AVALIAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E POTÊNCIAL ENZIMÁTICO DE FRUTOS DE *Crescentia cujete* L.

Luís Felipe Matos Costa¹, Janaina Pinheiro Gonçalves², Ronilson Freitas de Souza³
Jaqueline de Souza Souza⁴, João da Silva Carneiro⁵

¹Graduando do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Naturais – Química. Universidade do Estado do Pará. Barcarena– Brasil (luisfelipe_r@hotmail.com).

²Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade do Estado do Pará – UEPA/CCNT/PPGCA

³Doutor em Química Orgânica. Professor do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Pará.

⁴Graduada em Ciências Naturais – Química. Universidade do Estado do Pará

⁵Doutor em Química Orgânica. Professor do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Naturais da Universidade do Estado do Pará.

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015
DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_164

RESUMO

Este trabalho trata-se de um estudo químico da polpa do fruto da árvore *Crescentia cujete* L. A característica mais marcante da árvore é o fruto, conhecido como cuia, que tem uma polpa gelatinosa na qual estão incorporadas numerosas sementes. Muitos usos são atribuídos ao epicarpo do fruto e poucos estudos científicos são encontrados no epicarpo e na polpa do fruto. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi realizar a identificação dos metabólitos secundários e da enzima peroxidase no extrato bruto do fruto. A metodologia utilizada para tal foi composta de testes com reagentes específicos para os grupos orgânicos, seguido de comparação com dados da literatura. Os resultados obtidos no trabalho mostram que a polpa apresenta reações favoráveis na presença de reagentes identificadores de compostos químicos como alcalóides, fenóis, taninos, flavonóides e saponinas, conhecidos na literatura fitoquímica. Além de que, reações favoráveis na identificação da enzima peroxidase. Deste modo, o trabalho visa enriquecer o conhecimento sobre a composição química do fruto, através de testes químicos no extrato da polpa do fruto, bem como, a identificação da enzima peroxidase, abrindo espaço para trabalhos futuros de isolamento e elucidação estrutural dos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: Cuia, enzima peroxidase, metabólitos secundários

ASSESSMENT OF SECONDARY METABOLITES AND POTENTIAL ENZYMATIC OF FRUIT *Crescentia cujete* L.

ABSTRACT

This work is a study of chemical pulp of the fruit of the tree *Crescentiacujete* L. (Bignoniaceae). The most striking feature of the tree is the fruit, known as gourd, which has a gelatinous pulp in which are embedded numerous seeds. Many uses are attributed to the epicarp of the fruit and few scientific studies are found in the epicarp

and the fruit pulp. Thus, the aim of this study was the identification of secondary metabolites and enzyme peroxidase in the crude extract of the fruit. The methodology used for such testing consisted with specific reagents for organic groups, followed by comparison with literature data. The obtained results show that the pulp has favorable reactions in the presence of chemicals reagents such as identifiers alkaloids, phenols, tannins, flavonoids and saponins, known in the literature phytochemical. Apart from that, favorable reactions in the identification of peroxidase. Thus, work aimed at enriching the knowledge about the chemical composition of the fruit by means of chemical tests on the pulp of the fruit extract, as well as the identification of peroxidase, making room for future work of isolation and structural elucidation thereof.

KEYWORDS: Gourd, peroxidase enzyme, secondary metabolites.

INTRODUÇÃO

A árvore *Crescentia cujete* L. conhecida popularmente como cuieira ou cabaça, é uma espécie vegetal característica das regiões de climas úmidos, savanas e florestas de várzea (AZEVEDO et al., 2010). É uma planta originária da América Central, que no Brasil ocorre desde a Amazônia até a Região Sudeste, onde foi introduzida para cultivo (JUSSIÉU, 2005).

As folhas da planta são simples, inteiras, alongadas, de diversos tamanhos, com coloração verde escura e brilhante. Seus frutos são globosos, ovóides ou arredondados, coloração verde claro com 15 a 30 centímetros de diâmetro, epicarpo verde, flexível e endocarpo lenhoso e resistente, a polpa é branca e contém muitas sementes (JUSSIÉU, 2005). A polpa do fruto pode ser usada para a obtenção de tinturas, além disso, as cascas dos frutos quando maduros tornam-se marrons e resistentes, sendo utilizadas para a produção de cuias e outros tipos de artesanatos (SOUZA & LORENZI, 2005).

