

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

OBTENÇÃO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS NO EXTRATO DA CASCA DE SCHINUS LENTISCIFOLIUS: FRACIONAMENTO E ISOLAMENTO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES.¹
OBTAINING BIOACTIVE MOLECULES IN THE SCHINUS LENTISCIFOLIUS SHELL EXTRACT: FRACTIONING AND ISOLATION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS.

João Vinícius Müller Kaufmann², Bárbara Pezzini Moreira³, Ilaine Teresinha Seibel Gehrke⁴

¹ Projeto Institucional de Pesquisa Científica vinculado ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijuí.

² Acadêmico do Curso de Farmácia da UNIJUI, Bolsista PIBITI/CNPq, joavmkaufermann@gmail.com.

³ Acadêmica do Curso de Engenharia Química da UNIJUI, Bolsista PIBIC/UNIJUI, bah.pm08@gmail.com

⁴ Docente do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI, Orientadora, ilaine@unijui.edu.br

INTRODUÇÃO

É inegável a contribuição das plantas medicinais como fonte de substâncias que servem como protótipos para desenvolver novos fármacos (SOUZA; MELLO; LOPES, 2012). Elas têm contribuído fortemente para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas através do uso de seus metabólitos secundários, que são conhecidos por atuarem de forma direta ou indireta no organismo, podendo inibir ou ativar importantes alvos moleculares e celulares (FIRMO et al., 2011).

Dentre esses metabólitos podemos citar os flavonoides, antioxidantes presentes nas plantas que são de grande interesse na farmacologia devido à capacidade de proteger o organismo contra os danos provocados pelo estresse oxidativo (CORRÊA, 2014; HAUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). As espécies do gênero *Schinus* pertencem à família Anacardiaceae e são encontradas em várias formações vegetacionais, no Brasil. São conhecida popularmente como aroeira, possuem diversas aplicações terapêuticas na medicina popular, sendo, por exemplo, utilizada no tratamento de inflamações uterinas e na cicatrização de feridas, tendo sua ação adstringente e antimicrobiana já sido comprovada cientificamente (SANTOS et al, 2007).

Dentre as diversas espécies de *Schinus* podemos destacar a *Schinus lentiscifolius*, uma aroeira nativa do RS e muito utilizada na medicina popular, apesar do limitado número de estudos sobre seus efeitos fitoquímicos e biológicos, fato que acaba pondo em dúvida sobre a sua real eficácia no tratamento dessas patologias, ressaltando a necessidade de mais estudos que esclareçam esses aspectos. Assim, com bases em estudos já realizados por Gehrke (2012) e Corrêa (2014), que

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

identificaram a presença de compostos fenólicos e da ação antioxidante em extratos da *S. lentiscifolius* extraído com diferentes solventes, este estudo teve como objetivo analisar a presença de metabolitos secundários em diferentes frações obtidas através de coluna cromatográfica do extrato a base de acetato de etila (AcOEt) da casca de *S. lentiscifolius*, e identificar qual a concentração mais adequada de fase móvel na coluna cromatográfica para o fracionamento destes metabolitos.

METODOLOGIA

Os extratos AcOEt de *S. lentiscifolius* utilizados nas análises da coluna cromatográfica deste estudo já haviam sido anteriormente preparados. As cascas utilizadas para a preparação do extrato somaram 1,622 Kg, e as amostras dos extratos obtidas por partição somaram 66,511 gramas. Deste total foram utilizados 40,290 gramas de extrato para partição em cromatografia em coluna.

A separação por cromatografia foi realizada em coluna de vidro aberta, utilizou-se como fase estacionária 295,319 gramas de Sílica Gel 60 (Merck), com um tamanho de partícula de 0,063-0,200 mm. A coluna iniciou com 1500 mL de Hexano (HEX), sendo gradativamente aumentada a polaridade do solvente pela adição de Acetato de Etila (AcOEt). Ao atingir-se 100% de AcOEt, finalizamos a eluição, com 2000 mL de solvente Metanol, o qual é mais polar que o AcOEt. As frações do extrato que saíam da coluna, juntamente com a fase móvel (solvente), foram coletadas em frascos Erlenmeyer de 50 mL, e então enumerados. Para retirar o solvente, as frações do extrato foram levadas ao evaporador rotatório sob vácuo com banho maria a 70° C. Após secagem, o extrato foi armazenado em frasco de vidro, com tampa de plástico e coberto com alumínio, seguido da identificação de qual fração da coluna ele representava.

Para a detecção dos metabolitos secundários nas frações dos extratos obtidos foi utilizada a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), que consiste na separação de compostos de uma mistura multicomponente através da migração sobre uma camada de adsorvente, chamada de fase estacionária (COLLINS et al., 2007; SKOOG et al., 2008; LUCAS, 2015). Para a realização das CCD foram utilizadas cromatofolhas (placas) de alumínio com gel sílica 60 F254 (Merck) como fase estacionária. Os extratos foram aplicados nas placas com auxílio de um capilar de vidro, e então a placa foi eluída em cuba cromatográfica utilizando-se como eluente/fase móvel uma mistura de Hex-AcOEt na proporção 30:70 (v:v), acetona e ácido fórmico (WAGNER & BLADT, 1996).

