

ERRATAS

RBCF/*BJPS*, v.39, n.4, 2003

Resumo/*Abstract in portuguese*
Página 365, 12° Linha/*Page 365, 12° Line*
Substituir: 10 mg As/L por 10 µg As/L
Replace: 10 mg As/L for 10 µg As/L

RBCF/*BJPS*, v.41, n.1, 2005

Substituir: Páginas 70-83 pelas páginas incluídas a seguir.
Replace: Pages 70-83 for the enclosed pages as following.

Avaliação química e da atividade antidiarréica das folhas de *Byrsonima cinera* DC. (Malpighiaceae)

Maria Eloisa Figueiredo¹, Daniele C. Michelin², Miriam Sannomiya^{1*}, Marcelo A. Silva¹,
Lourdes C. dos Santos¹, Luis Fernando R. de Almeida³, Alba R. M. Souza Brito⁴,
Herida R. N. Salgado², Wagner Vilegas¹

¹ Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Unesp – Araraquara, SP, ² Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp - Araraquara, SP, ³ Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Unesp – Botucatu, SP, ⁴ Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Biologia, Unicamp -Campinas - SP

Folhas e cascas de algumas espécies do gênero Byrsonima (Malpighiaceae) são empregadas popularmente contra diarreia. Contudo, não existem dados na literatura à respeito de investigações químicas ou farmacológicas dos extratos de B. cinera. Neste estudo, nós avaliamos a atividade antidiarréica dos extratos metanólico e hidrometanólico das folhas de B. cinera em ratos Swiss. Os resultados mostraram que ambos os extratos reduziram significativamente a motilidade intestinal. Investigação fitoquímica do extrato metanólico levou ao isolamento e identificação da (+)-catequina e da quercetina-3-O- α -L-arabinopiranosídeo. A atividade observada pode estar correlacionada com a presença dessas substâncias nos extratos.

Unitermos

- *Byrsonima cinera*
- Malpighiaceae
- Motilidade intestinal

*Correspondência:

M. Sannomiya
Instituto de Química, Departamento de
Química Orgânica, Universidade
Estadual Paulista,
Rua Francisco Degni s/n
14800-900 – Araraquara – SP – Brasil
Email: miriamsannomiya@pop.com.br

INTRODUÇÃO

A região biogeográfica central do Brasil é uma das maiores do mundo (Klink, 1996). Na literatura existem cerca de 6.253 espécies nativas de plantas incluídas em 150-160 famílias na região do cerrado (Mendonça *et al.*, 1998). Muitas plantas pertencentes às mais variadas famílias têm sido empregadas popularmente na região do cerrado no tratamento de diversas doenças, como é o caso das Malpighiaceae (Almeida *et al.*, 1998). A família Malpighiaceae compreende aproximadamente 60 gêneros e 1200 espécies, sendo que 50% encontram-se no Brasil. Os gêneros mais importantes da América meridional são *Malpighia* e *Byrsonima* (Joly, 1977).

Várias espécies pertencentes ao gênero *Byrsonima* ocorrem no nordeste brasileiro, sendo algumas delas intensamente consumidas na forma de sucos, licores, geléias e doces. De acordo com o NAPRALERT, espécies deste gênero são comumente utilizadas como anti-asmáticas, anti-febris e no tratamento de infecções cutâneas (Caceres *et al.*, 1993).

Até o momento, poucas espécies do gênero *Byrsonima* foram estudadas quimicamente. Gottlieb *et al.* (1975) isolaram triterpenos do tronco de *B. verbascifolia*. As folhas de *B. microphylla* forneceram triterpenos esterificados com ácidos graxos, ácidos triterpênicos, quercetina e galato de metila (Mendes *et al.*, 1999). Vários estudos relatam a química de *B. crassifolia*, da qual

foram isolados compostos voláteis dos frutos, glicolípideos, triterpenos, ácidos triterpênicos, catequinas, e flavonóides das folhas (Amarquaye *et al.*, 1994; Rastrelli *et al.*, 1997) e do tronco proantocianidinas e taninos (Geiss *et al.*, 1995). Estudos realizados em nosso grupo de pesquisa mostram o isolamento de amentoflavona, quercetina-3-*O*- β -D-galactopiranosídeo e quercetina-3-*O*- α -L-arabinopiranosídeo das folhas de *B. crassa* (Sannomiya *et al.*, 2004).

