



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

**OBTENÇÃO DE EXTRATO AQUOSO E ESTABELECIMENTO DE
PARÂMETROS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DA ESPÉCIE
VEGETAL *Aspidosperma nitidum* Benth. (Apocynaceae)**

Bolsista: Ana de Souza Lima, CNPq.

MANAUS
2010



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

RELATÓRIO PARCIAL
PIB-S/0089/2010

**OBTENÇÃO DE EXTRATO AQUOSO E ESTABELECIMENTO DE
PARÂMETROS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DA ESPÉCIE
VEGETAL *Aspidosperma nitidum* Benth. (Apocynaceae)**

Bolsista: Ana de Souza Lima
Orientador: Prof. Dr. Pierre Alexandre dos Santos
Coorientador: Prof. Dr. Ádley Antonini Neves de Lima

MANAUS
2010

LISTA DE ABREVIATURAS

CCDC	Cromatografia em Camada Delgada Comparativa
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisas Científicas e Tecnológicas
DA	Densidade Absoluta
DR	Densidade Relativa
E-H ₂ O-I	Extrato Aquoso por Infusão
E-H ₂ O-D	Extrato Aquoso por Decocção
E-H ₂ O-M	Extrato Aquoso por Maceração
FAPEAM	Fundação de Amparo a Pesquisa do Amazonas
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
MPV	Matéria Prima Vegetal
PF	Ponto de Fusão
SE	Solução Extrativa
UFAM	Universidade Federal do Amazonas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	05
2 OBJETIVOS	09
2.1 Objetivo Geral.....	09
2.2 Objetivos Específicos.....	09
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3.1 Características da família Apocynaceae.....	10
3.2 Espécie <i>Aspidosperma nitidum</i>	10
3.3 Acaloides.....	11
3.3.1 Informações gerais	<u>12</u>
4 METODOLOGIA	13
4.1 Coleta e identificação da espécie vegetal	13
4.2 Preparação da droga vegetal	13
4.3 Obtenção do extrato bruto.....	13
4.3.1 Extrato bruto obtido por Infusão (E-H ₂ O-I).....	14
4.3.2 Extrato bruto obtido por Maceração (E-H ₂ O-M).....	15
4.3.3 Extrato bruto obtido por Decocção (E-H ₂ O-D).....	15
4.4 Caracterização da Matéria Prima Vegetal (MPV)	16
4.5 Obtenção e padronização da Solução Extrativa(SE)	16
4.6 Determinação do pH do extrato.....	16
5 RESULTADOS DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO.....	22
7 CRONOGRAMA	23
<u>8</u> REFERÊNCIAS	24

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas vêm sendo amplamente utilizadas como uma terapia para curar, tratar, prevenir e promover o alívio de doenças. Pela própria necessidade humana, elas têm sido consideradas uma fonte muito importante de medicamentos, principalmente por que muitas espécies apresentam propriedades medicinais importantes (CORRÊA et al., 2003).

A maior diversidade vegetal do mundo está contida no Brasil, a região Amazônica com sua grande riqueza biológica formada pelos ambientes naturais, a floresta amazônica oferece grande riqueza cultural proveniente do conhecimento das populações locais da região. Essa biodiversidade desempenha um papel fundamental no contexto econômico, social-cultural das populações tradicionais amazônicas, muitas vezes constituindo-se a única fonte de recursos para a sua sobrevivência (LISBOA et al., 2002).

É conhecido o potencial das plantas medicinais como fonte natural de fármacos. Diversos estudos desenvolvidos nessa área têm provado que as informações populares são forte indício de reais possibilidades de atividades biológicas, uma vez que várias dessas informações já foram confirmadas (CECHINEL FILHO, 1998; CECHINEL-FILHO; YUNES, 1998; KINGHORN, 2001). Muitas vezes o uso popular de uma dada espécie informa determinada atividade e, quando estudada (*screening* biológico), descobre-se e até mesmo outra(s) não narrada(s) pela população.

Progressos significativos em estudos com plantas vêm ocorrendo nas últimas décadas devido ao desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, cromatográficas e da biotecnologia. Tal fato tem permitido o isolamento e identificação de um grande número de compostos já conhecidos, bem como novas substâncias (VERPOORTE, 1998; VEIGA-JUNIOR et al., 2005). O Brasil com cerca de 10% de toda a flora mundial, proporcionou à humanidade produtos com propriedades extraordinárias como curares, a meetina, a pilocarpina e outros, e assim continua sendo um país com muitas potencialidades neste

campo, pois menos de 1% das espécies vegetais brasileiras foram analisadas sob o ponto de vista químico e farmacológico (FERREIRA et al., 2004), bem como o seu controle de qualidade.

A busca de substâncias extraídas da flora e da fauna (bioprodutos) que possam ser utilizados como matéria-prima no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de doenças é uma recomendação da Organização Mundial da Saúde. A abordagem racional baseada na seleção de plantas usadas na medicina popular tem se mostrado promissora e é muito importante (KRETTLI et al., 2001).

Pesquisas com plantas medicinais podem originar medicamentos em menor tempo, com custo em geral mais baixo em relação aos medicamentos usuais e, conseqüentemente, mais acessíveis à população. Um país como o Brasil, que é um dos maiores consumidores de medicamentos do mundo, e que importa cerca de 84% dos fármacos que consome, se não investir em pesquisas com produtos naturais, significa desperdiçar o grande potencial terapêutico que possui da flora e atrasar o desenvolvimento da indústria de medicamentos do país (MONTANARI; BOLZANI, 2001; VARANDA, 2006).

