

# ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DOS FRUTOS DE *LECYTHIS PISONIS*

Thamires Silva Mascarenha (bolsista do PIBIC/UFPI), Éverton Leandro de França Ferreira (colaborador, Mestrando em Química, UFPI), Mariana Helena Chaves (orientadora, Depto. de Química, UFPI)

## 1. Introdução

*Lecythis pisonis* Camb., conhecida com o nome popular sapucaia pertence à família Lecythidaceae, tem grande ocorrência nos estados do Piauí, Pernambuco, São Paulo e na região amazônica (MORI e PRANCE, 1990b). Seu período de frutificação ocorre nos meses de agosto a outubro e floresce entre os meses de setembro a outubro (PIO CORREA, 1978). É uma planta de crescimento rápido, com flores de cor rosa ou lilás. O fruto da sapucaia é utilizado popularmente no tratamento de diarreia e sífilis.

Devido às indicações de uso popular e estudos realizados com espécies de Lecythidaceae que relatam a presença de substâncias com propriedades antioxidantes, o presente trabalho teve como objetivo obter e fracionar o extrato etanólico da casca dos frutos da *L. pisonis*, avaliar o conteúdo de fenóis totais, flavonóides totais, atividade antioxidante e a toxicidade do extrato e frações.

## 2. Metodologia

**Preparação de extratos:** A casca dos frutos de *L. pisonis* foi seca à temperatura ambiente e moída em moinho de facas. O material obtido (3,065 kg) foi submetido a extração por maceração com etanol. Após remoção do solvente em evaporador rotativo e liofilização foi obtido 26,08 g (0,85%) de extrato etanólico.

**Partição do extrato EtOH da casca dos frutos:** O extrato EtOH da casca (24 g) foi submetido a partição líquido-líquido, iniciando-se com a suspensão do material em MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) e posterior extração com os solventes em ordem crescente de polaridade (hexano, éter etílico e acetato de etila).

**Fracionamento cromatográfico:** A fração hexânica (5,2 g) da partição do extrato EtOH da casca dos frutos foi cromatografada em coluna de gel de sílica (112 g) eluída com hexano e AcOEt em ordem crescente de polaridade, gerando 134 frações. Destas, foram isoladas 6 sub-frações que serão analisadas em RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e/ou CG-EM.

**Avaliação das atividades farmacológicas e determinação dos teores de flavonóides e fenóis totais:** A avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi realizada por meio da ação sequestradora do radical livre DPPH, conforme descrito por Sousa et al., 2007. A equação da curva de calibração do DPPH utilizada foi  $C = 33,227A + 1,0607$  (C= concentração de DPPH; A= absorvância no  $\lambda_{max}=516$  nm e o coeficiente de correlação  $R = 0,999$ ). O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, em equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato, no  $\lambda_{max}=750$  nm (SOUSA et al., 2007). O teor de flavonóides totais (FLAT) foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular em mg de equivalente de rutina (ER) por grama de extrato, utilizando solução metanólica de AlCl<sub>3</sub> (SOBRINHO et al., 2010). Todas as análises foram realizadas em triplicata utilizando espectrofotômetro PerkinElmer Lambda 25. A toxicidade das frações do extrato EtOH foi determinada frente à *Artemia salina*, segundo Mclaughlin, 1998.

**Análise em CG-EM:** A fração HC46-10 foi analisada em cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM), utilizando He como gás de arraste (1 mL min<sup>-1</sup>) e a seguinte programação de temperatura: 100 °C (0, 5 min), 10 °C min<sup>-1</sup> até 250 °C (1 min); 5 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C (10 min). A temperatura do injetor e da interface foi 260 °C 300 °C, respectivamente.

### 3. Resultados e Discussão

O maior teor de fenóis totais (FT) em mg de EGA/g de extrato EtOH foi determinado para a fração aquosa (45,67 ± 0,45) (Tabela 1). A análise estatística, sobre os teores de FT do extrato EtOH e frações de *L. pisonis* revelaram existir diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a média destes teores.

O maior teor de flavonóides totais (FLAT) em mg de ER/g de extrato EtOH foi determinado para a fração hexânica (21,10 ± 1,07) (Tabela 1). A análise estatística, sobre os teores de FLAT do extrato EtOH e frações revelaram existir diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a média destes teores.

