

Aproveitamento das folhas de *Annona mucosa*

Utilization of leaves *Annona mucosa*

DOI:10.34117/bjdv6n12-693

Recebimento dos originais: 29/11/2020

Aceitação para publicação: 29/12/2020

Heriberto Rodrigues Bitencourt

Doutor em Química pela Universidade Federal do Pará

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 - Bairro - Guamá, Belém-PA, CEP: 66.075-110

E-mail: eriberto@ufpa.br

Heriberto da Costa Bitencourt

Aluno do Ensino Médio da Escola de Aplicação da UFPA

Instituição: Escola de Aplicação da UFPA

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 - Bairro - Guamá, Belém-PA, CEP: 66.075-110

E-mail: hqcosta15@gmail.com

Andrey Moacir do Rosário Marinho

Doutor em Química Orgânica pela Universidade Federal de São Carlos

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 - Cremação, Belém – PA, Brasil, CEP: 66.075-110

E-mail: andrey@ufpa.br

Antônio Pedro da Silva Souza Filho

Doutor em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Trav. Dr. Enéas Pinheiro, CEP: 66.085-100

E-mail: antonio-pedro.filho@embrapa.br

José Ciriaco Pinheiro

Doutor em Ciências pela Universidade de São Paulo

Instituição: Universidade Federal do Pará

Laboratório de Química Teórica e Computacional, Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Correa, 1, Guamá, CEP: 66.075-110

E-mail: ciriaco@ufpa.br

Maria das Graças Cardoso Tavares

Esp. Medicamentos - Melhoramentos de Fitoterápicos Tradicionais- Univ. Federal do Pará

Instituição: Secretaria Municipal de Saúde de Acará- Pará.

Endereço: Av Fernando Guilhon s/n. Bairro: Centro. CEP: 68.690-000

E-mail: gracacard42@gmail.com

Ossalin de Almeida

Doutor em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia- Universidade Federal do Pará

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 - Cremação, Belém-PA, Brasil. CEP: 66.075-110
E-mail: ossalin@gmail.com

Rômulo Augusto Feio Farias

Mestre em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 - Cremação, Belém-PA, Brasil. CEP: 66.075-110
E-mail: raff@ufpa.br

RESUMO

O biribazeiro (*Annona mucosa*) é uma planta frutífera da região amazônica, apreciada pelo seu fruto, o biribá, sendo bastante estudada devido aos seus componentes químicos. Neste trabalho, as folhas foram submetidas a extração hexânica, para a obtenção do extrato hexânico alcaloídico, visando a sua caracterização via CLAE e Espectrometria de massas, dando como resultado a presença do alcaloide do tipo aporfínico, anonaina.

Palavras-chave: Alcaloide, anonaina, aporfina.

ABSTRACT

The biribazeiro (*Annona mucosa*) is a fruitful plant from the Amazon region, appreciated for its fruit, the biribá, and has been extensively studied due to its chemical components. In this work, the leaves were subjected to hexane extraction, to obtain the alkaloid hexane extract, aiming at its characterization via HPLC and Mass Spectrometry, resulting in the presence of the aporphine alkaloid, anonaine.

