



## ANÁLISE FITOQUÍMICA, ANTIPROLIFERATIVA E ANTIOXIDANTE DAS CASCAS DE *Endopleura uchi*

Maria Luisa Brodt Lemes<sup>1</sup>

Ivana Grivicich<sup>2</sup>

Alexandre de Barros Falcão Ferraz<sup>2</sup>

### RESUMO

O chá das cascas de *Endopleura uchi* (*Humiriaceae*), comumente chamada de uxi-amarelo, é utilizado tradicionalmente como anti-inflamatório e no tratamento de infecções uterinas, tumores, hipercolesterolemia, diabetes e artrite. Além disso, esta planta está presente na constituição da “garrafada de Carobinha”, uma preparação popular que apresentou citotoxicidade. Portanto, este trabalho destina-se a analisar a constituição fitoquímica das cascas de *E. uchi* e avaliar o potencial antiproliferativo e antioxidante do extrato aquoso de suas cascas. Para a análise da constituição fitoquímica realizaram-se ensaios colorimétricos qualitativos e os doseamentos de compostos fenólicos, flavonoides e taninos totais. Determinou-se a atividade antioxidante do extrato aquoso das cascas de *E. uchi* através do ensaio com DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e como padrão usou-se a quercetina ( $IC_{50} = 18,22 \pm 2,22 \mu\text{g/mL}$ ). Utilizou-se o método da sulforrodamina B para avaliar a atividade antiproliferativa frente às linhagens de adenocarcinoma humano de cólon (HT-29), carcinoma de mama (MCF-7), célula tumoral geral (KB), glioblastoma humano (U-251) e fibroblasto (NHI-3T3), o padrão empregado foi o etoposídeo. Evidenciou-se a presença de cumarinas, flavonoides, saponinas e taninos nas cascas desta planta. Sabe-se que as cumarinas e as saponinas são metabólitos secundários que possuem potencial citotóxico, logo, relaciona-se a identificação destes compostos com a atividade antiproliferativa encontrada para *E. uchi*. Constatou-se que o extrato aquoso apresentou maior atividade contra as linhagens celulares HT-29 e MCF-7 e observa-se que estes dois tipos de câncer apresentam grande ocorrência na população. Ainda pode-se relacionar o elevado teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante encontrada ( $IC_{50}=17,95 \pm 1,17 \mu\text{g/mL}$ ) com o uso popular desta planta.

Palavras chave: estudo fitoquímico; citotoxicidade; DPPH; uxi-amarelo.

### INTRODUÇÃO

Embora as plantas medicinais sejam um campo de pesquisa relevante para o Brasil, sabe-se que o uso dos produtos naturais se baseia principalmente no seu emprego popular e não em estudos sobre os seus efeitos (ARAÚJO et al., 2016). Neste contexto do uso empírico de plantas medicinais encontra-se a espécie *Endopleura uchi* (*Humiriaceae*), uma árvore nativa da Amazônia brasileira, conhecida popularmente como uxi-amarelo (POLITI et al., 2011).

Na medicina popular o chá das cascas de *E. uchi* é utilizado como anti-inflamatório e no combate de infecções uterinas e tumores (NUNOMURA et al., 2009). Segundo TACON e FREITAS (2013) as cascas desta espécie também são usadas para o tratamento da hipercolesterolemia, diabetes e artrite. Além disso, constatou-se que *E. uchi* está entre as plantas medicinais que compõem a “garrafada de Carobinha”, uma preparação popular que possui citotoxicidade frente à linhagem de fibroblastos normais (NHI-3T3) e que também apresenta redução da capacidade antioxidante com o tempo de armazenagem (CAMPELO, 2016).

---

1 Acadêmica do curso de Farmácia/ULBRA - Bolsista PROICT/FAPERGS - marialuisalemes@yahoo.com.br

2 Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde - alexandre.ferraz@ulbra.br

*E. uchi* é uma espécie amplamente distribuída pela bacia amazônica, entretanto, existem poucos estudos químicos desta planta. Além disso, a maioria dos trabalhos dedica-se a análise de seus frutos (SILVA et al., 2009). No entanto, observa-se que suas cascas são amplamente comercializadas em feiras, mercados e internet (SILVA; TEIXEIRA, 2015). Fato preocupante, pois a população utiliza o chá destas cascas no tratamento de diferentes moléstias e não há estudos que comprovem sua real eficácia e segurança (POLITI, 2009). Uma vez que *E. uchi* é uma planta pouco estudada e está presente na constituição da “garrafada de Carobinha”, uma preparação popular que se mostrou citotóxica frente a linhagem de fibroblastos normais. Este trabalho tem como objetivo analisar a constituição fitoquímica das cascas de *E. uchi* e avaliar o potencial antiproliferativo e antioxidante do extrato aquoso de suas cascas.