Muitas plantas brasileiras pertencentes às mais variadas famílias têm sido empregadas popularmente no tratamento de diversas doenças como, por exemplo, as plantas da família Apocynaceae que tem como característica química a presença constante de estruturas alcaloídicas. No caso de espécies de *Aspidosperma* há predominantemente a ocorrência de alcaloides indólicos de considerável diversidade estrutural (PEREIRA et al., 2007). Muitos alcaloides indólicos agem provavelmente nos sistemas neurotransmissores opiáceos, GABAérgicos, colinérgicos, muscarínicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos. (RIVAS et al., 1999). E assim, muito empregados como hipotensor arterial, simpatolítico, diurético, anestésico, vasoconstritor periférico, estimulante respiratório, agente bloqueador adrenérgico, espasmogênico intestinal, sedativo e relaxante muscular esquelético. (GARRETT et al., 1995).

Vários trabalhos relatam o isolamento de alcaloides de espécies do gênero *Aspidosperma*, especialmente do tipo indólico, aos quais são atribuídas propriedades hipotensoras, diuréticas, vasoconstritoras, anestésicas, sedativas e alucinógenas (AÑEZ, 2009; PEREIRA et al., 2007). A espécie *Aspidosperma nitidum*, é de ampla ocorrência na Região Amazônica, onde é conhecida popularmente como carapanaúba, sendo muito utilizada como anti-inflamatório. De extratos etanólicos da casca do caule desta espécie já foram isolados esteróides, triterpenos (PEREIRA et al., 2006a), e os alcaloides 10-metoxidiidrocorinateol (ARNDT et al., 1967), ácido 3-harmanocarboxílico e braznitidumina (PEREIRA et al., 2006a,b).

A definição de critérios de qualidade para insumos farmacêuticos de origem vegetal é de suma importância para garantir a manutenção da eficácia do produto final, especialmente devido à complexidade de composição destas matérias-primas e às variações ligadas às condições de cultivo e coleta do vegetal, assim como de tratamentos empregados para promover sua estabilidade (BARNI et al., 2009).

O estudo de matérias-primas vegetais visando o desenvolvimento de medicamentos tem sido tema cada vez mais recorrente no meio científico, pois, é notadamente conhecido e valorizado o potencial das plantas como fonte de um grande número de novos fármacos (GUERRA, NODARI, 2007; SCHIMIDT et al., 2008).

Mais de 90 % das classes terapêuticas conhecidas atualmente são derivadas de protótipos naturais (MCCHESNEY et al., 2007). Neste contexto, os alcaloides têm se destacado das demais classes de metabólitos secundários, dadas suas características estruturais, que favorecem a interação com receptores biológicos, provendo-lhes uma ampla gama de efeitos terapêuticos (HENRIQUES et al., 2007; PHILLIPSON, 2007). Na produção de fitoterápicos são empregados extratos brutos ou partes rasuradas de plantas. Assim, torna-

se necessário o estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal e dos extratos a serem utilizados na produção de tais fitoterápicos.

No entanto, não há relatos de estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal da espécie *A. nitidum* que é considerada como potencialmente ativa contra formas de malária, assume assim, ser relevante estabelecer parâmetros para a avaliação da qualidade de matéria-prima vegetal, utilizando como objeto de estudo o extrato aquoso obtido a partir das cascas do caule desta espécie vegetal, a fim obtermos resultados que venham de encontro com a utilização empregada pela população.

Deste modo, como, ainda, não há relatos na literatura de trabalhos que visem o estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal. Este trabalho propôs o estabelecimento de tais parâmetros visando contribuir com estudos futuros na busca de produtos a serem utilizados no tratamento da malária.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estabelecer parâmetros para a avaliação da qualidade de matéria-prima vegetal do extrato aquoso obtido a partir das cascas do caule de *Aspidosperma nitidum* Benth.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar a caracterização físico-química da matéria-prima vegetal de *A. nitidum*;
- ✓ Estudos preliminares para padronização e caracterização do extrato aquoso;
- ✓ Verificar a influência de alguns fatores tecnológicos no processo de extração;
- ✓ Obter, padronizar e caracterizar o extrato aquoso das cascas de *A. nitidum*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Características da família Apocynaceae

A Família Apocynaceae contém entre 3700 a 5100 espécies em 250 a 550 gêneros tropicais e subtropicais (NICHOLAS, 1994; ROCHA, 1982). No Brasil ocorrem cerca de 370 espécies subordinadas a 41 gêneros, sendo 32 destes encontrados na Amazônia (PEREIRA et al., 2007). Na família Apocynaceae, as espécies do gênero *Aspidosperma* são encontradas apenas na América, principalmente entre o México e a Argentina (CORRÊA, 1926).

Nesta região, em particular, infusões da casca do caule de espécies do gênero *Aspidosperma* são largamente empregadas com fins medicinais contra doenças tropicais, como malária, leishmaniose, inflamações do útero e ovário, reumatismo e até câncer. Esta família tem como característica química a presença constante de estruturas alcaloídicas. No caso de espécies de *Aspidosperma* há predominantemente a ocorrência de alcaloides indólicos de considerável diversidade estrutural (PEREIRA et al., 2007).

