

CONSTITUINTES QUÍMICOS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DAS RAÍZES DE *Sabicea brasiliensis* Wernh (Rubiaceae)

Jucilene Cavalini Batista^a, Silvana Maria de Oliveira Santin^a, Ivânia T. Albrecht Schuquel^a, Laura Lícia Milani de Arruda^b, Ciomar Aparecida Bersani-Amado^b, Cecília Maria Alves de Oliveira^c, Lucilia Kato^c, Heleno Dias Ferreira^d e Cleuza Conceição da Silva^{a,*}

^aDepartamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá – PR, Brasil

^bDepartamento de Farmacologia e Terapêutica, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá – PR, Brasil

^cInstituto de Química, Campus Samambaia, Universidade Federal de Goiás, 74001-970 Goiânia – GO, Brasil

^dDepartamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Campus Samambaia, Universidade Federal de Goiás, 74001-970 Goiânia – GO, Brasil

Recebido em 22/08/2013; aceito em 29/01/2014; publicado na web em 27/03/2014

CHEMICAL CONSTITUENTS AND EVALUATION OF ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF ROOTS OF *Sabicea brasiliensis* Wernh (Rubiaceae). The phytochemical investigation of *Sabicea brasiliensis* roots led to the isolation of 5-*O*-caffeoylquinic acid, 3,5- and 4,5-*O*-dicaffeoylquinic acids, scopoletin, ursolic acid, a mixture of β -sitosterol, stigmasterol and campesterol, daucosterol and saccharose. The structures of the isolated compounds were assigned on the basis of one- and two-dimensional NMR spectroscopic methods and by comparison with literature data. The anti-inflammatory and antioxidant activities of the crude methanolic extract and its fractions were analyzed.

Keywords: *Sabicea brasiliensis*; caffeoylquinic acid; anti-inflammatory activity.

INTRODUÇÃO

O gênero *Sabicea*, pertencente à família Rubiaceae, à subfamília *Ixoroideae* e à tribo *Sabiceae*, é composto por aproximadamente 100 espécies distribuídas pela América Tropical e África, sendo que cerca de 45 a 50 espécies estão presentes na região neotropical.¹ Espécies deste gênero são usadas na medicina popular para o tratamento da dor de estômago e de dente, disenteria, malária, reumatismo, prisão de ventre, epilepsia, febre, vômitos, insônia e ainda para combater doenças venéreas e como depurativo do sangue, além do uso como adoçante.² Entretanto, apesar do amplo uso popular de plantas deste gênero, apenas *Sabicea grisea* foi estudada fitoquimicamente.

Das folhas desta espécie foi isolado o octacosanol,³ composto detentor de atividades biológicas importantes como antioxidante, ergogênica e antiparkinsoniana,⁴ sendo que o extrato bruto e a fração hexânica de onde ele foi retirado apresentaram atividades antinociceptiva e anti-inflamatória, com inibição da dor induzida por ácido acético em camundongos, assim como o próprio octacosanol.³

A espécie *Sabicea brasiliensis* é um arbusto com aproximadamente 80 cm de altura conhecido popularmente como sangue-de-cristo, de ocorrência nas regiões de cerrado do Brasil¹ que, além de ser usado pela população essencialmente como alimento,⁵ é empregado no tratamento de infecções nos órgãos genitais de mulheres.⁶ Esta espécie possui leveduras que são aplicadas no controle de doenças pós-colheita em laranja e pêssego.⁷

A escassez de estudos químicos com espécies do gênero *Sabicea*, a ausência dos mesmos acerca da espécie *S. brasiliensis* e os interessantes usos populares que tais plantas possuem motivaram a realização do presente trabalho, no qual é relatado o isolamento e identificação de três ácidos cafeoilquínicos, uma cumarina, um triterpeno, três esteroides, um esteroide glicosilado e um dissacarídeo. Com base no uso popular desta espécie em infecções genitais, a avaliação da atividade anti-inflamatória foi efetuada e, também, devido ao isolamento

