

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTUDO COMPARATIVO  
FARMACOGNÓSTICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
*Maytenus rigida* Mart. E *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss.  
(Celastraceae)

Cristiano Soares da Rocha

Recife-PE

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTUDO COMPARATIVO  
FARMACOGNÓSTICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
*Maytenus rigida* Mart. E *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss.  
(Celastraceae)

Cristiano Soares da Rocha

Dissertação de Mestrado submetida ao  
Programa de Pós-Graduação do  
Departamento de Ciências Farmacêuticas  
do Centro de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal de Pernambuco,  
como requisito à obtenção do grau de  
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Química de  
Produtos Naturais

Orientador: Prof. Dr. Haroudo Sátiro Xavier

Recife-PE

2003



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Recife, 11 de Setembro de 2003.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 11 de Setembro de 2003 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO:** Prof. Dr. Haroldo Satiro Xavier  
(Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura:

**EXAMINADOR INTERNO:** Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley  
(Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura:

**EXAMINADOR EXTERNO:** Profª. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça  
Pimentel (Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco).

Assinatura:

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Reitor:**

**Prof. Dr. GERALDO JOSÉ MARQUES PEREIRA**

**Vice-reitor:**

**Prof. Dr. YONY DE SÁ BARRETO**

**Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação:**

**Prof. Dr. PAULO ROBERTO FREIRA CUNHA**

**Diretor do Centro de Ciências da Saúde:**

**Prof. Dr. GILSON EDMAR GONÇALVES E SILVA**

**Vice- Diretor do Centro de Ciências da Saúde:**

**Prof. Dr. JOSÉ THADEU P INHEIRO**

**Chefe do Departamento de Ciências Farmacêutica:**

**Profª. SILVANA CABRAL MAGGI**

**Coordenador de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas:**

**Prof. Dr. DAVI PEREIRA DE SANTANA**

CRISTIANO SOARES DA ROCHA

ESTUDO COMPARATIVO  
FARMACOGNÓSTICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
*Maytenus rigida* Mart. E *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss.  
(Celastraceae)

BANCA EXAMINADORA:

Membro Externo Titular

Profa. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel  
Depto. de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco

Membros Internos Titulares

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley  
Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Haroudo Sátiro Xavier (Presidente)

Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco

Membro Externo Suplente

Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva  
Depto. de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco

Membro Interno Suplente

Profa. Dra. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes  
Depto. de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco

*Aos meus pais, José Gomes da Rocha  
e Maria Cristina Soares da Rocha;  
À minha avó Nani;  
À minha Inha (Cristiane Santos da Rocha)*

*Dedico esse trabalho com todo amor e respeito.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

Ao **Mestre** Prof. Haroudo Sátiro Xavier pela orientação, apoio, paciência e amizade dedicados em todos os momentos.

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado em todos momentos, dando a confiança e a certeza necessária para conclusão deste trabalho.

Aos colegas do mestrado: Ana Amélia Lira, Francisco Jaime Júnior, Roseane Maria Costa, Risonildo Cordeiro, Rosiel Santos, Sabrina Torres, Severino Junior, Simone Bezerra, Thiago Aquino, Tereza Pedrosa, Valderes Almeida, Márcia Francisca Linhares, que transmitiram a recíproca amizade em todos estes momentos.

A todos os professores do Mestrado em Ciências Farmacêuticas, pelo apoio e incentivo.

A Prof<sup>a</sup> Rejane Pimentel, pela inestimável ajuda nos ensaios botânicos e a Nilton e Graça Chagas pela colaboração e disposição sempre demonstrada.

A Prof<sup>a</sup> Eulália Ximenes, pela amizade construída e disponibilização de todas as instalações e materiais para realização dos testes microbiológicos.

Ao Prof. Almir Wanderley pela orientação e realização dos testes farmacológicos e Eduardo Gonçalves pela disposição e incentivo.

A Dr<sup>a</sup> Ana Albertina de Araújo pelos ensaios de antibiograma e beta-lactamase e pela amizade adquirida.