3.2 Estudos científicos com o gênero *Aspidosperma*

A característica marcante desse gênero é a presença de alcaloides indólicos, principalmente os monoterpênicos (BOLZANI, 1987), que conferem um amplo espectro de atividades biológicas reconhecidas às espécies desse gênero, tais como antitumoral (SAKAMOTO-HOJO et al., 1988), antiplasmódica (MITAINE et al., 1988; ANDRADE NETO et al., 2007), antimicrobiana (VERAPORTE et al., 1983), e antibacterianas (VERAPORTE et al., 1982) consistentes, em muitos casos, com suas utilizações populares (HENRIQUE et al., 2010).

Na medicina popular da região Amazônica as cascas de espécies do gênero *Aspidosperma* são comumente rasuradas e usadas na forma de infusões, possuindo baixa toxicidade e ausência de contraindicações estas infusões têm contribuído grandemente para a

difusão de seu uso medicinal (FERREIRA et al., 2004), bem como a qualidade de sua madeira de alto valor econômico (RIBEIRO et al., 1999; ALBUQUERQUE, 1971). Dentre as atividades biológicas já estudadas, a mais representativa é a citotóxica, que tem sido demonstrada frente a diferentes linhagens de células tumorais (HENRIQUE et al., 2010).

Foi realizado o estudo fitoquímico e a avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato etanólico do cerne de *A. nitidum* Benth ex Müll. Arg. Esse estudo resultou no isolamento de uma mistura de esteroides (β -sitosterol e estigmasterol), triterpenos pentacíclicos (β -amirina e lupeol), L-2-O-metil-chiro-inositol e um alcaloide β -carbolínico, (PEREIRA et al., 2006) o ácido 3- harmanocarboxílico e braznitidumina (PEREIRA et al., 2006a,b). De extratos etanólicos da casca do caule desta espécie já foram isolados esteroides, triterpenos (PEREIRA et al., 2006a), e o alcaloide 10-metoxidiidrocorinateol (ARNDT et al., 1967).

A atividade anti-inflamatória do extrato etanólico da casca do caule de *A. nitidum* foi anteriormente comprovada pelo método de edema de pata induzido por carragenana (PEREIRA et al., 2006a). A atividade antimalárica atribuída a essa espécie foi comprovada por testes *in vitro* e *in vivo* (CARVALHO et al., 1991), sendo considerada potencialmente ativa contra formas de malária.

3.2 Espécie *Aspidosperma nitidum* Benth.

O mal que mais atinge as comunidades amazônicas é a malária. Uma das espécies utilizadas para o alívio dos sintomas e para "fortificar o sangue", é *Aspidosperma nitidum* Benth. (SCUDELLER et al., 2009), a qual, sendo popularmente conhecida como "carapanaúba" possui um vasto uso na medicina popular da Região Amazônica, como contraceptiva, no tratamento de inflamações de útero e de ovário, em diabetes, em problemas estomacais, contra câncer, febre e reumatismo (PEREIRA et al.; 2007; WENIGER et al.,

2001). A atividade antimalárica atribuída a essa espécie foi comprovada por testes *in vitro* e *in vivo* (CARVALHO et al., 1991), considerada como potencialmente ativa contra formas de malária.

A investigação fitoquímica do extrato etanólico da casca do caule de *A. nitidum* relata o isolamento de dois alcaloides indólicos ácido 3-metil-harmano carboxílico e diidrocorinanteol, corroborando com as informações da literatura a respeito da predominância desta classe de metabólitos secundários em espécies do gênero (NASCIMENTO & SILVEIRA, 2008).

3.3 Alcaloides

3.3.1 Informações gerais

Dados encontrados na literatura relatam que até 1956 eram conhecidos apenas quatro alcalóides indólicos isolados de espécies de *Aspidosperma* (JÁCOME, 1998; PEREIRA et al.; 2007). Um trabalho recentemente publicado, relata que atualmente esse número ultrapassa a 100 alcalóides já isolados deste gênero (PEREIRA et al.; 2007), classificados segundo os critérios de Manske (1965).

Alguns trabalhos realizados com algumas espécies do gênero *Aspidosperma* apresentam isolamento de alcalóides que contribui com dados espectrais atuais para a caracterização dos alcalóides como a elipticina um dos alcaloides indólicos mais estudados, que chegou a ser utilizada em ensaios clínicos no tratamento do câncer (SAKAMOTO-HOJO et al., 1988; PETERSON et al., 2005) e *N*-metil-tetraidroelipticina isolados da espécie *Aspidosperma vargasii* (HENRIQUE et al.; 2010) e aspidocarpina, de *A. desmanthum*.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta e identificação da espécie vegetal



Figura 01 – Coleta das cascas do caule de *A. nitidum*

As cascas do caule da espécie *Aspidosperma nitidum* foram coletadas na Fazenda Experimental da Universidade Federal (UFAM), situada no Km 38 da BR-174 no dia 09 de Setembro de 2010 (Figura 01). O material foi coletado de um espécimen previamente identificado, cuja exsicata está depositada no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia sob o código 181832.

4.2 Preparação da Droga Vegetal

As cascas foram secadas em estufa, com circulação interna de ar a 40 °C, por cerca de 3 dias. Após este período, o material foi cortado em pedaços menores, pulverizado em moinho de facas com 0,5 mm de abertura de malha (Figura 02). O pó foi acondicionado em recipientes plásticos fechados, protegidos da incidência luminosa por papel alumínio e à temperatura ambiente.