A planta se frutifica de julho a setembro em condições de temperatura quente à moderada e possui como característica mais marcante o seu fruto, o qual tem uma polpa gelatinosa em que se incorporam numerosas sementes (JUSSIÉU, 2005). Quando verde, a polpa é corrosiva e usada no tratamento de doenças respiratórias e quando madura é abortiva (PEREIRA et al., 2011). Outros estudos realizados com a polpa da *C. cujete* têm demonstrado varias atividades marcantes, contra distúrbios ginecológicos (BEYRA et al., 2004), no controle da hipertensão (LANS, 2006), asma, dores de estômago, antiparasitário e anti-infertilidade (VOLPATO et al., 2009).

Estudos químicos realizados com a *Crescentia cujete* L. revelaram a presença de ácido cianídrico, ácido crescêntico, ácido clorogênico, ácido cítrico, ácido tânico e ácido tartárico e alguns metabólitos secundários, os quais exercem funções importantes no organismo de seu produtor, facilitando em muitos casos sua adaptação ao meio ambiente (PEREIRA et al., 2011). RAVEN et al. (2011) mencionaram algumas funções já reconhecidas de substâncias pertencentes a essa classe de metabólitos como: flavonóides apresentam atividades antiinflamatória, antialérgico, anticancerígeno, os alcalóides são antitumorais, antitussígenos e antivirais, já taninos ajudam no tratamento da hipertensão arterial, queimaduras, bactericida, fungicida e as saponinas são antivirais e atuam sobre membranas celulares.

Ao realizar um estudo sobre o potencial alelopático do ácido cinâmico isolado de *Crescentia cujete* L. em duas espécies receptoras, mata pasto (*Senna obtusifolia* L.) e malícia (*Mimosa pudica* L.), PEREIRA et al. (2011) destacaram que o ácido

cinâmico é o responsável pelo efeito alelopático sobre as duas espécies testadas e observaram que a germinação das sementes das duas plantas dependem diretamente da concentração do ácido.

No estudo químico orgânico, físico-químico e biológico do extrato etanólico do epicarpo da *Crescentia cujete* L. realizado por BAENA et al. (2011) foi possível verificar a presença de algumas classes de compostos orgânicos, alguns metais pesados e avaliar o extrato frente a larvas de *Aedes aegypti* L. Contudo, poucos estudos da espécie são encontrados no Brasil, no sentido de verificar a composição química da polpa fruto, bem como, estudos sobre a investigação de enzimas peroxidases.

As peroxidases são enzimas pertencentes ao grupo das oxirredutases e estão extensamente distribuídas na natureza, podem ser facilmente extraídas das células de alguns vegetais e aplicadas em uma série de processos industriais (CARNEIRO, 2010). Na indústria de alimentos as suas ações são de grande importância, pois podem causar reações de escurecimento enzimático, descoloração de pigmentos em plantas e mudanças deteriorativas no sabor, aroma, textura e valor nutricional em alimentos, tais como frutos, vegetais crus e alimentos processados (CARNEIRO, 2010).

Na química esta enzima pode atuar como base catalítica de uma série de reações de oxidação tendo como substratos alvos uma grande variedade de substâncias orgânicas e, *in vitro* esta enzima é utilizada na síntese e biotransformação de moléculas orgânicas, gerando novas estruturas com potencial de aplicação em várias áreas da química (CARNEIRO, 2010). Deste modo, este estudo objetivou realizar uma avaliação dos metabólitos secundários presentes na *Crescentia cujete* L. bem como o seu possível potencial enzimático de peroxidases.

MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Crescentia cujete* L. são provenientes do município de Abaetetuba, Pará sendo coletados em seu estágio maduro, no período de agosto de 2013 a janeiro de 2014 e transportados em sacos de polietileno para o laboratório multidisciplinar da Universidade do Estado do Pará, campus Barcarena. Em seguida, estes frutos foram selecionados para a produção dos extratos brutos obedecendo ao padrão de frutos sadios, isentos de defeitos e parasitas.

Para a produção do extrato bruto, os frutos foram abertos, a polpa foi comprimida e o extrato coletado em um recipiente de vidro devidamente higienizado, seguido de filtração simples, e em seguida o material filtrado foi repassado para tubos de ensaio e centrifugados por 10 minutos (CARNEIRO, 2010).

Para a análise dos metabólitos secundários

Os metabólitos secundários foram identificados através do Screening fitoquímico, no qual realiza-se uma prospecção preliminar de determinados constituintes químicos ou metabólitos secundários baseado em reações específicas de grupos cromóforos (SIMÕES et al., 2004; SILVA et al., 2010).

Para os testes de fenóis utilizou-se a solução alcoólica de FeCl_3 a 10%, onde foram pesadas 10 gramas de FeCl_3 e solubilizadas em 100 mL de etanol. Em seguida, três gotas desta solução foram transferidas para um tubo de ensaio contendo dois mL de extrato bruto, observando o aparecimento de mudança de coloração.

