

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DO MURICI (*Byrsonima crassifolia*)

BRUNA C. S. DOS SANTOS¹, KARINE S. L. MIKI², ALINE P. DRESCH³, ALANA P. SILVA⁴, KEMILLY SORANZO⁵, MARGARETE D. BAGATINI⁶, GUILHERME M. MIBIELLI⁶, JOÃO P. BENDER⁷

1 Introdução

A floresta amazônica é a maior floresta tropical do mundo, que abriga uma ampla biodiversidade de animais e vegetais. Com o crescente interesse por compostos benéficos à saúde, frutas amazônicas como o murici (*Byrsonima crassifolia*), rico em carotenoides, vitamina C e compostos fenólicos, têm atraído atenção científica por seus benefícios antioxidantes (Araújo et al., 2018; Pires et al., 2019). Dentre as diferentes técnicas realizadas para extração de compostos, destaca-se a extração assistida por ultrassom (Picó, 2013; Shirsath et al., 2012).

Diante disso, este estudo reporta a extração dos compostos fenólicos através da utilização da técnica de ultrassom e a avaliação do efeito antiproliferativo do extrato de murici frente a linhagens celulares cancerígenas.

2 Objetivos

Extrair compostos bioativos do fruto Murici (*Byrsonima crassifolia*) por meio da técnica de extração assistida por ultrassom e determinar seu potencial antiproliferativo frente à células de câncer do tipo melanoma cutâneo.

3 Metodologia

O murici foi adquirido, higienizado e congelado previamente na cidade de Manaus (AM), e posteriormente transportado para Chapecó, onde foi despulpado e seco em estufa a 50°C durante 5 dias até peso constante. Em seguida, foi triturado e peneirado de forma a obter partículas com um diâmetro máximo de 0,60 mm. Para extração dos compostos bioativos, um

¹ Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, Grupo de Pesquisa em Processos Enzimáticos e Microbiológicos, contato: bruna.santos@estudante.uffs.edu.br.

² Mestra, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul.

³ Mestra, Universidade Federal do Paraná, *campus* Palotina.

⁴ Mestra, Universidade Federal de Santa Catarina, *campus* Florianópolis.

⁵ Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó.

⁶ Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó.

⁷ Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, **Orientador.**

Delineamento Composto Central Racional (DCCR) foi realizado para avaliar a influência da temperatura, da razão sólido-líquido e da concentração de etanol (Tabela 1).

Tabela 1 - Variáveis e níveis do Delineamento Composto Central Racional (DCCR).

Variáveis	Níveis				
	- α (-1,68)	-1	0	+1	+ α (1,68)
Temperatura (°C)	30	40	55	70	80
Razão sólido-líquido (mg/mL)	15	25	40	55	65
Concentração de etanol (%)	6	20	40	60	74

A extração foi realizada em tubos de ensaio com rosca em banho de ultrassom por 105 min. Após a extração, as amostras foram centrifugadas durante 5 min a 5°C e 5000 rpm. O sobrenadante foi filtrado e armazenado a -18°C para determinação do conteúdo fenólico total (CFT), atividade antioxidante (AAT) e perfil cromatográfico dos extratos.

O conteúdo fenólico total do extrato foi determinado através do método Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Pires et al. (2019). A atividade antioxidante foi determinada por meio do método DPPH, conforme descrito por Brand-Williams e Berset (1995), e para avaliação do perfil cromatográfico, foi utilizado um cromatógrafo líquido acoplado a um detector de massa (HPLC-MS) com fonte de ionização por electrospray, seguindo a metodologia descrita por Arruda et al. (2018).

Para avaliação do efeito antiproliferativo frente a células cancerígenas, foi produzido um volume maior de extrato, nomeado ELE, a partir da condição ótima de extração (temperatura de 80°C, razão sólido-líquido de 25 e 60% de etanol). Posteriormente, as amostras foram congeladas, liofilizadas e submetidas a análise de migração celular. As células SK-MEL-28 e fibroblastos CCD 1059 Sk foram cultivadas conforme descrito por Pelinson et al. (2019). Em seguida, as células foram tratadas com o extrato diluído em meio de cultura DMEN em diferentes concentrações (0,25; 0,5; 1; 5 e 10 mg/L) por 24 horas. A viabilidade celular foi avaliada utilizando o reagente MTT, conforme descrito por Giudicessi e Ackerman (2013).

4 Resultados e Discussão

Os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante encontrada nos extratos variaram de 3,3 a 14,78 mg AGE/g fruta seca e 25,19 a 70,79 $\mu\text{mol TE/g}$ fruta seca, respectivamente, conforme pode ser observado no DCCR apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Conteúdo fenólico total (CFT) e atividade antioxidante total (AAT) obtida a partir da extração do murici para as diferentes condições experimentais de acordo com o Delineamento Composto Central Racional (DCCR).

