

Estudo químico de espécies vegetais encontradas na UFG, campus de Catalão, buscando novas moléculas na terapêutica do câncer.

Fernando da Silva Marques, Richele Priscila Severino

Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão, CEP 75.704-020, Brasil

nandosmarques@hotmail.com; richeleps@yahoo.com.br

PALAVRAS-CHAVE: *Aspidosperma macrocarpon*, Apocynaceae, produtos naturais, Cerrado.

1. INTRODUÇÃO

Uma planta é uma verdadeira usina química que pode produzir milhares de substâncias diferentes, onde apenas uma ou algumas são responsáveis pela atividade terapêutica ou tóxica¹.

O isolamento e estudo de substâncias naturais têm sido uma preocupação central das ciências químicas e biológicas por mais de 200 anos. O *Dictionary of Natural Products* e seus quatro suplementos descrevem dados químicos, estruturais e bibliográficos para mais de 100.000 produtos naturais e substâncias relacionadas².

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microorganismos. O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo³. O bioma Cerrado, por exemplo, a partir de estudos fitossociológicos e florísticos já realizados indicam grande diversidade fitofisionômica e uma disposição em matriz vegetacional. Grande heterogeneidade pode ser determinada por aspectos edáficos, latitude, freqüentes queimadas e fatores antrópicos, que são capazes de influenciar a fertilidade do solo e o crescimento da vegetação, bem como a distribuição das espécies vegetais⁴. De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é freqüentemente afetada por condições ambientais⁵.

A identificação dos constituintes químicos de uma planta medicinal constitui um passo indispensável para a compreensão do mecanismo de ação do princípio ativo¹. A química de produtos naturais do metabolismo secundário (especializado) é estudada pelos químicos orgânicos, freqüentemente reconhecidos como químicos de produtos naturais².

Revisado pelo orientador - Fernando da Silva Marques, Richele Priscila Severino

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos³. Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido elucidar rapidamente estruturas moleculares complexas de constituintes naturais, até há pouco tempo difíceis de serem identificados⁶.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo a avaliação biológica de extratos etanólicos de espécies vegetais encontradas na Universidade Federal de Goiás, campus Catalão, assim como o estudo químico do extrato etanólico das folhas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae) buscando o isolamento e identificação estrutural de seus constituintes químicos.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Equipamentos

- **Métodos Espectroscópicos**

Os espectros de RMN ¹H e ¹³C foram obtidos no equipamento Bruker DRX 400 MHz, no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, sendo os espectros obtidos utilizando solvente deuterado com TMS. Estas análises foram feitas em colaboração com o Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira.

- **Evaporador Rotativo**

IKA, modelo RV 05 Basic, com banho de aquecimento IKA HB 05.06 CN e bomba de hidrovácuo.

3.2. Materiais e Métodos

- **Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA)**

Fase estacionária: sílica gel 60 com F254 ($\phi = 0,2$ mm), em folhas de alumínio da MERK.

- **Cromatografia de adsorção em coluna aberta (CA)**

Fases estacionárias: sílica gel 60 (70-230 *mesh*), denominada sílica comum e sílica gel 60 (230-400 *mesh*), denominada sílica do tipo *flash*.

- **Revelador**

Como revelador para CCDA foi utilizada solução ácida de vanilina. A solução de vanilina foi preparada dissolvendo 3,0 g de vanilina em uma solução contendo 135 mL de água destilada, 135 mL de metanol e 30 mL de ácido sulfúrico concentrado.

- **Solventes**

Foram utilizados solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, etanol, metanol e água destilada) todos comerciais e de diferentes marcas.

3.3. Coleta e Identificação do Material Botânico

As espécies vegetais foram coletadas nas dependências da Universidade Federal de Goiás - CAC, no município de Catalão, estado de Goiás em 20 de maio de 2010. Esta parte do trabalho foi auxiliada pelo Prof. Dr. Helder Nagai Consolaro (Departamento de Biologia – CAC/UFG), o qual realizou a identificação do material vegetal e a catalogação do mesmo. A exsicata do material coletado foi depositada no herbário do Instituto de Ciências Biológicas da UFG.

