

Influência das condições de armazenamento de alcoolaturas das sementes de sucupira (*Pterodon emarginatus*) na presença de seus metabólitos bioativos

Influence of the storage conditions of sucupira's seeds alcoolatures (*Pterodon emarginatus*) in the presence of their bioactive metabolites

Influencia de las condiciones de almacenamiento de alcoolaturas de semillas de sucupira (*Pterodon emarginatus*) en presencia de sus metabolitos bioactivos

Recebido: 02/11/2020 | Revisado: 09/11/2020 | Aceito: 13/11/2020 | Publicado: 17/11/2020

Jhonatan Bispo de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7329-8395>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: jhonatanbo@hotmail.com

Bárbara Ferreira Lemos da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4999-6104>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: babih_lemos@hotmail.com

Ana Maria de Resende Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1587-5024>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: anamariaderesendemachado@gmail.com

Esther Maria Ferreira Lucas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2918-1568>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: esther.emfl@gmail.com

Resumo

O tratamento de afecções inflamatórias empregando fitoterápicos preparados pela maceração de sementes de sucupira em bebidas alcoólicas é uma prática comum. A volatilidade e labilidade dos metabólitos pode promover variações na composição química dos fitoterápicos, conforme as condições de armazenamento. Este trabalho teve como objetivo investigar como o armazenamento afetam o perfil químico de extratos hidroalcoólicos de sementes de

sucupira, principalmente em relação a presença e concentração relativa dos metabólitos bioativos. Para tanto, foram preparadas macerações de sementes de sucupira 10% (p/v) em álcool 70 °GL e, em duplicata. O acondicionamento destas foi realizado em frascos transparentes e âmbar que foram armazenados em condições variadas: em contato direto com a irradiação solar, a temperatura ambiente, em refrigerador e em freezer. Após 15, 45, 90 e 155 dias foram retiradas alíquotas de cada amostra e, estas tiveram seus perfis químicos determinados por técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). O armazenamento por períodos de 15, 45 e 90 dias levou a alteração química significativa, apenas das amostras expostas simultaneamente ao calor e luz solar. Aos 115 dias de armazenamento, as amostras armazenadas em frasco âmbar, nas demais condições de armazenamento, não exibiram todos os metabólitos extraídos, mas mantiveram a presença dos compostos que apresentam ação anti-inflamatória. Por tais resultados é possível concluir que as preparações caseiras, armazenadas a temperatura ambiente, sob refrigeração e congeladas, manterão a presença dos metabólitos de ação anti-inflamatória mesmo quando armazenadas por 115 dias, independente se este armazenamento ocorrer em frasco âmbar ou transparente.

Palavras-chave: Semente de sucupira; CG-EM; Metabólitos bioativos; Maceração.

Abstract

The treatment of inflammatory conditions using herbal medicines prepared by macerating sucupira seeds in alcoholic beverages is a common practice. The volatility and lability of the metabolites can promote variations in the chemical composition of herbal medicines, according to the storage conditions. This work aimed to investigate how storage affects the chemical profile of hydroalcoholic extracts of sucupira seeds, mainly in relation to the presence and relative concentration of bioactive metabolites. For this purpose, macerations of sucupira seeds 10% (w/v) in alcohol 70 ° GL and in duplicate were prepared. The packaging of these was carried out in transparent and amber bottles that were stored in different conditions: in direct contact with solar radiation, at room temperature, in a refrigerator and freezer. After 15, 45, 90 and 155 days, aliquots were removed from each sample and these had their chemical profiles determined by gas chromatography technique coupled to mass spectrometry (CG-EM). The storage for periods of 15, 45 and 90 days led to a significant chemical change, only of the samples exposed simultaneously to heat and sunlight. At 115 days of storage, the samples stored in an amber flask, in the other storage conditions, did not exhibit all the extracted metabolites, but maintained the presence of compounds that have anti-inflammatory action. For these results it is possible to conclude that the homemade

preparations, stored at room temperature, under refrigeration and frozen, will maintain the presence of the metabolites of anti-inflammatory action even when stored for 115 days, regardless if this storage occurs in an amber or transparent bottle.

Keywords: Sucupira seed; GC-MS; Bioactive metabolites; Macerations.