Para a identificação de taninos foram adicionadas dois mL da solução alcoólica de FeCl_3 em um tubo de ensaio contendo dois mL do extrato bruto, em seguida foi agitado lentamente observando a formação de precipitado.

Quanto para verificar a presença de flavonóides realizou-se o teste de Cianidina ou Shinoda. Neste teste 0,5 cm de magnésio em fita e dois mL de ácido clorídrico concentrado foram adicionados a dois mL do extrato em tubo de ensaio, observando a mudança de coloração após efervescência.

A detecção de esteróides/triterpenóides foi realizada pelo método de Lieberman-Burchard. Neste teste mistura-se dois mL de clorofórmio com dois mL de extrato, em seguida, a solução é filtrada gota a gota em um funil com algodão coberto com alguns decigramas de Na_2SO_4 anidro para um tubo de ensaio. Neste tubo de ensaio acrescentou-se um mL de extrato e um mL de anidrido acético, agitando suavemente, e em seguida, adicionando três gotas de H_2SO_4 concentrado (adaptado de SILVA et al., 2010) para observar variação da coloração da solução contida no tubo de ensaio.

Quanto a identificação de alcalóides utilizou-se dois mL do extrato bruto em um tubo de ensaio, adicionando 15 gotas de hidróxido de sódio a 1% para alcalinizar, dois mL de água e dois mL de clorofórmio. Em seguida a fração aquosa foi eliminada e adicionou-se 15 gotas de ácido clorídrico a 1% na fração clorofórmica para torná-la ácida, posteriormente a mesma foi extraída com dois mL de água. A fração clorofórmica foi eliminada e acrescentou-se três gotas do reagente de Drangedorff. A presença de alcaloides é confirmada pela formação de precipitado floculoso e insolúvel.

Para a identificação saponinas, dois mL de clorofórmio e cinco mL de água destilada foram acrescentados a um tubo de ensaio contendo dois mL de extrato bruto. Após a mistura, a solução foi filtrada e agitada, vigorosamente, por três minutos, observando a formação do colarinho persistente.

Para o teste de identificação da enzima peroxidase

Para a identificação da enzima peroxidase, dois mL de extrato bruto foram misturadas com quatro mL de acetona a -18°C na proporção 1:2 (acetona/extrato) com centrifugação por 10 minutos. Em seguida esta solução foi armazenada no congelador em um recipiente de vidro fechado por 24 horas, na sequência o sobrenadante foi eliminado e o precipitado foi armazenado por mais 24 horas para que a acetona evaporasse completamente. Logo após o tempo determinado, o precipitado foi diluído em um mL de água e misturado com um mL de solução de Guaiacol a 1% e um mL de Peróxido de hidrogênio a 10 mmol L^{-1} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para metabólitos secundários

Através do *screening* fitoquímico preliminar foram realizados testes para as seguintes classes de metabólitos secundários: fenol, taninos, flavonóides, esteróides/triterpenóides, alcaloides e saponinas. Os resultados foram considerados positivos para surgimento de coloração, formação de precipitados e colarinho persistente, e negativo, para a ausência dos mesmos, como mostra o Quadro 1.

QUADRO 1. Testes de prospecção fitoquímica de classes químicas do fruto *CrescentiaCujete* L.

CONSTITUINTE QUÍMICO	REAGENTE UTILIZADO	RESULTADO
Fenol	FeCl ₃ a 10%	Positivo
Taninos	FeCl ₃ a 10%	Positivo
Flavonóides	HCl concentrado e fita de Mg	Positivo
Esteróides/ Triterpenóides	clorofórmio, Na ₂ SO ₄ anidro e H ₂ SO ₄ concentrado	Negativo
Alcalóides	NaOH a 1%, clorofórmio, HCl a 1%, água e Drangedorff	Positivo
Saponinas	clorofórmio e água	Positivo

O resultado para fenóis foi positivo, confirmando-se segundo SIMÕES et al. (2004) pelo desenvolvimento de coloração verde. Para o teste de taninos a reação ocorreu assim que a solução alcoólica de FeCl₃ entrou em contato com o extrato da cuia, o resultado positivo confirmou-se, de acordo com SILVA et al. (2010) pelo aparecimento da cor verde e precipitado da mesma cor. O teste de flavonóides ocorreu conforme descrito por SIMÕES, et al. (2004), com o aparecimento da coloração que varia de pardo a vermelho-vinho, observado na Figura 1.

FIGURA 1: Teste de flavonóides realizado com o extrato de *Crescentia kujete* L.