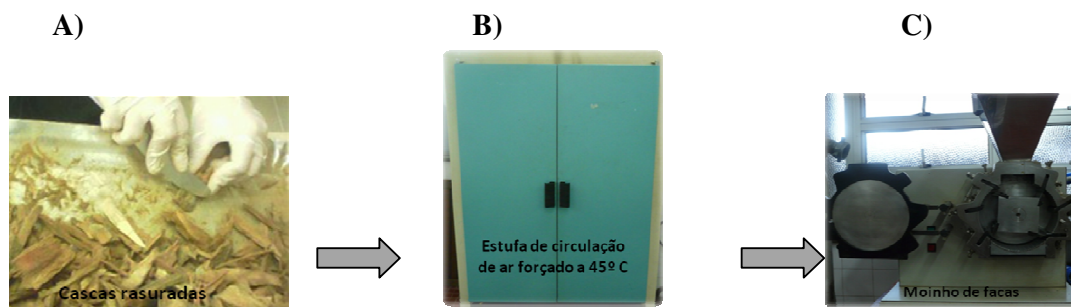


Figura 02 – A) Cascas secas e rasuradas; B) Estufa de circulação de ar forçado; C) Moinho de facas.

4.3 Obtenção do extrato bruto

Conforme está explícito nos objetivos do estudo, a proposta geral deste projeto é estabelecer parâmetros para a avaliação da qualidade de matéria-prima vegetal do extrato aquoso obtido a partir das cascas do caule de *Aspidosperma nitidum*. Deste modo o extrato aquoso foi obtido por três modos de extração: Infusão (E-H₂O-I), Maceração (E-H₂O-M) e Decocção (E-H₂O-D). A figura 03 apresenta o fluxograma do modo de extração:

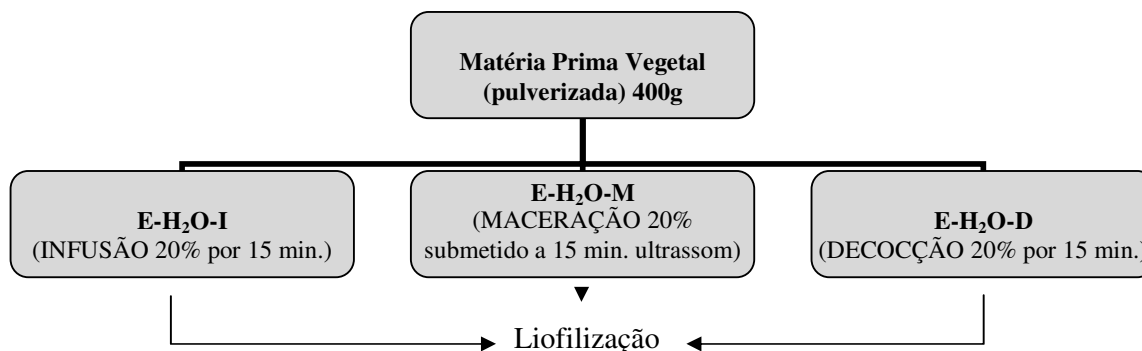


Figura 03 – Fluxograma do processo de obtenção do extrato bruto aquoso de *Aspidosperma nitidum*.

4.3.1 Extrato obtido por Infusão (E-H₂O-I)

O extrato obtido por infusão foi preparado a 20% a partir de 400 g da matéria-prima vegetal seca e pulverizada extraída com 2 L de água destilada fervente por 15 minutos. Em seguida, o material foi resfriado, filtrado, liofilizado (VirTis Benchtop K, Modelo 2 KBTES), pesado e armazenado em recipientes de vidro sob refrigeração à temperatura de 8 ± 2 °C (Figura 04).

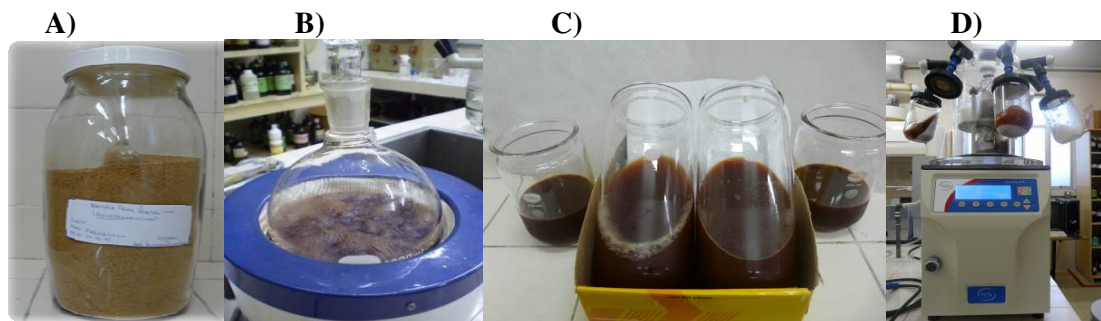


Figura 04 – Obtenção do extrato aquoso a 20 % por infusão. **A)** Matéria - prima pulverizada; **B)** Extração por infusão; **C)** Extrato líquido filtrado; **D)** Extrato sendo liofilizado.