**TABELA 1.** Fenóis totais (FT) e Flavonóides totais (FLAT) do extrato EtOH da casca dos frutos de *L. pisonis* e frações de partição

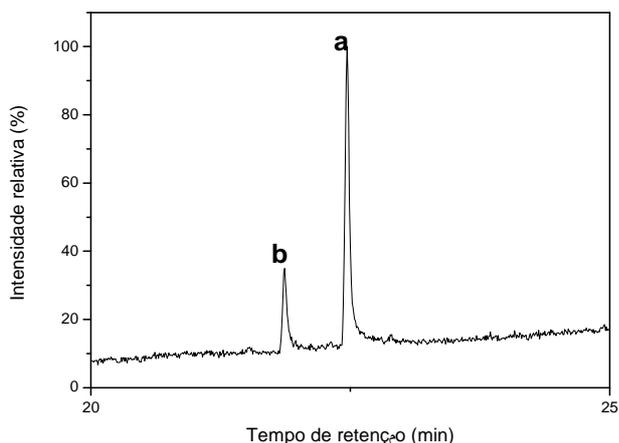
Amostras	Fenóis totais (FT)	Flavonóides totais (FLAT)
	mg de EAG/g de extrato EtOH ± DP	mg de EAG/g de extrato EtOH ± DP
Extrato EtOH	103,87 ± 1,04	86,20 ± 0,77
F. Etérea	26,34 ± 0,97	5,54 ± 0,21
F. AcOEt	18,77 ± 0,55	2,41 ± 0,14
F. Aquosa	45,67 ± 0,45	1,79 ± 0,01
F. Hexânica	7,84 ± 1,16	21,10 ± 1,07

EAG= equivalente de ácido gálico.

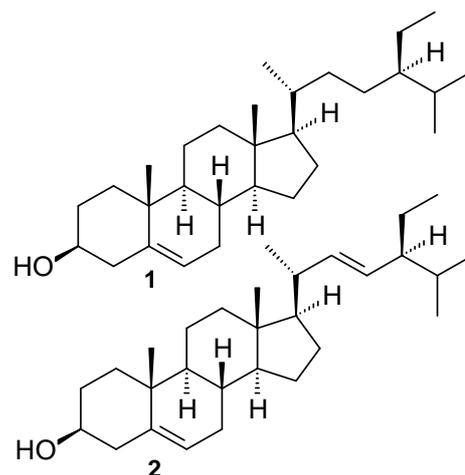
A avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio do DPPH mostrou que o extrato EtOH da casca dos frutos não apresentou um bom percentual de atividade antioxidante (25,92 ± 0,98), apresentando-se inferior aos controles BHT (89,88 ± 0,83) e rutina (91,44 ± 0,54), todos a 250 µg/mL.

No ensaio de toxicidade frente à *A. salina* as frações AcOEt e aquosa apresentaram valores de CL<sub>50</sub> superiores a 1000 µg mL<sup>-1</sup>, portanto não são consideradas tóxicas. Devido a baixa solubilidade do extrato EtOH e da fração hexânica nos solventes usados no teste de citotoxicidade (H<sub>2</sub>O e DMSO ou Tween 80) não foi possível testá-las.

A análise por CG-EM da sub-fração HC46-10 proveniente do fracionamento da fração hexânica, apresentou dois picos no cromatograma de íons totais (TIC) (Figura 1), indicando tratar-se de uma mistura. Os espectros de massas obtidos por impacto de elétrons (70 eV) para os picos **a** e **b**, apresentou os íons moleculares em  $m/z$  414 e  $m/z$  412, mostrando ser a mistura dos esteróides sitosterol (**1**) e estigmasterol (**2**), com índice de similaridade equivalentes a 92% e 82%, respectivamente (Figura 2) em comparação aos espectros da biblioteca do aparelho.



**FIGURE 1.** Cromatograma de íons totais da fração dos esteróides sitosterol (a) e estigmasterol (b)



**FIGURE 2.** Estrutura dos esteróides sitosterol (1) e estigmasterol (2)

#### 4. Conclusão

As frações aquosa e hexânica da partição do extrato EtOH apresentaram os maiores teores de fenóis totais ( $45,67 \pm 0,45$ ) e flavonóides totais ( $21,10 \pm 1,07$ ), respectivamente. O extrato EtOH da casca dos frutos não apresentou boa capacidade como sequestradora do radical livre, DPPH. No ensaio de citotoxicidade as frações AcOEt e aquosa não apresentaram toxicidade frente à *A. salina* com  $CL_{50} > 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ . O fracionamento da fração hexânica resultou no isolamento de 6 frações, que serão analisadas posteriormente por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . A fração HC46-10 foi analisada por CG-EM e se apresentou como a mistura dos esteróides estigmasterol e sitosterol na proporção de 23:77.

#### 5. Apoio

Ao CNPq, FINEP e PIBIC/UFPI pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

#### 6. Referências Bibliográficas

- MORI, S. A.; PRANCE, G. T. Lecythidaceae. Part II. The zygomorphic-flowered New World genera (*Couroupita*, *Corythophora*, *Bertholletia*, *Couratari*, *Eschweilera*, & *Lecythis*). **Flora Neotropica Monograph 21**, p.1–376, 1990b.
- MCLAUGHLIN J. L.; ROGERS L. L.; ANDERSON J. E. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. **Drug Information Journal**, v. 32, p. 513-524, 1998.
- PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa nacional, v. 6, 1978
- 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. **Quim. Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.
- SOBRINHO, T. J. S. P.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Quim. Nova**, Brasil, v. 33, n. 2, p. 288-291, 2010.

**Palavras – chave:** *Lecythis pisonis*, atividade antioxidante, toxicidade