Folhas e cascas de algumas espécies de *Byrsonima* são usadas popularmente em disfunções gástricas, infecções cutâneas, picadas de cobra e ainda como anti-diarréicos (Amarquaye *et al.*, 1994). No entanto, não há dados sobre a química ou efeitos farmacológicos de extratos das folhas no sistema gastrointestinal. Tendo em vista a utilização de cascas e folhas de espécies de *Byrsonima crassa* e *B. fagifolia* no tratamento de diarreias, este trabalho tem como objetivo a investigação química e anti-diarréica de folhas de *Byrsonima cinera* DC, conhecida popularmente por murici, através do ensaio sobre o trânsito intestinal de camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

O material vegetal, folhas de *B. cinera*, foi coletado e identificado por Campos, C.J (IBB-UNESP-Botucatu, SP) em Pratânia-SP. Encontra-se catalogado com o número de exsicata 24163 junto ao herbário da Unesp-Botucatu.

Preparo dos Extratos

As folhas foram secas e trituradas em moinho de facas e em seguida, foram submetidas às extrações por maceração em CHCl₃, MeOH, MeOH/H₂O 80:20, v/v, respectivamente a partir do mesmo pó. Após a evaporação dos solventes em rotaevaporador foram obtidos ECHCl₃ (16,8 g), EMeOH (85,2 g) e EMeOH 80% (29,6 g).

Fracionamento do extrato metanólico

O EMeOH foi particionado em uma mistura de AcOEt e água (1:1, v/v). A porção AcOEt (4,0 g) foi dissolvida em 15 mL de MeOH e submetida à centrifugação. O fracionamento da parte solúvel se deu em coluna de Sephadex LH-20 (57 cm X 3,0 cm d.i.), empregando como eluente MeOH. Obtiveram-se 195 frações, as quais foram reunidas em 17 grupos de frações, após análises cromatográficas por CCD. Consecutivos fracionamentos

em CC (sílica-gel) das frações 37 (110 mg) e 43-45 (160 mg) resultaram no isolamento da (+)-catequina (7,0 mg) e de quercetina-3-*O*- α -L-arabinopiranosídeo (16,0 mg), respectivamente.

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*), machos, com 30 dias de idade, pesando entre 22 e 30 g, os quais foram adaptados ao biotério experimental por 5 dias antes do início dos ensaios biológicos. Os animais, com livre acesso à alimentação e à água, foram mantidos em ambiente com temperatura de 20 \pm 1°C, umidade monitorada e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro. No dia do experimento, os animais foram mantidos em jejum por 3 horas e recebendo água *ad libitum*.

Teste da motilidade intestinal em camundongos

No ensaio de trânsito intestinal foram utilizados EMeOH e EMeOH 80%, ressuspendidos em solução fisiológica a 50 mg/mL.

Foram constituídos 3 grupos experimentais com 10 animais cada, sendo que 2 grupos foram tratados com o extrato vegetal (1000 mg/kg), e um com solução fisiológica (10 mL/kg), controle, os quais receberam as soluções por via oral através de gavage.

Após 45 minutos, os animais receberam a suspensão de carvão ativo 10% em solução de goma arábica 5%, 0,5 mL/animal, também através de gavage.

Após 45 minutos, os camundongos foram sacrificados em câmara de CO₂ e foi realizada a extirpação imediata do intestino desde o piloro até o início do ceco. Assim, foi feita a medida do comprimento total do intestino delgado e da distância percorrida pela suspensão de carvão ativo. O resultado foi expresso em porcentagem do comprimento total do intestino delgado.

A atividade sobre o trânsito intestinal foi determinada segundo Janssen & Jageneau (1957) e Wong & Wai (1981).

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unesp – Araraquara através do parecer nº 09/2004.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste *t* de Student's - não pareado. Foi utilizado o nível de significância estatística de P < 0.05. A análise estatística foi realizada de acordo com a metodologia preconizada para o ensaio sobre o trânsito gastrointestinal no qual se

TABELA I - Porcentagem da distância percorrida pelo carvão ativo no intestino dos camundongos após a administração dos extratos EMeOH e EMeOH 80% das folhas de *Byrsonima cinera*

Tratamento	Dose (mg/kg de peso animal)	Distância percorrida pelo carvão ativo (%) \pm desvio padrão
Controle	10 mL/kg	75,63 \pm 12,26
EMeOH	1000 mg/kg	65,99 \pm 9,14 *
EMeOH 80%	1000 mg/kg	68,27 \pm 14,42*

n=10; % = média dos 10 animais; * $P < 0,05$

compara dois grupos, segundo Rouf *et al.* (2003) e Bafna & Bodhankar (2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento da porção acetato de etila do extrato metanólico das folhas de *B. cinera* resultou, até o momento, no isolamento da (+)-catequina e quercetina-3-O- α -L-arabinopiranosídeo os quais foram identificados através da comparação dos dados espectroscópicos com os da literatura (Harborne, 1993; Agrawal, 1989).