Aos amigos de Laboratório Clébio Ferreira, Diogo Carvalho, Evani Araújo, Fred Duarte, Karina Randau e Lívia Barreto, que sempre demonstraram presteza e apoio no convívio do dia a dia.

As amigas: Lúcia de Fátima Francelino, Lúcia Roberta Filizola e Jovita Farias por toda amizade e incentivo para realização deste trabalho.

A Sr. Luciano e Sra. Margareth Costa pelo material coletado em sua propriedade.

Ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE, Departamento de Antibióticos da UFPE, Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE, Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) e Departamento de Biologia da UFRPE, por disponibilizarem os equipamentos e instalações físicas para que fosse possível a realização deste trabalho.

A Iguacy Duque e Levi Rodrigues, por sempre mostrar a mesma dedicação para todos.

Aos amigos-irmãos: Alexandre Lisboa, Alexandre Marroquim, Flávio José, Gustavo Ferreira, Ricardo José, Roberto Luís, Tony Alexandre, por estarem sempre torcendo pelo sucesso desde sonho.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho.

E para você minha outra metade, Cristiane Santos da Rocha, que foi o ponto de equilíbrio em todos os momentos. Meu muito obrigado.



## SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	x
LISTA DE TABELAS E QUADROS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. GERAL	
2.2. ESPECÍFICOS	
3. PADRONIZAÇÃO BOTÂNICA	7
4. ESTUDO FARMACOQUÍMICO	17
4.1. REVISÃO DA LITERATURA	18
4.2. MATERIAIS	24
4.2.1. MATERIAL VEGETAL E EXTRATOS	24
4.2.2. DROGAS, SOLVENTES E REAGENTES	24
4.2.3. EQUIPAMENTOS	25
4.2.4. OUTROS	26
4.3. CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA DA PLANTA	27
4.3.1. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS DE <i>Maytenus rigida</i> (Br) E <i>Maytenus illicifolia</i> (Bi)	27
4.3.2. FRACIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO	27
4.3.3. METODOLOGIA PARA ADSORÇÃO DE TANINOS DE Ar E Ai	28
a) PREPARAÇÃO DA PELE ANIMAL	28
b) ADSORÇÃO DOS TANINOS	29
4.3.4. LIOFILIZAÇÃO DAS FRAÇÕES AP <sub>r</sub> E API	29
4.3.5. "SCREENING" FITOQUÍMICO	30
A) PESQUISA DE POLIFENÓIS	31
B) PESQUISA DE SAPONINAS	33
C) PESQUISA DE ALCALÓIDES	34
E) PESQUISA DE TRITERPENOS E ESTERÓIDES	34
F) PESQUISA DE IRIDÓIDES	35
G) PESQUISA DE AÇÚCARES REDUTORES	35