3.4. Obtenção dos Extratos Etanólicos

A obtenção dos extratos etanólicos foi realizada de maneira clássica da fitoquímica. O material vegetal seco foi moído e submetido à maceração (percolação) a temperatura ambiente em etanol por sete dias, após este período o solvente foi retirado, evaporado e a torta submetida a uma nova extração. Este procedimento foi repetido duas vezes dando origem aos extratos etanólicos (Tabela 1).

3.5. Fracionamento do Extrato Etanólico das Folhas de *A. macrocarpon*

O extrato etanólico das folhas de *A. macrocarpon*, foi fracionado utilizando diferentes técnicas cromatográficas. A representação esquemática deste estudo está detalhada na Figura 1.

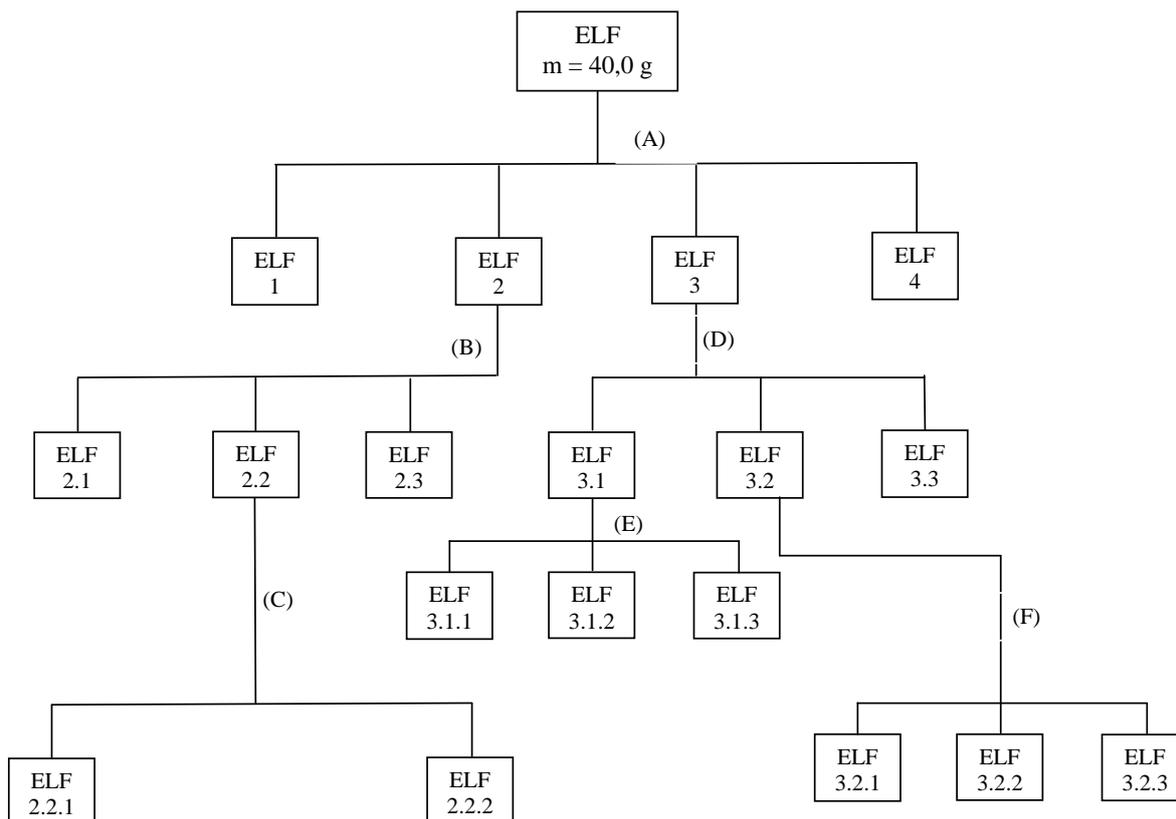


Figura 1: Fluxograma esquemático do processo de fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de *A. macrocarpon*.