## METODOLOGIA

**-Material vegetal:** As cascas de *E. uchi* foram coletadas no Estado do Piauí no herbário da Universidade Federal do Piauí – UFPI.

**-Obtenção do extrato aquoso:** As cascas de *E. uchi* foram submetidas ao método de extração por decocção, durante 15 minutos, usou-se a relação de 1:10 (planta/solvente). O decocto foi filtrado, congelado e submetido à liofilização sob temperatura de -40°C.

**-Análise fitoquímica:** As cascas de *E. uchi* foram submetidas as reações gerais seguindo a técnica descrita por FALKENBERG, SANTOS E SIMÕES (2007). Alcalóides (precipitação com reagentes de Bertrand, de Bouchardat, de Dragendorff e de Mayer), antraquinonas (reação de Borntraeger), cumarinas (KOH / UV 365 nm), flavonoides (Reação da cianidina), saponinas (índice de espuma) e taninos (precipitação com solução de gelatina). Realizou-se uma análise cromatográfica para confirmação dos resultados WAGNER E BLADT (1996).

**-Determinação do teor de flavonóides totais:** Usou-se a metodologia descrita por WOISKY e SALATINO (1998), que se baseia na formação de complexos estáveis entre o cátion alumínio e os flavonóides presentes na amostra. O valor obtido pela substituição da absorbância do teste na curva foi convertido para expressar o resultado em flavonóides equivalentes de quercetina (EQ) por grama de extrato liofilizado.

**-Determinação do teor de fenólicos totais:** O conteúdo total de compostos fenólicos presentes na amostra foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu. A quantidade total de compostos fenólicos foi expressa em equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg/g de extrato (MILIAUSKAS et al., 2004).

**-Determinação do teor de taninos totais:** Após determinar o conteúdo total de compostos fenólicos presentes na amostra, realizou-se a dosagem de taninos totais também pelo método Folin-Ciocalteu (SINGLETON E ROSSI, 1965). Para isso, adicionou-se caseína a mesma solução para a precipitação de taninos. A quantidade de taninos foi expressa em equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg/g de extrato (MILIAUSKAS et al., 2004).

**-Avaliação da capacidade antioxidante por DPPH:** Usou-se o método *in vitro* com o radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (MENSOR et al., 2001). A porcentagem de inibição de DPPH, que diz respeito à atividade antioxidante, foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de Inibição de DPPH} = [(Abs_{\text{controle}(+)} - Abs_{\text{amostra}}) \times 100] / Abs_{\text{controle}(+)}$$

Após a obtenção das porcentagens de inibição, esses dados foram utilizados para calcular a concentração inibitória para 50% de radicais livres (IC<sub>50</sub>) através do software Prism 5 for Windows.

**-Análise do potencial antiproliferativo:** Determinou-se através do ensaio da sulforodamina B (SRB) frente às linhagens de adenocarcinoma humano (HT-29), carcinoma de mama (MCF-7), célula tumoral geral (KB), glioblastoma humano (U-251) e fibroblasto (NHI-3T3) e

o padrão empregado foi o etoposídeo (SKEHAN et al., 1990). Usou-se os valores de absorvância para determinar o potencial de inibição de crescimento celular, por meio dos resultados de IC<sub>50</sub>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos testes qualitativos e colorimétricos identificou-se a ausência de alcaloides e antraquinonas nas cascas de *E. uchi* (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados do *screening* fitoquímico

Classes Químicas	Resultados
Alcaloides	Negativo
Cumarinas	Positivo
Flavonoides	Positivo
Antraquinonas	Negativo
Saponinas	Positivo
Taninos	Positivo

Em concordância com os resultados encontrados POLITI (2009), por meio de um *screening* fitoquímico, constatou a presença de taninos e saponinas, assim como, a ausência de alcaloides e antraquinonas nas cascas de *E. uchi*. Como esta espécie é pouco estudada e devido a *Humiriaceae* ser uma pequena família de plantas a identificação de flavonoides e saponinas no *screening* fitoquímico realizado com as cascas de *Saccoglotys gabonensis* (*Humiriaceae*) (TCHOUYA et al., 2014) corrobora com o resultado positivo destes compostos. Além disso, NUNOMURA et al. (2009) relatou o isolamento de uma isocumarina, a bergenina, das cascas de *E. uchi*.