Resumen

El tratamiento de afecciones inflamatorias utilizando medicamentos a base de hierbas preparadas macerando semillas de sucupira en bebidas alcohólicas es una práctica común. La volatilidad y labilidad de los metabolitos pueden promover variaciones en la composición química de los medicamentos a base de hierbas, según las condiciones de almacenamiento. Este trabajo tuvo como objetivo investigar cómo el almacenamiento afecta el perfil químico de los extractos hidroalcohólicos de semillas de sucupira, principalmente en relación con la presencia y concentración relativa de metabolitos bioactivos. Para ello se prepararon maceraciones de semillas de sucupira al 10% (p / v) en alcohol 70 ° GL y por duplicado. El envasado de estos se realizó en botellas transparentes y de color ámbar que se almacenaron en diferentes condiciones: en contacto directo con la radiación solar, a temperatura ambiente, en nevera y congelador. Después de 15, 45, 90 y 155 días, se retiraron alícuotas de cada muestra y se determinaron sus perfiles químicos mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). El almacenamiento por períodos de 15, 45 y 90 días provocó un cambio químico significativo, solo de las muestras expuestas simultáneamente al calor y la luz solar. A los 115 días de almacenamiento, las muestras almacenadas en un matraz ámbar, en las otras condiciones de almacenamiento, no presentaron todos los metabolitos extraídos, pero mantuvieron la presencia de compuestos que tienen acción antiinflamatoria. Por estos resultados es posible concluir que las preparaciones caseras, almacenadas a temperatura ambiente, refrigeradas y congeladas, mantendrán la presencia de los metabolitos de acción antiinflamatoria incluso cuando se almacenen durante 115 días, independientemente de que este almacenamiento se produzca en botella de color ámbar o transparente.

Palabras clave: Semilla de sucupira; CG-EM; Metabolitos bioactivos; Maceraciones.

1. Introdução

1.1 Produtos naturais e metabolismo

Embora o tratamento alopático seja, atualmente o modelo médico predominante, o uso de plantas medicinais e produtos caseiros e farmacêuticos preparados a partir destas, ainda apresenta importante relevância no tratamento de sintomas e doenças em todo o mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial utiliza este tipo de recurso como forma complementar de tratamento à saúde, principalmente nos países em desenvolvimento (Souza et al., 2013). Deste modo é fácil perceber que o uso tradicional de preparações caseiras de plantas medicinais é uma prática corriqueira no Brasil. Porém, da mesma maneira, como ocorre com os medicamentos alopáticos, os fármacos presentes nas plantas medicinais e seus preparados são sujeitos à degradação devido às condições de armazenamento (Brito et al., 2016). A temperatura, a luz, o pH e a umidade podem alterar a composição dos fitoterápicos, promovendo a volatilização ou degradação química de seus metabólitos secundários, sendo indicado manter em condições já estabelecidas em legislação (ANVISA, 2014; Santos & Almeida, 2016). A temperatura e a irradiação de luz ultravioleta podem atuar, catalisando as reações de hidrólise e oxidação dos componentes do extrato do vegetal, podendo converter os fitofármacos em compostos biologicamente inativos ou, até mesmo tóxicos. Para garantir a eficácia e segurança no uso de uma preparação caseira a base de uma planta medicinal é importante que sejam avaliadas como as suas condições de preparo e armazenamento podem afetar o perfil químico dos extratos (Simões, 2007).

1.2 Sucupira e seus metabólitos

Sucupira é o nome vulgar que designa algumas espécies dos gêneros *Pterodon* e *Bowdichia*. Existem dois tipos de sucupira, a preta (*Bowdichia virgilioides*), e a branca (*Bowdichia nitida*, *Bowdichia brasiliensis*, *Pterodon emarginatus* e *Pterodon polygalaeiflorus*) (Machado et al., 2018).

Pterodon emarginatus é uma árvore de porte médio, que atinge entre 8 e 16 metros, de copa piramidal rala, que nasce em terrenos secos e arenosos. Grande parte de seu óleo essencial concentra-se apenas nas sementes, que são protegidas por uma dura couraça. A grande concentração de óleo e resina no interior das sementes evita sua desidratação e morte

sob o intenso sol do cerrado, além de garantir que sua germinação só ocorra em época de chuva intensa (Ferreira et al., 2001).