A seguir são apresentados os detalhes do processo de fracionamento, onde F.E é a fase estacionária; h é a altura da fase estacionária na coluna cromatográfica; φ é o diâmetro da coluna cromatográfica.

(A) F.E. - Sílica comum

h – 5,5 cm

φ - 5,0 cm

Eluição gradiente - Hex/Dic/AcOEt/MeOH

(B) F.E. - Sílica comum

h - 10,0 cm

φ - 5,1 cm

Eluição gradiente – Hex/Dic/AcOEt/MeOH

(C) F.E. - Sílica *flash*

h – 10,5 cm

φ – 3,0 cm

Eluição gradiente – Hex/AcOEt/MeOH

(D) F.E. – Sílica comum

h – 8,5 cm

φ – 5,1 cm

Eluição gradiente - Hex/Dic/AcOEt/MeOH

(E) F.E – Sílica *flash*

h – 12,5 cm

φ – 2,3 cm

Eluição gradiente - Hex/AcOEt/MeOH

(F) F.E – Sílica *flash*

h - 14,0 cm

φ – 3,0 cm

Eluição gradiente - Hex/AcOEt/MeOH

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As espécies vegetais foram coletadas de modo aleatório conforme os indivíduos eram encontrados no interior do campus. Depois de realizada a coleta, buscou-se informações de uso na medicina popular e iniciou-se a preparação dos extratos pelo método clássico de estudo fitoquímico.

A Tabela 1 mostra relação das espécies vegetais, com suas diferentes partes coletadas, e a descrição dos seus respectivos usos na medicina popular. Cada espécie vegetal recebeu um código alfabético que foi mantido para os extratos etanólicos oriundos das mesmas.

Depois de realizadas as extrações com etanol, o solvente foi evaporado e originaram-se os extratos de cada espécie. Em alguns casos foi possível preparar os extratos com diferentes partes dos vegetais. Através da quantidade de material vegetal seco e da massa obtida para cada extrato, foi possível calcular o rendimento bruto de cada extração (Tabelas 2 e 3).

Tabela 1: Espécies vegetais coletadas para preparação dos extratos etanólicos.

Código	Espécie	Família	Nome popular	Parte vegetal coletada	Medicina Popular
J	<i>Eugenia dysenterica</i> DC.	Myrtaceae	cagaiteira	folhas e galhos	Os frutos são laxantes. As folhas são antidiarréicas e para o coração. As flores são usadas para os rins.
K	<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	Caesalpinioideae	jatobá-do-cerrado	galhos	A casca serve para inflamações da bexiga e da próstata, para estômago e coqueluche.
L	<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart.	Apocynaceae	guatambu-do-cerrado	folhas	Nada encontrado.
M	<i>Eriotheca pubescens</i> (Mart. & Zucc.) Schott & Endl.	Malvaceae (citada em Bombacaceae)	paineira-do-cerrado	folhas e galhos	Nada encontrado.
N	<i>Annona coriacea</i> Mart.	Annonaceae	marolo-do-cerrado	folhas e galhos	As folhas, a casca e as sementes são utilizadas para curar diarreia.
O	<i>Terminalia argentea</i> Mart.	Combretaceae	capitão-do-campo	galhos	Usada como purgativa, para aftas, tumores, tosse e também como cicatrizantes.
P	<i>Diospyros burchellii</i> Hiern	Ebenaceae	olho-de-boi	galhos	Nada encontrado.

Tabela 2: Descrição da massa vegetal seca, dos extratos etanólicos obtidos e do rendimento bruto do processo de extração.

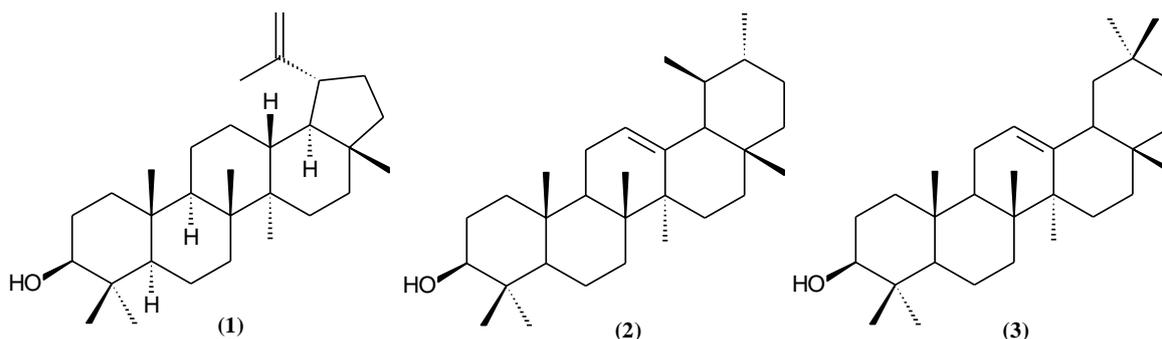
Código	Massa folhas secas (g)	Massa galhos secos (g)	Extrato folhas (g)	Extrato galhos (g)
J	1.600,00	451,70	101,37	55,41
K	-	576,42	-	153,67
L	961,52	-	185,21	-
M	1400,00	308,23	63,91	80,02
N	619,12	956,15	132,19	9,19
O	-	1.225,72	-	7,27
P	-	435,47	-	4,80

Tabela 3: Rendimento bruto do processo de extração.

Código	Rendimento extração das folhas (%)	Rendimento extração dos galhos (%)
J	6,3	12,3
K	-	26,7
L	19,3	-
M	4,6	26,0
N	21,4	1,0
O	-	0,6
P	-	1,1

Os extratos de todas as espécies vegetais foram analisados por CCDA com o objetivo de averiguar a complexibilidade química dos extratos. Amostras destes extratos foram enviadas para ensaio em células tumorais, com a finalidade de realizar-se uma triagem e avaliar a atividade citotóxica dos mesmos. Esta parte do trabalho é desenvolvida em colaboração com Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda, do Laboratório de Genética Molecular e Citogenética do Instituto de Ciências Biológicas da UFG.

A. macrocarpon foi selecionada para estudo por ainda não apresentar muitos relatos de estudo químico desta espécie. Duas amostras, ainda em fase de purificação, foram encaminhadas para realização de experimentos de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e através das análises dos espectros pode-se sugerir a composição química das mesmas como sendo misturas de triterpenos. O espectro da amostra ELF 2.2.1 apresentou sinais intensos característicos do lupeol (1) e o espectro da amostra ELF 3.2.1 apresentou sinais característicos da mistura de α -amirina (2) e β -amirina (3).



5. CONCLUSÃO

As pesquisas na área de Produtos Naturais requerem muitas etapas em diferentes aspectos investigativos, tais como o isolamento e purificação de compostos que possam vir a apresentar atividade biológica. Com isto pode-se vir a confirmar a utilização para alguma enfermidade presumivelmente combatida pela medicina popular, podendo assim tornar mais eficaz seu efeito curador a partir dos conhecimentos terapêuticos adquiridos com testes específicos em laboratório.

O trabalho realizado até o momento com o extrato de *A. macrocarpon* não é conclusivo, estando ainda em fase de fracionamentos e purificações, na tentativa de obtenção de compostos ativos na terapia contra o câncer.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C.; “Princípios ativos de Plantas Superiores”. EdUFSCar, 2003.

- [2] MORAIS, S. M.; FILHO, R. B.; “Produtos Naturais: Estudos Químicos e Biológicos”. UECE, 2007.
- [3] SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; “Farmacognosia: da planta ao medicamento”. UFRGS, 2003.
- [4] CARVALHO, A. R.; ALVES, S. M.; “Diversidade e Índice Sucessional de uma vegetação de Cerrado *sensu stricto* na UEG, Campus de Anápolis”. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 32 (1): 81-90, 2008.
- [5] NETO, L. G.; LOPES, N. P. “Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários”. *Química Nova*, 30 (2): 374-381, 2007.
- [6] FILHO, V. C.; YUNES, R. A. “Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade”. *Química Nova*, 21(1): 1998.