<b>4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	35
<b>4.4.1. PESQUISA DE POLIFENÓIS</b>	36
<b>4.4.2. PESQUISA DE SAPONINAS</b>	38
<b>4.4.3. PESQUISA DE ALCALÓIDES</b>	38
<b>4.4.4. PESQUISA DE TRITERPENOS E ESTERÓIDES</b>	38
<b>4.4.5. PESQUISA DE IRIDÓIDES</b>	39
<b>4.4.6. PESQUISA DE AÇÚCARES REDUTORES</b>	39
<b>4.4.7. PESQUISA DE TANINOS APÓS TRATAMENTO COM PELE ANIMAL</b>	40
<b>5. ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA</b>	42
<b>5.1. ATIVIDADE FARMACOLÓGICA</b>	43
<b>5.1.1. REVISÃO DA LITERATURA</b>	44
<b>5.1.2. MATERIAIS</b>	48
<b>A – ANIMAIS</b>	48
<b>B – EXTRATOS</b>	48
<b>C – DROGAS E REAGENTES</b>	48
<b>5.1.3. METODOLOGIA</b>	48
<b>5.1.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	49
<b>5.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	49
<b>5.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA</b>	53
<b>5.2.1. REVISÃO DA LITERATURA</b>	54
<b>5.2.2. MATERIAIS</b>	56
<b>A – MICRORGANISMOS</b>	56
<b>B – SOLVENTES</b>	56
<b>C – MEIOS DE CULTURA</b>	56
<b>D – EXTRATOS</b>	56
<b>5.2.3. METODOLOGIA</b>	57
<b>A – PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA</b>	57
<b>B – PREPARAÇÃO DOS INÓCULOS MICROBIANOS</b>	57
<b>C – SEMEIO E LEITURA</b>	58
<b>D – DETECÇÃO DA ENZIMA <math>\beta</math>-LACTAMASE</b>	59
<b>5.2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	59
<b>6. CONCLUSÕES</b>	65
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA</b>	68
<b>8. ANEXOS</b>	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt –	Acetato de etila
ATCC –	American Type Culture Collection
CCD –	Cromatografia em Camada Delgada
CERCCOPA –	Central Regional de Comercialização do Centro Oeste do Paraná
cf. –	Conferir
cm <sup>2</sup> –	Centímetro quadrado
DAUFPE –	Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco
Depto. –	Departamento
FAA –	Fucsina/ ácido acético/ álcool
g –	Gramma
Herb. I.A. –	Herbário do Instituto de Antibióticos
IC –	Isolado clínico
IPA –	Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária
Kg –	Quilograma
MeOH –	Metanol
µg –	Micrograma
µL –	Microlitro
mg –	Miligramma
mL –	Mililitro
mm –	Milímetro
mm <sup>2</sup> –	Milímetro quadrado
MRSA –	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticilina Resistente
NCCLS –	National Committee for Clinical Laboratory Standards
nm –	Nanômetro
°C –	Grau Celsius
p / v –	Peso / volume
pH –	Potencial hidrogeniônico
Rf –	Relação de frente
S.a. –	<i>Staphylococcus aureus</i>
Tab. –	Tabela

U.V. –	Ultravioleta
UFC –	Unidades formadoras de colônias
UFPE –	Universidade Federal de Pernambuco
UFRPE –	Universidade Federal Rural de Pernambuco
<i>v. g.</i> –	Por exemplo
v.o. –	Via oral

## LISTA DE QUADRO E TABELAS

Quadro 4.01	Estruturas de algumas substâncias descritas em <i>Maytenus rigida</i> e <i>M. ilicifolia</i> conforme dados do NAPRALERT (2003).....	22
Tabela 4.01	Compostos isolados de <i>Maytenus ilicifolia</i> e <i>M. rigida</i> .....	18
Tabela 4.02	Compostos foliares isolados de espécies de <i>Maytenus</i> .....	23
Tabela 4.03	Metabólitos, sistemas de eluição e reveladores utilizados para o “screening” dos extratos e frações de <i>M. rigida</i> e <i>M. ilicifolia</i> .....	30
Tabela 4.04	Metabólitos encontrados nas folhas de <i>Maytenus rigida</i> e <i>M. ilicifolia</i> .....	35
Tabela 5.01	Efeito do extrato bruto e das frações liofilizadas livres de taninos de <i>Maytenus rigida</i> e <i>Maytenus ilicifolia</i> sobre lesões gástricas induzidas por etanol.....	49
Tabela 5.02	Avaliação antimicrobiana de <i>M. rigida</i> e <i>M. ilicifolia</i> frente às cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Micrococcus flavus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> pela Técnica de Difusão em discos.....	60
Tabela 5.03	Antibiograma das cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> pela Técnica de Difusão em discos .....	61
Tabela 5.04	Critérios de Interpretação para os testes de sensibilidade aos antimicrobianos (NCCLS, 2003).....	61
Tabela 5.05	Teste de Identificação das cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> quanto à $\beta$ -lactamase pela Técnica Cefalosporina Cromogênica.....	62
Tabela 5.06	Avaliação antimicrobiana dos Extratos MeOH Brutos de <i>M. rigida</i> (Mr) e <i>M. ilicifolia</i> (Mi) frente a 10 cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> pela Técnica de Difusão em discos.....	63

