

Toxicidade do óleo essencial e constituintes químicos das folhas de *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, sendo 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. As pesquisas realizadas na Web of Science e Scifinder Scholar revelaram a não existência de estudos publicados sobre constituintes químicos e atividade farmacológica desta espécie.

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 através do isolamento, identificação e caracterização de substâncias, extrair, analisar e investigar a toxicidade do óleo essencial das folhas da espécie *E. parviflorus*.

A realização deste trabalho contribuiu para o conhecimento quimiotaxonômico e farmacológico do gênero *Ephedranthus*.

2. METODOLOGIA

Extração e análise do óleo essencial: O material vegetal fresco (300 g), composto por folhas da planta, foi submetido a um processo de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, por um período de 4 horas. Determinou-se o rendimento do óleo essencial em termos de percentagem da massa em relação às folhas frescas. O óleo essencial foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM), em equipamento Shimadzu modelo CG 17A, com detector seletivo de massas modelo QP 5050A (Shimadzu), sendo utilizado na análise 1 µL de óleo. A coluna cromatográfica utilizada foi DB-5HT, (30 m x 0,025 mm x 0,1 µm), gás de arraste: He, (1 mL min⁻¹). Programação de temperatura: 50 °C (0,5 min), 5 °C min⁻¹ até 180 °C (4 min); 10 °C min⁻¹ até 260 °C (10 min). Temperatura do injetor: 250 °C e temperatura da interface: 270 °C.

Isolamento de constituintes químicos: A fração hexânica (10 g) da partição do extrato EtOH das folhas foi cromatografada em coluna de gel de sílica (250 g), empacotada com hexano, utilizando como eluentes os solventes hexano e acetato de etila, em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas 118 frações de 250 mL. Depois de concentradas as frações e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com a cor e os fatores de retenção (R_f) originando 46 grupos. O grupo H18 (frações 18-19; 1122 mg) foi suspenso em hexano e uma parte do sobrenadante (H18sbn, 400 mg) foi remacromatografado em coluna Flash, usando como eluente hexano-AcOEt 99:1, com fluxo de 3 mL min⁻¹ e volume da fração coletada de 4 mL, rendendo 39 mg

(0,39%) da fração H18-24. O grupo H26 (666 mg) foi suspenso em hexano, o sobrenadante (H26sbn; 633 mg) foi purificado em coluna de Sephadex LH-20 usando como eluente hexano-CH₂Cl₂ 1:4, rendendo a fração H26-9(8) com 34 mg (0,34%).

Toxicidade do óleo essencial: O ensaio de toxicidade do óleo essencial frente à *A. salina* foi realizado conforme descrito por Citó et al (2003). Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico utilizando o método PROBITOS, e determinado o valor da dose letal média (DL₅₀) no software estatístico SPSS® (versão 14 para Windows).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento da fração hexânica do extrato EtOH das folhas resultou no isolamento de dois sesquiterpenóides (I e II). A substância (I), óxido de cariofileno presente na fração H18-24, foi identificada por meio da análise dos espectros de RMN ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura (HEYMANN, 2004). A substância (II), espatulenol existente na fração H26-9(8), foi identificada pelo mesmo procedimento utilizado na análise do óleo essencial (CG-EM). Os espectros de massas de H26-9(8) e de cada componente do óleo essencial foram comparados com os da biblioteca Wiley229. Os índices de Kovats foram calculados em relação a uma série de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀) e comparados aos relatados por Adams (2007).

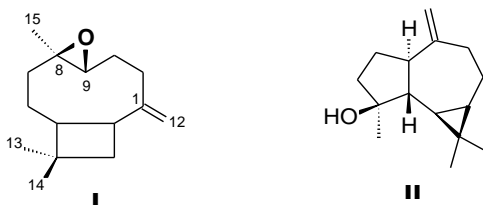


Tabela 1. Substâncias identificadas no óleo essencial de *E. parviflorus*

Substâncias	Área (%)	IK _L ³	IK _C
α-Pineno	2,21	939	929
Sabineno	0,79	975	969
β-Pineno	1,82	979	972
α-Felandreno	2,12	1002	1003
β-Felandreno	10,08	1029	1026
δ-Elemeno	8,40	1338	1334
β-Elemeno	1,37	1390	1387
β-Cariofileno	6,42	1419	1412
α-Humuleno	1,05	1454	1446
Germacreno D	31,29	1485	1477
Biciclogermacreno	18,91	1500	1492
Germacreno A	1,04	1509	1498
Elemol	0,81	1549	1544
Germadreno B	2,46	1566	1549
Epatulenol	3,61	1576	1570

*IK_C=índice de Kovats calculado, IK_L=índice de Kovats da literatura.

A Tabela 1 ilustra 15 substâncias identificadas no óleo essencial, representando 92,38% do total, sendo 5 monoterpenos (17,74%) e 10 sesquiterpenos (74,64%). Os constituintes majoritários foram dois sesquiterpenos identificados como germacreno D (31,29%) e biciclogermacreno (18,91%) e um monoterpeno, o β -felandreno (10,08%). Germacreno D, biciclogermacreno e espatulenol, são sesquiterpenóides bastante comuns em óleo essencial de Annonaceae.

A toxicidade do óleo frente ao microcústáceo apresentou uma DL_{50} de 23,30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo considerado ativo, pois o valor da DL_{50} é inferior a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e altamente tóxico, pois foi menor do que 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

4. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Ephedranthus parviflorus* apresentou cinco monoterpenos e dez sesquiterpenos, sendo os constituintes majoritários o germacreno D, biciclogermacreno e β -felandreno. No teste de toxicidade frente à *Artemia salina* o óleo essencial mostrou-se altamente tóxico.

O fracionamento cromatográfico da fração hexânica da partição do extrato EtOH da folhas resultou no isolamento de duas substâncias, os sesquiterpenóides óxido de cariofileno e o espatulenol.

Os resultados obtidos a partir do óleo essencial de *E. parviflorus* direcionam a estudos posteriores para investigação da atividade antitumoral, devido a sua ação tóxica, e a continuidade do estudo fitoquímico de outras partes da planta.

5. APOIO

Ao CNPq e a Capes pelas bolsas concedidas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gás chromatography/ mass spectrometry. Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois: 2007.
- CITÓ, A. M. G. L.; SOUZA, A. S.; LOPES, J. A. D.; CHAVES, M. H.; COSTA, F. B.; SOUSA, S. A. A.; AMARAL, M. P. M. Resina de *Protium Heptaphyllum* March (Burceraceae): Composição Química do Óleo Essencial e Avaliação Citotóxica Frente *Artemia Salina* Leach. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 52, p. 74, 2003.
- HEYMANN, H.; TEZUKA, Y.; KIKUCHI, T.; SUPRIYATNA, S. Constituents of *Sindora sumatrana* MIQ. I. Isolation and NMR Spectral Analysis of Sesquiterpenes from the Dried Pods. **Pharmaceutical Society of Japan**, v. 42, p. 138-146, 1994.
- 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.

Palavras-chave: *Ephedranthus parviflorus*, óleo essencial, *Artemia salina*.