de compostos fenólicos da classe dos ácidos cafeoilquínicos, foi realizado teste para deferir o potencial antioxidante do extrato bruto e frações de *S. brasiliensis*.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de RMN (uni- e bidimensionais) foram obtidos em espectrômetro Varian, modelo Mercury plus BB, operando a 300 MHz para ¹H e 75 MHz para ¹³C. Os deslocamentos químicos foram dados em ppm, tendo como referência interna o tetrametilsilano TMS ($\delta = 0,0$ ppm) ou o próprio solvente. Os solventes utilizados foram CD₃OD e CDCl₃ (Aldrich ou Isotec). Nas separações por cromatografias de adsorção utilizou-se gel de sílica 60 (0,063-0,200 mm, Merck), enquanto nos fracionamentos cromatográficos por exclusão molecular foi empregado Sephadex LH-20 como fase estacionária. Nas análises por cromatografia em camada delgada (CCD) empregou-se gel de sílica 60 G e 60 GF₂₅₄ (Merck). A visualização dos compostos em CCD foi realizada por irradiação com luz ultravioleta em 254 e 366 nm e/ou por aspersão com solução de H₂SO₄/MeOH (1:1), H₂SO₄/anisaldeído/ácido acético (1:0,5:50 mL) seguido de aquecimento. As estruturas das substâncias isoladas foram definidas com base na análise dos dados espectroscópicos de RMN ¹H e ¹³C uni- e bidimensionais e na comparação dos dados obtidos com os registrados na literatura. A absorvância das amostras no ensaio de atividade antioxidante foi determinada em espectrofotômetro UV-VIS-Cary 50 VARIAN operando a 515,5 nm. Os pontos de fusão (p. f.) das substâncias isoladas foram determinados em um aparelho de ponto de fusão Microquímica, modelo MQAPF-301.

Material vegetal

As raízes de *Sabicea brasiliensis* foram coletadas no cerrado da cidade de Goiânia (Goiás) em maio de 2010 pelo botânico Prof.

*e-mail: ccsilva@uem.br

Dr. Heleno Dias Ferreira. A excisada do material vegetal encontrada-se depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás sob o número 48089.

Isolamento dos constituintes químicos

As raízes de *S. brasiliensis* (304,5 g) foram secas, cortadas e submetidas à extração exaustiva com metanol a frio, fornecendo 25,4 g de extrato bruto. Parte deste (20,4 g) foi dissolvido em MeOH:H₂O 1:1 e submetido à partição em hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol, resultando nas frações hexânica (994,1 mg), clorofórmica (798,5 mg), acetato de etila (1,3 g), butanólica (9,9 g) e a remanescente hidrometanólica (1,8 g).

Parte da fração acetato de etila (593,0 mg) foi submetida a uma cromatografia por exclusão em coluna de Sephadex LH-20 ($\varnothing = 1,5$ cm; 5,0 g) eluída por MeOH, resultando em 93 frações. Da subfração 21-22 foi isolada a substância **1** (7,2 mg). A subfração 34-41 (83,1 mg) foi fracionada em coluna cromatográfica de Sephadex LH-20 ($\varnothing = 1,0$ cm; 3,0 g) usando como eluentes H₂O, H₂O:MeOH 25, 50 e 75% e MeOH em gradiente decrescente de polaridade levando ao isolamento da substância **2** (3,3 mg) eluída em H₂O:MeOH 25% e da mistura de substâncias **3** e **4** (3,3 mg) na polaridade H₂O:MeOH 50%.

Outra parte da fração acetato de etila (473,5 mg) foi submetida a uma cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 ($\varnothing = 1,5$ cm; 5,0 g) usando como eluentes água e metanol nas proporções H₂O, H₂O:MeOH 25, 50 e 75% e MeOH em gradiente decrescente de polaridade, levando ao isolamento da substância **5** (5,1 mg; H₂O:MeOH 50%) e da mistura de substâncias **3** e **4** (20,8 mg; MeOH 100%).

Parte da fração clorofórmica (747,9 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica 60 ($\varnothing = 1,5$ cm; 22,0 g) eluída com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol em gradiente crescente de polaridade. A subfração resultante CHCl₃:AcOEt 15% (29,2 mg) foi submetida a uma cromatografia por exclusão em coluna de Sephadex LH-20 ($\varnothing = 1,0$ cm; 3,0 g) eluída com MeOH, levando ao isolamento da substância **6** (2,1 mg).

Parte da fração hexânica (433,1 mg) foi fracionada em coluna cromatográfica de gel de sílica 60 ($\varnothing = 1,5$ cm; 20,0 g), eluída com hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade crescente. A fração hexano:AcOEt 10% (12,0 mg) apresentou perfil cromatográfico simples em CCD e foi lavada sucessivamente com metanol, acetato de etila, clorofórmio e hexano com o consequente isolamento da mistura de substâncias **7**, **8** e **9** (3,1 mg) da parte solúvel em acetato de etila.

Parte da fração butanólica (600,0 mg) foi submetida a uma cromatografia por exclusão em coluna de Sephadex LH-20 ($\varnothing = 1,5$ cm; 5,0 g) eluída com MeOH, o que levou ao isolamento da substância **2** (3,6 mg).

