



ISOLAMENTO DOS ALCALÓIDES INDÓLICOS PRESENTES NA CASCA DO CAULE DE *Aspidosperma subincanum* Mart., PARA OBTENÇÃO DE PADRÕES COM FINALIDADE DE DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DOSEAMENTO COM MARCADORES DE MATÉRIA –PRIMA VEGETAL.

LINO, Roberta Campos¹ ; GARROTE, Clévia Ferreira Duarte².

Palavras-chaves: *Aspidosperma subincanum* Mart., alcalóides indólicos.

1. INTRODUÇÃO

Em Goiás o uso de plantas medicinais é bastante comum (RIZZO et al, 1990 e 1997) e o cerrado é muito rico em espécies medicinais, que se devidamente utilizadas pode trazer benefícios enormes, sobretudo às populações mais carentes, devido ao seu baixo valor monetário. Diante do exposto acima, torna-se necessário o estudo, com fins de padronização das plantas que são apontadas popularmente como tendo ação medicinal, para que o seu uso possa ser feito de maneira racional e correto. Um levantamento etnobotânico realizado em Goiânia e cidades vizinhas em 1995 e 1998 por TRESVENZOL et al., revelou a utilização do guatambu no tratamento do diabetes mellitus e da hipercolesterolemia. Do gênero *Aspidosperma* já se conhece que algumas espécies contêm como metabólitos secundários, alcalóides, detetores de ação hipoglicemiante e hipocolesterolemiantes (BRUNETON, 1993, NUNES et al, 1991). Um trabalho realizado por KOBAYASHI et al.(2002), isolou e caracterizou a estrutura química de 6 alcalóides na espécie *Aspidosperma subincanum* Mart.. Neste trabalho, pretende-se isolar esses alcalóides, seguindo a mesma metodologia empregada pelos autores acima citados, para obtenção de padrões que serão utilizados para o desenvolvimento dos testes de controle de qualidade da espécie e de outras do gênero e para posterior comprovação, através de testes biológicos, se esses alcalóides são os responsáveis pela possível atividade hipoglicemiante e hipocolesterolemiantes atribuídas popularmente a essa planta.

2. METODOLOGIA

2.1 Coleta e preparação do material

Foram coletados dois tipos de amostras de *Aspidosperma subincanum* Mart. na região de Goiânia. Obtendo-se assim duas amostras das cascas maduras de árvores distintas. As amostras foram identificadas e classificadas seguindo suas descrições botânicas. As cascas foram secas a temperatura ambiente, protegidas do sol e da umidade e reduzidas a pó que foi embalado e identificados.

2.1 Preparação do extrato do *Aspidosperma subincanum* Mart.

Pesou-se 100g da amostra, a qual foi devidamente misturada a 300ml de metanol em um erlenmeyer de 1000ml. A mistura foi mantida com esporádicas agitações e posterior repouso de 24hs. Logo após, a mistura foi filtrada pelo processo de filtração simples. O filtrado foi transferido para um balão de fundo redondo de 250ml. Este balão foi acoplado em um rotaevaporador para retirada do solvente, a uma temperatura de 50°C. O extrato obtido foi devidamente rotulado, identificado e guardado para prosseguir o experimento.

