

DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES NOS RAMOS DE *TABERNAEMONTANA* *CATHARINENSIS* A. DC.

Bianca Vargas Belke¹
Mariana Piana¹
Aline Augusti Boligon¹
Marina Zadra¹
Janaina Kieling Fröhlich¹
Thiele Faccim de Brum¹
Margareth Linde Athayde¹

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi realizar o doseamento de flavonóides do extrato bruto e frações dos ramos de *Tabernaemontana catharinensis*. Os ramos da planta foram coletadas no município de São Miguel (RS) em Janeiro de 2009. O extrato aquoso foi obtido através de maceração com etanol (70%). Após foi eliminado o etanol, o extrato aquoso foi fracionado com solventes: clorofórmio, acetato de etila e n-butanol e levados a secura. O doseamento de flavonóides foi realizado segundo o método de Woisky e Salatino (1998) com pequenas modificações, o qual utiliza o reagente AlCl₃ 2% leitura em 420 nm. O resultados mostraram que a fração clorofórmica seguida das frações acetato de etila e butanólica obtiveram maior teor de flavonóides. Esta espécie é promissora para novos estudos que comprovem sua atividade antioxidante e sua ação terapêutica.

Palavras-chave: *Tabernaemontana catharinensis*; flavonóides; cobrina.

¹ Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – Centro de Ciências da Saúde (CCS) – Departamento de Farmácia Industrial. Avenida Roraima, n. 1000. CEP: 97105-200. Santa Maria – RS. E-mail: marianarpiana@gmail.com;

INTRODUÇÃO

Sendo tão antigo quanto a espécie humana, o uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades acontece ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, e estas são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al., 2002).

O uso de plantas como recurso terapêutico vem sendo descrito em toda a história da humanidade. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial utilizam plantas medicinais como principal recurso no atendimento básico de saúde. Incluem-se as populações que usam *in natura* (por opção ou por ser a única alternativa disponível) e os sistemas de medicina que empregam plantas processadas em formulações medicamentosas, como a medicina chinesa (YUNES; CECHINEL, 2001). As plantas apresentam em seus metabólitos secundários uma grande fonte de possíveis fármacos devido à diversidade de moléculas com as mais variadas estruturas e propriedades químicas (VELLOSA et al., 2007).

A espécie *Tabernaemontana catharinensis* pertence à família Apocynaceae, é encontrada na Argentina, Paraguai, Brasil e Bolívia (PEREIRA et al., 2008, ALMEIDA et al., 2004). Popularmente é conhecida como “Jasmin”, “leiteira de dois irmãos”, “casca de cobra” e “cobrina” (RATES et al., 1993). Árvores ou arbustos possuem de 3-10m de altura, e seu caule leitoso torna-se glabrescentes com o passar do tempo. Possui folhas membranáceas estreitamente elípticas a ovado-elípticas, pecíolo 3-8 mm de comprimento, inflorescência geralmente com muitas flores brancas eretas, terminais ou axilares, brácteas 3-7 mm de comprimento e frutos de 2 a 3,4 cm x 1,3 – 2,2 cm, amarelo, vermelho ou vermelho-alaranjado (MORALES, 2010). O chá ou a infusão dessa planta é utilizada na medicina popular como antídoto para picadas de cobra, para aliviar dor de dente, e também como um vermífugo (PEREIRA et al., 2005).

Pereira (2008) isolou e determinou a estrutura doze alcalóides indólicos, treze triterpenos pentacíclicos e três triterpenos do extrato das cascas da raiz de *Tabernaemontana catharinensis* e também confirmou que os compostos ibogamina, 3-oxo-coronaridina e 12-metoxi-4-metilvoachalotina presentes no extratos demonstraram citotoxicidade para linhagens de células tumorais de adenocarcinoma de mama (SKBR-3) e de melanoma humano (C-8161).

Pereira (2005) realizou estudos sobre atividade antioxidante dessa planta através da sistema beta-caroteno/ácido linoléico e verificou que as frações ricas em alcalóides obtiveram atividade antioxidante superiores quando comparadas com ao controle beta-caroteno.

Levando-se em conta o uso popular e os estudos já realizados dessa planta o presente estudo tem como objetivo realizar o doseamento de flavonóides, metabólitos secundários com considerável atividade antioxidante, no extrato bruto e frações dos ramos de *Tabernaemontana catharinensis*.

Os ramos de *Tabernaemontana catharinensis* foram coletados no município de São Miguel, no estado do Rio Grande do Sul em janeiro de 2009. O material testemunho (exsicata) está depositado no herbário do Departamento de Biologia da UFSM catalogado sob o número de registro SMBD 12.355.

MÉTODOS

Os ramos (1088,61g) foram secos ao ar livre, moídos e triturados. Os extratos foram obtidos através de maceração hidroalcolólica (água:etanol, 3:7, v/v) do material que foi colocado em recipiente fechado e recoberto com solvente, o macerado foi submetido a agitações manuais diárias, por um período de sete dias. O solvente foi renovando a cada sete dias durante um mês. Ao fim desse período o conteúdo foi filtrado em algodão e concentrado em evaporador rotatório, à temperaturas inferiores a 40°C, para eliminação do etanol, obtendo-se assim, o extrato aquoso, que foi particionado em ampolas de separação, utilizando solventes de polaridade crescente: clorofórmio (CHCl₃), acetato de etila (AcO-Et) e *n*-butanol (*n*-BuOH), parte igual do solvente aquoso (extrato bruto) e frações foram submetidos à secura em estufa à temperaturas inferiores a 40°C.