Estudos fitoquímicos do óleo das sementes tanto de *Pterodon emarginatus* quanto de *Bowditchia nitida* levaram ao isolamento de sesquiterpenos e diterpenos para os quais foram cientificamente comprovadas ações farmacológicas. Espatuleno – antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano sobre *Mycobacterium tuberculosis* (Nascimento et al., 2018); β -cariofileno – anti-inflamatório, antioxidante, sedativo, ansiolíticos, antidepressivo, anticonvulsivo, antitumoral (colón, pele e pâncreas), antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* (Francomano et al., 2019). β -elemeno - anti-inflamatório (ação principalmente neurológica), antineoplásico contra células cancerígenas resistentes a medicamentos de platina, como por exemplo tumor de ovário (Lee; Li & Reed, 2012; Shamsizadeh et al., 2017), e δ -cadineno - anti-inflamatório, antimicrobiano sobre *Streptococcus pneumoniae* e larvicida, atuando sobre o mosquito vetor da malária *Anopheles stephensi* (López et al., 2011; Russo & Marcu, 2017); germacreno-D – antimicrobiano sobre bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* e citotoxicidade em células cancerígenas como: melanoma em pele, carcinoma em colón e fígado, adenocarcinoma na mama e cervical e fibroblastos de pulmão (Montanari et al., 2011). O α -humuleno tem ação anti-inflamatória comprovada, além de ação anti-tumoral em linfomas, pulmão e colón (Rauter et al., 2001; Fernandes et al., 2007).

Assim como os medicamentos alopáticos, os fitoterápicos são sujeitos à degradação devido às condições de armazenamento (Pirani et al., 2020) e, em especial, como os fitoterápicos são sistemas compostos de inúmeras substâncias, essas podem reagir entre si, formando compostos indesejados que podem causar danos à saúde daqueles que os consomem. Em relação às condições de armazenamento: a temperatura, a luz, o pH e a umidade podem alterar a composição desses fitoterápicos, já que os mesmos podem ser voláteis ou lábeis e sofrem degradação facilmente. As reações de oxidação são favorecidas pelo calor, irradiação ultravioleta e presença de oxigênio, já as hidrólises são afetadas pelo pH do sistema. Conforme suas estruturas químicas, os metabólitos presentes em um fitoterápico, podem ser susceptíveis de maneira diferente às reações de hidrólises e oxidação (Pereira & Cardoso, 2012). A combinação entre a natureza das estruturas químicas presentes no fitoterápico, e as condições de armazenamento, definirão sua estabilidade.

2. Materiais e Métodos

2.1 Metodologia

Sementes de sucupira trituradas (*Pterodrom emarginatus*) foram maceradas em álcool etílico 70 °GL por 15 dias e os extratos obtidos foram acondicionadas em frascos transparentes e âmbar e armazenados em diferentes condições: em contato direto com a irradiação solar, a temperatura ambiente, em refrigerador e em freezer. Alíquotas destes extratos foram analisadas após 45, 90 e 155 dias de armazenamento para avaliar a influência das condições de armazenamento na estabilidade dos metabólitos bioativos (Passos et al., 2018).

2.2 Aquisição das sementes

As sementes foram adquiridas no mercado central de Belo Horizonte - MG em fevereiro de 2016.

2.3 Preparo do extrato

Para a preparação de cada extrato, em duplicata (optou-se pela duplicata em função do número excessivo de amostras para serem analisadas e a limitação de uso do equipamento), as sementes de sucupira foram triturados manualmente até obtenção de pequenos fragmentos, de cerca de 1 cm que foram homogeneizados e, medido a massa de duas porções de 10,0 g, sendo cada uma destas acondicionada em frascos de vidro âmbar nos quais, adicionou-se 100 mL de álcool comercial EMFAL – 99,5° GL. Lote: 0201.0226-08/14, validade: 09/2017. Cada duplicata foi deixada em repouso à temperatura ambiente, ao abrigo de luz, por um período de 15 dias, após os quais, promoveu-se a filtração. Uma alíquota do filtrado foi retirada para realização da análise cromatográfica. O restante do filtrado foi distribuído, em porções de 5,0 mL, em 18 frascos de vidro transparente e 18 frascos de vidro âmbar que foram acondicionados por um período total de 115 dias em diferentes condições. A metodologia utilizada foi adaptada de Oliveira e colaboradores (2020).

2.4 Análise da estabilidade da solução hidroalcoólica das sementes de sucupira mediante as diversas condições de armazenamento

Cada amostra, contendo 5,0 mL de solução hidroalcoólica de sucupira acondicionada em dois frascos âmbar e dois transparentes foi armazenada, por 115 dias, nas seguintes condições: submetidos à ação direta dos raios solares; em temperatura ambiente e exposto a luz, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sob refrigeração (8°C), e sob congelamento (-6°C), adaptada de Santos & Almeida (2016). Alíquotas de 100 µL de cada uma das amostras foram recolhidas após 15, 45, 90 e 115 dias de armazenamento, e conduzidas à análise cromatográfica gasosa.

