

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DAS FOLHAS, GALHOS E FRUTOS DA ESPÉCIE *Ephedranthus parviflorus* S. MOORE (ANNONACEAE)

Armenio André de Carvalho Almeida da Silva (bolsista do PIBIC/CNPq), Elcilene Alves de Sousa (colaboradora, Mestranda em Química), Mariana Helena Chaves (Orientadora, Depto. de Química – UFPI)

1. INTRODUÇÃO

Ephedranthus parviflorus S. Moore, pertence à família Annonaceae e conhecida popularmente como conduru ou tauari, tem grande ocorrência no Brasil nas regiões Norte (Acre, Amazônia, Pará, Rondônia e Tocantins), Nordeste (Ceará, Maranhão e Piauí) e Centro-Oeste (Mato Grosso) (OLIVEIRA et al., 1999). Seu período de floração ocorre nos meses de janeiro, junho, agosto, outubro e novembro e o período de frutificação em janeiro, agosto e de outubro a dezembro (OLIVEIRA et al., 1999). É uma planta melífera, madeireira, usada como forragem, fonte de energia e seus frutos são comestíveis. Pesquisas realizadas na Web of Science revelaram a não existência de estudos publicados sobre constituintes químicos e atividade farmacológica desta espécie, bem como de outras espécies do gênero *Ephedranthus*.

Considerando a riqueza de constituintes químicos de plantas da família Annonaceae e suas propriedades farmacológicas, o presente trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico das folhas, frutos e galhos da espécie *E. parviflorus*, por meio da avaliação do potencial antioxidante; isolamento, identificação e caracterização de compostos isolados.

2. METODOLOGIA

Preparação de extratos: As folhas foram secas à temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas. O material obtido (779 g) foi submetido à maceração com etanol à temperatura ambiente por seis vezes consecutivas e tendo a duração de cinco dias cada extração. O solvente foi removido em evaporador rotativo, e em seguida, o extrato foi liofilizado. O mesmo procedimento foi realizado para os galhos utilizando-se 899 g de material vegetal seco. Os frutos (100 g) maduros foram submetidos a uma raspagem em peneira usando etanol, deixando-se o material vegetal em contato com o solvente extrator por três dias, depois de filtrado, o solvente foi removido em evaporador rotativo e liofilizado, este processo foi realizado em triplicata.

Partição do extrato EtOH das folhas: O extrato EtOH das folhas (86 g) foi suspenso em uma mistura de H₂O-MeOH (2:1) e em seguida submetido a uma partição líquido-líquido utilizando solventes de diferentes polaridades: hexano, diclorometano (DCM) e acetato de etila (AcOEt) sucessivamente, obtendo-se as frações correspondentes a cada solvente.

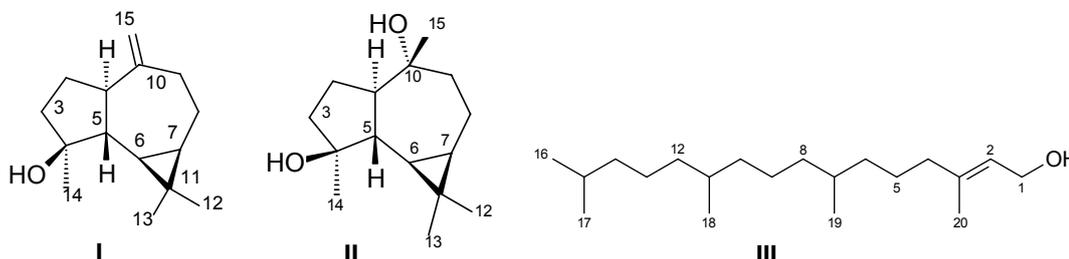
Isolamento de constituintes químicos: A fração diclorometânica (10 g), proveniente da partição do extrato etanólico das folhas de *E. parviflorus* foi cromatografada em coluna de gel de sílica (251 g), empacotada com hexano, com volume morto de 480 mL, utilizando como eluente os solventes hexano e acetato de etila, em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 125 frações, de 250 mL, as quais depois de concentradas e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com a cor apresentada na revelação das cromatoplas com solução de sulfato cérico e os fatores de retenção (R_f) originando 40 grupos. Os grupos EP30 (57 mg), EP32 (24 mg), EP33 (33 mg) e EP87

(208 mg) foram recromatografados em colunas de Sephadex LH-20 com hexano-CH₂Cl₂ (1:4), fornecendo EP30-13 (5,6 mg), EP32-12 (7,5 mg), EP33-7 (7,5 mg) e EP87-19 (33 mg), respectivamente.

