

Fitoquímica e farmacologia de matérias primas madeireira e não madeireira

Luciana Jankowsky¹; Ivaldo Pontes Jankowsky¹

¹ Departamento de Ciências Florestais /ESALQ/USP;

Resumo: Pesquisas e desenvolvimento de compostos químicos, através de estudos fitoquímicos e perfil de atividade farmacológica, com matérias primas madeireiras e não madeireiras coincidem com as tendências de mercado das indústrias farmacêutica e química. Estudos realizados com protocolos “in vitro” (cultura celular humana e bactérias) e “in vivo” (pré-clínico) representam os trabalhos iniciais na área de P&D, e as inovações tecnológicas residem no emprego de técnicas multidisciplinares com o propósito de inovar nas estratégias de emprego dos compostos químicos encontrados. Resultados obtidos com resíduos madeireiros provenientes da indústria de pisos comprovaram perfil farmacológico antitumoral, anti-inflamatório e sobre o sistema nervoso central. O licor pirolenhoso, obtido de material não madeireiro, foi testado quanto a atividade antibacteriana. Os resultados evidenciam que novas etapas na cadeia produtiva de produtos madeireiros e não madeireiros são eminentes fontes aplicáveis a P&D, cuja abordagem agrega valores econômico, ambiental e sociais aos produtos florestais.

Palavras-chave: *Myroxylon peruiferum*, *Dendrocalamus asper*, *Escherichia coli*, atividade antinociceptiva, atividade antimicrobiana.

Phytochemistry and pharmacology potential of wood e non-wood raw material

Abstract: Research and development related to phytochemistry and pharmacology in pharmaceutical industry achieved a new trend in sources of chemical components, considering that the raw material is from wood and non-wood. Assays performed in “in vitro” (cell culture and bacteria’s cultures) and in “in vivo” (pre-clinical) for advances in research from unusual phytochemistry source represents studies in pharmacological area, allowed technological innovations in the employment of multidisciplinary techniques whit the propose of new strategies for the formulation of the chemical material found. Results obtain whit residues from wood flooring mills demonstrate antitumoral, anti-inflammatory and sedative on central nervous system. Considering the market for non-wood material, the use the pyroligneous liquor provide inhibition of bacteria’s growth. All results showed evidences that a new step in productive chain of wood and non-wood material can be approached as sources of R&D, whit the propose of aggregate economic, environmental and social values to forest products.

Keywords: *Myroxylon peruiferum*, *Dendrocalamus asper*, *Escherichia coli*, antinociceptive activity, antimicrobial activity.

1. INTRODUÇÃO

A renda mundial, entre os períodos de 2013 a 2018 foi exponencialmente crescente. Em 2018 a estimativa da indústria farmacêutica foi de \$1,226 bilhões de dólares (Research and Markets, 2019). O crescimento do consumo está relacionado com doenças, idade, estilo de vida, entre outros. Para que esta renda aumente nos próximos anos as indústrias farmacêuticas e químicas intensificam estudos nas áreas de pesquisa e desenvolvimento e marketing.

Contudo, as fontes de origem natural, que inicialmente inspiram pesquisa de síntese e semi-síntese química, alcançaram tal ápice que a pesquisa necessita ser expandida para produtos ainda pouco visados, como os de origem florestal, tanto madeireiros e como não madeireiros.

A Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, cujo propósito visa proteger o patrimônio nacional, por vezes, gera obstáculos às pesquisas de base, onde estudos fitoquímicos e farmacológicos “in vitro” e “in vivo” alavancam estudos clínicos. Considerando a cadeia produtiva no setor madeireiro e não madeireiro, matérias primas consideradas como resíduos e não utilizados como produtos manufaturados, representam uma fonte a ser estudada para fins de pesquisa e desenvolvimento na indústria farmacêutica e química.

Desde 2003 pesquisa com resíduos madeireiros realizadas com extratos brutos obtidos, através de protocolos fitoquímicos, de espécies madeireiras da indústria de pisos, corroboram perfis de diversas atividades farmacológicas, observadas “in vitro” e “in vivo” (Jankowsky, 2005; Jankowsky et al., 2018). Em 2015, estudos com licor pirolenhoso obtido de matéria prima não madeireira, da indústria de carvoaria, demonstrou resultados promissores em protocolos de “biohazard” 1 e 2, com bactérias patogênicas *E. coli* e *S. aureus*.