4.3.2 Extrato obtido por Maceração (E-H₂O-M)

O extrato obtido por maceração foi preparado a 20%, a partir de 400 g da matéria-prima vegetal seca e pulverizada extraída com 2 L de água destilada em banho de ultrassom (CRISTÓFOLI/Biossegurança) por 15 minutos. Em seguida, foi filtrado, liofilizado (VirTis Benchtop K, Modelo 2 KBTES) pesado e armazenado em recipientes de vidro mantidos sob refrigeração, a temperatura de 8 ± 2 °C (Figura 05).



Figura 05 – Obtenção do extrato aquoso a 20 % por maceração. (A) Matéria - prima pulverizada; (B) Material sob maceração em frasco de Mariote; (C) Aparelho de ultrassom; (D) Extrato sendo liofilizado.

4.3.3 Extrato obtido por Decocção (E-H₂O-D)

O extrato obtido por maceração foi preparado a 20%, a partir de 400 g da matéria-prima vegetal seca e pulverizada extraída com 2 L de água destilada mantido em aquecimento por 15 minutos. Em seguida, o material foi esfriado, filtrado, liofilizado (VirTis Benchtop K, Modelo 2 KBTES), pesado e armazenado em recipientes de vidro mantidos sob refrigeração, a temperatura de 8 ± 2 °C (Figura 06).

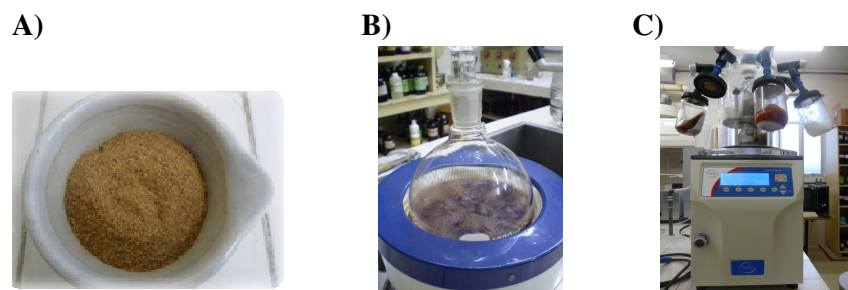


Figura 7 - Obtenção do extrato por Decocção; (A) Matéria-prima pulverizada; (B) Material em aquecimento (decocção); (C) Extrato sendo liofilizado.

4.4. Caracterização da matéria-prima vegetal

Os seguintes ensaios foram utilizados para a caracterização do material vegetal:

✓ Determinação de perda por dessecação: O teor de umidade e substâncias voláteis presentes na MPV foi determinado por método gravimétrico de acordo com método descrito na Farmacopéia Brasileira IV Edição (1998).

✓ Análise granulométrica por tamisação: foi realizada através de tamisação utilizando equipamento com velocidade controlada e tamises com abertura de malhas previamente retenção e passagem será calculado o diâmetro médio de partícula e o histograma de distribuição granulométrica (VOIGT, 1993);

4.5. Obtenção e padronização da solução extrativa

A obtenção da solução extrativa foi otimizada através de um planejamento fatorial a fim de determinar as condições do processo extrativo que permitam a obtenção de um produto com melhores características químicas e tecnológicas. Os fatores avaliados são: Método de extração (decoção, infusão ou maceração), relação droga:solvente, tipo de solvente (água, etanol) e tempo de extração.

As variáveis independentes e os níveis dos fatores selecionados para o estudo serão determinadas através de ensaio piloto. Como variável dependente do estudo será considerada o rendimento da extração em termos de resíduo seco. Os resultados serão avaliados através de ANOVA multivariada (MONTGOMERY, 1991). A análise estatística será realizada com o programa Statistica v.6.0[®].

4.6. Determinação do pH do extrato obtido

O pH do extrato foi medido utilizando-se pHmetro Tecnal, modelo Tec-3mP. As medidas foram realizadas a partir de uma solução obtida dissolvendo-se 3 g de extrato seca em 30 mL de água destilada. As medidas foram realizadas à $T = 26,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, em triplicata.

5 RESULTADOS DISCUSSÃO

A análise de medicamentos é realizada rotineiramente pelos laboratórios da indústria farmacêutica por ser crucial para garantir a qualidade do produto e para maior segurança aos seus usuários. A adulteração e falsificação de medicamentos têm crescido significativamente com o aumento do consumo e da rentabilidade na área. Esse problema atinge o mundo todo e uma das formas de combatê-lo é detectando os produtos que não atendam às especificações de qualidade, sejam medicamentos com rótulo falso ou produtos de qualidade inferior. As adulterações em produtos farmacêuticos incluem a substituição do medicamento por placebos, que não contém nenhum princípio ativo, ou adulteração da quantidade do princípio ativo, reduzindo, e às vezes até anulando, o efeito do medicamento.

Determinação da perda por secagem e rendimento de matéria seca

Após a triagem, as cascas do caule foram pesadas. A perda por dessecação foi calculada após o tratamento de secagem em estufa, expressando-se o resultado em porcentagem (% m/m) de matéria seca do vegetal.

Determinação da perda por dessecação da matéria-prima vegetal

Cerca de 0,5 g da MPV foram transferidos para pesafiltro de vidro, previamente tarado, e levado a estufa a 105 °C. Após duas horas, foram transferidos para dessecador, provido de sílica, e pesados imediatamente após 20 min. A secagem e o resfriamento foram repetidos em ciclos de 1 h até peso constante. Os resultados expressam a média de três determinações para cada matéria-prima vegetal (F. Bras. IV, 1988), tabela 01.