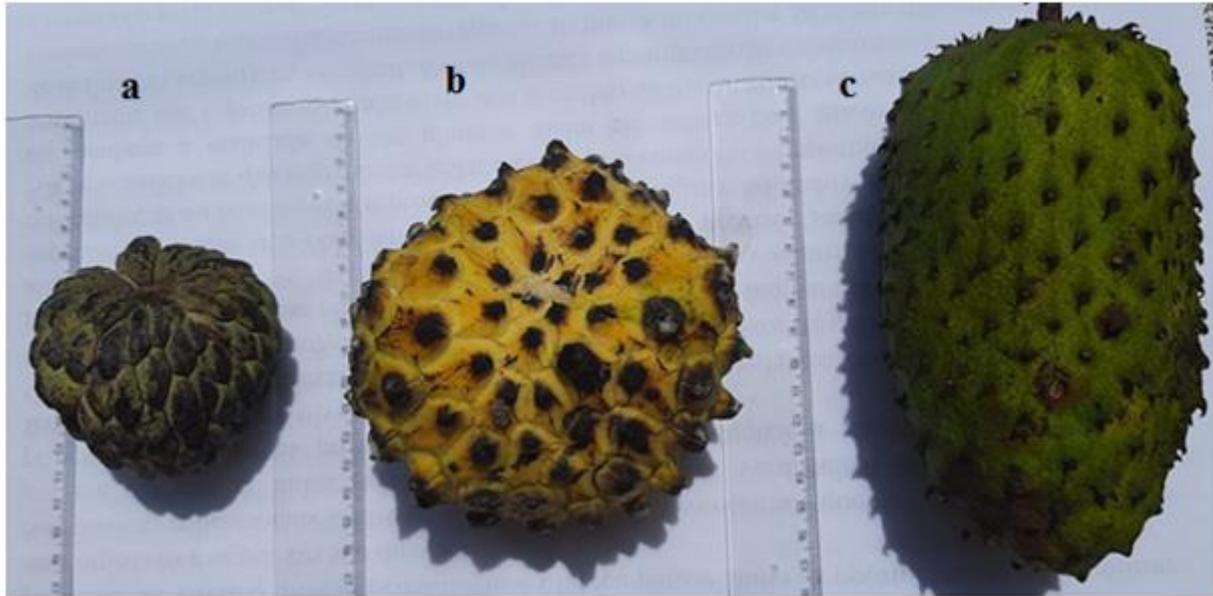
Keywords: Alkaloid, anonaine, aporphine.

1 INTRODUÇÃO

A Floresta Amazônica é bastante conhecida por vários fatores, dentre eles devido a sua grande biodiversidade que é reconhecida mundialmente. As plantas são um dos componentes que possuem o maior apelo dentro e fora da nossa região. Sendo as anonáceas uma das famílias vegetais mais antigas e que será abordada aqui.

As anonáceas são formadas por vários gêneros, entre eles pode-se destacar os gêneros, *Annona*, *Duguetia*, *Guatteria*, *Rollinia* e *Xylopia*. Em nossa região, Estado do Pará (Brasil) principalmente na zona rural e na capital Belém, podem ser encontradas as espécies como a fruta do Conde (ata), o biribá, e a graviola, elas são comumente utilizadas para fazer sucos, sorvetes (graviola), entre outras utilidades (Figura 1).

Figura 1- Frutos de Anonaceas, a: ata, b: biribá e c: graviola



O biribazeiro, cientificamente chamado de *Annona mucosa* (*Rollinia mucosa*), é uma árvore originária do ocidente da Amazônia e da Mata Atlântica pluvial (do Rio de Janeiro a Pernambuco), bastante apreciada pelo seu fruto, o biribá (Figura 2). A espécie em questão pertence a família das Annonaceae (LEBOEUF et al., 1982) e possui vários sinônimos, como *Rollinia deliciosa* Saff.; *Rollinia sieberi* A. DC (FALCÃO et al., 1981) e *Annona hypoglauca* (RINALDI et al., 2017), entre outros.