Com o propósito de contribuir com a pesquisa e desenvolvimento de base nas indústrias farmacêuticas e químicas, este trabalho avalia novas fontes de matérias primas madeireiras e não madeireiras, etapas na cadeia produtiva das indústrias madeireiras e de carvoaria, como eminentes fontes de composto fitoquímicos com atividade farmacológica, cuja abordagem agrega valores econômico, ambiental e sociais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Resíduos madeireiros

A pesquisa com resíduos focou a indústria de pisos, sendo avaliados os materiais obtidos das espécies *Tabebuia* sp, *Bowdichia nitida*, *Dipteryx odorata* e *Myroxylon peruiferum* (Jankowsky, 2005).

2.1.1. Fitoquímica

Os resíduos madeireiros foram submetidos a extrações químicas com solventes orgânicos (Merck, Sigma-Aldrich), segundo método descrito por Jankowsky (2005). De acordo com a afinidade dos compostos

químicos foram gerados dois diferentes tipos de extratos brutos, o diclorometânico (EBD) e o metanólico (EBM). Os solventes de cada extrato bruto foi rotaevaporado a vácuo, em temperatura constante de 40°C, e o extrato obtido armazenado em geladeira a 4°C.

2.1.2. Atividade farmacológica

Após testes preliminares em cultura de células tumorais humanas, o EBD da espécie *Myroxylon peruiferum* foi avaliado em modelo farmacológico de atividade antinociceptiva, seguindo a metodologia descrita em detalhes por Jankowsky (2005).

2.2 Licor pirolenhoso

O bambu *Dendrocalamus asper*, previamente moído e seco, foi submetido a um processo de pirólise em três diferentes temperaturas (250 °C, 350°C e 550°C). A cada temperatura o licor pirolenhoso bruto foi obtido por condensação dos gases voláteis dentro de 4 horas após atingir a temperatura de pirólise desejada. O licor pirolímero foi fracionado por fracionamento líquido-líquido, utilizando metanol e hexano [40:100 mL (3 vezes)] como solventes orgânicos (Merck, Sigma-Aldrich). Os solventes foram evaporados a 40 °C em um evaporador rotativo e as frações extraídas foram armazenadas a 4 °C (Jankowsky, 2019).

2.2.1. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos brutos pirolenhosos foi avaliada através do teste de difusão em disco, descrito em Jankowsky (2019). Esta metodologia é reconhecida e aceita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pelo Food and Drug Administration (FDA) e pelo Clinical Laboratory Standards Instituted (CLSI) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2003; Colye et al., 2005; Ostrosky et al., 2008; Weinstein et al., 2018), para a bactéria patogênica *Escherichia coli* (ATCC 23282).

2.3 Análise estatística

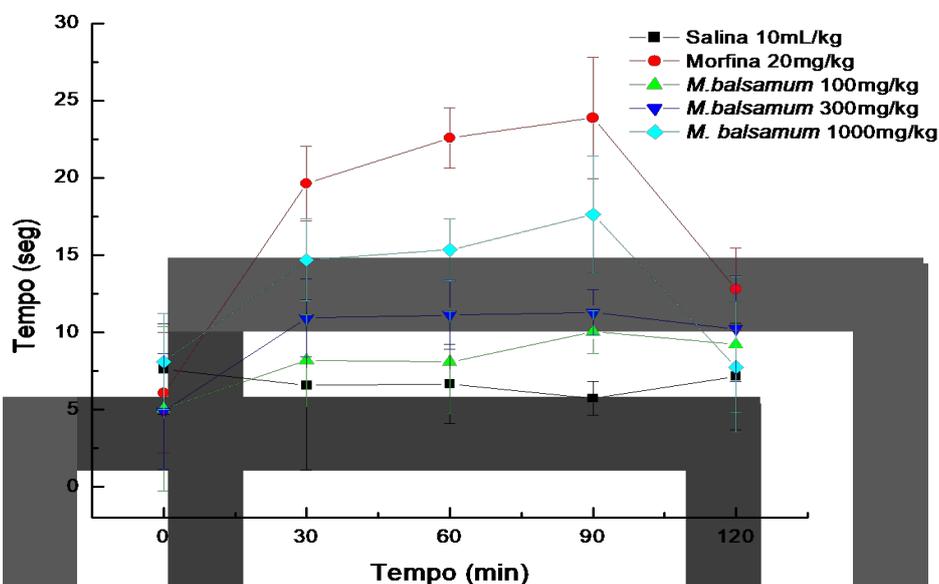
Todos os resultados dos testes “in vivo” foram submetidos à análise de variância de uma única via (ANOVA), considerando-se como nível crítico $p < 0,05$ para que fosse considerada diferença significativa entre os grupos controle e tratados, seguidos do Teste de Duncan, considerando-se o mesmo nível crítico.