Uma segunda parte da fração butanólica (8,40 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna de gel de sílica 60 ($\varnothing = 5,0$ cm; 225,0 g) dopada com NH₄OH e eluída com hexano, clorofórmio e metanol em gradiente crescente de polaridade. A subfração CHCl₃:MeOH 50% permitiu o isolamento da substância **10** (313,2 mg).

Avaliação da atividade antioxidante

Os testes de atividade antioxidante foram realizados para o extrato bruto metanólico e frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrometanólica. Os potenciais de atividade antioxidante foram determinados com base na atividade sequestradora de radical livre do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).⁸ As amostras foram adicionadas em diferentes concentrações à 2 mL de uma solução de DPPH em metanol (2,84.10⁻⁴ mol L⁻¹). Após 30 min a absorvância foi determinada em espectrofotômetro, empregando metanol como

branco. Os testes foram realizados em triplicata. Uma solução de DPPH sem adição das amostras foi utilizada como controle. O BHT foi utilizado como padrão. A capacidade sequestradora de radicais livres foi determinada utilizando a análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% (P<0,05).

Avaliação da atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton,⁹ em camundongos Swiss machos (25-30 g). O edema de orelha foi induzido pela aplicação tópica de 20 μ L de óleo de cróton comercial Sigma Aldrich (OC, 200 μ g) diluído em acetona/água (7:3) na superfície interna da orelha esquerda do camundongo. A orelha direita recebeu apenas o veículo (20 μ L de acetona 70% ou clorofórmio). Imediatamente após a aplicação do OC, grupos de animais receberam aplicação tópica de 20 μ L de uma solução dos extratos brutos das raízes de *S. brasiliensis* ou de suas frações na superfície interna da orelha esquerda (5 mg/orelha). Após 6 h, os animais foram anestesiados, sacrificados e as orelhas seccionadas em discos circulares de 7,0 mm de diâmetro. Estas secções foram pesadas em uma balança analítica. A indometacina foi utilizada como controle positivo. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). A comparação estatística dos dados foi realizada através da análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey (p < 0,05 foi considerado como nível de significância). A porcentagem da inibição do edema foi determinada pela Equação 1:

$$(\%) \text{ de inibição} = \frac{\text{peso das orelhas inflamadas (OC+V)} - \text{peso das orelhas tratadas}}{\text{peso das orelhas inflamadas (OC+V)} - \text{peso da orelha não inflamada (V)}} \times 100 \quad (1)$$

Avaliação da atividade da mieloperoxidase (MPO)

A atividade da mieloperoxidase (MPO) foi avaliada no sobrenadante de homogenizados das secções de orelhas, que receberam todos os tratamentos especificados no item anterior. O tecido da orelha foi colocado em tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0), contendo 0,5 % de brometo de hexadeciltrimetilamônio (Sigma Aldrich; 1 mL/50 mg de tecido) em homogeneizador (60 s à 0° C).⁹ O homogenizado foi agitado em vórtex e centrifugado por 5 min a 2500 rpm. Dez (10) μ L do sobrenadante obtido foram adicionados em microplaca de 96 cavidades, em triplicata, sendo a seguir, adicionados 200 μ L de uma solução tampão contendo dihidroclorato de *o*-dianisidina (Sigma Aldrich; 16,7 mg), água bidestilada (90 mL), tampão fosfato de potássio e H₂O₂ 1% (50 μ L). A reação foi interrompida com solução de acetato de sódio 1,46 M (pH = 3,0) e a atividade da enzima foi determinada pela técnica de ponto final com base na medida de absorvância em comprimento de onda de 460 nm. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey. A porcentagem de redução na atividade da enzima mieloperoxidase foi determinada pela Equação 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico das raízes de *Sabicea brasiliensis* resultou no isolamento do ácido 5-*O*-cafeoilquínico¹⁰ (**2**) e de uma mistura dos ácidos 4,5 e 3,5-*O*-dicafeoilquínicos (**3** e **4**),¹¹ da cumarina escopoletina (**6**),¹² do triterpeno ácido ursólico (**1**),¹³ dos esteroides β -sitosterol (**7**), estigmasterol (**8**) e campesterol (**9**),¹⁴ do esteroide glicosilado daucosterol (**5**)¹⁵ e do dissacarídeo α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranosídeo conhecido como sacarose (**10**)¹⁶ (Figura 1), sendo todos inéditos no gênero *Sabicea* e na tribo *Sabiceae*. As estruturas das

substâncias isoladas foram elucidadas a partir de análises dos dados espectroscópicos (RMN ^1H e ^{13}C , DEPT 135°, COSY ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$), HSQC, HMBC, NOESY) e por comparação com os dados da literatura.