A determinação do teor de flavonóides para o extrato bruto e as frações obtidas no fracionamento seguiu o método descrito por Woisky e Salatino (1998) com pequenas modificações, em que 1 ml da solução amostra (150µg/ml) das frações e extrato bruto de *Tabernaemontana catharinensis*, foram adicionados a 0,5ml de AlCl₃ 2%. Após 60 minutos, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro à 420 nm utilizando curva de calibração de quercetina como padrão, as leituras foram realizadas em triplicata. Os teores de flavonóides foram determinados em miligramas de quercetina por grama de extrato seco.

RESULTADOS

Os resultados obtidos no doseamento dos flavonóides no extrato bruto e nas frações dos ramos de *Tabernaemontana catharinensis* na fração clorofórmica foi 201,97 miligramas de quercetina por grama de extrato seco, na fração acetato de etila 187,65 miligramas de quercetina por grama extrato seco, fração butanólica 180,74 miligramas de quercetina por grama de extrato seco no extrato bruto 70,56 miligramas de quercetina por grama extrato seco.

DISCUSSÃO

O fracionamento do extrato aquoso com solventes em polaridades crescente possibilita uma melhor extração dos flavonóides e conseqüentemente uma melhor possibilidade de avaliar atividade antioxidante, atividade antitumoral, atividade antiinflamatória, e atividades sobre a permeabilidade capilar na fração em que se encontra a maior quantidade de flavonóides. Além disso, os pesquisadores da área da fitoquímica utilizam muito esse procedimento para selecionar a fração no qual há maior probabilidade de encontrar compostos bioativos responsáveis pelo uso popular da planta em estudo para tentar isolá-lo.

Os resultados mostrados indica que a fração clorofórmica conseguiu extrair uma maior quantidade de flavonóides em seguida das frações acetato de etila e

butanólica, pois a extração com solventes pouco polares permite recuperar as agliconas livres pouco polares, tais como flavonas, flavonóis, flavanonas, di-hidroflavonóis, isoflavona, assim como o solvente acetato de etila que apesar de possuir uma maior polaridade extraiu quantidade considerável dos mesmos compostos. O que ocorreu em menor proporção com a fração butanólica, solvente de maior polaridade.

O resultado de nosso estudo está em acordo com os dados da literatura de Belo (2009), confirmando a presença considerável de flavonóides no gênero *Tabernaemontana*.

CONCLUSÕES

Este estudo foi realizado visando a identificação de qual fração conseguiria extrair a maior quantidade de flavonóides e como promissora para isolamento de compostos bioativos, assim como, servindo futuramente como objeto de estudo em outros testes para comprovação de seu uso popular.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.de; CINTRA, C.O.; VERONESE, E.L.G.; NOMIZO, A.; FRANCO, J.J.; ARANTES E.C.; GIGLIO, J.R.; SAMPAIO S.V. Anticrotalic and antitumoral activities of gel filtration fractions of aqueous extract from *Tabernaemontana atharinensis* (Apocynaceae). Comparative Biochemistry and Physiology, Parte C 137, p. 19 – 27, 2004.
- BÉLO, M.; BARBOSA, M.J.C.; PEREIRA, P.S.; BERTONI, B.W.; ZINGARETTI, S.M.; BELEBONI, R.O. Avaliação do efeito bioinseticida dos extratos de *Tabernaemontana catharinensis* A.DC. (Apocynaceae) e *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae) sobre a mosca *Zaprionus indianus* (Díptera: Drosophilidae) (Gupta, 1970). Revista Brasileira de Biociências v. 7, n. 3, p. 235 – 239, 2009.
- MACIEL, M.A.M; PINTO, A.C.; VEIGA JUNIOR, V.F.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares, Química Nova, v. 25, n. 3, p. 429 – 438, 2002.

MORALES, J.F. La familia apocynaceae s. str. (apocynoideae, rauvolfoideae) en uruguay. Darwiniana, v. 48, n. 1, p. 68 – 86, 2010.

PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S de C; OLIVEIRA, P.V.A. de; BREVES, C.M. de S.; PEREIRAS, I.V.; SAMPAIO, S.V.; DIAS, A.N.D.A. Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief NMR review of indole alkaloids and *in vitro* cytotoxicity. Quimica Nova, v. 31, n. 1, 20 – 24, 2008.

PEREIRA, C.G.; LEAL, P.F.; SATO, D.N.; MEIRELES, M.A.A. Antioxidant and antimycobacterial activities of *Tabernaemontana catharinensis* extracts obtained by supercritical CO₂ + cosolvent. Journal of medicinal food, v. 8, n. 4, p. 533 – 538, 2005.

RATES, S.M.K.; SCHAPOVAL, E.E.S.; SOUZA, I.A.; HENRIQUES, A.T. Chemical constituents and pharmacological activities of *peschiera australis*. International Journal of Pharmacognosia, v. 31, p. 288 – 294, 1993.

VELLOSA, J.C.R.; BARBOSA, V. de F.; OLIVEIRA, O.M.M. de F. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. Revista Eletrônica de Farmácia. v. 4 n. 2, p. 119 – 130, 2007.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal Apicultural Research, v. 37, n. 2, p. 99 – 105, 1998.

YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. (eds.). Chapecó: Argos. *Plantas medicinais sob a óptica da química medicinal moderna*. p.17-46, 2001.