Os resultados da atividade microbiana dos licores pirolenhosos e das suas respectivas frações metanólicas e hexânicas foram analisados individualmente para a bactéria *E. coli*, seguindo um delineamento fatorial 3 x 3 (produto x temperatura), com 4 repetições. Em cada ensaio foi aplicada a ANOVA aos resultados totais e o teste de Tukey foi usado para comparar as médias.

3. RESULTADOS

3.1 Atividade antinociceptiva

As reações dos animais ao estímulo nociceptivo calor são mensuradas neste protocolo. Os animais tratados com solução salina (10 mL/Kg), morfina (20 mL/Kg), e com o EBD de *M. peruiferum* nas doses de 100, 300 e 1000 mg/Kg apresentaram diferenças no tempo de reação ao estímulo algíco térmico após 30, 60, 90 e 120 minutos decorridos do tratamento via intraperitoneal,



conforme demonstrado na Figura 1.

Figura 01. Reatividade ao estímulo térmico em camundongos. Os resultados são expressos em média (\pm erro padrão) de 6 animais por grupo experimental. ANOVA: $F_{(4,25)}$: Basal: 1,4 $p < 0,01$; 30 min: 7,1 $p < 0,001$; 60 min: 4,8 $p < 0,001$; 90 min: 7,15 $p < 0,001$; 120 min: 2,3 $p < 0,001$.

Na concentração de 1000 mg/kg do EBD de *M. peruiferum* ocorreu aumento no tempo de reação de 123,4%; 130,8%; 214% e 8,4% após 30, 60, 90 e 120 minutos, respectivamente. A morfina, utilizada como controle positivo, produziu um aumento no tempo de reação dos animais, de 198,3%; 239,5%; 317% e 79% decorridos 30, 60, 90 e 120 minutos.

3.2 Atividade antimicrobiana dos licores pirolenhosos e das respectivas frações metabólicas e hexânicas

Os valores médios da inibição de halos mensurados nos ensaios de difusão em disco, para os licores pirolenhosos integrais (LPIs) e suas respectivas frações metanólica (FMeOH) e hexânica (FHex), constam da tabela 1 para a *E. coli*.

Tabela 1. Médias dos diâmetros do halo de inibição, em mm, obtidos no ensaio de difusão em disco com *E. coli*, para os licores pirolenhos integrais (LPIs) e suas respectivas frações metanólica (FMeOH) e hexânica (FHex).

PRODUTOS	TEMPERATURA (°C)		
	250	350	550
LPI	6,8 ^{A a}	13,01 ^{A b}	13,67 ^{A b}
FMeOH	8,88 ^{A a}	14,68 ^{A b}	14,66 ^{A b}
FHex	4,73 ^{A a}	12,01 ^{A b}	0,33 ^{B a}

Médias com a mesma letra maiúscula no sentido vertical não diferem entre si, Teste Tukey, $p < 0.05$
 Médias com a mesma letra minúscula no sentido horizontal não diferem entre si, Teste Tukey, $p < 0.01$
 ANOVA Produtos (2, 31); $F = 21,84$, $p < 0.01$
 ANOVA Temperaturas (2, 31); $F = 16,62$, $p < 0.01$

4. DISCUSSÃO

A estrutura de um vegetal arbóreo, ou não, tem uma constituição lignocelulósica, devido sua similaridade da composição básica de suas fibras: celulose (35-50%), hemicelulose (20-30%) e lignina (10-25%), além de minerais inorgânicos e extrativos orgânicos, como lipídios, proteínas, açúcares simples, amidos, glicosídeos, alcaloides, resinas, fenólicos e óleos essenciais. (Balat et al., 2009; Cai et al., 2017; Silva Neto et al., 2015). Esta constituição química confere rigidez estrutural ao vegetal, seja este arbóreo ou não (Silva Neto et al., 2015).

Os processos fitoquímicos empregados para separar os compostos químicos presentes em vegetais madeireiros e não-madeireiros segue o princípio de afinidade por solventes orgânicos. (Nelson & Cox, 2002). A polaridade influencia diretamente na solubilidade dos compostos orgânicos. É correto associar que compostos polares são solúveis em água e compostos apolares são solúveis em óleo. Num processo de extração química a solubilidade define que compostos serão removidos de uma matriz, como os licores pirolenhos integrais, devido a uma maior afinidade pelo solvente orgânico do que pela matriz, originando extratos ou frações com separação química dos compostos presentes nas mesmas.