Tabela 01- Perda por dessecação das partes vegetais secas e pulverizadas de *Aspidosperma nitidum*

TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTES				
PESA-FILTROS (g)	AMOSTRA (g)	2 horas	1 h	1 h
P= 35,8684	0,5001	36,3320	36,3323	36,3323
Q= 38,3552	0,5002	38,8156	38,8160	38,8169
R= 37,3540	0,5001	37,8148	37,8152	37,8151
S= 37,9110	0,5001	38,3738	38,3743	38,3741

Análise granulométrica por tamisação

Cerca de 50 g das cascas do caule seco e moído foi submetido à passagem por tamises, previamente tarados, com aberturas de malha de 1,00 mm/μm, 850 mm/μm, 710 mm/μm, 600 mm/μm, 500 mm/μm, 425 mm/μm, 355 mm/μm, 250 mm/μm, e um coletor a sessenta vibrações por segundo, durante 15 min com três repetições para cada amostra (Tabela 02)

Tabela 02 – Dados da análise granulométrica por tamisação de *Aspidosperma nitidum*.

GRANULOMETRIA = Tamização					
Tamizes (mm/μm)	1. Amostra (g)	2. Amostra (g)	3. Amostra (g)	Médias	% retido
1,00	1, 0982	1, 8844	0, 9183	1, 3003	2, 6006
850	1, 5801	1, 4700	1, 3182	1, 4561	2, 9122
710	3, 8002	3, 2999	3, 4062	3, 5021	7, 0042
600	4, 0813	3, 5583	3, 5671	3, 7356	7, 4711
500	7, 3926	7, 4520	7, 3408	7, 3951	14, 7903
425	5, 3226	5, 1066	5, 0553	5, 1615	10, 3230
355	3, 3541	3, 4970	3, 6703	3, 5071	7, 0143
250	7, 6502	8, 2138	8, 2700	8, 0447	16, 0893
COLETOR	15, 4082	16, 1088	15, 9662	15, 8277	31, 6555

Para a análise dos dados foram calculados o tamanho médio das partículas pelo método aritmético, conforme a Equação 1, e construído o histograma de frequência para a análise da distribuição granulométrica (Gráfico 01).

$$d_{\text{médio}} = \frac{\sum (AM \cdot Fr\%) [1]}{100\%}$$

Onde: $d_{\text{médio}}$ = diâmetro médio aritmético (mm); AM = abertura média de malha (mm) e a $Fr\%$ = fração retida percentual em cada tamis (ALLEN et al., 2007).

O Gráfico 01 ilustra a distribuição granulométrica para as folhas e caules secos e moídos. O conhecimento da distribuição granulométrica é relativamente útil na indicação da tamisação como o procedimento prévio aos processos, onde a homogeneidade do tamanho de partículas pode interferir. Embora a distribuição seja bimodal, as diferentes partes do material vegetal apresentaram um perfil muito semelhante de distribuição granulométrica, o que faz com que a distribuição da mistura das diferentes partes seja muito previsível.

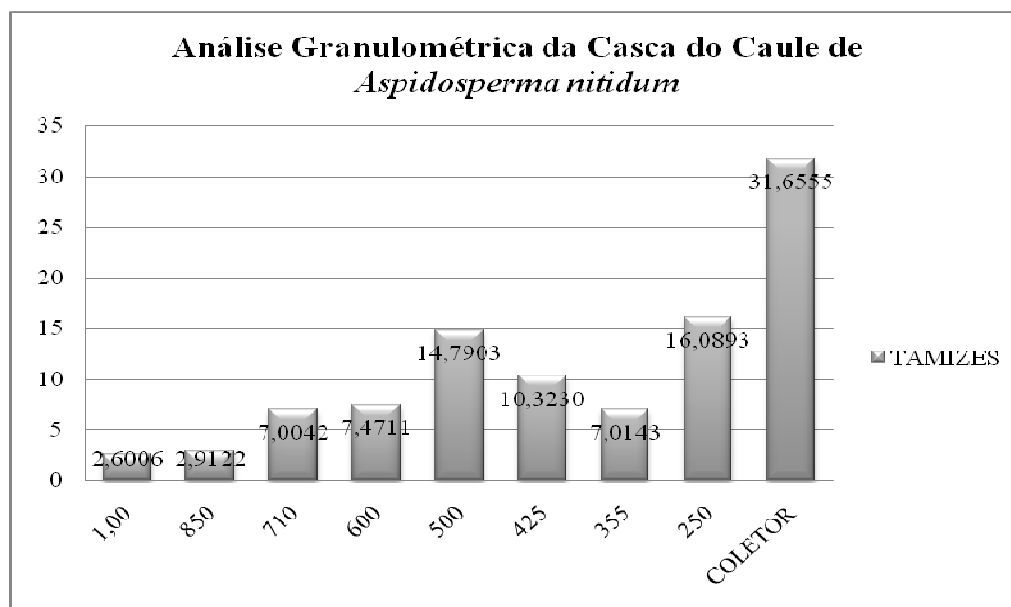


Gráfico 01 - Distribuição granulométrica das cascas do caule seco e pulverizado de *Aspidosperma nitidum*.