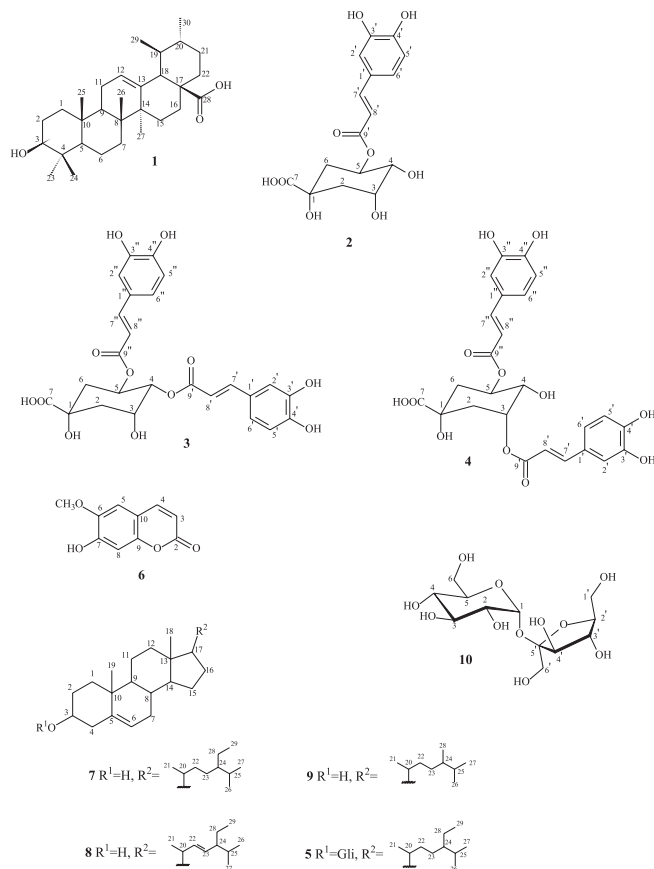


Figura 1. Estruturas dos metabólitos secundários isolados de *S. brasiliensis*

O composto **2** foi isolado da fração acetato de etila sob a forma de um óleo amarelo solúvel em metanol e caracterizado como o ácido 5-*O*-cafeoilquínico por meio da comparação dos dados espectroscópicos de RMN com os descritos na literatura.¹⁰ No espectro de RMN de ^1H de **2** foram observados sinais de uma unidade cafeoila, como os dupletos em δ_{H} 6,28 (H-8') e 7,58 (H-7') característicos de hidrogênios *trans* ($J = 15,9$ Hz) de sistema carbonílico $\alpha\beta$ -insaturado, além de sinais correspondentes a anel aromático 1,3,4-trissubstituído em δ_{H} 7,03 (H-2'), 6,78 (H-5') e 6,93 (H-6'). O grupo quínico apresentou sinais de hidrogênios oximetílicos de δ_{H} 1,98 a 2,24 (H-2 e H-6) e oximetínicos em δ_{H} 4,16 (*dl*, $J = 3,0$ Hz, H-3), 3,70 (*dd*, $J = 10,0$ e 3,0 Hz, H-4) e 5,36 (*ddd*, $J = 10,0$; 10,0 e 4,2 Hz, H-5), sendo que a posição do grupo cafeoila em C-5 do esqueleto ácido quínico foi inferida com base no efeito de desproteção observado para H-5 quando comparado ao H-3, aliado às constantes de acoplamento características dos mesmos. No espectro de RMN de ^{13}C pode-se verificar os sinais de um grupo carbonila da unidade cafeoila em δ_{C} 168,8 e de um carbono carboxílico do grupamento quínico em δ_{C} 179,1. O mapa de contornos NOESY apresentou correlações entre o hidrogênio H-3 e H-4, indicando que ambos estão na mesma face do anel, ao passo que a falta de correlação entre o H-4 e H-5 demonstra que eles estão em faces opostas, confirmando a estereoquímica proposta.

As substâncias **3** e **4** foram isoladas em mistura da fração acetato de etila como óleo amarelo solúvel em metanol sendo caracterizadas como os ácidos 4,5-*O*-dicafeoilquínico e 3,5-*O*-dicafeoilquínico por meio da comparação dos dados espectroscópicos de RMN com os descritos na literatura¹¹ (Tabela 1). O espectro de RMN de ^1H da

