

mente antes do uso e administradas via oral, nas doses de 1 mg/kg (▨ ou ▣), 10 mg/kg kg (▩ ou ●) e 30 mg/kg kg (▧ ou ▲). A coluna com barra branca representa o número de contorções abdominais do grupo não tratado com o extrato. Cada ponto representa a média ± d.p.

Material e Métodos

O açaí foi coletado no Distrito de Imperatriz, Maranhão, Brasil. A identificação botânica foi feita pelo Prof. Emílio Goeldi e uma amostra está depositada no Herbário Atipo Ceabra SLS-017213, com o número 179. O extrato etanólico de flores (ETFA) e espigas (ETEA) foi diluído em DMSO (100 mg/ml). As doses foram de 1, 10 e 30 mg/kg (em PBS), administradas via oral. Os extratos foram avaliados nos modelos de contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste de retirada da cauda e da placa quente. Os resultados obtidos nos testes da retirada da cauda e placa quente foram expressos como índice de analgesia calculado de acordo com a fórmula: $(\text{tempo de latência} - \text{linha de base}) / \text{cut-off} - \text{linha de base}$, onde a linha de base é a média das medidas controle e o "cut-off" é linha de base x 3. Os resultados obtidos no modelo de contorções abdominais foram expressos como número total de contorções abdominais. Cada experimento foi realizado pelo menos 2 vezes, com n=10. Para a análise estatística foi utilizado o teste t de Student, onde * p < 0,05.

Agradecimentos

Ao Sr. Antonio Vicente C. Leite pela assistência técnica. Ao apoio financeiro da CAPES (bolsa para BGM), FAPERJ, PRONEX e UNIGRANRIO.

Referências

- Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Plantas fibrosas – I: Levantamento botânico na microregião da Salgado (Pará, Brasil). Belém. 1987: 1
- Plosker GL, Brogden RN. *Serenoa repens* (Permixon). A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in benign prostatic hyperplasia. *Drugs Aging* 1996: 379 - 395
- Ferreira VLP, Yokomizo Y. Possible use of the heart of the Euterpe palm as a human food. *Colet. Inst. Tecnol. Aliment.* 1978: 27 - 41
- Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br. J. Pharmac. Chemother.* 1968: 295 - 310
- Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesics: II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1953; 385 - 393

Ensaio para detectar bergapteno na casca e no caule de *Brosimum gaudichaudii* Trec através da produção de melanina em actinomicetos

M.L.P. Neves*; P.G. Ferreira Neto; S.M. Souza da Silva; J.M Araújo

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil
janetemagali@zipmail.com.br

Abstract

A new assay for detection of furocoumarins in *Brosimum gaudichaudii* Trec by melanin production in actinomycetes. Plant extracts containing furocoumarins compounds were identified by using melanin producer strains of *Nocardiopeps sp* (DAUFPE-361) and non producer strains of *Streptomyces sp* (DAUFPE-87). Ethanol, methanol and acetone extracted compounds from conduru (*Brosimum gaudichaudii*) bark and stem were evaporated and added to tubes containing ISP7 medium (tyrosine agar). This medium was inoculated with spore suspension (10^6 - 10^7 CFU) prepared from the different actinomycetes strains. The ethanol fraction (pH 9.0) from both bark and stem induced pigmentation in actinomycetes melanin non producer strains and increased the pigmentation in producer strains indicating presence of furocoumarins in the correspondent plant extracts.

Compostos furocoumarinos são derivados benzopirênos que podem ser obtidos por síntese química, através de um processo muito oneroso¹. Estes compostos de ampla ocorrência em muitas plantas: (Citrus, Ruta, Ficus, Coronilla e Psoralea) são utilizados como fitoterápicos no tratamento de várias doenças. Entre estes derivados furocoumarinos estão psoralen, bergapteno e xantotoxina que são os fotossensibilizantes mais comuns utilizados no tratamento de leucodermias como: acromias, vitiligo e outras doenças da pele². A extração de bergaptenos da casca e da raiz do *Brosimum gaudichaudii* (Moraceae) planta vulgarmente conhecida como conduru, mamica-cadela, mururerana, irerê e algodão doce é basicamente encontrada em regiões de cerrado no Brasil e vem sendo utilizado como fitoterápico denominado de viticromin, produto em forma de pomada ou solução a 20% e em comprimido para tratamento do "vitiligo" ou "discromias"³. A quantificação destes compostos pode ser realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)^{4,5,6}, ensaio antimicrobiano associado a irradiação ultravioleta (UV)⁷ ou biotestes microbianos, através da inibição do crescimento^{8,9}.

Testes mais simples para verificar a ocorrência destes compostos em plantas e assim selecionar produtos

furocumarinos, é o objetivo deste trabalho, o qual utiliza actinomicetos produtores de pigmentos melanínicos e não produtores deste pigmento para realizar a seleção de plantas bioativas.