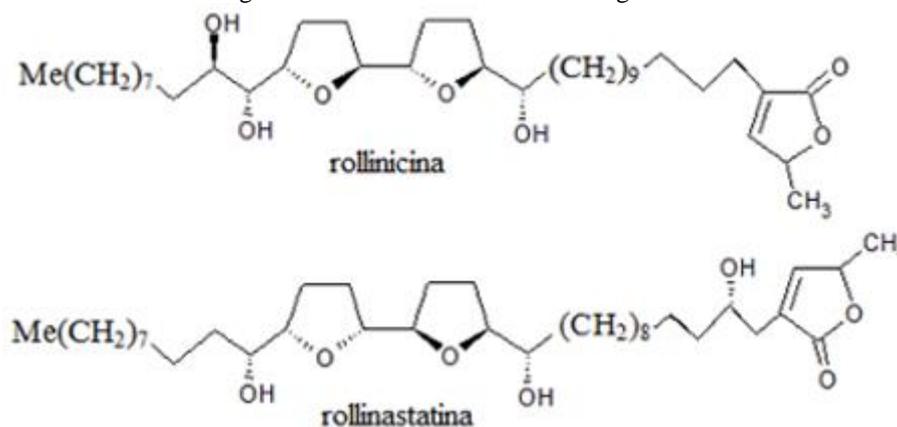
Figura 2- Fruto do biribazeiro, biribá



Estudos fitoquímicos dessa espécie constataram a presença de substâncias químicas de grande interesse, como as acetogeninas e os alcaloides, principalmente. As acetogeninas, que geralmente apresentam dois anéis tetraidrofurânicos em suas estruturas, possuem uma gama de atividade, como a atividade citotóxica *in vitro* contra células cancerígenas, de leucemia, câncer do colo do útero, melanoma, câncer de ovário, câncer renal, como é o caso da rollinicina (Figura 3), isolada de *Rollinia*

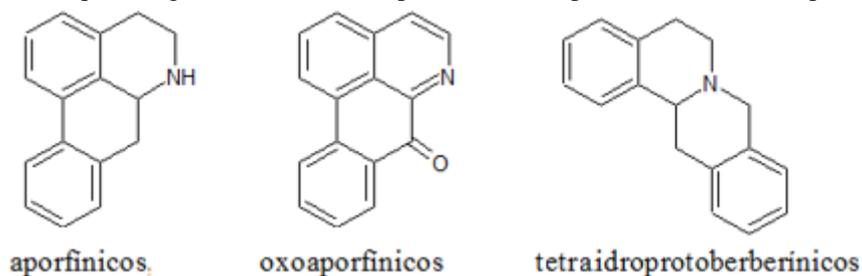
papilionella (DABRAH e SNEDEN, 1984), que apresentou atividade citotóxica in vivo contra células de leucemia linfocítica P-388 de camundongos. Varias acetogeninas foram isoladas de *R. mucosa*, a rolliniastatina, isolada do extrato hexânico das sementes (PETITT et al., 1987). A Desacetil-uvaricina, com atividade anticâncer hepático pela restauração da P53 (VINCENT e LOS, 2011). A rollitacina, rollinacina e javoricina ativa contra linhas de tumores sólidos (SHI; MACDOUGAL; MCLAUGHLIN, 1997) e as acetogeninas mono-Tetraidrofuranicas, rollinecina A e B (SHI et al., 1996). Essas substâncias provavelmente atuam pela depleção dos níveis de ATP via inibição do complexo I de mitocôndrias e inibição da NADH oxidase de membranas plasmáticas de células tumorais (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999).

Figura 3- Fórmula estrutural de acetogeninas.



Com relação aos alcaloides podem ser citados os do tipo aporfínicos, oxoaporfínicos e os tetraidroprotoberberínicos (Figura 4) (GOTTLIEB et al., 1978), que apresentam atividades antimicrobiológicas, anticancerígenas (WARTHEN; GOODEN; JACOBSON, 1969), antifúngicas e atividade leishmanicida (DE LIMA et al., 2012), entre outras.