Determinação da eficiência do processo extrativo

O material vegetal (400 g de pó de cascas do caule) foi submetido a diferentes processos extrativos a fim de se avaliar a eficiência da extração de acordo com o teor de extrativos (Tabela 03).

Tabela 03 – Teor de extrativos de *Aspidosperma nitidum*, de acordo com o processo de extração.

Amostra (400 g)	Massa extrato (g)	Teor (%)
EETOH	31,51	7,775
EH ₂ O.I	15,03	3,757
EH ₂ O.D	19,20	4,800
EH ₂ O.M	13,78	3,445

Os resultados da tabela acima mostram que o melhor rendimento foi obtido a partir da extração da matéria-prima utilizando etanol como solvente e o processo de extração maceração a frio.

Determinação do pH do extrato

A média das edições do pH do extrato foi de 5,15 a temperatura ambiente de 26,3 °C, indicando que o extrato possui um caráter pouco ácido, apesar dos testes em CCDC, utilizando como revelador reagente de Dragendorff indicarem a presença de alcaloides.

6 CONCLUSÃO

O tamanho médio das partículas situa-se ao redor de 500-425 μm , contudo, a maior parte das partículas não foi retida nos tamizes utilizados sendo recolhida no coletor indicando que se trata de um pó fino. A análise da perda por dessecação revelou que o teor de umidade da matéria-prima encontra-se dentro dos níveis estabelecidos para uma adequada armazenagem.

Os testes indicaram que o melhor método para se obter um teor de extrativos mais elevado é por maceração a frio, tendo como solvente etanol e, que apesar dos testes em CCDC indicarem a presença maciça de alcaloides o pH do extrato obtido é fracamente ácido.

8 CRONOGRAMA

Nº	Descrição	2010					2011						
		Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Levantamento bibliográfico	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	X
2	Obtenção do extrato bruto das cascas do caule <i>Aspidosperma nitidum</i> Benth.	R	R	R	R								
3	Determinação de perda por dessecação				R	R							
4	Determinação de cinzas sulfatadas				X	X	X	X	X	X			
5	Análise granulométrica por tamisação					R	R						
6	Elaboração do Relatório Parcial					R	R						
7	Determinação do Teor de extrativos					R	R	R	R	R			
8	Determinação do Ponto de fusão do extrato seco e pH						X	X	X				
9	Determinação da densidade relativa e densidade absoluta						X	X	X				
10	Preparo e padronização de soluções extrativas							X	X	X	X		
11	Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória)										R	R	
12	Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória)												X

R = Atividades realizadas

X = Atividades não realizadas

REFERÊNCIAS

ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. Porto Alegre: Artmed, 2007.

ANDRADE NETO, V. F.; POHLIT, A. M.; PINTO, A. C. S.; SILVA, E. C. C.; NOGUEIRA, K. L.; MELO, M. R. S.; HENRIQUE, M. C.; AMORIM, R. C. N.; SILVA, L. F. R.; COSTA, M. R. F.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M.; ALECRIM, W. D.; ALECRIM, M. G. C.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, n. 102, p.359, 2007.

AÑEZ, R.B.S. *Análise morfoanatômica das folhas e casca de *Aspidosperma nitidum* Benth. e *Aspidosperma marcgravianum* Woodson (Apocynaceae) com abordagem farmacológica e etnofarmacológica*. 2009, 115f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

ARNDT, R.R. et al. Alkaloids studies - LVIII. *Phytochemistry*, v.6, p.1653-1658, 1967.

ALBUQUERQUE, B. W. P.; *Acta Amaz.* v. 1, p. 9, 1971.

BARNI, S. T.; CECHINEL FILHO, V.; COUTO, A. G.; Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v.19(4): p.865-870, Out./Dez. 2009.

BOLZANI, W. S.; SERUR, L. M.; MATOS, F. J. A.; GOTTLIEB, O. R.; *BIOCHEM. Syst. Ecol.* N. 15, p.187, 1987.

BUNDESVEREINIGUNG Deutscher Apothekerverbände (Hrgsb.) *Deutscher Arzneimittel-Codex*.Frankfut:Govi, Stuttgart:Deutscher Apotheker, 1986. v.1, Codex-Probe 4.

CARVALHO, L. H.; BRANDÃO, M. G. L.; SANTOS-FILHO, D.; LOPES, J. L. C.; KRETTLI, A. U.; *Braz. J. Med. Biol. Res*, v. 24, p.1113, 1991.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. M. *Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica*. 6. ed. Petrópolis: Vozes, p. 247, 2003.

CORRÊA, M. P. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil*, Imprensa Nacional:Rio de Janeiro, 1926.

COSTA, R.S.; OZELA, E. F.; BARBOSA, W.L.R.; PEREIRA, N.L.; SILVA JÚNIOR, J.O. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (spray srying) de *Cynara scolymus* L. (Asteraceae) *Revista Brasileira de Farmácia* 90 (30): 169-174, 2009.

JÁCOME, R. L. R. P. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 1998.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo:Atheneu Editora, 1998.

FERREIRA, I. C. P.; LONARDONI, M. V. C.; MACHADO, G. MC.; LEON, L. I.; GOBBI FILHO, L.; PINTO, L .H. B.; OLIVEIRA, A. J. B. *Anti-leishmania activity of alkaloidal extract from *Aspidosperma ramiflorum**. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 99 (3), p. 325-327, 2004.