2.5 Análise cromatográfica

Depois do tempo de exposição nas condições os extratos foram submetidos à análises em Cromatógrafo gasoso (Agilent Technologies 7890A) acoplado a Espectrômetro de Massas (Agilent 5975C detector MSD Triple-Axis e analisador quadrupolo). A análise cromatográfica foi adaptada de Pereira e colaboradores (2020). As condições foram: coluna capilar de sílica fundida (HP-5) mantendo fluxo de hélio a 1,3 mL/min, como gás de arraste, aquecimento com temperatura programada de 120°C por 2 minutos, até 240°C a 3°C min⁻¹ e depois mantendo por 2 min. A identificação das substâncias presentes nos extratos foi realizada através da análise conjunta dos cromatogramas obtidos e dos espectros de massas correspondentes a cada pico presente nos cromatogramas. Para confirmação de cada composto foram calculados os índices de retenção pelo método de Kovats, que consistiu na injeção de um padrão certificado de uma mistura de hidrocarbonetos C₉-C₂₂, a partir da qual foi construída uma curva analítica que serviu como base para realizar os cálculos dos valores obtidos de Kovats para cada composto presente nas amostras.

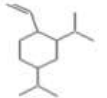


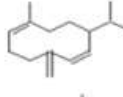
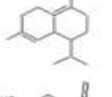
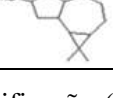
3. Resultados e Discussões

As condições de análises proporcionaram uma boa resolução dos picos com tempos de retenção bem distantes um do outro, já os índices de Kovats obtidos mostraram uma excelente proximidade dos valores tabelados. Neste estudo avaliou-se o comportamento dos principais metabólitos β-elemeno, β-cariofileno, α-humuleno, germacreno-D, δ-cadineno e espatulenol

frente às variações de tempo e condições de armazenamento e tipo de frascos dos extratos da semente de sucupira.

Observou-se que 15 dias de maceração em vidro âmbar e ao abrigo da luz foi suficiente para promover a extração dos principais metabólitos bioativos das sementes de sucupira. Os seis metabólitos bioativos identificados nas soluções hidroalcoólicas, após 15 dias de maceração em álcool estão apresentados na Tabela 1. Foram identificados os compostos que entravam na faixa de massa molar compatível ao padrão de hidrocarbonetos disponível ou tinha atividades bioativas já descritas na literatura.

Tabela 1 – Metabólitos identificados nos extratos da semente de sucupira, tempo de retenção e valores dos índices de Kovats tabelado e obtido.

| Metabólitos | Fórmula estrutural ^d | Tempo de retenção (min) | Índice de Kovats (tabelado/obtido) | Classe do terpeno | MI |
|----------------------|---|-------------------------|------------------------------------|-------------------|---------|
| β -elemeno |  | 7,5 | 1398/1402 | Sesquiterpeno | a, b, c |
| β -cariofileno |  | 8,3 | 1428/1433 | Sesquiterpeno | a, b, c |
| α -humuleno |  | 9,1 | 1456/1467 | Sesquiterpeno | a, b, c |
| germacreno D |  | 9,8 | 1499/1498 | Sesquiterpeno | a, b, c |
| δ -cadineno |  | 11,0 | 1537/1535 | Sesquiterpeno | a, b, c |
| espatulenol |  | 12,6 | 1577/1588 | Sesquiterpeno | a, b, c |

MI = método de identificação (a, b); ^aComparação de Índice de Kovats tabelado e obtido usando n-alcano C₉ – C₂₂ em coluna HP-5 e com variação menor que 3%; ^bIdentificação baseada na comparação de espectros de massas usando a biblioteca NIST 11.0; ^cComposto listado em ordem de eluição da coluna HP-5 (Adams, 2007); ^dEstruturas desenhadas pelos autores utilizando o programa ChemStetch, 1994. Fonte: Autores.

Os resultados obtidos após o armazenamento dos extratos, isento das sementes, em diferentes condições, relacionadas à exposição a luz e temperatura na qual cada extrato foi armazenado por períodos e 15, 45 e 155 dias, estão apresentados na Tabela 2.

O elevado percentual observado para os compostos não identificados (ni) se deve ao fato de que na identificação dos metabólitos nos extratos foi considerada somente para os seis metabólitos descritos nas tabelas 1 e 2.

