

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.

O arquivo disponível sofreu correções conforme ERRATA publicada no Volume 41 Número 2 da revista.