Para esteróides e triterpenóides, respectivamente, de acordo com SILVA et al. (2010) é preciso haver desenvolvimento de cor azul evanescente seguida de verde para o resultado ser considerado positivo, dessa forma, por não ter desenvolvido o aparecimento de coloração o teste foi considerado negativo.

Segundo SILVA et al. (2010) a formação de precipitados insolúveis e floculoso confirma a presença de alcalóides. Dessa forma, devido a formação de precipitado o teste foi considerado positivo. Para saponinas, segundo SILVA et al. (2010), deve existir o aparecimento de espuma persistente e abundante, chamada de colarinho. Dessa forma, o teste foi considerado positivo (Figura 2), uma vez que o colarinho persistiu por mais de 30 minutos.

FIGURA 2: Teste para saponina realizado com o extrato de *Crescentia cujete* L.

Para enzima peroxidase

A partir da metodologia descrita os resultados foram positivos com relação a atividade oxidativa, pois foi adicionado ao meio o agente oxidante (H_2O_2) o substrato orgânico (Guaiacol) e com isso o catalizador (extrato bruto) pôde atuar, observando assim a ocorrência de uma reação de oxirredução (Figura 3), onde o guaiacol reage com o peróxido de hidrogênio na presença da peroxidase formando o tetraguaiacol de coloração alaranjada.

FIGURA 3: Reação de oxirredução. Fonte: ZERAIK et al. (2008).

Segundo SILVA et al. (2010) é necessário ter cuidado ao realizar a análise da peroxidase, uma vez que o desenvolvimento da cor alaranjada indicativa da presença de peroxidase ocorre em um intervalo tempo de 3 a 4 minutos, sendo que a intensidade de cor diminui gradativamente após esse tempo reacional. Dessa forma, no teste de identificação da enzima peroxidase, a atividade enzimática perdurou por dois minutos e quinze segundos e é representado na Figura 4.

FIGURA 4: Atividade enzimática presente em extrato de *Crescentia cujete* L.

O leque de substâncias presentes na *Crescentia cujete* L. é diversificado, com isso tornar-se importante realizar estudos químicos de seus compostos, os quais passar do tempo podem beneficiar diversas áreas como a indústria química e farmacêutica.

CONCLUSÃO

Os testes químicos realizados no extrato bruto produzido da polpa gelatinosa de *Crescentia cujete* L. comprovaram as seguintes classes de metabólitos secundários: alcalóides, flavonóides, saponinas, fenóis e taninos. No entanto, evidenciou-se que das sete classes de metabólitos pesquisadas apenas esteroides e triterpenóides não estão presentes no extrato bruto.

A atividade enzimática do extrato bruto de *Crescentia cujete* L. revelou a presença da enzima peroxidase, enriquecendo desta forma, o conhecimento sobre a composição química deste fruto, sugerindo-se sua utilização em diversas áreas como: farmacêutica, biotecnológica e medicinal.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO C. F., BRUNO R.L.A., GONÇALVES E.P., QUIRINO Z.G.M. Germinação de sementes de cabaça em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.3, 2010.

BAENA, J.E.E.; SANDOVAL, H.D.R.D.; FRANKY, J.F.; CASTILLO F.D.; ESTRADA, H.A.G. Química y biología de extracto etanólico de epicarpio de *Crescentia cujete* L. (totumo). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 16 p. 337-346, 2011.

CARNEIRO, J. C. **Extração e caracterização parcial de concentrado enzimático com atividade peroxidásica de frutos de *bactris gasipaes* e uso na biotransformação do HMP (ácido kójico)**. Belém 2010, 139p. Tese (Doutorado em

Química Orgânica) - Faculdade de Química, Universidade Federal do Pará (UFPA), 2010.

JUSSIEU A. **Família Bignoniaceae**. In: Cabrera I, editor. Las plantas y sus usos en las Islas de Providencia y Santa Catalina. Colombia: Editorial Universidad del Valle; p. 79-89, 2005.

PEREIRA, S. G.; GUILHON, M. S. P.; SANTOS, L. S.; COSTA-JUNIOR, L. M.; CORDEIRO, J. A. F.; ARRUDA, M. M. S.; SOUZA FILHO, A. P. DA S. **Potencial Alelopático do Ácido Cinâmico isolado de Crescentiacujete L. (Bignoniaceae)**. 51º Congresso Brasileiro de Química “Meio ambiente e Energia” de 09 a 13 de outubro. São Luiz/MA, 2011.

RAVEN, Peter H.; EVERT, Ray F.; EICHHORN, Susan E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SILVA, N. L. A. da; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. da. (2009). Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v.6, n.2, p.1-17, 2010.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETRVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2004.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrativo para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**, Nova Odessa, SP, 2005.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31, p. 731-734, 2008.