Aos dias 15 de armazenamento, nos extratos que foram expostos à luz e ao calor simultaneamente (armazenadas em frascos transparente e âmbar) não foi identificado o germancreno D, o que nos leva a supor que este metabólito seja o mais sensível às condições de luz e calor, e principalmente ao calor, pois em frasco âmbar ele também não foi identificado. A literatura apresenta uma discussão a respeito da instabilidade do germancreno em temperaturas elevadas e meio ácido (Andersen et al., 2015). Tais extratos terão seu potencial bactericida e citotóxico contra células tumorais de fígado e colón reduzidos (Oliveira et al., 2015). As demais amostras, não apresentaram variação do perfil químico em relação ao extrato inicial. Os extratos armazenados à temperatura ambiente, sob refrigeração e congelados não exibiram alteração em seu perfil químico. Houve pequena variação na percentagem de cada metabólito frente às condições de armazenamento. Dentre os seis metabólitos bioativos, β -cariofileno foi aquele que apresentou maior percentagem de área relativa.

Aos 45 dias de armazenamento, nos frascos expostos diretamente ao calor e luz solar, apenas o espatulenol permaneceu presente. Tais extratos terão, provavelmente, perda da ação anti-inflamatória provenientes do β -elemeno e β -Cariofileno, anti-tumoral proporcionado pelo α -Humuleno e antimicrobiano promovido pelo germancreno D. No frasco transparente, a ausência do δ -Cadineno reduz ainda mais ação anti-inflamatória do extrato (Hoscheid & Cardoso, 2015). Os extratos armazenados à temperatura ambiente, sob refrigeração e congelados não exibiram alteração em seu perfil químico.

Já no frasco âmbar, foi observado, além do espatulenol também o cadineno, evidenciando que o calor e a irradiação da luz ultravioleta (UV) são condições que, somadas, promovem a diminuição da ação farmacológica dos extratos hidroalcoólicos de sucupira, promovendo a perda dos metabólitos por volatilização e/ou degradação.

Tabela 2 – Metabólitos bioativos de sementes de sucupira em extratos isentos da semente e armazenados em diferentes condições e períodos de tempo detectados por cromatografia gasosa.

| Variáveis de análise | | | Média das áreas reativas (%) | | | | | | | |
|------------------------------------|------------------------------------|----------------|------------------------------|----------------------|--------------------|--------------|--------------------|-------------|-------|-------|
| T.A. | Condição de armazenamento | Tipo de Frasco | β -elemeno | β -cariofileno | α -humuleno | germacreno-D | δ -cadineno | espatulenol | n.i. | |
| 15 dias | Congelado | Âmbar | 1,57 | 5,08 | 1,19 | 0,97 | 2,77 | 1,83 | 86,59 | |
| | | Transparente | 2,08 | 4,77 | 0,98 | 0,93 | 2,48 | 2,00 | 86,76 | |
| | Refrigerado | Âmbar | 2,58 | 5,58 | 2,11 | 1,98 | 2,06 | 3,39 | 82,30 | |
| | | Transparente | 4,93 | 12,9 | 2,83 | 2,34 | 3,10 | 2,12 | 71,78 | |
| | Exposto a luz e ao abrigo do calor | Âmbar | 2,08 | 5,60 | 1,66 | 1,02 | 2,06 | 1,90 | 85,68 | |
| | | Transparente | 2,19 | 5,83 | 1,27 | 2,64 | 2,72 | 3,34 | 82,01 | |
| | Ao abrigo do sol e do calor | Âmbar | 1,96 | 5,15 | 1,14 | 1,08 | 2,67 | 1,89 | 86,11 | |
| | | Transparente | 2,62 | 6,15 | 1,56 | - | 2,85 | 4,40 | 82,42 | |
| | Exposto a luz e ao calor | Âmbar | 2,46 | 6,07 | 1,39 | - | 2,03 | 3,53 | 84,52 | |
| | | Transparente | 2,96 | 10,60 | 2,41 | 1,80 | 4,96 | 7,98 | 69,29 | |
| 45 dias | Congelado | Âmbar | 2,73 | 10,60 | 2,19 | 2,16 | 5,19 | 7,76 | 69,37 | |
| | | Transparente | 2,58 | 9,79 | 2,20 | 1,94 | 4,54 | 7,03 | 71,92 | |
| | Refrigerado | Âmbar | 2,70 | 10,90 | 3,03 | 1,64 | 8,51 | 5,91 | 67,31 | |
| | | Transparente | 2,52 | 10,2 | 2,88 | 1,13 | 5,19 | 4,16 | 73,92 | |
| | Exposto a luz e ao abrigo do calor | Âmbar | 6,67 | 16,10 | 5,95 | 2,56 | 8,25 | 6,99 | 53,48 | |
| | | Transparente | 4,17 | 10,10 | 3,86 | 1,53 | 7,15 | 3,44 | 69,75 | |
| | Ao abrigo do sol e do calor | Âmbar | - | - | - | - | 4,86 | 9,38 | 85,76 | |
| | | Transparente | - | - | - | - | - | 6,57 | 93,43 | |
| | Exposto a luz e ao calor | Âmbar | 8,91 | 15,9 | 6,34 | 4,16 | 6,88 | 7,98 | 49,83 | |
| | | Transparente | 7,56 | 16,70 | 8,85 | 4,15 | 7,34 | 7,76 | 47,64 | |
| 90 dias | Congelado | Âmbar | 7,06 | 15,20 | 6,34 | 3,76 | 6,78 | 7,03 | 53,83 | |
| | | Transparente | 7,16 | 15,00 | 5,64 | 3,55 | 12,30 | 10,40 | 45,95 | |
| | Refrigerado | Âmbar | 5,43 | 12,30 | 5,15 | 3,43 | 12,10 | 10,30 | 51,29 | |
| | | Transparente | 6,49 | 14,40 | 5,48 | 4,12 | 12,60 | 7,85 | 49,06 | |
| | Exposto a luz e ao abrigo do calor | Âmbar | 5,87 | 13,40 | 5,41 | 3,91 | 11,00 | 5,16 | 55,25 | |
| | | Transparente | - | - | - | - | - | 29,50 | 70,50 | |
| | Ao abrigo do sol e do calor | Âmbar | - | - | - | - | - | 23,70 | 76,30 | |
| | | Transparente | 13,50 | 24,00 | 9,00 | 4,80 | 15,20 | 7,98 | 25,52 | |
| | 155 dias | Congelado | Âmbar | 9,20 | 18,90 | 6,66 | - | 16,00 | 7,76 | 41,48 |
| | | | Transparente | 8,74 | 17,60 | 5,72 | - | 13,00 | 7,03 | 47,91 |
| Refrigerado | | Âmbar | 7,56 | 17,30 | 8,16 | - | 16,90 | 10,70 | 39,38 | |
| | | Transparente | 7,24 | 15,00 | 3,73 | - | 16,40 | 9,07 | 48,56 | |
| Exposto a luz e ao abrigo do calor | | Âmbar | 8,26 | 19,90 | 9,87 | - | 17,80 | 9,14 | 35,03 | |
| | | Transparente | 7,19 | 15,70 | 8,10 | - | 16,40 | 6,18 | 46,43 | |
| Ao abrigo do sol e do calor | | Âmbar | - | - | - | - | - | 27,10 | 72,90 | |
| | | Transparente | - | - | - | - | - | 22,5 | 77,50 | |