As análises cromatográficas dos extratos polares de *B. cinera* por CCD revelados em NP/PEG e solução de anisaldeído/ácido sulfúrico também mostraram a similaridade existente dos constituintes químicos entre os extratos, devido à presença de catequinas e flavonóides nos mesmos.

Estes resultados corroboram com estudos já realizados com outras espécies de *Byrsonima*, onde foram também detectadas essas mesmas classes de metabólitos secundários (Amarquaye *et al.*, 1994; Rastrelli *et al.*, 1997; Sannomiya *et al.*, 2004).

O ensaio do trânsito intestinal em camundongos demonstrou significativa redução da motilidade intestinal dos animais após administração dos extratos metanólico e hidrometanólico de *B. cinera*, quando comparados com o controle (Tabela I).

De acordo com a literatura, alguns flavonóides apresentam atividade antidiarréica como no caso da quercetrina, quercetina e ternatina. Essa atividade dos flavonóides foi observada através de experimentos de diarréia crônica em ratos e motilidade do trânsito intestinal de camundongos (Galvez *et al.*, 1993; Galvez *et al.*, 1996; Rao *et al.*, 1997).

Os dados obtidos com *B. cinera* mostram-se relevantes, já que não há dados sobre a química ou efeitos farmacológicos de extratos das folhas no sistema gastrointestinal desta espécie na literatura. Esta atividade observada pode estar relacionada com a presença de catequinas e flavonóides nos extratos polares de *B. cinera*

(Rao *et al.*, 1997; Galvez *et al.*, 1991; Galvez *et al.*, 1993; Galvez *et al.*, 1996).

CONCLUSÕES

A avaliação da atividade anti-diarréica em camundongos dos extratos metanólico e hidrometanólico das folhas de *B. cinera* apresentou uma redução significativa da motilidade intestinal no modelo experimental adotado.

O estudo químico da fração AcOEt do extrato metanólico resultou no isolamento de (+)-catequina e quercetina-3-O- α -L-arabinopiranosídeo. A atividade observada pode estar relacionada com a presença destas classes dos compostos isolados. Outros estudos serão realizados para avaliar a atividade dos compostos isolados, bem como o mecanismo de ação envolvido.

ABSTRACT

Chemical evaluation and antidiarrhoeal activity of leaves of *Byrsonima cinera* DC. (Malpighiaceae)

Leaves and bark of some *Byrsonima* species (Malpighiaceae) are popularly employed against diarrhoeal diseases. However, no data were reported in the literature about the chemistry and pharmacology of extracts from *B. cinera* leaves. In the present study we evaluated the anti-diarrhoeal activity of methanolic and hydromethanolic extracts obtained from the leaves of *B. cinera* in Swiss mice. Results showed that both extracts reduced significantly the gastrointestinal motility. Phytochemical evaluation of the methanolic extract led to the isolation and identification of (+)-catechin and quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside. The observed activity may be correlated to the presence of these compounds in the extract.