Na tabela 1 podem ser observados os resultados obtidos

com os extratos da casca e do caule, após o cultivo com os actinomicetos. Os extratos etanólico pH = 9,0 da casca e do caule apresentaram pigmentação mais intensa, indicando ser este o melhor solvente para a extração de compostos furocumarinos.

Tabela 1 - Extração dos compostos com os solventes etanol, metanol e acetona a diferentes valores de pH

LIN.	Casca									Caule								
	EtOH (pH)			MeOH (pH)			AcTH (pH)			EtOH (pH)			MeOH (pH)			AcTH (pH)		
	2	7	9	2	7	9	2	7	9	2	7	9	2	7	9	2	7	9
87	-	+	++	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
361	++	++	+++	+	+	+	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+

Estes resultados podem ser constatados na figura 1 onde se observa o cultivo do *Streptomyces* sp. (DAUFPE-87) em presença do extrato etanólico da casca com pigmentação melanínica (tubo 3) igual a observada com a solução de viticromin (tubo 4); enquanto o extrato etanólico do caule (tubo 2) provoca ligeira turvação do meio quando comparado com o controle (tubo 1). Estes resultados indicam que a casca tem maior quantidade de compostos furocumarinos que o caule; o *Streptomyces* (DAUFPE-87) não produz melanina, entretanto, em presença do extrato da casca, observa-se formação de pigmentação melanínica. Resultado similar foi observado com as linhagens de *Nocardiosis* sp. (DAUFPE-361) cuja pigmentação melanínica foi intensificada pela presença do extrato da casca e da solução de viticromin. Através desta análise os resultados demonstram que actinomicetos podem ser utilizados para selecionar plantas produtoras de derivados furocumarinos.



Figura 1. Cultivo do *Streptomyces* sp (DAUFPE-87): 1) *Streptomyces* em meio ISP7 (controle); 2) *Streptomyces* em meio ISP7 acrescido do extrato etanólico do caule; 3) *Streptomyces* em meio ISP7 + extrato etanólico da casca; 4) *Streptomyces* em meio ISP7 + viticromin.

Material e Métodos

Os microrganismos utilizados foram: *Streptomyces* sp.(DAUFPE-87) não produtor de melanina e *Nocardiosis* sp. (DAUFPE-361) produtor de melanina.

Para evidenciação da produção de melanina foi utilizado o meio Bacto tyrosine broth ISP7 (10). Foram utilizados extratos da casca e do caule do *Brosimum gaudichaudii* coletados do

cerrado mineiro, MG, (Brasil). A casca e o caule na proporção de 1:5 (p/V) foram tratados com etanol, metanol e acetona em pH = 2,0, 7,0 e 9,0, seguido de agitação 180 rpm, por 20 min. De cada extrato foram retirados 2,0 ml, evaporado a secura e retomado em água para inoculação. Para análise da produção de melanina, 0,1 ml de uma suspensão de esporos (10^6 - 10^7 UFC/ml) de cada linhagem, foi inoculada em 4,5 ml de meio, contendo 0,5 ml de cada extrato, seguido do cultivo por 48 h. Para controle os actinomicetos foram cultivados no meio (ISP7) sem os extratos.

Referências

- Bourgaud, F., Allard, N., Guckert, A. and Forlot, P. Natural sources for furocoumarins. In: Psoralens, past, present and future of photochemoprotection and other biological Activities. 219-230, 1989
- Pathak, M.A. and Fitzpatrick, T.B. The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 2000 BC to 1992 AD. J. Photochem. Photobiol. 14B, 3-22, 1992
- Sampaio S.A.P., Castro, R.M. and Rivitti, E.A. Discromias. Dermatologia Básica 3.ed. 16, 211-221, 1989
- Shu, C.K. Walradt, J.P. and Tylor, W.J. Improved method for bergapten determination by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 106, 271-282, 1975
- Vande Castele, K. and Van Sumere, C.F. Separation of phenolics and coumarins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 258, 111-124, 1983
- Thompson, H. J. and Brown, S.A. Separations of some coumarins of high plants by liquid chromatography. J. Chromatogr. 314, 323-336. 1984
- Rodighiero, G. and Dall'Acqua, F. Biochemical and medical aspects of psoralens. Photochem. Photobiol. 24, 647-653, 1976
- Daniels, F.A. Simple microbiological method for demonstrating phototoxic compounds. J. Invest. Dermatol. 32, 259-263, 1965
- Bourgaud, F., Grimal, J.Y., Nguyen, C., Bitton, G. and Guckert, A. A selective photobiological assay to detect and quantify psoralen in psoralea plants (leguminosae). Phytochemical Analysis. 5, 315-318, 1994
- Shirling, E.B. and Gottlieb, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. International J of Systematic bacteriology. Washington, v. 16 (3), p. 313 - 340, 1966