2.2- Isolamento dos alcalóides

O extrato obtido (10,07g) foi submetido ao processo de separação utilizando uma mistura de hexano e metanol a 90%. A camada metanólica foi submetida a um novo processo de separação, com acetato de etila e solução de cloreto de sódio 1 M e então a camada aquosa foi extraída com n-butanol. Os produtos solúveis no acetato de etila após evaporação do solvente foram submetidos a uma coluna cromatográfica, utilizando sílica gel como fase estacionária e uma mistura de CHCl₃-MeOH, 98:2 e em seguida CHCl₃-n-BuOH-AcOH-H₂O, 1,5:6:1:1. Os produtos solúveis no n-butanol, após evaporação do solvente foram submetidos a uma coluna cromatográfica utilizando sílica gel como fase estacionária e misturas de CHCl₃-n-BuOH-AcOH-H₂O, na proporção de 1,5:6:1:1 e em seguida CHCl₃-MeOH, 4:1. Estas frações obtidas das colunas cromatográficas foram submetidas a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), a Ressonância Nuclear Magnética de prótons, a absorção na região do infravermelho, para identificação dos alcalóides. Esta metodologia é a adotada por KOBAYASHI et al., 2002.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após submetidas às respectivas colunas cromatográficas, descritas na metodologia e após análise da placa cromatográfica, os produtos solúveis em acetato de etila e n-butanol renderam 4 e 6 frações respectivamente, com as quantidades expressas na tabela 1.

Tabela 1: quantidade em mg de substâncias presentes em cada uma das frações oriundas das colunas cromatográficas

Produtos	Fração 1	Fração 2	Fração 3	Fração 4	Fração 5	Fração 6
Solúveis em n-butanol	265	53	174	112	36	400
Solúveis em acetato de etila	67	271	322	129	-	-

Os resultados da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, não permitiram conclusões sobre a identificação e quantificação dos alcalóides presentes nas frações colhidas. Os espectros de Ressonância Nuclear Magnética de Prótons e ¹³C induzem para a presença de 3 alcalóides, correspondentes aos Subincanidinos A, B e C, nas frações oriundas do material solúvel em n-butanol e aos Subincanidinos D, E e F, nas frações oriundas do material solúvel em acetato de etila, conforme descrito no trabalho de KOBAYASHI et al., 2002. Entretanto, revelaram também a presença de outras substâncias (impurezas), ficando evidente a necessidade de

uma purificação mais eficaz das frações para a identificação segura e determinação das quantidades de cada alcalóide.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos até o momento revelaram a presença dos alcalóides nas frações cromatográficas, pela reação positiva com o reagente de Dragendorff, utilizado como revelador nas placas de cromatografia em camada delgada e pelos picos apresentados nos espectros de Ressonância Nuclear Magnética de Prótons e ¹³C. No entanto purificações mais eficazes são necessárias para identificação segura e quantificação dos alcalóides.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUNETON, JEAN, Pharmacognosy, Phitochemistry, Medicinal Plants. New York, Lavoisier Publishing, 1993, 819p.

KOBAYASHI, J.; SEKIGUCHI, M.; SHIMAMOTO, S.; SHIGEMORI, H.; ISHIYAMA, H.; OHSAKI, A; Subincanadines A-C, novel Quaternary Indole Alkaloids from *Aspidosperma subincanum*. J. Org. Chem., 6449-6455, 2002.

NUNES, D. S.; BAYAMA, J. C.; RIZZO, J. A ; PINTO, L. L.; SILVA, M. V. S.; GONÇALVES, I.. Desenvolvimento de processo de obtenção de yoimbina das cascas de *Aspidosperma pruinosum* Mgf. (Apocinaceae). In livro de resumos - XLII Congresso Nacional de Botânica - Goiânia, 1991.

RIZZO, J. A ; MONTEIRO, M. S. R. E BITTENCOURT, C.. Utilização de plantas medicinais em Goiânia. In Congresso de Botânica, 36, Curitiba, 1985. Anais...Curitiba, Sociedade Botânica do Brasil, vol 2, p 691-714, 1990.

RIZZO, J. A ; CAMPOS, I. F. P. E JAIME, M. C.. Utilização de plantas medicinais nas cidades de Goiás e Pirenópolis, Estado de Goiás, 1997, no prelo.

TRESVENZOL, L. M. F. ET AL. Levantamento das plantas medicinais do Estado de Goiás. Iniciado em 1995 e em andamento.

¹ Bolsista de iniciação científica. Faculdade de farmácia - Laboratório de química farmacêutica. beta_lino@yahoo.com.br

² Orientador/ Faculdade de farmácia /UFG – clevia@farmacia.ufg.br