mistura apresentou sinais de quatro unidades cafeoila. Primeiramente, para a substância **3**, foram observados sinais em δ_{H} 7,51 e 6,28 (*d*, H-7' e H-8') e δ_{H} 7,59 e 6,18 (*d*, H-7'' e H-8'') referentes à quatro hidrogênios vinílicos *trans* ($J = 15,9$ Hz) da unidade cafeoila. Os sinais dos hidrogênios oximetínicos do grupamento quínico foram observados em δ_{H} 5,11 (*dd*, $J = 9,1$ e 3,0 Hz, H-4), δ_{H} 5,61 (*ddd*, $J = 9,1$; 9,1; 5,3 Hz, H-5) e δ_{H} 4,36 (*ddd*, $J = 4,4$; 3,0; 3,0, H-3), sendo que o efeito de desproteção observado para os hidrogênios H-4 e H-5 em comparação com H-3 aliado às multiplicidades e constantes de acoplamento apontam para a substituição nas posições 4 e 5 do grupo quínico (Tabela 1). A confirmação dos grupos cafeoila e do esqueleto do ácido quínico foi baseada nos espectros de RMN de ^{13}C (Tabela 1), sobretudo, pelos sinais de dois grupos carbonilas das unidades cafeoila em δ_{C} 168,9 e 168,5 e do grupo carboxila da unidade quínica em δ_{C} 177,7. Da mesma forma, notou-se para o composto **4** sinais de dois outros grupos de hidrogênios vinílicos *trans* ($J = 15,9$ Hz), com integração menor que a observada para **3**, em δ_{H} 7,61 e 6,34 (*d*, H-7' e H-8') e δ_{H} 7,57 e 6,26 (*d*, H-7'' e H-8''), atribuídos ao grupo cafeoila. Para o grupo quínico, a desproteção nos deslocamentos químicos dos hidrogênios oximetínicos H-3 e H-5 em δ_{H} 5,37 (*dl*, $J = 7,0$ Hz) e 5,41 (*ddd*, $J = 3,3$; 7,0 e 7,1 Hz) em comparação com H-4 em δ_{H} 3,96 (*dd*, $J = 3,96$ Hz) aliadas às multiplicidades e constantes de acoplamento explicaram a substituição nas posições 3 e 5 do grupo quínico. O composto **4** apresentou, no espectro de RMN de ^{13}C , sinais de dois grupos carbonilas das unidades cafeoila em δ_{C} 168,3 e do grupo carboxila em δ_{C} 177,3 (Tabela 1). Para ambas as substâncias foram verificados sinais de 12 hidrogênios ligados a anel aromático que remetem à presença de 4 anéis 1, 3 e 4 substituído. No mapa de contornos HMBC ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$) foram observadas as

Tabela 1. Dados de RMN de ^1H e de ^{13}C para as substâncias **3** e **4**

	3		4	
	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C}
1	-	76,2	-	74,8
2	2,05-2,35 (<i>m</i>)	39,4	2,05-2,35 (<i>m</i>)	38,4
3	4,36 (<i>ddd</i> , 3,0; 3,0; 4,4)	69,5	5,37 (<i>dl</i> , 7,0)	72,1
4	5,11 (<i>dd</i> , 3,0; 9,1)	75,8	3,96 (<i>dd</i> , 3,3; 7,1)	70,7
5	5,61 (<i>ddd</i> , 5,3; 9,1; 9,1)	69,1	5,41 (<i>ddd</i> , 3,3; 7,0; 7,1)	72,6
6	2,05-2,35 (<i>m</i>)	38,4	2,05-2,35 (<i>m</i>)	36,1
7	-	177,7	-	177,3
1'	-	127,7	-	127,9
2'	7,00 (<i>d</i> , 2,1)	115,1	7,06 (<i>d</i> , 1,5)	115,1
3'	-	149,6	-	149,6
4'	-	147,3	-	147,7
5'	6,73 (<i>d</i> , 8,1)	116,5	6,78 (<i>d</i> , 8,1)	116,5
6'	6,90 (<i>dd</i> , 2,1; 8,1)	123,2	6,98 (<i>dd</i> , 2,1; 8,1)	123,2
7'	7,51 (<i>d</i> , 15,9)	147,7	7,61 (<i>d</i> , 15,9)	147,6
8'	6,28 (<i>d</i> , 15,9)	115,1	6,34 (<i>d</i> , 15,9)	115,6
9'	-	168,9	-	168,3
1''	-	127,8	-	127,6
2''	7,02 (<i>d</i> , 2,1)	115,1	7,05 (<i>d</i> , 1,5)	115,2
3''	-	149,5	-	149,6
4''	-	147,1	-	147,6
5''	6,74 (<i>d</i> , 8,1)	116,5	6,79 (<i>d</i> , 8,1)	116,5
6''	6,91 (<i>dd</i> , 2,1; 8,1)	123,2	6,95 (<i>dd</i> , 2,1; 8,1)	123,2
7''	7,59 (<i>d</i> , 15,9)	147,7	7,57 (<i>d</i> , 15,9)	147,6
8''	6,18 (<i>d</i> , 15,9)	114,6	6,26 (<i>d</i> , 15,9)	114,7
9''	-	168,5	-	168,3