(-) ausência; T.A. = Tempo de Armazenamento; n.i. = soma de compostos não identificado.

Fonte: Autores.

O perfil químico dos extratos armazenados por 90 dias equivale ao perfil observado nos extratos armazenados por 45 dias em todas as condições exceto para o extrato que foi exposto a luz e calor em frasco âmbar, onde não foi observada a presença do δ -Cadineno. Esta observação evidencia que as transformações promovidas simultaneamente pela ação de luz e calor em um prazo de 15 dias para o germanceno-D, se estenderam aos outros metabólitos quando armazenados por períodos igual ou superior a 45 dias.

Por fim, nos extratos armazenados por 155 dias, além do que já havia sido observado anteriormente, ocorreu também a ausência do germanceno D em todos extratos, exceto naquele extrato que foi congelado em frasco âmbar. Como citado, a ação antimicrobiana, em Montanari et al. (2011) germanceno D, a sua ausência pode implicar na perda da ação antimicrobiana contra bactérias da família *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Escherichia*, já observada em óleos essenciais de sucupira (Mendes et al., 2017). Porém os metabólitos responsáveis pela ação anti-inflamatória, que é a ação procurada pelas pessoas que utilizam este fitoterápico, são mantidos nos extratos que foram armazenados a temperatura ambiente, sob refrigeração e congelados, tanto protegidos, quanto expostos à luz.

Com o aumento do período de armazenamento, foi observado um aumento da área relativa de cada um dos compostos bioativos, e o desaparecimento de vários picos dos compostos não identificados. Considerando que a percentagem de área relativa leva em conta o somatório da área de todos os picos, haverá redistribuição da percentagem referente aos picos correspondentes aos metabólitos que se degradaram para cada metabólito que permanece presente no cromatograma. Deste modo, a intensificação da área relativa dos picos remanescentes é justificada.