O trabalho avaliou o emprego das técnicas de separação fitoquímicas em dois diferentes materiais. O primeiro, proveniente de um resíduo madeireiro, o *M. peruiferum*, e o segundo proveniente de um processo de aquecimento por pirólise da gramínea *D. asper*. Em particular, neste segundo caso, as elevadas temperaturas de pirólise promoveram degradação dos compostos químicos presentes no *D. asper*, contudo devido a processos químicos nos licores pirolenhos os compostos remanescentes não perderam sua atividade farmacológica.

Na avaliação da atividade antinociceptiva do EBD de *M. peruiferum* o teste aferiu o tempo de reação do animal a um estímulo térmico, proporcionando uma detecção de analgésicos de ação central, como os opioides (Rates & Barros, 1994). O EBD de *M. peruiferum*, na dose de 1000 mg/kg, apresentou uma resposta similar à da morfina (agente opioide utilizado como controle positivo na realização do teste). A ação antinociceptiva pode ser promovida através da depressão do SNC, a níveis do córtex e do hipocampo no SNC e não de atividade específica das vias nociceptivas.

Analisando os resultados da tabela 1 observa-se que os licores pirolenhosos e suas frações apresentam comportamento similar, em relação a bactéria *E. coli*, quando obtidos nas temperaturas de 250°C e 350°C; mas que a fração hexânica perde sua eficiência antimicrobiana quando proveniente da pirólise a 550°C.

Na pirólise a 550°C ocorre uma degradação maior da lignina presente no material lignocelulósico, ocorrendo também a liberação de alcatrão; o qual será recuperado junto com o licor pirolenhoso, podendo ser comprovado pelas alterações nas características organolépticas do licor. O alcatrão em si possui compostos orgânicos mais complexos, muitos dos quais possuem atividade antifúngica (Lepage et al., 1986), mas cujos efeitos em relação a outros microrganismos e ao ser humano ainda não são conhecidos.

Adicionalmente deve-se considerar que compostos presentes no licor pirolenhoso obtido a 350°C também podem sofrer alterações em suas moléculas quando expostos a temperatura de 550°C, alterando a composição química do licor recuperado e, conseqüentemente, a sua eficiência antimicrobiana.

A utilização de solventes orgânicos, seja na obtenção de extratos brutos ou fracionamentos, permitiu a separação fitoquímica básica dos materiais ensaiados; e pode-se considerar que o desenvolvimento desta linha de ação deverá envolver novas tecnologias para identificação das potenciais substâncias ativas. Exemplo de tais tecnologias são cromatografia de alta performance, cromatografia gasosa, espectrometria de massas, microscopia eletrônica de varredura e transmissão, nanotecnologia para desenvolvimento de medicamentos e cosméticos.

5. CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados permitem concluir que:

- a) o extrato diclorometânico bruto, obtido de resíduos da madeira de *M. peruiferum*, na dosagem de 1.000 mg/kg, apresenta atividade antinociceptiva;
- b) tanto o licor pirolenhoso bruto de *D. asper*, obtido a 350°C, como suas respectivas frações metanólica e hexânica, inibiram o crescimento no teste de difusão de disco da bactéria *E.*

coli, comprovando potencial ação antimicrobiana.

Com base nesses resultados pode-se inferir que a continuidade de P&D, buscando isolar e identificar as substâncias presentes nos extratos, trará resultados promissores para aplicação nas indústrias química e farmacêutica; agregando benefícios, não só econômicos como também sociais e ambientais, ao uso sustentável dos recursos florestais e ao segmento da indústria de base florestal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição. Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI. 2003. 23(1): 1–58.

Balat M; et al. Main routes for the thermo-conversion of biomass into fuels and chemicals. Part 1: Pyrolysis systems. *Energy Conversion and Management*. 2009. 50(12): 3147–3157.

Cai J; et al. Review of Physicochemical Properties and Analytical Characterization of Lignocellulosic Biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017. 76: 309–322.

Colye MS; et al. *Manual of antimicrobial Susceptibility Testing*. (M. B. Coyle, Ed.). Journal of Experimental Psychology: General. Anais...American Society for Microbiology, 2005.

Jankowsky L. Atividade farmacológica de extratos obtidos a partir de resíduos madeiros [Tese]. Campinas: Faculdade de Ciências Biológicas. Universidade Estadual de Campinas. 2005.