Avaliação das atividades farmacológicas: A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi realizada por meio da ação seqüestradora do radical DPPH, conforme descrito por SOUSA et al., 2007. A equação da curva de calibração do DPPH utilizada foi $C = 35,846A - 0,230$ (C = concentração de DPPH; A = absorvância no $\lambda_{\max}=516$ nm e o coeficiente de correlação $R = 0,9997$). O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, em equivalentes de ácido gálico (EAG), no $\lambda_{\max}=750$ nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata utilizando espectrofotômetro HITACHI U-3000. A toxicidade dos extratos e frações foi determinada frente à *Artemia salina* e a citotoxicidade frente a quatro linhagens de células tumorais HCT-8 (côlon humano); SF-295 (glioblastoma humano); MDA-MB435 (melanoma humano) e HL-60 (leucemia humana).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento da fração diclorometânica do extrato EtOH das folhas resultou no isolamento de três substâncias, sendo dois sesquiterpenóides (I e II) e um diterpenóide (III), todas identificadas por meio da análise dos seus espectros de RMN ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura (ZATERKA, 1995; RAHMAN, 1992). Nas frações EP30-13 e EP32-12 foi identificado o espatulenol (I), na fração EP87-18, foi o 4 β ,10 α -aromadrendanodiol (II), enquanto na fração EP33-7, foi o diterpenóide (*E*)-fitol (III).



A atividade antioxidante, avaliada por meio da determinação dos valores de CE₅₀ e do teor de fenóis totais foi determinada para os extratos e frações do extrato etanólico das folhas de *E. parviflorus* (Tabela 1). Quanto menor o valor da CE₅₀, maior é a ação antioxidante. O menor valor de CE₅₀ para os extratos foi 52,53 \pm 3,68 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (galhos,) enquanto o maior foi de 439,97 \pm 7,31 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (frutos). O conteúdo de fenóis totais dos extratos EtOH obedeceu a seguinte ordem: extrato dos galhos > extrato dos folhas > extrato dos frutos, observando-se uma correlação positiva com a atividade antioxidante. Nas frações de partição do extrato EtOH das folhas, o menor valor de CE₅₀ foi da fração AcOEt (76,35 \pm 3,32 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e o maior foi da fração diclorometânica (F. DCM) (273,51 \pm 1,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$), sendo que o teor de fenóis totais para a fração AcOEt foi de 518,33 \pm 16,50 e para a DCM de 170,00 \pm 3,53, mostrando também uma correlação positiva destes parâmetros, isto ocorre porque os compostos fenólicos comumente presentes na fração AcOEt são excelentes antioxidantes, devido principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química.

A toxicidade foi observada somente para o extrato EtOH dos frutos com uma concentração letal média, CL₅₀=995,96 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Este extrato apresentou um percentual de inibição do crescimento celular de 51,60% somente para linhagem de glioblastoma humano SF-295.

Tabela 1. Valores de CE₅₀ e fenóis totais dos extratos EtOH das folhas, galhos e frutos e das frações da partição do extrato EtOH das folhas de *E. parviflorus*.

Amostras	Massa (g)	CE ₅₀ (µg.mL ⁻¹ ± DP)	FT (mg de EAG/g ± DP)
Ext. EtOH Galhos	99	52,53 ± 3,68	343,00 ± 2,36
Ext. EtOH Frutos	32	439,97 ± 7,31	102,67 ± 1,89
Ext. EtOH Folhas	109	177,59 ± 2,57	184,67 ± 9,17
Fração AcOEt	14	76,35 ± 3,32	518,34 ± 16,50
Fração DCM	30	273,51 ± 1,07	170,00 ± 3,53
Fração hexânica	21	-	31,33 ± 2,67
Fração aquosa	17	115,09 ± 3,63	276,00 ± 12,02

CE₅₀: concentração eficiente; DP: desvio padrão; EAG: equivalente de ácido gálico.

4. CONCLUSÃO

O EtOH dos galhos e a fração AcOEt do extrato EtOH das folhas apresentaram maior atividade antioxidante, evidenciado pelo menor valor de CE₅₀, correlacionando-se positivamente com o teor de fenóis totais. A toxicidade e citotoxicidade só foram observadas no extrato EtOH dos frutos.

O fracionamento cromatográfico da fração diclorometânica da partição do extrato EtOH das folhas resultou no isolamento de dois sesquiterpenóides: espatulenol e 4β,10α aromadrendanodiol e o diterpenóide (*E*)-fitol. Os resultados obtidos estimulam a continuidade do estudo fitoquímico com a complementação do fracionamento das frações diclorometânica, AcOEt das folhas e extrato EtOH dos frutos para elucidação dos princípios ativos.

5. APOIO

Ao CNPq pelas bolsas de IC e PQ-2 e apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- OLIVEIRA, J.; SALES, M. F. Estudo taxonômico dos gêneros *Ephedranthus* S. Moore e *Pseudephedranthus* Aristeg. - Annonaceae. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, série Botânica, v. 15 (2), p. 14-35, 1999.
- RAHMAN, A.; AHMAD, V.U. ¹³C-NMR of Natural Products: Diterpenes Plenum Press New York .v. 2; p. 328-362, 1992.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA JÚNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, É. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H.. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.
- ZATERKA, L. Estudo químico de *Hedrosmum brasiliense* MART. et MIQ. (Chloranthaceae). Dissertação de mestrado, 1995, São Paulo.

Palavras-chave: *Ephedranthus parviflorus*. Atividade antioxidante. Fenóis totais.