Os compostos bioativos presentes nas plantas apresentam capacidade quimioterapêutica. Segundo MIRUNALINI, DEEPALAKSHMI e MANIMOZHI (2014), as cumarinas possuem atividade antiproliferativa frente a vários tipos de células tumorais, tornando-se potenciais agentes quimioterapêuticos. As saponinas também são metabólitos secundários citados como citotóxicos frente a um grande número de células cancerosas (PERTUIT et al., 2017). No trabalho de WU et al. (2015) verificou-se que algumas saponinas isoladas das cascas das raízes de *Schima superb* mostraram efeitos citotóxicos mais potentes que a vimblastina. Portanto, a presença destes compostos nas cascas de *E. uchi* pode estar relacionada com o potencial antiproliferativo encontrado para esta planta (Tabela 2).

Tabela 2: Resultados do potencial de inibição do crescimento celular

Amostra	HT-29	MCF-7	U251	KB	NHI-3T3
Extrato aquoso	23.5 ± 1.7	27.3 ± 5.8	50.2 ± 5.2	38.9 ± 2.3	39.6 ± 0.3
Etoposídeo	1.2 ± 0.1	3.5 ± 0.5	1.5 ± 0.05	8.3 ± 1.3	20.3 ± 2.8

Embora o extrato aquoso de *E. uchi* tenha inibido as células NHI-3T3, observa-se que ele apresentou maior atividade antiproliferativa frente as linhagens HT-29 e MCF-7. Segundo o Instituto Nacional de Câncer, o câncer de mama é o tipo que possui a maior incidência e a maior mortalidade na população feminina. Além disso, em 2012, a estimativa mundial apontou o câncer de cólon como o terceiro tipo de câncer mais comum entre os homens. Desta maneira, verifica-se a relevância dos resultados encontrados, visto que, o extrato mostrou-se ativo contra linhagens celulares que apresentam grande ocorrência na população.

Uma vez que o IC<sub>50</sub> do extrato analisado mostrou um valor inferior ao do padrão utilizado no teste (quercetina IC<sub>50</sub> = 18,22 ± 2,22 µg/mL), constata-se que *E. uchi* possui um forte potencial antioxidante. Também se observa nos resultados dos doseamentos que a planta possui valores expressivos de fenólicos, flavonoides e taninos totais (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados dos doseamentos e DPPH do extrato aquoso das cascas de *E. uchi*

Extrato Aquoso	Fenólicos mg/g EAG	Taninos mg/g EAG	Flavonoides mg/g EQ	DPPH µg/mL
<i>E. uchi</i>	617,76 ± 5,77	345,94 ± 11,41	15,55 ± 0,05	17,95 ± 1,17

No trabalho realizado por TACON e FREITAS (2012) se verificou que os diferentes extratos das cascas de *E. uchi* preparados por maceração apresentaram um elevado percentual de compostos fenólicos, o qual variou de 31,89 a 47,82%. Segundo estes autores, os fenóis estão entre as classes mais importantes de antioxidantes, pois sua estrutura química permite sequestrar e neutralizar os radicais livres. Sabe-se que a produção excessiva de radicais livres pode gerar efeitos danosos ao organismo, como a peroxidação lipídica de membranas e agressão às proteínas, enzimas, carboidratos e DNA. Logo, a capacidade dos antioxidantes de bloquear a formação destes radicais fornece proteção contra algumas doenças crônicas, tais como o câncer, doenças cardiovasculares, inflamação, aterosclerose, envelhecimento e a diabetes tipo II (HAIDA et al., 2012). Segundo MIRUNALINI, DEEPALAKSHMI e MANIMOZHI (2014) o dano oxidativo pode influenciar nos multi-estágios da carcinogênese. Sendo assim, relaciona-se o elevado teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante encontrada nos testes com o uso popular desta planta.

## CONCLUSÕES

Através do *screening* fitoquímico observa-se a presença de cumarinas, flavonoides, taninos e saponinas nas cascas de *E. uchi*. Constata-se que o extrato aquoso apresenta maior atividade contra as linhagens celulares HT-29 e MCF-7 e observa-se que estes dois tipos de câncer apresentam grande ocorrência na população. Além disso, relaciona-se o elevado teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante encontrada (IC<sub>50</sub>=17,95 ± 1,17 µg/mL) com o uso popular de *E. uchi*.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, C.R.F; SANTIAGO, F.G; PEIXOTO, M.I; OLIVEIRA, J.O.D.O; COUTINHO, M.S. Use of medicinal plants with teratogenic and abortive effects by pregnant women in a city in northeastern Brazil. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 38, p. 127-31, 2016.
- CAMPELO, D.S. AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E BIOLÓGICAS DE GARRAFADA DE “CAROBINHA”. 2016. 60 F. DISSERTAÇÃO (MESTRADO EM GENÉTICA E TOXICOLOGIA APLICADA) - UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL, CANOAS. 2016.
- FALKENBERG, M.B.; SANTOS, R.I.; SIMÕES, C.M.O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Ed. da UFSC, Porto Alegre, UFRGS, ed. 6, p. 229-245, 2007.
- HAIDA, K. S.; HAAS, J.; LIMA, D. S.; HAIDA, K. Y.; SILVA, F. J.; LIMANA, S.; RODRIGUES, R. T. Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*, **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, p. 360-8, 2012.

Instituto Nacional de Câncer/Estimativa 2016- Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>. Acesso em: 24 maio 2017, 15:00.

MENSOR, LL; MENEZES, FS; LEITÃO, GG; REIS, AS; dos SANTOS, TC; COUBE, CS; LEITÃO, SG. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*; v 15, p.127-130, 2001.

MILIAUSKAS, G; VENSKUTONIS, P.R; VAN BEEK, TA. *Screening* of radical scavenging activity of some medicinal plants and aromatic plant extract. **Food Chem**, v. 85, p. 231-7, 2004.

MIRUNALINI, S; DEEPALAKSHMI, K; MANIMOZHI, J. Antiproliferative effect of coumarin by modulating oxidant/antioxidant status and inducing apoptosis in Hep2 cells. **Biomedicine & Aging Pathology**, v.4, p. 131-5, 2014.

NUNOMURA, R.C.S.; OLIVEIRA, V.G.; SILVA, S.L.; NUNOMURA, S.M. Characterization of bergenin in *Endopleura uchi* bark and its anti-inflammatory activity. **J Braz Chem Soc**, v. 20, p. 1060-4, 2009.

PERTUIT, D; LARSHINI, M; BRAHIM, M.A; MARKOUK, M; MITAINE-OFFER, A; PAULULAT, T; DELEMASURE, S; DUTARTRE, P; LACAILLE-DUBOIS, M. Triterpenoid saponins from the roots of *Spergularia marginata*. **Phytochemistry**, v.139, p. 81-7, 2017.

POLITI, F.A.S. Estudos farmacognósticos e avaliação de atividades biológicas de extratos obtidos das cascas pulverizadas de *Endopleura uchi* (HUBER) Cuatrec. (Humiriaceae). 2009. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara. 2009.

POLITI, F.A.S.; MELLO, J.C.P.; MIGLIATO, K.F.; NEPOMUCENO, A.L.A.; MOREIRA, R.R.D.; PIETRO, R.C.L.R. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities and determination of the total tannin content of bark extracts *Endopleura uchi*. **Int J Mol Sci**, v. 12, p. 2757-68, 2011.

SILVA, L.R.; TEIXEIRA, R. Phenolic profile and biological potential of *Endopleura uchi* extracts. **Asian Pac J Trop Med**, v. 8, p. 889-97, 2015.

SILVA, S.L.; OLIVEIRA V.G.; YANO, T.; NUNOMUA, R.C.S. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. **Acta Amazonica**, v. 39, p.187-192, 2009.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am J Enol Vitic**, v. 16, p.144–58,1965.

SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, J. T. W., BOKESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of National Cancer Institute**. v.82, p. 1107–12, 1990.

TACON, L.A. Estudo da extração e secagem por *spray dryer* das cascas de *Endopleura uchi* (HUBER) Cuatrec. (Humiriaceae). 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2012.

TACON, L.A.; FREITAS, L.A.P. Box-Behnken design to study the bergenin content and antioxidant activity of *Endopleura uchi* bark extracts obtained by dynamic maceration. **Rev Bras Farmacogn**, v. 23, p. 65-71, 2012.

TACON, L.A.; FREITAS, L.A.P. Box-behnken design to study the bergenin content and antioxidant activity of *endopleura uchi* bark extracts obtained by dynamic maceration. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 23, p. 65- 71, 2013.

TCHOUYA, G.R.F.; SOUZA, A.; TCHOUANKEU, J.C.; YALA, J.; BOUKANDOU, M.; FOUNDIKOU, H.; OBIANG, G.D.N.; BOYOM, F.F.; MABIKA, R.M.; MENKEM, E.Z.; NDINTEH, D.T.; LEBIBI, J. Ethnopharmacological surveys and pharmacological studies of plants used in traditional medicine in the treatment of HIV/AIDS opportunistic diseases in Gabon. **J Ethnopharmacol**, v. 13, p. 306-16, 2015.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas**. 2ªed. Berlin: Springer, 1996.

WOISKY, R.G; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **J Api Res**, v.37, p. 99-105, 1998.

WU, C; ZHANG, R; LI, H; HU, C; LIU, B; LI, Y; ZHOU, G. Triterpenoid saponins from the root bark of *Schima superba* and their cytotoxic activity on B16 melanoma cell line. **Carbohydr. Res**, v. 413, p. 107-14, 2015.