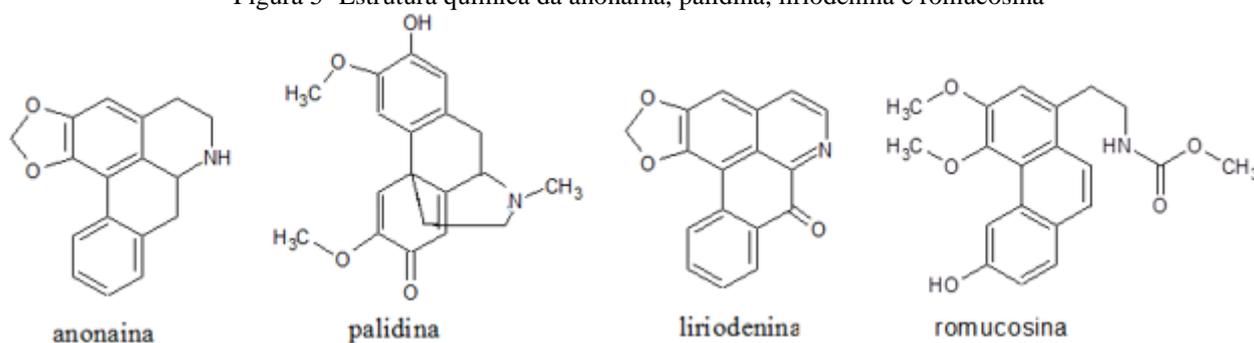
Figura 4- Estrutura química geral dos alcaloides aporfínicos, oxoaporfínicos e tetraidroprotoberberínicos.



Foram isolados de *R. mucosa*, os alcaloides anonaina, palidina, liriodenina (Figura 5), atherospermidina, actinodafinina, isoboldina e nornuciferina (RINALDI et al., 2017), lanuginosina,

N-formil-anonaina (CAETANO e DADOUN, 1987), romucosina (KUO et al., 2004) um alcaloide com um grupo *N*-(metoxicarbonila), glaucina, purpureina, oxoglaucina, oxopurpureina, berberina, and tetrahydroberberina (CHEN; CHANG; WU, 1996). Atividade leishmanicida dos extratos das folhas e sementes e do alcaloide oxoaporfínico lirioidenina (TAYLOR, 1961) foram avaliadas *in vitro* contra formas promastigotas de três espécies de *Leishmania*, e formas amastigotas intracelulares de *Leishmania amazonenses* dando resultado positivo. A atividade citotóxica foi avaliada contra macrófagos peritoneais de camundongos (DE LIMA et al., 2012). Outras substâncias são reportadas a *R. mucosa*, como lignanas (ESTRADA-REYES et al., 2002), yangambina magnolina, eudesmina e membrina (CHEN; CHANG; WU, 1996).

Figura 5- Estrutura química da anonaina, palidina, lirioidenina e romucosina



Levando em consideração que existem plantações dessas espécies *Annona muricata* (graviola; BITENCOURT et al., 2020), *Annona mucosa* (biribá) e *Annona squamosa* (fruta-do-Conde) para venda de frutos; que há a presença de substâncias de interesse científico nessas espécies vegetais, para a busca de novos medicamentos; que a disciplina de Química Orgânica Experimental faz uso de métodos de extração; pode ser proposto a viabilidade de aproveitamento das folhas dessas plantas, uma vez que a planta é de porte médio e as folhas são descartadas, mas renováveis. Devido a isso foi feito o estudo do extrato alcaloídico hexânico das folhas dessa espécie, *Annona mucosa* (biribá) e sua análise utilizando CLAE, visando o seu aproveitamento futuro.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Espectrômetro de massas Waters Acquity TQD e Cromatógrafo da linha Alliance e2695 (Waters) (Pós-Graduação em Química/UFGA).

2.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Os reagentes utilizados foram das marcas Aldrich, Vetec ou Nuclear, todos PA.