Ensaio	Variáveis			CFT (mg AGE/g fruta seca)*	AAT (μ mol TE/g fruta seca)*
	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Razão sólido-líquido (mg/mL)	Concentração de etanol (%)		
1	40 (-1)	25 (-1)	20 (-1)	5,44 \pm 0,1	47,21 \pm 0,5
2	70 (1)	25 (-1)	20 (-1)	8,99 \pm 0,5	48,39 \pm 0,6
3	40 (-1)	55 (1)	20 (-1)	4,49 \pm 0,1	26,28 \pm 2,5
4	70 (1)	55 (1)	20 (-1)	4,96 \pm 0,7	28,96 \pm 2,0
5	40 (-1)	25 (-1)	60 (1)	5,44 \pm 0,6	51,93 \pm 3,1
6	70 (1)	25 (-1)	60 (1)	6,47 \pm 0,3	70,79 \pm 3,0
7	40 (-1)	55 (1)	60 (1)	4,56 \pm 0,3	38,07 \pm 1,0
8	70 (1)	55 (1)	60 (1)	6,04 \pm 0,2	46,93 \pm 1,2
9	30 (-1,68)	40 (0)	40 (0)	3,30 \pm 0,3	29,99 \pm 0,8
10	80 (1,68)	40 (0)	40 (0)	14,78 \pm 0,6	70,39 \pm 0,5
11	55 (0)	15 (-1,68)	40 (0)	7,09 \pm 0,7	60,02 \pm 2,9
12	55 (0)	65 (1,68)	40 (0)	3,46 \pm 0,3	25,19 \pm 0,6
13	55 (0)	40 (0)	6 (-1)	2,75 \pm 0,4	34,09 \pm 0,7
14	55 (0)	40 (0)	74 (1,68)	4,88 \pm 0,2	32,73 \pm 1,0
15	55 (0)	40 (0)	40 (0)	3,40 \pm 0,2	30,98 \pm 1,1
ELE	80 (1,68)	25 (-1)	60 (1)	40,50 \pm 0,1	255,76 \pm 2,8

*valores da média das triplicatas \pm desvio padrão.

O ensaio 10 apresentou o melhor valor em termos do conteúdo fenólico total (14,78 \pm 0,6 mg AGE/g fruta seca) e o ensaio 6 o melhor resultado em termos da atividade antioxidante (70,79 \pm 3,0 μ mol TE/g fruta seca). Por meio da análise de variância, com 95% de confiança, obteve-se os valores de F_{calc} para CFT de 11,5 e F_{calc} para AAT de 30,9, que superaram em cinco e treze vezes o F_{tab} , respectivamente. Além disso, obteve-se os coeficientes de determinação (R^2) de 74,80% para compostos fenólicos e 88,81% para a atividade antioxidante. Para o extrato obtido em maior escala, foi possível obter um conteúdo fenólico total de 40,50 \pm 0,06 mg AGE/g e uma atividade antioxidante de 255,76 \pm 2,83 μ mol TE/g, superando os resultados anteriores.

Analisando as amostras de extrato do fruto de murici via HPLC-MS, quatro compostos foram identificados: quercetina, ácido p-cumárico, ácido siríngico e ácido gálico. Para o ensaio ELE (realizado em maior escala), foram quantificados quercetina (3,8 mg/L), ácido p-cumárico (0,4 mg/L), ácido siríngico (32,0 mg/L) e ácido gálico (1,0 mg/L). O ácido p-cumárico foi o mais abundante, seguido pela quercetina, com menores quantidades de ácidos siríngico e gálico. A análise dos compostos fenólicos revelou que o ácido siríngico foi o

principal composto detectado em todas as condições experimentais, já a quercetina apresentou concentrações menores em temperaturas mais altas, indicando que sua concentração diminuiu com o aumento da temperatura de extração. Além disso, o extrato de murici foi analisado quanto à concentração de carboidratos, o qual apresentou cerca de 1,675 g/L de glicose e 2,75 g/L de xilose, totalizando 4,00 g/L de açúcares totais.

A análise da viabilidade celular em SK-Mel-28 mostrou que altas concentrações de extrato de murici (10 mg/mL) causaram um aumento excessivo na viabilidade celular, o que pode indicar inadequação para essas células. Esse resultado pode ter sido influenciado devido ao elevado teor de açúcares totais presentes no extrato (aproximadamente 4,00 g/L). No entanto, apesar dos compostos fenólicos isolados não terem impacto significativo na viabilidade das células SK-Mel-28, o extrato aumentou a viabilidade das células saudáveis CCD 1059 Sk proporcionalmente em todas as concentrações testadas, sem evidências de citotoxicidade.

5 Conclusão

O estudo avaliou a extração de compostos fenólicos do murici por ultrassom e seu efeito em células de melanoma (SK-Mel-28) e fibroblastos normais (CCD 1059 Sk). A extração foi eficaz e produziu extratos com alta atividade antioxidante, devido a compostos como carotenoides e vitamina C. Embora os extratos não tenham reduzido significativamente a viabilidade das células de melanoma, foram seguros para fibroblastos normais, mostrando aumento na viabilidade celular com concentrações maiores. Dessa forma, esses achados ressaltam o potencial antioxidante do murici e sua segurança para células normais, sugerindo novas áreas para pesquisa em terapias e aplicações alimentares.

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, R. R. DE et al. *Byrsonima crassifolia* e *B. verbascifolia*: murici. [s.l.] Embrapa Agroindústria Tropical - Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E), 2018.

ARRUDA, H. S. et al. Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its byproducts by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 245, p. 738–749, 15 abr. 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity**. [s.l.: s.n.].

GIUDICESSI, J. R.; ACKERMAN, M. J. Determinants of incomplete penetrance and variable expressivity in heritable cardiac arrhythmia syndromes. **National Institute of Health**, v. 161, n. 1, p. 1–14, 2013.

PIRES, F. C. S. et al. Determination of process parameters and bioactive properties of the murici pulp (*Byrsonima crassifolia*) extracts obtained by supercritical extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 146, n. January, p. 128–135, 2019.

PELISON, L. P.; et al. Antiproliferative and apoptotic effects of caffeic acid on SK-Mel-28 human melanoma cancer cells. **Molecular Biology Reports**, v. 46, n. 2, p. 2085–2092, 2019.

PICÓ, Y. **Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples** TrAC - Trends in Analytical Chemistry Elsevier B.V., 2013.

Palavras-chave: Compostos bioativos; Amazônia; *Byrsonima Crassifólia*; antioxidantes.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2023-0533

Financiamento: UFFS.