4. Conclusão

A condição de armazenamento que causa a perdas mais significativas dos metabólitos bioativos é a exposição direta aos raios solares, onde há incidência simultânea de luz e calor sobre a amostra. Neste caso, após 15 dias de armazenamento um dos metabólitos, o germanceno, já não é observado nos extratos. Após 45 e 90 dias de armazenamento, nestas mesmas condições, além do germanceno, também não são observados elemeno, cariofileno, humuleno, germanceno e cadineno, assim, esses extratos perderam suas ações farmacológicas já aos 45 dias de armazenamento.

Quando o extrato é armazenado congelado, sob refrigeração e, também a temperatura ambiente, protegido dos raios solares, todos os metabólidos de ação anti-inflamatória permanecem no extrato tanto aos 45 quanto aos 90 dias de armazenamento, apontando para a possível manutenção da eficácia dos extratos no tratamento de sintomas inflamatórios.

Após 115 dias de armazenamento, o congelamento dos extratos em frasco âmbar, foi a única condição que garantiu a presença de todos os metabólitos bioativos presentes no extrato inicial. Neste caso, o germancreno foi o metabólito que apresentou maior labilidade, estando presente apenas na amostra armazenada sob congelamento em frasco âmbar. Porém, como este metabólito não está relacionado as ações anti-inflamatórias, é possível concluir que a ação esperada para o referido fitoterápico se manteria, mesmo com a ausência do germancreno.

Os resultados desse trabalho mostram a importância para realização de estudos e desenvolvimento de linhas de pesquisas que possibilitam avaliar de que forma as condições de armazenamento influencia o perfil químico de produtos fitoterápicos e sua eficácia. Pode-se também, estender o modelo do trabalho para outras partes morfológicas de plantas, como, raízes, caules, folhas e até flores. Por fim, criar modelos matemáticos para elucidar o comportamento de produtos naturais na produção, armazenamento e controle de qualidade de futuros fitoterápicos.

Referências

Adams, R.P. (2007). *Identification of essential oil components by gás chromatography/mass spectroscopy*, 4th Edition. Allured Publ. Corp, Carol Stream.

Andersen, T. B., Cozzi, F., & Simonsen, H. T. (2015). Optimization of biochemical screening methods for volatile and unstable sesquiterpenoids using HS-SPME-GC-MS. *Chromatography*, 2, 277-292. doi: 10.3390/chromatography2020277.

Anvisa, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2014). Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, Brasil.

Brito, K. S., Barreto, R. A. P., & Lyra, M. A. M. (2016). Estudo d estabilidade de acompanhamento do fitoterápico sanativo. *Revista Eletrônica Estácio Recife*, 1 (1).

Fernandes, E. S., Passos, G. F., Medeiros, R., da Cunha, F. M., Ferreira, J., Campos, M. M., Pianowsk, L. F., & Calixto, J. B. (2007). Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *European Journal of Pharmacology*, 569, 228–236. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.04.059.

Ferreira, R. A., Viera, M. G. G. C., Pinho, E. V. R. V., & Tonetti, O. A. O. (2001). Morfologia da semente e de plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira branca pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 23(1), 108-115. doi: 10.17801/0101-3122/rbs.v23n1p108-115.

Francomano, F., Caruso, A., Barbossa, A., Fazio, A., La Torre C., Ceramella, J., Mallamaci, R., Saturno, C., Iacopetta, D., & Sinicropi, M. S. (2019). β -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences*, 9(24), 5420-5438. doi: 10.3390/app9245420.

Hoscheid, J., & Cardoso, M. L. C. (2015). Sucupira as a potential plant for arthritis treatment and other diseases. *Arthritis*, 2015, 1-12. doi: 10.1155/2015/379459.

Lee, R. X., Li, Q. Q., & Reed, E. (2012). β -Elemene effectively suppresses the growth and survival of both platinum-sensitive and -resistant ovarian tumor cells. *Anticancer Research*, 32(8), 3101-3113. PMID: 22843880.

López, P. A., Cirio, A. T., Galindo, R. V. M., Aranda, R. S., & Torres, N. W. (2011). Activity against *Streptococcus pneumoniae* of the essential oil and δ -cadinene isolated from *Schinus mole* Fruit. *Journal of Essential Oil Research*, 23(5), 25–28. doi: 10.1080/10412905.2011.9700477.

Machado, M. S. L., Bruno, K. A., Melo, M. O., & Koike, M. K. (2018). Fitoterapia brasileira: análise dos efeitos biológicos da sucupira (*Bowdichia virgilioides e Pterodon emarginatus*). *Brazilian Journal of Natural Sciences*, 2(1), 15-21. doi: 10.31415/bjns.v1i2.10.

