUEL, O.G. et al. Antimicrobial activity of constituents isolated from *Lichnophora salicifolia* (Asteraceae), **Phytoteraphy Research**, v. 10, p.694-6, 1996.

FLAMINI, G.; ANTOGNOLI, E.; MORELLI, I. Two flavonoids and other compounds from the aerial parts of *Centaurea bracteata* from Italy. **Phytochemistry**, v.57, p.559-64, 2001.

FRANCO, I.J.; FONTANA, V.L. **Ervas & plantas:** a medicina dos simples. Erechim: Livraria Vida, 1997. 177p.

GUNATILAKA, A.A.L. et al. Terpenoid and biflavonoid constituents of *Calophyllum calaba* and *Garcinia spicata* from Sri Lanka, **Phytochemistry**, v.23, p.323-8, 1984.

HAN, B.H. et al. A butyrolactone lignan dimmer from *Arctium lappa*, **Phytochemistry**, v.37, p.1161-3, 1994.

LIMA, O.O.A.; BRAZ-FILHO, R. Dibenzylbutyrolactones lignans and coumarins from *Ipomoea cairica*, **Journal of Brazillian Chemical Society**, v.8, p.235-8, 1997.

MEYER, B.N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, p.31-4, 1982.

NISHIBE, S. et al. Lignans from Trach*elospermum axillare*. **Phytochemistry**, v.32, p.1579-81, 1993.

PÁSKA, C. et al. Lignan production by *Ipomoea cairica* callus cultures, **Phytochemistry**, v.52, p.879-83, 1999.

PEREDA-MIRANDA, R.; HERNÁNDEZ-CARLOS, B. HPLC isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from *Mexican scammony* root. **Tetrahedron**, v.58, p.3145-54, 2002.

PEREDA-MIRANDA, R. Biodynamic oligosaccharides from Convolvulaceae: Isolation, structural elucidation and biological activities. **Revista Latinoamericana de Química**, v.25, p.97-101, 1997.

PIO CORREA, M. **Dicionário da plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, IBDF, 1978. 1926p.

PROCÓPIO, S.O. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas dañinas de grande ocorrência no Brasil. III. *Galinsoga parviflora, Crotalaria incana, Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, v.21, n.1, p.1-9, 2003.

SCHRODER, H.C. et al. Differential in vitro anti-HIV activity of natural lignans. **Zeitschrift für Naturforschung**, n.45, v.11/12, p.1215-21, 1990.

TRUMM, S.; EICH, E. Cytostatic activities of lignanolides from *Ipomoea cairica*, **Planta Medica**, v.55, p.658-9, 1989.

THOMAS, T.G.; RAO, S.; LAL, S. Mosquito larvicidal properties of essential oil of an indigenous plant, *Ipomoea cairica* Linn. **Japanese Journal of Infectious Diseases,** v.57, n.1, p.176-7, 2004.