correlações, para a substância **3**, entre carbonos carbonílicos C-9' e C-9'' com os hidrogênios H-4 e H-5 do grupo quínico, confirmando o posicionamento dos substituintes cafeoila nas posições 4 e 5 deste grupo. Para **4**, as correlações entre os carbonos carbonílicos C-9' e C-9'' com os hidrogênios H-3 e H-5 do grupo quínico demonstram o posicionamento dos substituintes cafeoila nas posições 3 e 5 de tal grupo. No mapa de contornos NOESY de **3** e **4** foram observadas as mesmas correlações descritas para a substância **2**, consolidando a estereoquímica proposta.

As substâncias **1** e **5** foram isoladas da fração acetato de etila como sólidos brancos solúveis em clorofórmio e caracterizadas como o triterpeno ácido ursólico¹³ e o esteroide glicosilado daucosterol¹⁵ a partir da comparação com a literatura de seus dados espectroscópicos de RMN e de seus pontos de fusão de 253,2- 256,3 °C (lit. 269,1 °C)¹⁷ e 265,1-267,4 °C (lit. 287-289 °C),¹⁸ respectivamente.

Os dados de RMN da substância **6**, isolada da fração clorofórmica sob a forma de um óleo viscoso amarelo solúvel em clorofórmio, foram concordantes com os constantes na literatura¹² para a escopoletina.

A mistura de substâncias **7**, **8** e **9** foi caracterizada como sendo constituída pelos esteroides sitosterol, estigmasterol e campesterol¹⁴ isolados da fração hexânica sob a forma de um sólido branco solúvel em clorofórmio através da comparação com a literatura de seus dados espectroscópicos de RMN e de seu ponto de fusão entre 172,3-177,0 °C (lit. 181-184 °C).¹⁹

Por fim, o composto **10** foi identificado como sendo o dissacarídeo α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranosídeo, conhecido como sacarose, de acordo com a comparação dos dados espectroscópicos de RMN com a literatura,¹⁶ se apresentando como um óleo amarelo, solúvel em metanol.

Todos esses compostos estão sendo relatados pela primeira vez no gênero *Sabicea* e na tribo *Sabiceae*, porém, na subfamília *Ixoroideae* há relatos do isolamento da escopoletina de *Augusta longifolia*,²⁰ do ácido 5-*O*-cafeoilquínico e ácidos 3,5- e 4,5-*O*-dicafeoilquínico de *Coffea arabica*,²¹ além do triterpeno ácido ursólico de *Duroia macrophylla*.²²

O extrato bruto metanólico e suas frações provenientes de partição foram avaliados como antioxidantes pelo método do DPPH, muito empregado para medir a capacidade sequestradora de radicais livres de produtos naturais.⁸ Comparando-se os valores de IC₅₀ do extrato bruto (59,6 μ g mL⁻¹) e da fração acetato de etila (31,9 μ g mL⁻¹) com o do padrão BHT (16,9 μ g mL⁻¹), percebe-se que o efeito antioxidante é moderado no extrato bruto e mais pronunciado na fração acetato de etila, provavelmente devido à presença nessa fração dos ácidos 5-*O*-cafeoilquínico, 3,5- e 4,5-*O*-dicafeoilquínicos, que apresentam esse tipo de potencial descrito na literatura.²³ As demais frações apresentaram IC₅₀ superior a 100 μ g mL⁻¹, mostrando-se inativas em comparação com o BHT.

Na avaliação da atividade anti-inflamatória de moléculas sintéticas e extratos vegetais, a técnica de formação de edema de orelha em camundongos é comumente utilizada e foi empregada nesse estudo como um dos modelos para avaliar a atividade anti-inflamatória de *S. brasiliensis*. O óleo de cróton, usado como agente flogístico, induz uma resposta inflamatória caracterizada por formação de edema e infiltração de leucócitos a partir da ativação da enzima fosfolipase A2 e consequentemente da biossíntese de LT, PGs e citocinas.²⁴ Neste ensaio, o extrato bruto e as frações não interferiram no desenvolvimento da resposta. Outra técnica utilizada para a avaliação da atividade anti-inflamatória é a de migração celular e foi empregada como segundo modelo nesse trabalho. A mieloperoxidase (MPO), uma enzima derivada de leucócitos que catalisa a formação de numerosas espécies reativas oxidantes,²⁵ é considerada uma macromolécula-chave na resposta imunológica inespecífica a muitos