Mendes, V. S., Sant'Anna, J. B., Oliveira, S. C. C., Maldonado, I. R., & Machado, E. R. (2017). Inhibitory effects of *Pterodon emarginatus* bean oil and extract on *Staphylococcus aureus*. *Pharmacognosy and Natural Products*, 9(4), 348-353. doi: 10.4103/pr.pr_13_17.

Montanari, R. M., Barbosa, L. C. A., Demuner, A. J., Silva, C. J., Carvalho, L. S., & Andrade, N. J. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from verbenaceae species: alternative sources of (E)-caryophyllene and germacrene-D. *Química Nova*, 34(9), 1550-1555. doi: 10.1590/S0100-40422011000900013.

Nascimento, K., Moreira, F., Santos, J., Kassuva, C., Croda, J., Cardoso, C., Viera, M., Ruiz, A., Foglio, M., Carvalho, J., & Formagio, A. (2018) Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 351-358. doi: 10.1016/j.jep.2017.08.030.

Oliveira, P. F., Alves, J. M., Damasceno, J. L., Oliveira, R. A. M., Dias, H. J., Crotti, A. E. M., & Tavares, D. C. (2015). Cytotoxicity screening of essential oils in cancer cell lines. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2), 183-188. doi: 10.1016/j.bjp.2015.02.009.

Oliveira, J. B. de., Machado, A. M. de R., Nelson, D. L., & Lucas, E. M. F. (2020). Extraction of bioactive metabolites from sucupira seeds (*Pterodon emarginatus*) using cachaça. *Research, Society and Development*, 9(11). doi:10.33448/rsd-v9i11.9795

Passos, M. M. B., Albino, R. C., Silva, M. F., & Oliveira, D. R. (2018). A disseminação cultural das garrafadas no Brasil: um paralelo entre medicina popular e legislação sanitária. *Saúde Debate*. 42(116). doi: 10.1590/0103-1104201811620.

Pereira, R. J., & Cardoso, M. G. (2012). Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(4), 146-152. ISSN: 2179-4804.

Pereira, H. V., Reis, F. A. G., Machado, A. M. de R., Marques, A. R., Garcia, C. F., Gomes, F. de C. O., & Nelson, D. L. (2020). Characterization of the volatile compounds and anatomical features in commercial samples of *Echinodorus* plant species. *Research, Society and Development*, 9(10). doi: 10.33448/rsd-v9i10.9199

Pirani, A. C., Guidi, A. C., Romanichen, F. M. D. F., Ortiz, M. A. L., Teston, A.P. M., Mello, J. C. P., & Araújo, D. C. M. (2020). Estudo de estabilidade acelerada de xarope fitoterápico. *Brazilian Journal of Development*, 6(9), 69918-69930. doi: 10.34117/bjdv6n9.

Rauter, A. P., Branco, I., Bermejo, J., Gonzáles, A. G., Garcia-Crávalos, M. D., & Feliciano, A. S. (2011) Bioactive humulene derivatives from *Asteriscus vogelii*. *Phytochemistry*, 56, 167-171. doi: 10.1016/s0031-9422(00)00304-6.

Russo E. B., & Marcu, J. (2017). Cannabis Pharmacology: The usual suspects and a few promising leads. *Advances in Pharmacology*, 80, 67-134. doi: 10.1016/bs.apha.2017.03.004.

Santos, J. S., & Almeida, C. C. O. F. *Das plantas medicinais à fitoterapia: uma ciência em expansão* (2016). Brasília: Editora IFB, 1ª Ed., 214p.

Shamsizadeh, A., Roohbakhsh, A., Ayoobi, F., & Moghaddamhamadi, A. (2017). The role of natural products in the prevention and treatment of multiple sclerosis. In Watson, R., & Killgore, W. D. S. (eds.), *Nutrition and Lifestyle in Neurological Autoimmune Diseases* (pp. 249-260). Academic Press/Elsevier:Cambridge, MA, USA. ISBN 978-2400212-805298-805293.

Simões, C. M. (2007). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Florianópolis: Editora da UFSC, 6ª Ed., 1104p. ISBN: 9788570259271.

Souza, C. M. P., Brandão, D. O., Silva, M. S. P., Palmeiras, A. C., Simões, M. O. S., & Medeiros, A. C. D. (2013). Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(2), 188-193. doi: 10.1590/S1516-05722013000200004.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Jhonatan Bispo de Oliveira – 40%

Bárbara Ferreira Lemos da Silva – 30%

Ana Maria de Resende Machados – 15%

Esther Maria Ferreira Lucas – 15%