GARRETT, R. H.; GRISHAM, C. M.; *Biochemistry*, Saunders Coll, Publishing: Orlando, 1995.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Biodiversidade, fitoterápicos e fitofármacos. *In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org.) Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. 6^a ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007, 13-28.

HENRIQUES, A.T.; KERBER, V.A.; MORENO, P.R.H. Alcaloides:Generalidades e aspectos básicos. *In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org.) Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. 6a ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007, 765-790.

HENRIQUE, M. C.; SERGIO MASSAYOSHI NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Alcaloides indólicos de cascas de *Aspidosperma vargasii* e *Aspidosperma desmanthum*. *Quim. Nova*, Vol. 33, n. 2, p. 284-287, 2010.

KINGHORN, A. D.; *J. Pharm Pharmacol.*,v. 53, n. 1, p. 135, 2001.

KRETTLI, A. U. et al. *Searching new antimalarials from plants used to treat fever and malaria or plants randomly select: a review*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 96 (8), p.1033-1042, 2001.

LISBOA, P.L.B.; GOMES, I.A.; LISBOA, R.G.L.; URBINAT C.V. *O estilo amazônico de sobreviver ao manejo dos recursos naturais*. pp. 41-170, 2002. In: Lisboa, P.L.B. *Natureza, homem e manejo de recursos naturais na região de Caxiuanã Melgaço, Pará*. Museu Paraense Emílio Goeldi.

MANSKE, R. H. F.; RODRIGO, R. *The Alkaloids*, New York :Academic Press,1965.

MITAINE, A. C.; WENIGER, B.; SAUVAIN, M.; LUCUMI, E.; ARAGÓN, R.; ZÈCHES-HANROT, M. *Planta Med.*, v.64, 487, 1998.

MCCHESENEY, J.D.; VENKATARAMAN, S.K.; HENRI, J.T. Plant natural products: back to the future or into extinction? *Phytochemistry*, v.68, 2015-2022, 2007.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, v. 24, n.1, p. 105-11, 2001.

NASCIMENTO, P. C.; SILVEIRA, E. R. Alcalóides indólicos de *Aspidosperma nitidum*. 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. *Sociedade Brasileira de Química*, 2008.

NICHOLAS, A.; BAIJNATH, A. *Botanical Rev.*, v. 60, p, 440, 1994.

RIVAS, P.; CASSELS, B. K.; MORELLO, A.; REPETTO, Y.; *Biochem. Phys.*, part C, 122, 27, 1999.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. v. 27, n. 1, p. 1-7, 2006.

VEIGA-JUNIOR, VALDIR F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A.M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 519-28, 2005.

WENIGER, B.; ROBLEBO, S.; ARANGO, G. J.; DEHARO, E.; ARAGON, R.; MUÑOZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN A.; ANTON, R. *J. Ethnopharmacol.*, 78, 193, 2001.

PEREIRA, M.M. *et al.* Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.8, n.3, p.1-8, 2006a.

PEREIRA, M.M. *et al.* NMR structural analysis of braznitidumina: A new indole alkaloid with 1,2,9-triabicyclo[7.2.1] system, isolated from *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*, v.17, n. 7, p.1274-1280, 2006b.

PEREIRA, M. M., LISIEUX, R. R. P. J.; ALCÂNTARA, A. F. C.; RASLAN, D. S. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (APOCYNACEAE). *Química Nova*, v. 30, n. 4, p. 970-983, 2007.

PEDERSEN, J. M.; BOWMAN, W. R.; ELSEGOOD, M. R. J.; FLETCHER, A. J.; LOVELL, P. J. *J. Org. Chem.*, 70, 10615, 2005.

PHILLIPSON, J.D. Phytochemistry and Pharmacognosy. *Phytochemistry*, v.68, p.2960-2972, 2007.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra-Firme na Amazônia Central*, INPA: Manaus, 1999.

RIVAS, P.; CASSELS, B. K.; MORELLO, A.; REPETTO, Y. *Biochem. Phys.*, part C, v. 27, p.122, 1999.

ROCHA, A. I.; REIS-LUZ, A. I.; RODRIGUES, W. A. *Acta Amaz.* v. 12, p. 381, 1982.

SAKAMOTO-HOJO, E. T.; TAKAHASHI, C. S.; FERRARI, I.; MOTIDOME, M. *Mutat. Res.*, v. 1, p.11, 1988.

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

SCUDELLER, V. V.; APRILE, F. M.; MELO, S.; SILVA, E. N. DOS S. 2005. Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé: Características Gerais. pp. xi-xxi. In: Silva, E. N. dos S.; Aprile, F. M.; Scudeller, V. V.; Melo, S. Biotupé: Meio Físico, *Diversidade Biológica e Sócio-cultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central*. I NPA, Manaus.

WENIGER, B.; ROBLEBO, S.; ARANGO, G. J.; DEHARO, E.; ARAGON, R.; MUÑOZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN A.; ANTON, R.; *J. Ethnopharmacol.* 2001, 78, 193.

VERPOORTE, R.; KOS-KUYCK, E.; TJIN A TSOI, A.; RUIGROK, C.L.M.; DE JONG, G.; SVENDSEN, A. B.; *J. Med. Plant. Res.* n. 48, p. 289, 1983.