

Estudo químico e investigação das atividades antioxidante e antiacetilcolinesterase dos extratos de microrganismos da rizosfera do milho

Letícia Bazeia Lima^{*1} (PG), Simone Cavalcante Silva (IC), Ana Flávia Canovas Martinez¹ (PG), Luis Alberto Beraldo de Moraes¹ (PQ), Flávia Mandolesi Pereira de Melo² (PG), Itamar Soares de Melo² (PQ), Carmen Lúcia Cardoso¹ (PQ),

¹ Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

² Laboratório de Microbiologia Ambiental - EMBRAPA Meio Ambiente - Jaguariúna - SP

* leticiabazeia@pg.ffclrp.usp.br

Palavras Chave: antioxidante, acetilcolinesterase, rizosfera, Mal de Alzheimer, separação.

Introdução

A rizosfera é uma área biologicamente ativa do solo imediatamente adjacente às raízes das plantas rica em bactérias e fungos formando um ecossistema microbiológico diferente daquele encontrado em outras partes do solo. Essa riqueza e especialidade têm despertado interesse no estudo de moléculas produzidas por esses microrganismos.^{1,2} As substâncias antioxidantes se mostram interessantes por atuarem sobre os radicais livres, espécies químicas envolvidas na etiologia de diversas doenças incluindo inflamações, câncer e as doenças degenerativas do sistema nervoso central, o Mal de Parkinson e o Mal de Alzheimer.³ Também de grande interesse são os inibidores diretos da enzima acetilcolinesterase (AChE). Esta enzima é a responsável pela desativação do neurotransmissor acetilcolina por hidrólise. Inibidores de AChE são atualmente utilizados no tratamento da Doença de Alzheimer, doença neurodegenerativa progressiva e fatal do sistema nervoso central, que atinge primeiramente a memória, e posteriormente, a capacidade de raciocínio e a comunicação⁴ e como inseticidas. Baseado nestes dados, 54 extratos provenientes de processos de fermentação de actinomicetos isolados da rizosfera do milho foram avaliados quanto à sua capacidade antioxidante e antiacetilcolinesterase.

Resultados e Discussão

Dos extratos testados, o extrato ativo para ambas as atividades testadas identificado como *Streptomyces* sp. foi submetido a fermentações em diferentes meios sólidos: arroz, aveia, soja, canjica amarela e canjica branca. Os extratos obtidos foram submetidos a ensaios autográficos em CCDC para a avaliação da atividade antioxidante e seqüestradora de radicais livres utilizando DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) e antiacetilcolinesterase com os ensaios de Ellman e Marston.^{5,6} Dos extratos testados, o de canjica amarela apresentou maior atividade tendo sido selecionado para purificação e identificação das substâncias responsáveis pela atividade.

Após a purificação em coluna de sílica gel 60 (70-230 mesh) e gradiente de eluição com acetato de etila e metanol (5-100% de metanol) a fração C1-1 (7,0 mg) apresentou-se ativa e foi submetida às técnicas espectrométricas (EM, RMN de ¹H e ¹³C, DEPT, HMQC e HMBC) de identificação. A Figura 1 ilustra a proposta estrutural para C1-1.

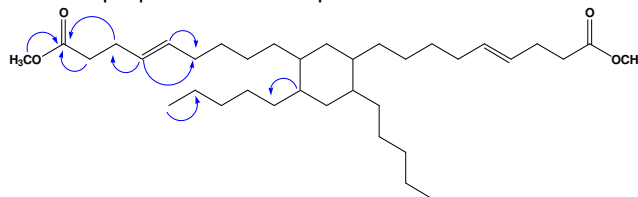


Figura 1: Proposta estrutural da substância C1-1.

■ Correlações observadas nos espectros de HMBC.

Nova fermentação foi realizada para obtenção de maior quantidade de extrato bruto para o isolamento dos outros componentes do extrato ativo.

Conclusões

A associação de ambos os ensaios mostrou-se eficiente no estudo bioguiado fornecendo informações qualitativas sobre as atividades biológicas para os extratos destes actinomicetos. Com a seleção de um extrato promissor para o fracionamento, purificação e identificação estrutural de substâncias ativas.

Agradecimentos

À CNPq, FAPESP e CAPES pelo auxílio à pesquisa e bolsas concedidas.

¹ Gunatilaka, A. A. L., *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 509.

² Houghton, P.J. Ren . Y, Howes, M-J. *Nat. Prod. Reports*, **2006**, 23, 181.

³ Cuzzocrea, S.; Riley, D. P.; Caputi, A. P. e Salvemini, D. *Pharmacol. Reviews*, **2001**, 53, 135.

⁴ http://www.alz.org/alzheimers_disease_what_is_alzheimers.asp

⁵ Ellman, G. L. *Biochem. Pharmacol.*; **1961**, 7, 88.

⁶ Marston, A.; Kissling, e J. Hostettmann, K.; *Phytochem. Anal.* **2002**, 13, 51.