A identificação da presença de composto fenólicos nas placas foi, então, realizada sob luz ultravioleta (UV), seguido de revelação com o reagente NP/PEG (difetilboriloxietilamina 1,0% em metanol, seguida de solução de polietilenoglicol 4000 5,0% em etanol) para detecção de flavonoides (WAGNER & BLADT, 1996), e então a placa era aquecida em um agitador magnético a 50° C, que foi utilizado somente para esta finalidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

Segundo Gehrke (2012), o extrato aquoso hexânico, acetato de etila e dos compostos isolados das espécies estudadas, dentre elas a *S. lentiscifolius*, apresentaram resultados de inibição ao DPPH, o que nos permite correlacionar a presença de compostos polifenólicos nestes extratos. A identificação da presença de flavonoides utilizando o revelador NP/PEG 4000 ocorre pelo aparecimento de manchas de coloração que variaram do laranja, amarelo e verde na cromatoplaça. Os resultados das análises de CCD das diferentes frações do extrato da casca da *S. lentiscifolius* mostraram a presença de flavonoides, os quais foram observados a partir da presença de coloração num tom de verde ou amarelo. As placas Nº 2, 3, 4, 6, 10 e 11 apresentaram coloração verde, como pode ser visto na Tabela 1, indicando a presença de flavonoides. Já o amarelo aparece nas placas Nº 8, 9 e 10.

Tabela 1. Frações do extrato isolado da casaca de *S. Lentiscifolius* que apresentaram flavonoides na CCD

Nº da placa de CCD	Fração do extrato	Porcentagem de AcOEt	Coloração da CCD
Nº 2	53 a 68	20%	Verde
Nº 2	90 a 100	25%	Verde
Nº 3 e 4	112 a 122	30%	Verde
Nº 6	157 a 160	35%	Verde
Nº 8	174 a 181	40%	Amarelo
Nº 9	201 a 204	45%	Amarelo
Nº 9 e 10	224 a 232	45%	Amarelo
Nº 10	250 a 257	55%	Verde
Nº 10 e 11	270 a 276	55%	Verde
Nº 11	299 a 307	60%	Verde

Legenda: AcOEt (Acetato de Etila) – Fase móvel da coluna. CCD (Cromatografia em Camada Delgada).

As porcentagens de acetato de etila entre 20-60% conseguiram extrair flavonoides do extrato de *S. lentiscifolius* na coluna, como demonstrado na Tabela 1, onde as porcentagens de 20, 30 e 45% foram as que melhor se destacaram, apresentado resultados mais característicos e visíveis na CCD para estes compostos. É através deste processo de fracionamento, com diferentes polaridades de solvente aplicado a coluna, que é possível a coleta de diferentes compostos derivados dos flavonoides presentes no extrato, pois, segundo Vila (2006), os flavonoides são compostos polares ou moderadamente polares, e a interação entre as moléculas do solvente e as moléculas da fase móvel é que permite a identificação destes compostos.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

CONCLUSÃO

Conclui-se que, o fracionamento do extrato de AcOEt de *S. lentiscifolius* na coluna cromatográfica seguido da Cromatografia em Camada Delegada, foi capaz de detectar flavonoides em diferentes momentos do fracionamento. Foi observado que, a fase móvel utilizada na coluna cromatográfica que melhor apresentou a aparição flavonoides nas CCD foram com concentrações de 20%, 30% e 45% de AcOEt.

Palavras-chave: Cromatografia; Flavonoides; Aroeira; Estresse Oxidativo.

Keywords: *Chromatography; Flavonoids; Aroeira; Oxidative stress.*

REFERÊNCIAS

BARBOSA, K. B. F. et al.; Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. Rev. Nutr., Campinas, vol.23, no.4, p. 629-643, jul./ago., 2010.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. Fundamentos de cromatografia. 1ª edição. São Paulo: editora da UNICAMP, 2007. 456p.

CORRÊA, J.B. Caracterização de compostos fenólicos do extrato da casca de *Schinus lentiscifolius* (anacardiaceae) e seu efeito sobre a resposta celular ao estresse em linfócitos. 2014. 75 p. Dissertação (Mestrado em Atenção Integral à Saúde). Departamento de Ciências da Vida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2014.

FARKAS, O.; JAKUS, J.; HÉBERGER, K. Quantitative Structure - Antioxidant Activity Relationships of Flavonoid Compounds. Molecules, Budapest - Hungary, v. 9, n. 12, p. 1079-1088, dez., 2004.

FIRMO, W. da C. A. et al.; Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Cad. Pesq., São Luís, v. 18, n. especial, p. 91-95, dez. 2011.

GEHRKE, I.T.S.; Estudo fitoquímico e biológico das espécies *Schinus lentiscifolius*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* e *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) do RS. 2012. 182 p. Tese (Doutorado em Química). Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

HAUBER, L.S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. Alim. Nutr., Araraquara. v.19, n.1, p. 97-108, jan./mar. 2008.

LUCAS, A.M. Estudo sistemático de obtenção e impregnação supercrítica de extratos de *Baccharis*. 2015. 80 p. Dissertação (Doutorado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

OLIVEIRA, M. C.; SCHOFFEN, J. P. F.; Oxidative Stress Action in Cellular Aging. Braz. arch. biol. technol., Curitiba, vol.53 no.6, p 1333-1342, Nov./Dez. 2010.

SANTOS, A. C. A, dos et al.; Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1011-1013, jul. 2007.

SKOOG, D.A., WEST, D.A., HOLLER, F.J., CROUCH, R.S. Fundamentos de química analítica. 8ª edição. São Paulo: Thomson, 2008. 999 p.

SOUZA, G.H.B. de; MELLO, J.C.P.; LOPES, N.P. Farmacognosia, coletânea científica. 1ª ed. Ouro Preto: Editora UFOP, 2012. 371 p.

VILA, F.C. Identificação dos flavonóides com atividade antioxidante da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). 2006, 61 p. Dissertação (Mestrado em ciências). Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis - a thin layer chromatography atlas. 2.ed. Berlin: Springer, 1996. 384 p.