agentes invasores, especialmente bactérias, sendo que uma maior atividade observada na enzima mieloperoxidase indica a migração de células polimorfonucleares para o local inflamado.²⁶ A aplicação do extrato bruto e das frações hexânica, clorofórmica e hidrometanólica (5,0 mg/orelha) não interferiram na atividade da MPO, porém, um aumento na atividade desta enzima foi observado no grupo OC, mas não no grupo tratado com as frações acetato de etila e butanólica (5,0 mg/orelha) sugerindo o efeito inibitório (53,20% e 56,35%) destas frações sobre o recrutamento de neutrófilos. Desta forma pode-se considerar que as frações acetato de etila e butanólica das raízes de *Sabicea brasiliensis* apresentam uma atividade anti-inflamatória significativa no modelo de migração celular.

A atividade anti-inflamatória dos ácidos 5-*O*-cafeoilquínico e 4,5-*O*-dicafeoilquínico e do ácido ursólico são descritos na literatura²⁷ e a presença destes nas raízes de *S. brasiliensis* contribuiu para a atividade observada nas frações acetato de etila e butanólica no modelo de migração celular. O isolamento destes compostos nesta espécie pode embasar o uso popular da mesma no tratamento de infecções nos órgãos genitais de mulheres.⁶

CONCLUSÃO

Todos os compostos isolados das raízes de *S. brasiliensis* são descritos pela primeira vez no gênero *Sabicea* e na tribo *Sabiceae*, sendo que a presença de ácidos cafeoilquínicos, triterpenos e cumarinas foi verificada em espécies de outras tribos da subfamília *Ixoroideae*. As frações acetato de etila e butanólica apresentaram atividade anti-inflamatória significativa no modelo de migração celular. Na avaliação da atividade antioxidante, o extrato bruto e a fração acetato de etila tiveram efeito pronunciado em comparação com o padrão BHT.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Os espectros de RMN uni- e bidimensionais das substâncias **2**, **3** e **4** e os dados espectroscópicos das substâncias **1** a **6** encontram-se disponíveis na forma de arquivo PDF, disponível em <http://quimica-nova.sbq.org.br>, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Às instituições de fomento à pesquisa Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro e pelas bolsas de estudo e de pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Delprete, P. G.; Smith, L. B.; Klein, R. M.; *Flora ilustrada Catarinense: Rubiaceas*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2005. Vol. 2.
2. Awad, R.; Ahmed, F.; Bourbonnais-Spear, N.; Mullally, M.; Ta, C. A.; Tang, A.; Merali, Z.; Maquin, P.; Caal, F.; Cal, V.; *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *125*, 257; Valadeau, C.; Castillo, J. A.; Sauvain, M.; Lores, A. F.; Bourdy, G.; *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *127*, 175; Roumy, V.; Garcia-Pizango, G.; Gutierrez-Choquevilca, A. L.; Ruiz, L.; Jullian, V.; Winter-ton, P.; Fabre, N.; Moulis, C.; Valentin, *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *112*, 482; Joly, L. G.; Guerra, S.; Septimo, R.; Solfsb, P. N.; Correa, M. D. A.; Guptab, M. P.; Levyd, S.; Sandbergd, F.; *J. Ethnopharmacol.* **1990**, *28*, 191; Hirschmann, G. S.; Farias A. R. A.; *J. Ethnopharmacol.* **1990**, *29*, 159; Rodrigues, V. E. G.; *Ciênc. Agrotec.* **2001**, *25*, 102; Schultes, R. E.; *J. Ethnopharmacol.* **1985**, *14*, 105; Pomilio, A. B.; Vitale A. A.; Ciprian-Ollivier, J.; Cetkovich-Bakmas, M.; Gómez, R.; Vázquez, G.; *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *65*, 29.