UNITERMS: *Byrsonima cinera*. Malpighiaceae. Intestinal motility

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pela bolsa concedida à Figueiredo M. E. e Sannomiya M., e ao CNPq para Michelin D. C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. *Cerrado: espécies vegetais úteis: 38-9*, Planaltina: EMBRAPA, 1998. 465p.
- AGRAWAL, P. K. *Carbon 13 NMR of flavonoids*. Amsterdam: Elsevier, 1989. 564 p.
- AMARQUAYE, A.; CHE, C. T.; BEJAR, E.; MALONE, M. H.; FONG, H. H. S. A new glycolipid from *Byrsonima crassifolia*. *Planta Med.*, v. 60, n. 1, p. 85-86, 1994.
- BAFNA, P., BODHANKAR, S. Gastrointestinal effects of Mebarid®, an ayurvedic formulation, in experimental animals. *J. Ethnopharmacol.*, v. 86 p. 173–176, 2003.
- CACERES, A.; FIGUEROA, L.; TARACENA, A. M.; SAMAYOA, B. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory-diseases. 2. Evaluation of activity of 16 plants against gram-positive bacteria. *J. Ethnopharmacol.*, v. 39, n. 1, p. 77-82, 1993.
- GALVEZ, J.; CRESPO, M. E.; JIMENEZ, J.; SUAREZ, A.; ZARZUELO, A. Antidiarrheic activity of quercitrin in mice and rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 45, n. 2, p. 157-159, 1993.
- GALVEZ, J.; DUARTE, J.; DEMEDINA, F. S.; JIMENEZ, J.; ZARZUELO, A. Inhibitory effects of quercetin on guinea-pig ileum contractions. *Phyto. Res.*, v. 10, n. 1, p. 66-69, 1996.
- GALVEZ, J.; ZARZUELO, A.; CRESPO, M. E.; UTRILLA, M. P.; JIMENEZ, J.; SPIESSENS, C.; DEWITTE, P. Antidiarrheic activity of *Sclerocarya birrea* bark extract and its active tannin constituent in rats. *Phyto. Res.*, v. 5, n. 6, p. 276-278, 1991.
- GEISS, F.; HEINRICH, M.; HUNKLER, D.; RIMPLER, H.; HEINRICH, M. Proanthocyanidins with (+)-epicatechin units from *Byrsonima crassifolia* bark. *Phytochemistry*, v. 39, n.3, p. 635-643, 1995.
- GOTTLIEB, O. R.; HENRIQUES MENDES, P.; TAVEIRA MAGALHÃES, M. Triterpenoids from *Byrsonima verbascifolia*. *Phytochemistry*, v. 14, n. 5-6, p. 1456-1456, 1975.
- HARBORNE, J. B. *The flavonoids: advances in research since 1986*. New York : Chapman & Hall, 1993. 676 p.
- JANSSEN, P. A. J.; JAGENAU, A. H. A new series of potent analgesics. Part I – Chemical Structure and Pharmacological Activity. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 9, n. 6, p. 381-400, 1957.
- JOLY, A. B. *Botânica – Introdução à taxonomia vegetal*. 4 ed. São Paulo: Cia Editora Nacional, 1977. 777p.
- KLINK, C. A. Relação entre o desenvolvimento agrícola e a biodiversidade. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS, 1st, 1996, Brasília. *Proceedings...* Brasília: [s.n.], 1996. p. 25-27.
- MARTINEZ-VASQUEZ, M.; GONZALEZ-ESQUINCA, A. R.; CAZARES LUNA, L.; MORENO GUTIÉRREZ, M. N.; GARCÍA-ARGÁEZ, A. N. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. *J. Ethnopharmacol.*, v. 66, n. 1, p. 79-82, 1999.
- MENDES, C. C.; CRUZ, F. G.; DAVID, J. M.; NASCIMENTO, I. P.; DAVID, J. P. Triterpenes esterified with fatty acid and triterpene acids isolated from *Byrsonima microphylla*. *Quím. Nova*, v. 22, n. 2, p. 185-188, 1999.
- MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA, M. C.; REZENDE, A. R.; FILGUIERAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. Flora vascular do Cerrado. In: SANO, S. M., ALMEIDA, S. P., (Eds.). *Cerrado ambiente e flora*. Brasília: EMBRAPA, 1998. p. 286-556.
- RAO, V. S. N.; SANTOS, F. A.; SOBREIRA, T. T.; SOUZA, M. F.; MELO, C. L.; SILVEIRA, E. R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. *Planta Méd.*, v. 63, n. 2, p. 146-149, 1997.
- RASTRELLI, L.; DETOMMASI, N.; BERGER, I.; CACERES, A.; SARAVIA, A.; DE SIMONE, F. Glycolipids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytochemistry*, v. 45, n. 4, 647-650, 1997.

- ROUF, A. S. S.; ISLAM, M. S.; RAHMAN, M. T. Evaluation of antidiarrhoeal activity *Rumex maritimus* root. *J. Ethnopharmacol.* v. 84, p. 307-310, 2003.
- SANNOMIYA, M.; RODRIGUES, C. M.; COELHO, R. G.; SANTOS, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Application of preparative high-speed counter-current chromatography for the separation of flavonoids from the leaves of *Byrsonima crassa* Niedenzu (IK). *J. Chromatogr. A*, v. 1035, n. 1, p. 47-51, 2004.
- WONG, C. L.; WAY, M. K. Effects of aspirin and paracetamol on naloxone reversal or morphine-induced inhibition of gastrointestinal propulsion in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, v.73, n. 1, p. 11-19, 1981.

Recebido para publicação em 23 de julho de 2004.

Aceito para publicação em 08 de outubro de 2004.