2.3 PROCEDIMENTO CROMATOGRÁFICO POR CLAE/DAD

O desenvolvimento do método cromatográfico para análise do extrato alcaloídico foi realizado em cromatógrafo da linha Alliance e2695 (Waters), com um sistema de bomba binário e injetor automático acoplado a um detector de UV/Vis com arranjo de diodo abrangendo a faixa de comprimento de onda de 210 – 600 nm. A fase estacionária foi uma coluna de fase reversa Sunfire C18 (150 x 4,6 mm, 5µm), com coluna de guarda Sunfire C18 (20 mm x 4,6 mm, 0,5 µm) e fluxo de 1mL/min em forno termostático a 40°C. O extrato hexânico alcaloídico das folhas foi eluído em metanol grau HPLC (Jt Baker®) e posteriormente filtrado em membranas filtrantes de nylon com poros de 0,45 µm, da marca Millipore (Tullagreen, Carrigtwohill, Irlanda). A fase móvel constituiu-se de uma mistura binária de água ultrapura (GEHAKA) e MeOH filtrado, em gradiente exploratório linear de eluição na proporção do método de H₂O-MeOH 90:10 a 0:100 de B em 60 min. A amostra foi injetada com um volume de 20 µL.

2.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO ALCALOÍDICO

Coleta: foram coletadas folhas verdes de planta oriunda de plantação da cidade de Belém-PA. As folhas foram secas (41,5g) em local arejado ao abrigo da luz à temperatura de 40°C e a pressão ambiente durante 7 dias. Posteriormente, foram triturados a fragmentos pequenos.

Preparação do Extrato Hexânico das Folhas: o extrato foi obtido a partir do material botânico triturado e seco (41,5g), que foi colocado em um recipiente de vidro com tampa e encoberto com hexano PA, durante 48hs. A solução hexânica obtida, foi filtrada e evaporada, fornecendo um resíduo (resíduo 1) semi-sólido de massa igual à 12,1g (29,0%).

Preparação do Extrato Alcaloídico das Folhas: o resíduo 1 (12,1g), obtido da solução hexânica foi dissolvido em CH₂Cl₂ PA e submetido a partição em ampola de decantação de 250 mL, com solução de ácido cítrico 5%, três vezes, para obtenção da solução ácida, com os alcaloides. A solução diclorometânica foi lavada com água destilada (3 vezes) e secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada, fornecendo um resíduo (resíduo 2) de massa igual à 0,5g, não alcaloídico. A solução ácida coletada, foi basificada com NH₄OH PA e submetida a extração novamente com CH₂Cl₂ PA em ampola de decantação de 250 mL, três vezes, para obtenção da solução diclorometânica contendo os

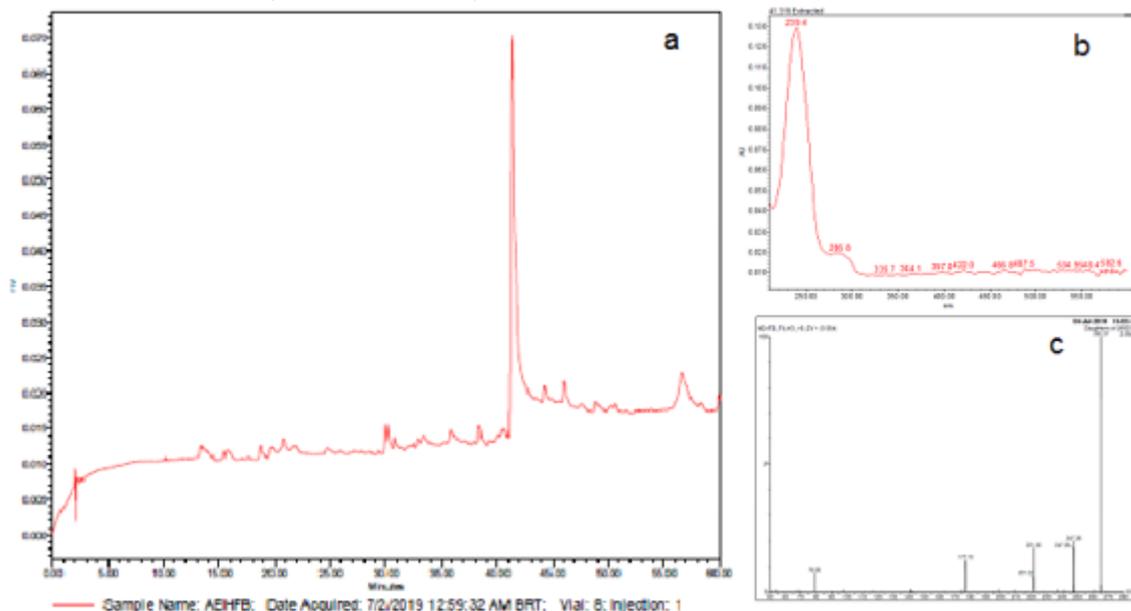
alcaloides. Essa solução diclorometânica foi lavada com água destilada (3 vezes) e secada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e evaporada, fornecendo o extrato hexânico alcaloídico de massa igual à 0,1 g.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato hexânico alcaloídico das folhas de biribá (EHAFB) obtido foi analisado via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE; Figura 6a) e foi verificada a presença de um pico intenso com uma absorção na região do ultravioleta de λ 239 nm (Figura 6b). Indicando tratar-se de um sistema insaturado do tipo aporfínico (SHAMMA, 1972).