Jankowsky L. Avaliação do potencial antimicrobiano do licor pirolenhoso de *Dendrocalamus asper* (Schult & Schult) Barcker [Tese]. Piracicaba: Departamento de Ciências Florestais. Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”. Universidade de São. 2019.

Jankowsky L; Lira SP; Tanaka FAO; Jankowsky IP; Brito JO. Antimicrobial Activity of the Methanolic Fraction of Bamboo Pyrolytic Liquor. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018. 6(10): 924–934.

Lepage, E. S. et al. *Manual de Preservação de Madeiras*. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT, 1986.

Nelson DL; Cox MM. *Lehninger princípios da bioquímica*. 3.ed. São Paulo: Servier, 2002.

Ostrosky EA; et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2008. 18 (2): 301–307.

Rates SMK; Barros HMT. Modelos animais para avaliação da dor: métodos para triagem de novos analgésicos. *Ver Bras Farm*. 1994. 75(2): 31-34.

Research and markets. *Global Pharmaceutical Industry 2013-2018: Trend, Profit, and Forecast Analysis*. [cited 2019 Jun 28]. Available from: https://www.researchandmarkets.com/reports/2634732/global_pharmaceutical_industry_20132018_trend.

Silva Neto JM; et al. Potencial de Fibras Lignocelulósicas para a Produção de Etanol de Segunda Geração. 5. Encontro Regional de Química e 4. Encontro Nacional de Química. 2015. 3(1): 1038–1047.

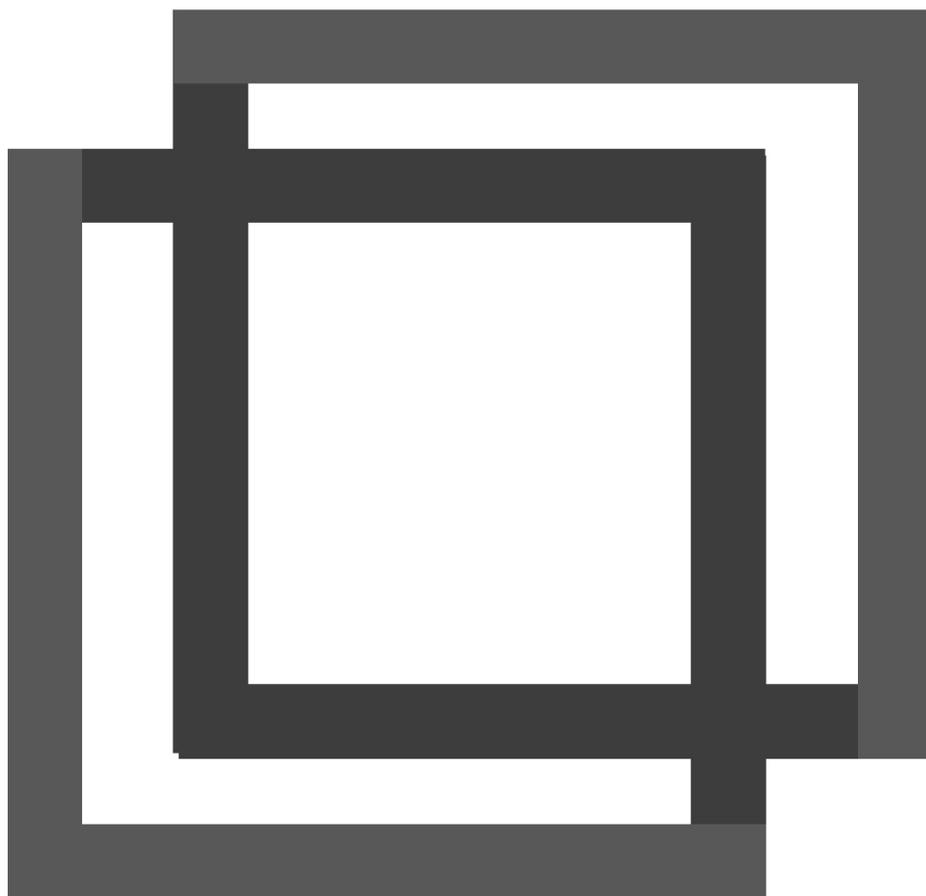
Weinstein MP; et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - ED28/2018. [cited 2018 Jun 25]. Available from: http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSI_M100



IV CBCTEM
CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DA MADEIRA

2 À 4 DE
OUTUBRO
2019

[ED28:2018&scope=user.](#)



PATROCINADORES:



STIHL®

ORGANIZAÇÃO:

