



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA

Estudo fitoquímico biomonitorado do extrato etanólico da casca do caule de  
*Aspidosperma nitidum* Benth. (Apocynaceae)

Bolsista: Samara de Souza Rojas, FAPEAM.

MANAUS

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA

RELATÓRIO FINAL DO PIBIC

PIB-S/0089/2012

Estudo fitoquímico biomonitorado do extrato etanólico da casca do caule de  
*Aspidosperma nitidum* Benth. (Apocynaceae)

Bolsista: Samara de Souza Rojas

Orientador: Dr. Pierre Alexandre dos Santos

MANAUS

2012

## Resumo

Apocynaceae é caracterizada por ser rica em alcaloides indólicos, como aspidospermina (diurético, hipotensor e estimulante respiratório), olivacina (anticancerígeno), ioimbina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico). *Aspidosperma nitidum*, cujas cascas são utilizadas pela população amazônica como hipoglicemiante e cujo extrato etanólico tem atividade anti-inflamatória e antinociceptiva comprovada, também é produtora de substâncias nitrogenadas. Sabendo-se que esta espécie é rica nessa classe de metabólitos, este trabalho vem empregar técnicas de fracionamento cromatográfico para o isolamento e identificação de substâncias presentes no extrato etanólico da casca do caule de *A. nitidum*. A partir deste, então, foi realizada uma partição, dando origem a três fases, sendo a fase clorofórmica 1 (ácida), a escolhida para ser realizado o fracionamento em coluna, devido ao seu rendimento. Foram obtidas 399 frações. A fração 212 um sólido incolor transparente, com baixo rendimento. A 217 apresentou-se na forma de um pó branco, quando liofilizada e massa de 3 g. E a 219-230 com aspecto cristalino, de cor amarelada e massa igual a 6 g. Estas foram submetidas a determinadas análises para a sua identificação, como RMN, RAIOS-X, UV e HPLC.

**Palavras chaves:** *Aspidosperma nitidum*, alcaloides indólicos

## Lista de Figuras

- Figura 1** Fases clorofórmica 1, 2 e 3, respectivamente. **15**
- Figura 2** Cromatoplasmas das fases da partição. **A:** CHCl<sub>3</sub>: MeOH (8:2). **16**  
Revelador: anisaldeído. **B:** CHCl<sub>3</sub>: MeOH (9:1). Revelador: Reagente de Dragendorff
- Figura 3** Fracionamento da fase clorofórmica 1 em coluna cromatográfica **16**  
utilizando sílica gel impregnada com acetato de sódio.
- Figura 4** Frações provenientes da coluna cromatográfica. **16**
- Figura 5** Frações obtidas a partir do fracionamento da fase clorofórmica 1. **FM:** **17**  
CHCl<sub>3</sub>:MeOH; **FE:** sílica gel 60; **Frações:** 0; 1; 2-4; 5-10; 11-14; 15-  
24; 25-35; 36-62. **Reveladores:** **A** - luz UV 365 nm; **B** - reagente de  
Dragendorff
- Figura 6** Frações obtidas a partir do fracionamento da fase clorofórmica 1. **FM:** **17**  
CHCl<sub>3</sub>:MeOH; **FE:** sílica gel 60; **Frações:** 78, 79, 80-87, 89-100, 101-  
107, 109-121 e 150. **Reveladores:** **A** - luz UV 365 nm; **B** - anisaldeído  
sulfúrico; **C** – sulfato de cério(IV).
- Figura 7** **A** – Fração 219-230; **B** – Fração 217 liofilizada; **C** – Fração 212. **18**
- Figura 8** Análise por CCDC, para comparação do acetato de sódio e as frações **19**  
217; 219-230; e 212, respectivamente. **A:** Luz UV 365 nm; **B:** Cloreto  
de ferro(III).

## Lista de Tabelas

- Tabela 1** Eluentes utilizadas na coluna cromatográfica realizada com a fase 14  
clorofórmica 1.
- Tabela 2** Dados referentes à coluna cromatográfica realizada com a fase 15  
clorofórmica 1 da partição.
- Tabela 3** Relação de testes realizados respectivamente com cada amostra e seu 19  
perfil de solubilização.

# Sumário

	<b>Resumo</b>	<b>iii</b>
	<b>Lista de Figuras</b>	<b>Iv</b>
	<b>Lista de Tabelas</b>	<b>v</b>
<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Revisão bibliográfica</b>	<b>8</b>
2.1	Apocynaceae	8
2.2	<i>Aspidosperma</i>	9
2.3	Metabólitos secundários	10
<b>3</b>	<b>Objetivos</b>	<b>11</b>
3.1	Objetivo Geral	11
3.2	Objetivos específicos	11
<b>4</b>	<b>Metodologia</b>	<b>11</b>
4.1	Coleta e identificação do material vegetal	11
4.2	Preparo da droga vegetal	11
4.3	Obtenção do extrato bruto	12
4.4	Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC)	12
4.5	Partição do extrato etanólico	12
4.6	Fracionamento em coluna cromatográfica aberta	13
<b>5</b>	<b>Resultados e discussão</b>	<b>15</b>
<b>6</b>	<b>Conclusões</b>	<b>19</b>
<b>7</b>	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>20</b>
	<b>Cronograma de atividades</b>	<b>23</b>

## 1. Introdução

O início do uso de plantas como medicamentos, na forma de tinturas, chás, pós, entre outras preparações, confunde-se com o início da humanidade, sendo elas, até hoje, parte de um sofisticado sistema de saúde, fortemente presente em comunidades pobres de países em desenvolvimento (NEWMAN *et al.*, 2000).

No entanto, mesmo países desenvolvidos têm voltado atenção ao potencial terapêutico do Reino Vegetal, dado que um número cada vez maior de medicamentos tem sido originado de estudos de plantas empregadas empiricamente com finalidade terapêutica (SCHMIDT *et al.*, 2008). No entanto, comparada ao número de plantas catalogadas no mundo, a quantidade de estudos que associem abordagens fitoquímica e farmacológica ainda é pequena (HEIRINCH, 2003).

Apocynaceae compreende cerca de 300 gêneros e 2.000 espécies tropicais e subtropicais. No Brasil ocorrem cerca de 370 espécies subordinadas a 41 gêneros, sendo 32 destes encontrados na Amazônia. Nesta região em particular, infusões da casca do caule de espécies de *Aspidorperma* são largamente empregadas contra doenças tropicais, como malária e leishmaniose, inflamações, reumatismo e até câncer (PEREIRA *et al.*, 2007).

Um estudo químico-farmacológico com *A. nitidum*, espécie arbórea amplamente empregada na medicina popular da Região Amazônica brasileira como anti-inflamatório, levou ao isolamento de esteroides ( $\beta$ -sitosterol e estigmasterol), triterpenos pentacíclicos ( $\beta$ -amirina e lupeol), um inositol (L-2-O-metil-chiro-inositol), um alcaloide  $\beta$ -carbonílico (ácido 3-harmano carboxílico) e à comprovação de atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico da casca do caule dessa espécie (PEREIRA *et al.*, 2006). Outro trabalho do mesmo grupo de pesquisa relata o isolamento de um alcaloide indólico inédito a partir da mesma droga vegetal, denominado braznitidumina (PEREIRA *et al.*, 2006a). Tais estudos credenciam *A. nitidum* como promissora fonte de moléculas bioativas.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1 Apocynaceae

Diante dessa vasta flora com inúmeras propriedades capaz de combater os males que acometem a humanidade destaca-se Apocynaceae, a qual é caracterizada por produzir alcaloides tóxicos e ou medicinais (BARBOSA *et al.*, 2002) encontrada com frequência nos trópicos e subtropicais (FUMAGALI *et al.*, 2008). As espécies desta família são consideradas dicotiledôneas bem evoluídas e apresentam látex. Na flora brasileira são catalogadas como Apocynaceae mais de 400 espécies em 41 gêneros, sendo 32 destes encontrados apenas na Amazônia (PEREIRA *et al.*, 2006).

A partir de espécies de Apocynaceae foram isoladas substâncias como glicosídeos cardiotônicos; ácidos ursólico e oleonólico com diversas atividades farmacológicas, glicosídeos cianogênicos; leucoantocianidinas; saponinas; taninos; cumarinas; ácidos fenólicos; triterpenos e esteroides (CARVALHO *et al.*, 2007). Também, nestas espécies são biossintetizados alcaloides indólicos com inúmeras atividades farmacológicas como aspidoaspermina (diurético, hipotensor e estimulante respiratório), olivacina (anticancerígeno), ioimbina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico) (FUMAGALI *et al.*, 2008).

Espécies de Apocynaceae merecem destaque, como *Tabernaemontana salzmannii* rica em alcaloides indólicos monoterpênicos, os quais são marcadores químicos do gênero, e apresentam atividade antitumoral, antimicrobiana, anti-hipertensiva, estimulante do sistema nervoso (FIGUEIREDO *et al.*, 2010).

*Himatanthus sucuuba* e *Plumeria rubra* são usadas na medicina popular brasileira. Infusões e decocções feitas com a casca de *Plumeria rubra* são usadas como purgativo, antibacteriano, antitumoral e no tratamento de doenças venéreas. O látex de *H. sucuuba* é utilizado como fungicida, antianêmico, anti-inflamatório e no tratamento de câncer (BARRETO *et al.*, 2006).

As folhas de *Catharanthus roseus* eram usadas na Jamaica para fazer chá terapêutico para tratar o diabetes. A busca pelo princípio responsável por esta ação em *C. roseus* levou à descoberta de duas substâncias com ação citostática. Esta descoberta conduziu ao desenvolvimento de dois medicamentos anticancerígenos com ampla utilização ainda atualmente - a vinblastina e a vincristina. Estas substâncias são

alcaloides indólicos monoterpênicos diméricos, produzidos em quantidades muito pequenas nas folhas de *C. roseu* (MARINHO, 2001).

Para *Peschiera australis* relata-se que estudos químicos demonstraram a presença de voacangina e voacamina nos ramos. Estudos com espécies deste gênero evidenciaram atividade antitumoral e citotóxica para extratos brutos (RATES *et al.*, 1988).

## 2.2 *Aspidosperma*

A presença de alcaloides indólicos em *Aspidosperma*, principalmente os monoterpênicos conferem um amplo espectro de atividade biológica às espécies deste gênero, tais como antitumoral, antiespasmódica, antimicrobiana e antibacteriana consistentes muitas das vezes com suas utilizações populares. Dentre as suas atividades, a mais representativa é o seu potencial citotóxico frente à linhagem de células tumorais, como exemplo, a elipticina, um alcaloide indólico, o qual chegou a ser utilizado em ensaios clínicos no tratamento para o câncer (HENRIQUE *et al.*, 2009).

Este gênero é conhecido por sua ação hipoglicemiante (LINO & GARROTE, 2005) e hipolipemiante. *A. subincanum* foi ativa em modelo de hiperlipidemia induzida por Triton WR 1339 em camundongos, reduzindo o nível de triglicérides sérico em 41% quando comparado aos animais normais. Esta espécie foi indicada para problemas associados ao aparelho digestivo, para o tratamento de diabetes e de hipercolesterolemia (DA SILVA *et al.*, 2010).

Estudos mostraram que o extrato alcaloídico de *A. ramiflorum* apresentou eficácia no tratamento de leishmaniose. Demonstrou-se também atividade antimalárica em extratos polares das cascas de *A. megalocarpon* (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Ensaios biológicos com alcaloides monoterpênicos isolados da casca de *A. quebracho-blanco* indicaram atividade bloqueadora  $\alpha$ -adrenérgica e ação inibitória de músculo liso de tecidos de animais além de ação hipotensora e analgésica, e alcaloides das cascas das raízes e das folhas de *A. pyriformum* apresentaram efeito hipotensor (PEREIRA *et al.*, 2006).

*A. nitidum* popularmente conhecida como “carapanaúba”, possui vasto uso popular na região Amazônica, como anticonceptiva, no tratamento de inflamações no útero e ovário, em diabetes, para problemas estomacais, contra câncer, febre e reumatismo. De extratos etanólicos da casca do caule desta espécie já foram isolados

esteroides, triterpenos e alcaloides (PEREIRA *et al.*, 2006). Ensaios biológicos como edema de pata induzido e ação antinociceptiva foram realizados revelando que o efeito antinociceptivo foi detectado em segunda fase, indicando que não houve atuação do sistema opiodérgico e quanto ao edema de pata observou-se uma redução do edema em relação ao controle do teste (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Dessa forma, fica evidente que estudos científicos de plantas brasileiras podem vir a alavancar a indústria de medicamentos no país, tendo consequências socioeconômicas significativas pela diminuição de gastos com importação e a disponibilização de medicamentos mais baratos à população, além de aumentar a autonomia nacional para a criação e o gerenciamento de políticas de saúde (DOS SANTOS, 2001).

### **2.3 Metabólitos secundários**

Sabe-se que o principal fator responsável pelo potencial terapêutico dos organismos vegetais e animais é a presença de substâncias denominadas metabólitos secundários, os quais possuem um papel fundamental na adaptação do organismo ao seu ambiente. Estes aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas com este fim, por exemplo, podendo atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas de patógenos, e também apresentando atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas, fitoalexinas (FUMAGALI *et al.*, 2008).

Variações temporais e espaciais podem alterar o conteúdo de metabólitos secundários, bem como as proporções relativas destes nas plantas. Apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (PELLISSARI, 2008).

De acordo com estudos fitoquímicos, as principais classes de metabólitos secundários encontradas na casca do caule de *A. nitidum* são: alcaloides, taninos condensados, glicosídeos cardiotônicos e cumarinas, sendo estes relatados na literatura com várias aplicações terapêuticas (Ãnez, 2009).

Os glicosídeos cardioativos são substâncias que contêm um ou mais resíduos de sacarídeo, apresentam gosto amargo e são extremamente tóxicos. Na medicina é usado para o tratamento de insuficiência cardíaca, no entanto, altas concentrações podem levar a efeitos drásticos na musculatura cardíaca devido a sua influência nas ATPases

ativadas por  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Extratos de plantas contendo estas substâncias são usados no envenenamento de flechas por indígenas (PEDRINHO *et al.*, 2007).

Os alcaloides podem ser definidos como substâncias farmacologicamente ativas, contendo pelo menos um átomo de nitrogênio, sendo derivados de aminoácidos (FUMAGALI *et al.*, 2008). Os alcaloides indólicos monoterpênicos estão restritos a quatro famílias: Loganiaceae, Rubiaceae, Apocynaceae e Nyssaceae. Estes possuem um núcleo indólico derivado do triptofano e uma unidade C-9 ou C-10 derivada da secologanina (MARINHO, 2001). Esta classe de substâncias é importante por sua acentuada ação sobre o sistema nervoso central, sendo muitos deles utilizados como venenos ou alucinógenos (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo geral**

Empregar técnicas de fracionamento cromatográfico para a obtenção de frações enriquecidas de fitoconstituintes e ou isolamento de substâncias, a partir do extrato etanólico do caule da espécie *Aspidosperma nitidum* Benth., avaliando o potencial anti-inflamatório das mesmas.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Fracionar o extrato etanólico das cascas do caule de *A. nitidum*;
- Obter frações enriquecidas de alcaloides;
- Isolar e identificar substâncias presente no extrato etanólico das cascas do caule de *A. nitidum*;

### **4. Metodologia**

#### **4.1 Coleta e identificação do material vegetal**

Amostras da casca do caule da espécie *Aspidosperma nitidum* foram coletadas na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas, Km 38, BR-174, Manaus, Amazonas. Exsiccatas da espécie foram encaminhadas ao herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) para identificação.

#### **4.2 Preparo da droga vegetal**

Após a coleta, a casca do caule foi seca em estufa de ar circulante a 45 °C. Em seguida, o material foi pulverizado em moinho de facas, dando origem ao pó empregado na obtenção do extrato bruto.

#### **4.3 Obtenção do extrato bruto**

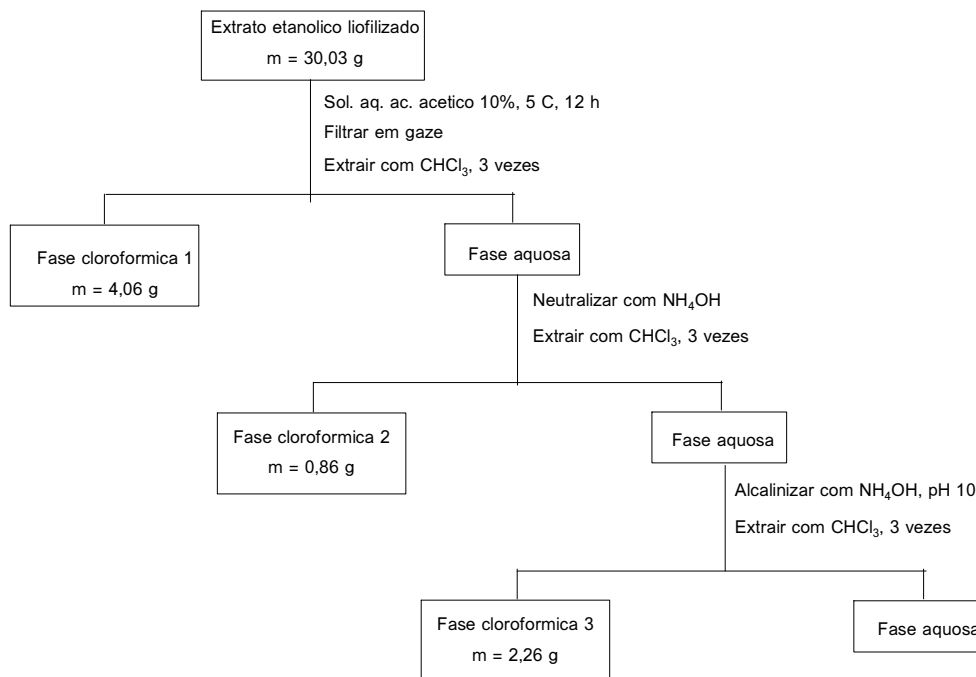
Foi obtido um extrato etanólico a partir da matéria-prima vegetal seca e pulverizada por três ciclos de maceração à temperatura ambiente, durante 72 horas. O extrato assim obtido foi concentrado em rotaevaporador e liofilizado.

#### **4.4 Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC)**

Foram utilizadas cromatoplasmas de alumínio revestidas com sílica gel 60 F<sub>254</sub>, 0,2 mm de espessura (Macherey-Nagel) para análise do extrato bruto e das frações oriundas do seu fracionamento. As placas foram eluídas com diferentes sistemas de solventes e reveladas com reveladores específicos, para a verificação do grau de pureza e escolha dos sistemas eluentes para as colunas cromatográficas.

#### **4.5 Partição do extrato etanólico**

Cerca de 30,032 g do extrato liofilizado foram solubilizados em ácido acético a 10%, sendo acondicionado a 5 °C por 12 h. Em seguida, a solução foi filtrada em gaze e algodão e extraída três vezes sucessivamente com 150 mL de clorofórmio. O pH da fase aquosa obtida foi elevado a 7 com hidróxido de amônio e extraído novamente três vezes com 150 mL de clorofórmio. Por fim, a fase aquosa foi alcalinizada (pH 10), sendo utilizado também o hidróxido de amônio como agente alcalinizante e novamente extraída com CHCl<sub>3</sub> (Fluxograma 1).



**Fluxograma 1:** Partição do extrato etanólico da casca do caule de *Aspidosperma nitidum*.

#### 4.6 Fracionamento em coluna cromatográfica aberta

As fases da partição foram fracionadas em coluna aberta, utilizando sílica impregnada com acetato de sódio (AcONa) como fase estacionária. As frações obtidas também foram submetidas à CCDC, e aquelas consideradas semelhantes foram reunidas e recromatografadas.

O processo de impregnação compreendeu na dissolução de 100 g de AcONa em 40 mL de água e mais 40 mL de MeOH, os quais foram adicionados a 100 g de sílica gel. Em seguida, 140 mL de MeOH foram adicionados à sílica gel para a mesma ficasse totalmente submersa. O sistema foi homogeneizado com bastão de vidro. Após este processo a sílica foi levada à estufa para evaporação do solvente.

Cerca de 3 g da fase cloroformica 1 foram solubilizados em 5 mL da fase móvel inicial  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  (95:05) dando início ao processo de fracionamento. A partir desta fase móvel inicial, a polaridade foi sendo aumentada de forma gradativa até MeOH 100% (Tabela 1). Foram obtidas 395 frações com este processo (figura 4). Posteriormente estas foram analisadas em CCDC para a reunião de frações semelhantes, visualizadas sob luz ultravioleta 365 nm e reveladas com reagente de Dragendorff, anisaldeído e cloreto de ferro(III).

**Tabela 1:** Eluentes utilizadas na coluna cromatográfica realizada coma fase clorofórmica 1.

Fase móvel	Volume utilizado
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 95:05	900 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 93:07	600 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 9:1	400 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 87:13	400 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 85:15	400 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 82:18	100 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 8:2	600 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 77:23	300 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 75:25	300 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 7:3	200 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 65:35	200 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 6:4	300 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 55:45	300 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 1: 1	200 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 4:6	200 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 3:7	300 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 2:8	100 mL
CHCl <sub>3</sub> : MeOH 1:9	100 mL
MeOH 100%	300 mL

**Tabela 2:** Dados referentes à coluna cromatográfica realizada com a fase clorofórmica 1 da partição.

Diâmetro da coluna	3,5 cm
altura	25 cm
Comprimento da coluna	56 cm
Volume morto	176 mL
Volume de eluente utilizado	300 mL

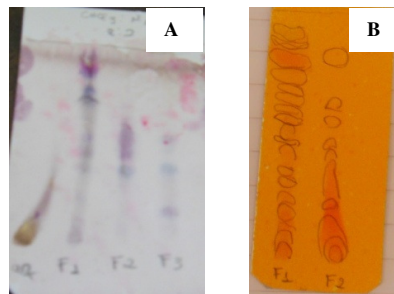
## 5. Resultados e discussão

Após o fracionamento líquido-líquido, as fases obtidas [clorofórmica ácida (1); clorofórmica neutra (2); clorofórmica alcalina (3)] foram concentradas em rotaevaporador e pesadas. O rendimento das fases foi: clorofórmica ácida 4,06 g; clorofórmica neutra 0,86 g; clorofórmica alcalina 2,26 g. É importante mencionar que o rendimento não foi compatível a quantidade inicial utilizada, devido a não solubilização do material quando extraído com clorofórmio.

Em seguida, foram analisadas por cromatografia em camada delgada comparativa sendo utilizados diferentes sistemas eluentes e reveladas com reagente de Dragendorff e anisaldeído sulfúrico (Figura 2).



**Figura 1:** Fases clorofórmica 1, 2 e 3, respectivamente.

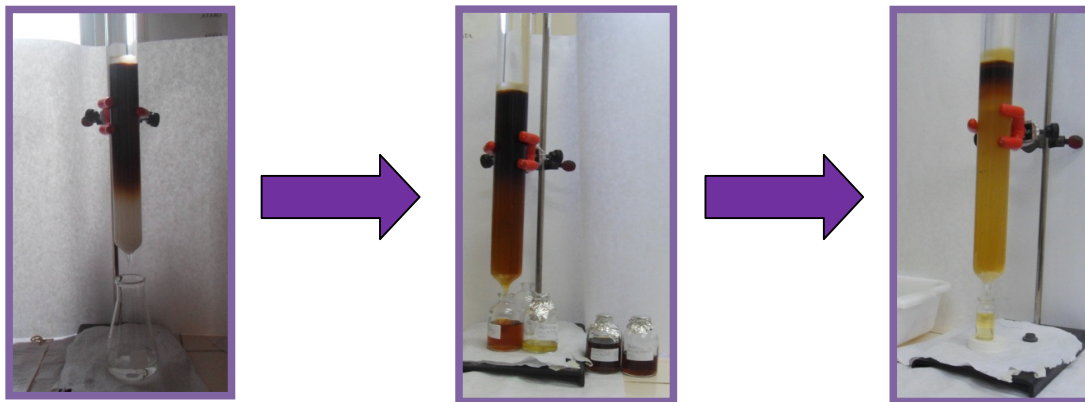


**Figura 2:** Cromatoplas das fases da partição

**A:**  $\text{CHCl}_3$ : MeOH (8:2).  
Revelador: anisaldeído

**B:**  $\text{CHCl}_3$ : MeOH (9:1).  
Revelador: Reagente de Dragendorff

A fase que obteve um melhor rendimento foi a fase clorofórmica 1 (4,06 g). Logo, esta foi fracionada em coluna cromatográfica (figura 3) utilizando como fase estacionária, sílica gel 60 impregnada com acetato de sódio anidro.



**Figura 3:** Fracionamento da fase clorofórmica 1 em coluna cromatográfica utilizando sílica gel impregnada com acetato de sódio.



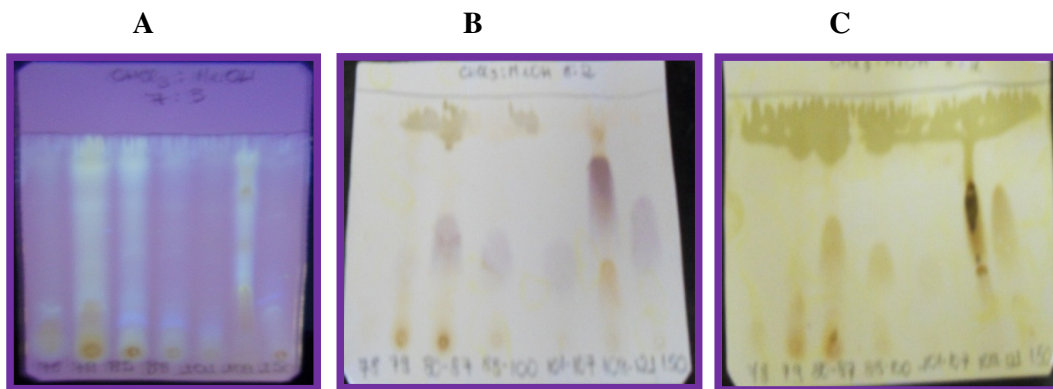
**Figura 4:** Frações provenientes da coluna cromatográfica.

De acordo com a análise em CCDC das frações geradas a partir deste fracionamento cromatográfico, pudemos observar que as frações iniciais apresentam substâncias nitrogenadas, quando reveladas com reagente de Dragendorff, levando à possibilidade de serem frações ricas em alcaloides, como demonstrado na figura 5.



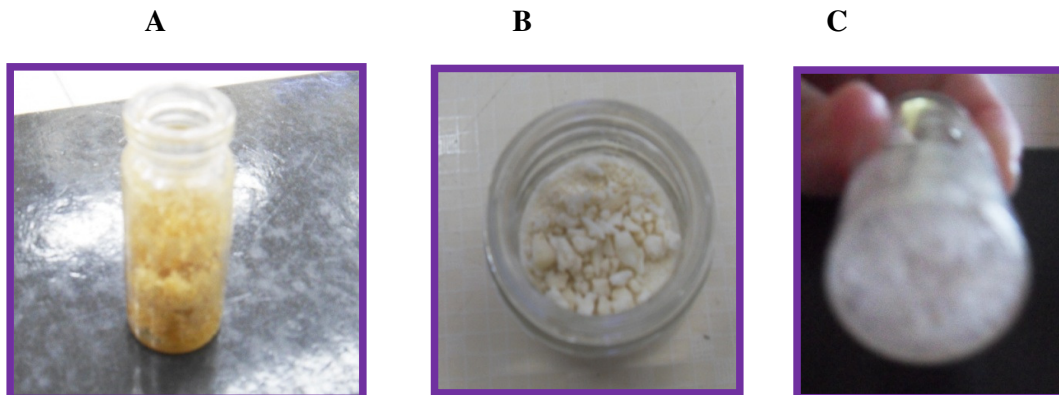
**Figura 5:** Frações obtidas a partir do fracionamento da fase clorofórmica 1. **FM:**  $\text{CHCl}_3$ :MeOH; **FE:** sílica gel 60; **Frações:** 0; 1; 2-4; 5-10; 11-14; 15-24; 25-35; 36-62. **Reveladores:** **A** - luz UV 365 nm; **B** - reagente de Dragendorff.

As demais frações analisadas por CCDC não indicaram a presença de substâncias nitrogenadas. Logo estas frações foram reveladas com anisaldeído e cloreto de ferro(III) indicando a presença de vários metabólitos devido às diversas manchas presentes nas placas (Figura 6). É importante mencionar também que a maioria das frações não apresentou rendimento significativo, não sendo possível prosseguir com seu fracionamento.



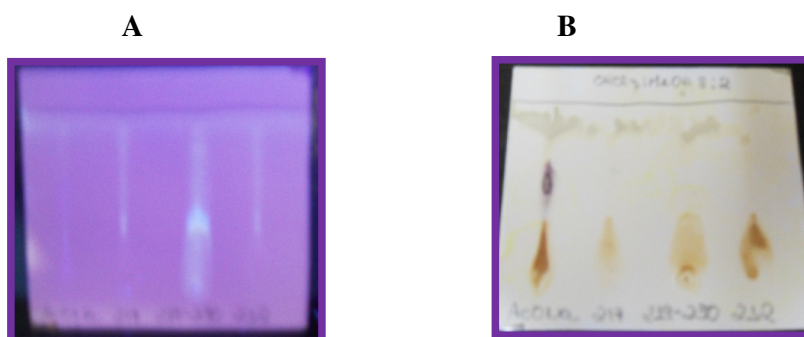
**Figura 6:** Frações obtidas a partir do fracionamento da fase clorofórmica 1. **FM:**  $\text{CHCl}_3$ :MeOH; **FE:** sílica gel 60; **Frações:** 78, 79, 80-87, 89-100, 101-107, 109-121 e 150. **Reveladores:** **A** - luz UV 365 nm; **B** - anisaldeído sulfúrico; **C** - sulfato de cério(IV).

A reunião das frações 219-230 levou à formação de cristais amarelo claro com massa de 6 g (figura 7A). Já a fração 217 após ser liofilizada apresentou-se na forma de um pó branco com massa igual a 3 g (figura 7B). Já a fração 212 apresentou cristais transparentes (figura 7C). As respectivas massas dessas frações são superiores à massa inicial da amostra utilizada para realizar a coluna cromatográfica. Possivelmente isso é explicado pela provável presença de acetato de sódio que foi utilizado juntamente com a sílica na fase estacionária.



**Figura 7:** **A** – Fração 219-230; **B** – Fração 217 liofilizada; **C** – Fração 212.

Quando analisadas por CCDC e comparadas ao acetato de sódio podemos observar que apresentam em sua constituição o mesmo. Quando reveladas com cloreto de ferro 3, apresentam substâncias fenólicas (figura 8). Na tabela 3 estão listados os solventes no qual os mesmos são solúveis e os testes os quais as amostras foram respectivamente submetidas.



**Figura 8:** Análise por CCDC, para comparação do acetato de sódio e as frações 217; 219-230; e 212, respectivamente. **A:** Luz UV 365 nm; **B:** Cloreto de ferro(III).

**Tabela 3:** Relação de testes realizados respectivamente com cada amostra e seu perfil de solubilização.

Amostra	Solubilidade	Análises
Fração 212	metanol	-----
Fração 217	metanol, água e diclorometano	HPLC, RMN e UV
Fração 219-230	Metanol e água	RAIOS-X, RMN e UV

## 6. Conclusões

A partição do extrato e posterior fracionamento em coluna cromatográfica apresentou um baixo rendimento. Contudo, as frações iniciais da coluna mostraram-se ricas em substâncias nitrogenadas quando reveladas com reagente de Dragendorff. Foram obtidos sólidos a partir das frações 212, 217 e 219-230, os quais estão em fase de análise a fim de se elucidar suas estruturas químicas.

## 7. Referências Bibliográficas

- ÃNEZ, R. B. S. Análise morfoanatômica das folhas e cascas de *Aspidosperma nitidum* BENTH. e *Aspidosperma marcgravianum* WOODSON (Apocynaceae). Com abordagem farmacognóstica e etnofarmacológica. Programa de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais, 2009.
- BARBOSA, L.F.; VIEIRA, I.J.C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; UCHOA, D. Estudo fitoquímico de *Aspidosperma illustre* (Apocynaceae). In: 25a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002, Livro de Resumos (Disponível em: <http://sec.s bq.org.br/cd29ra/resumos/T0942-1.pdf>. Acesso: 25/01/2011).
- BARRETO, A. S.; AMARAL, A. C. F.; SILVA, J. R. A.; SCHRIPISEMA, J.; REZENDE, C. M.; PINTTO, A. C. Ácido 15-desmetilisoplumierídeo, um novo iridoide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himathantus sucuba*. Química Nova, v.30, n.5, p. 1133-1135, 2006.
- CARVALHO, M. G.; CARDOZO, M. A. R. ; SILVA, V. C. ; WERLW, A. A. ; Triterpenos e flavonóides isolados de flores de *Laseguea erecta* (Apocynaceae). Revista Colombiana de Ciência Química Farmacognóstica, v.36, n.2, p. 127-133, 2007.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (coord.) Introdução a métodos cromatográficos. Campinas: Editora UNICAMP, 279p, 1987.
- DA SILVA, M. A. B.; MELO, L. V. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SILVA, R. M. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n.4, p. 549-562, 2010.
- DOS SANTOS, M. H. Estudo químico de *Vismia latifolia* e dos frutos de *Rheedia gardneriana*, atividades biológicas dos constituintes químicos isolados e transformações químicas em 7-epiclusianona. 2001. 301f. Tese (Doutorado em Ciências - Química) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- FIGUEIREDO, E. R.; VIEIRA, I. J. C.; SOUZA, J. J. ; BRAZ-FILHO, R.; MATHIAS, L.; KANASHIRO, M. M.; CORTÊS, F. H. Isolamento, identificação e avaliação da atividade antileucêmica dealcalóides indólicos monoterpênicos de *Tabernaemontana salzmännii* A. DC., Apocynaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.20, n.1, p.75-81, 2010.
- FUMAGALI, E. ; GONÇALVES, R. A. C. ; MACHADO, M. F. P.S. ; VIDOTI, G. J. ; OLIVEIRA, J. A. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.18, n.4, p. 627-641, 2008.

- HEINRICH, M. Ethnobotany and natural products: the search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v. 3, 29-42, 2003.
- HENRIQUE, M. C.; NONUMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Alcalóides indólicos de casca de *Aspidosperma vargasii* e *A. desmanthum*. *Química Nova*, v.33, n.2, p.284-287, 2009.
- LINO, R. C. & GARROTE, C. F. D. Isolamento dos alcalóides indólicos presentes na casca do caule de *Aspidosperma subincanum* Mart., para a obtenção de padrões com finalidade de desenvolvimento de metodologia para doseamento com marcadores de matéria-prima vegetal. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v.2, n.2, p. 107-109, 2005.
- MARINHO, S. R. M.; Função dos alcaloides indólicos monoterpênicos de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Tese de Mestrado em Biologia do Desenvolvimento e Reprodução Vegetal. Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2001.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Products Reports*, v. 17, 215, p. 234, 2000.
- OLIVEIRA, V. B.; FREITAS, M. S. M.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J.C. Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.11, n.1, p.92-99, 2009.
- PEDRINHO, D.; PIVETTA, K.; FAVERO, S.; SOLON, S.; MATIAS, R.; YASUNAKA, D.. Efeito da adubação nitrogenada na biomassa e no teor de glicosídeos cardioativos da ornamental *Nerium oleander* L. **Ensaio e Ciencia**, Campo Grande, v.11, n.1, p. 59-66, 2007.
- PELLISARI, G. Estudo farmacognóstico e avaliação das atividades antibacteriana e imunomoduladora de *Melampodium divaricatum* (RICH. IN PERS.) DC. (ASTERACEAE). **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 2008.
- PEREIRA, M. M. *et al.* Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). *Química nova*, v. 30, n. 4, p. 970-83, 2007.
- PEREIRA, M. M. *et al.* Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2006.
- PEREIRA, M.M.; ALC6ANTARA, A.F.C. PILÓ-VELOSO, D.; RASLAN, D.S. NMR structural analysis of braznitidumine: A new alkaloid with 1,2,9-triazabicyclo[7.2.1] system, isolated from *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.17, n.7, p.1274-1280, 2006a.

RATES, S. M. K.; CAUDURU, A. D.; SALAZAR, Z.; MORENO, P. H. R.; HENRIQUES, A. T.; Alcaloides indólicos em *Peschiera australis* (Muell. Arg.) MIERS. VARS. **Caderno de farmácia**, v. 4, n.1/2, p.51-62, 1988.

SCHMIDT, B. *et al.* A natural history of botanical therapeutics. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 57, suppl. 1, p. S3-S9, 2008.

### Cronograma de Atividades

N°	Descrição	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2	Fracionamento do extrato bruto etanólico das cascas do caule (partição)		■	■									
3	Fracionamento das fases da partição do extrato bruto		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
4	Elaboração do relatório parcial						■						
5	Purificação e isolamento das substâncias presentes nas frações obtidas das colunas cromatográficas			■	■	■	■	■	■	■	■	■	
6	Avaliação da atividade anti-malárica do extrato e frações obtidas em quantidade suficiente				X	X	X	X	X	X	X	X	
7	Identificação das substâncias isoladas						X	X	X	X	X	X	
8	Elaboração do Resumo e Relatório Final Preparação da Apresentação Final para o Congresso											■	■



Atividades já realizadas



Atividades não realizadas