O espectro de massas do extrato alcaloídico, indicou a presença de um fragmento com m/z igual a 265,3. Com base nessas informações e verificando a literatura, pode-se propor que o alcaloide em questão é a anonaina (mm 265g/mol; C₁₇H₁₅NO₂; Figura 6c) sendo bastante comum nesse gênero (EGYDIO-BRANDÃO et al., 2017). Pelo espectro de massas pode-se então verificar os demais fragmentos relativos aos íons negativos obtidos pela quebra da molécula neste tipo de método.

Figura 6- Cromatograma do Extrato alcaloídico (esquerda; a), espectro no ultravioleta de anonaina (superior a direita; b) e espectro de massas de anonaina (inferior a direita; c).



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método de análise por CLAE em questão, demonstrou ser bastante eficiente, pelos dados obtidos, sem a necessidade de se fazer colunas de cromatografia clássica, bem como a espectrometria de massas, devido proporcionar a massa molar e os fragmentos da substância presente, indicando tratar-

se do alcaloide anonaina, substância já relatada na literatura para esta espécie, com isso pode-se utilizar as folhas como fonte desse alcaloide, ou para outras finalidades.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Pará e a EMBRAPA- Amazônia Oriental.

REFERÊNCIAS

- ALALI, F. Q.; LIU, X.-X.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *J. Nat. Prod.* v. 62, n. 3, p. 504-540, 1999.
- BITENCOURT, H. R.; DOS ANJOS, M. L.; SOUZA FILHO, A. P. S.; ALMEIDA, L. L.; MARINHO, P. S. B.; MARINHO, A. M. R.; RODRIGUES, S. M. S.; PINA, J. R. S.; PINHEIRO, J. C. Análise por HPLC e Espectrometria de Massas do Extrato Alcaloídico Hexânico das Folhas de *Annona muricata*. *Braz. Ap. Sci. Rev.* v. 4, n. 3, p. 1720-1729, 2020.
- CAETANO, L. C. e DADOUN, H. Pallidine and Aporphinoid Alkaloids from *Rollinia mucosa*. *J. Nat. Prod.* v. 50, n. 2, p. 330, 1987.
- CHEN, Y.-Y.; CHANG, F.-R.; WU, Y.-C. Isoquinoline Alkaloids and Lignans from *Rollinia mucosa*. *J. Nat. Prod.* v. 59, n. 9, p. 904–906, 1996.
- DABRAH, T. T. and SNEDEN, A. T. Rollinicine and Isorollinicine: cytotoxic acetogenins from *Rollinia Papiolionella*. *Phyto.* v. 23, n. 9, p. 2013-2016, 1984.
- DE LIMA, J. P. S.; PINHEIRO, M. L. B.; SANTOS, A. M. G.; PEREIRA, J. L. S.; SANTOS, D. M. F.; BARISON, A.; SILVA-JARDIM, I.; COSTA, E. V. In Vitro Atrileishmanial and Cytotoxic Activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). *Rev. Virtual Quim.* v. 4, n. 6, p. 692-702, 2012.