## LISTA DE FIGURAS

Figura 4.01	Esquema do processo de obtenção dos extratos brutos e frações de <i>Maytenus rigida</i> e <i>Maytenus ilicifolia</i> .....	27
Figura 4.02	Esquema da preparação da pele animal para o ensaio de adsorção dos taninos.....	28
Figura 4.03	Esquema do procedimento para adsorção dos taninos das frações Ar e Ai .....	29
Figura 4.04	Esquema do processo para liofilização das frações APr e APi.....	30
Figura 4.05	CCD – Flavonóides (LUZ U.V. 365 nm).....	36
Figura 4.06	CCD – Proantocianidinas e Leucoantocianidinas (LUZ VISÍVEL).....	37
Figura 4.07	CCD – Triterpenos e Esteróides (LUZ VISÍVEL).....	39
Figura 4.08	CCD – Açúcares (LUZ VISÍVEL).....	40
Figura 4.09	CCD – Taninos (LUZ VISÍVEL).....	41
Figura 5.01	Estômagos de ratos com lesões induzidas por etanol 70% (1mL/Kg).....	50
Figura 5.02	“Screening” comparativo entre os extratos brutos de <i>M. rigida</i> e <i>M. ilicifolia</i> frente a 10 cepas de <i>S. aureus</i> .....	63

## RESUMO

Este trabalho compreende o estudo farmacognóstico comparativo (padronização botânica, avaliação fitoquímica e avaliação da atividade biológica) entre as espécies *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss. e *M. rigida* Mart. (Celastraceae), esta última bastante utilizada popularmente, em nosso estado, para o tratamento de distúrbios gástricos (gastrite e úlceras gástricas), indicações idênticas àquelas registradas através de vários estudos para *M. ilicifolia*.

A padronização botânica é imprescindível ao controle de qualidade da matéria prima, já que há semelhança morfológica com outras espécies, todas com bordas foliares espinhosas, leva não raro a casos de utilização indevida, seja em processos fraudulentos ou acidentais.

Na avaliação fitoquímica evidenciou-se a similaridade entre os extratos e frações das referidas espécies para os diversos grupos de metabólitos ensaiados, constatando-se grande semelhança quanto aos triterpenos e esteróides e, ainda, aos flavonóides presentes.

Os ensaios biológicos foram divididos em duas partes: quanto à atividade antimicrobiana e quanto à atividade farmacológica antiulcerogênica. Na atividade antimicrobiana, os extratos brutos das duas espécies apresentaram-se ativos, destacando-se a eficácia demonstrada frente às várias cepas de *Staphylococcus aureus*. O teste da atividade antiulcerogênica revelou a proteção contra úlceras induzidas por etanol, como os os extratos e frações ensaiadas.

Baseados nos resultados obtidos nos experimentos acima descritos, a *M. rigida* se qualifica como uma possível opção para a substituição da *M. ilicifolia*, visando emprego em paralelo ou substituindo a referida espécie, no todo ou em parte.

## ABSTRACT

The pharmacognostic comparative study (botanical standardization, phytochemistry and biological activity evaluation) among the species *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss. and *M. rigida* Mart. (Celastraceae) were performed. The last one is quite popularly used, in our State, for the treatment of gastric disturbances (gastritis and peptic ulcers), like those registered through several studies for *M. ilicifolia*.

The botanical standardization is essential to the quality control of matter it excels, since the morphologic similarity with other species, all showing foliate thorny margins, taking no rare of improper use, in fraudulent or accidental processes.

In the phytochemistry evaluation, a similarity was evidenced between extracts and fractions of referred species, for several groups of tested metabolic, showing high relationship with triterpenes and steroids beyond the flavonoids detected.

The biological tests were splitted in two parts, for that antimicrobial activity and antiulcerogenic activity. In the antimicrobial activity, the rough extracts of these two species were active, highlighting the effectiveness detected in many stumps of *Staphylococcus aureus*. The antiulcerogenic activity test revealed the protection against ulcerate induced by ethanol, in consequence of extracts and tested fractions.

All obtained results showed that *M. rigida* is qualified as a possible option to substitute *M. ilicifolia*, for parallel or substituting employment, in whole or partly.