3. Oliveira, A. M.; Conserva, L. M.; Ferro, J. N. de S.; Brito, F. M.; Lemos, R. P. L.; Barreto, E.; *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 1598.
4. Wang, T.; Liu Y.; Wang, X.; Yang, N.; Zhu, H.; Zuo, P.; *Acta Pharmacol. Sin.* **2010**, *31*, 765.
5. Cavéchia, L. A.; Proença, C. E. B.; *Heringeriana* **2007**, *1*, 11.
6. Almeida, M. G.; Rigonato, V. D.; Programa Centro Oeste de Pesquisa e Pós-Graduação – POCPG/CNPq; *Relatório de pesquisa*, 2001.
7. Sperandio, E. M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de Brasília, Brasil, 2012.
8. Borges, M. F. M.; Ferreira, M. A.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 94.
9. Van Arman, G. C.; *Clin. Pharmacol. Ther.* **1974**, *16*, 900.
10. Satake, T.; Kamiya, K.; An, Y.; Oishi, T. Yamamoto, J.; *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, *30*, 935; Testa, G.; Oliveira, P. R. N. de; Silva, C. C. da; Schuquel, I. T. A.; Santin, S. M. O.; Kato, L.; Oliveira, C. M. A. de; Arruda, L. L. M. de; Bersani-Amado, C. A.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 527.
11. Meira, M.; David, J. M. David, J. P.; Araújo, S. V.; Regis, T. L.; Giuliatti, A. M.; Queiróz, L. P.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 751; Cheminat, A.; Zawatsky, R.; Becher, H.; Brouillard, R.; *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2787; Oliveira, P. R. N. de; Testa, G.; Sena, S. B. de; Costa, W. F. da; Sarragiotto, M. H.; Santin, S. M. O.; Souza, M. C.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 755.
12. Bayoumi, S. A. L.; Rowan, M. G.; Beeching J. R.; Blagbrough, I. S.; *Phytochemistry* **2010**, *71*, 598.
13. Seebacher, W.; Simic, N.; Weis, R.; Saf R.; Kunert, O.; *Magn. Reson. Chem.* **2003**, *41*, 636.
14. Goulart, M. O. F.; Sant'ana, A. E. G.; Lima, R. A.; Calvacante, S.; *Quim. Nova* **1993**, *16*, 95.
15. Lendl, A.; Werner, I.; Glasl, S.; Kletter, C.; Mucaji, P.; Presser, A.; Reznicek, G.; Jurenitsch, J.; Taylor, D.; *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2381.
16. Mocellini, S. K.; Silva, V. C.; Ndiaye, E. A.; Sousa Jr, P. T. E Vieira, P.C.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 131.
17. Silva, F. de O; Oliveira, I. R. de; Silva, M. G. de; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 1874.
18. Zhi-Ming, B.; Zheng-Tao, W.; Luo-Shan, X.; *Acta Bot. Sin.* **2004**, *46*, 124.
19. Costa, T. de O. G.; Almeida, R. H. F. de; Koolen, H. H. F.; Silva, F. M. A. da; Pinto, A. C.; *Acta Amazonica* **2012**, *42*, 557.
20. Choze, R.; Delprete, P. G.; Liao, L. M.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2010**, *20*, 295.
21. Clifford, M. N.; Zheng, W.; Kuhnert, N.; *Phytochem. Anal.* **2006**, *17*, 384.
22. Martins, D.; Carrion, L. L.; Ramos, D. F.; Salomé, K.; S.; Silva, P. E.; Barison, A.; Nunez, C. V.; *Biomed Res. Int.* **2013**, *2013*, 1.
23. Kayano, S.; Kikuzaki, H.; Fukutsuka, N.; Mitani, T.; Nakatani, N.; *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3708; Hung, T. M.; Na, M.; Thuong, P. T.; Duy Su, N.; Sok, D.; Song, K. S.; Seong, Y. H.; Bae, K.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *108*, 188; Soh, Y.; Kim, J.; Sohn, N. W.; Lee, K. R.; Kim, S. Y.; *Biol. Pharm. Bull.* **2003**, *26*, 803.
24. Otuki, M. F.; Vieira-Lima, F.; Malheiros, A.; Yunes, R. A.; Calixto, J. B.; *Eur. J. Pharmacol.* **2005**, *507*, 253.
25. Roman, R. M.; Wendland, A. E.; Polanczyk, C. A.; *Arq. Bras. Cardiol.* **2008**, *91*, 12.
26. Ignoato, M. C; Fabrão, R. M.; Schuquel, I. T. A.; Botelho, M. F. P.; Santin, S. M.; Arruda, L. L. M.; Bersani-Amado, C. A.; Souza, M. C.; *Quim. Nova* **2012**, *35*, 2241.
27. Santos, M. D.; Chen, G.; Almeida, M. C.; Soares, D. M.; Souza, G. E. P.; Lopesa, N. P; Lantz, C. *Nat. Prod. Commun.* **2010**, *5*, 733; Tatefuji, T.; Izumi, N.; Ohta, T.; Arai, S.; Ikeda, M.; Kurimoto, M.; *Biol. Pharm. Bull.* **1996**, *19*, 966; Banno, N.; Akihisa, T.; Tokuda, H.; Yasukawa, K.; Higashihara, H.; Ukiya, M.; Watanabe, K.; Kimura, Y.; Hasegawa, J.; Nishino, H.; *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **2004**, *68*, 85.