- EGYDIO-BRANDÃO, A. P. M.; NOVAES, P.; DOS SANTOS, D. Y. A. C. Alkaloids from *Annona*: Review from 2005 to 2016. *JSM Biochem Mol Biol.* v. 4, n. 3, p. 1031, 2017.
- ESTRADA-REYES, R.; ALVAREZ, A. L.; LÓPEZ-RUBALCAVA, C.; ROCHA, L.; HEINZE, G.; MORENO, J.; MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M. Lignans from leaves of *Rollinia mucosa*. *Z Naturforsch C J Biosci.* v. 57, n. 1-2, p. 29-32, 2002.
- FALCÃO, M. A.; LLERAS, E.; KERR, W. E.; CARREIRA, L. M. M. Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade do biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill.). *Acta Amazonica.* v. 11, n. 2, p. 297-306, 1981.
- GOTTLIEB, O. T.; MAGALHÃES, A. F.; MAGALHÃES, E. G.; MAIA, J. G. S.; MARSAIOLI, A. J. Oxoaporphine Alkaloids from *Duguetia eximia*. *Phyto.* v. 17, p. 837-838, 1978.
- KUO, R.-Y.; CHEN, C.-Y.; LIN, A.-S.; CHANG, F.-R.; WU, Y.-C. A New Phenanthrene Alkaloid, Romucosine I, from *Rollinia mucosa* Baill. *Z. Naturforsch.* v. 59b, p. 334 – 336, 2004.
- LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P. K.; MUKHERJEE, B. M.; MUKHERJEE, R. The Phytochemistry of the Annonaceae. *Phyto.* v. 21, n. 12, p. 2783-2813, 1982.
- PETIT, G. R.; CRAGG, G. M.; POLONSKY, J.; HRALD, D. L.; GOSWAMI, A.; SMITH, C. R.; MORETTI, C.; SHMIDT, J. M.; WESLEDER, D. Isolations and structure of rolliniastatin 1 from the South American tree *Rollinia mucosa*. *Can. J. Chem.* v. 65, n. 6, p. 1433-1435, 1987.

-RINALDI, M. V. N.; DÍAZ, I. E. C.; SUFFREDINI, I. B.; MORENO, P. R. H. Alkaloids and biological activity of beribá (*Annona hypoglauca*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 27, p. 77–83, 2017.

-SHAMMA, M. *Isoquinoline Alkaloids*. 594 p. Academic Press New York. 1972.

-SHI, G.; MACDOUGAL, J. M.; MCLAUGHLINT, J. L. Bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*. v. 45, n. 4, p. 719-723, 1997.

-SHI, G.; YE, Q.; HE, K.; MCLAUGHLIN, J. L.; MACDOUGAL, J. M. Rollinecins A and B: Two New Bioactive Annonaceous Acetogenins from *Rollinia mucosa*. *J. Nat. Prod.* v. 59, n. 5, p. 548–551, 1996.

-TAYLOR, W. I. The Structure and Synthesis of Liriodenine a new type of Isoquinoline Alkaloid. *Tetrahedron*. v. 14, p. 42-45, 1961.

-VINCENT, F. C.; LOS, M. J. New Potential Instrument to fight hepatocellular cancer by restoring P53. *Hepat Mon.* v. 11, n. 5, p. 331-332, 2011.

-WARTHEN, D.; GOODEN, E. L.; JACOBSON, M. Tumor Inhibitors: Liriodenine, a Cytotoxic alkaloid from *Annona glabra*. *J. Pharm. Sci.* v. 58, n. 5, p. 637-638, 1969.