

Autor(es): VANESSA DE AN

Autor(es): VANESSA DE ANDRADE ROYO, KAMYLLA TEIXEIRA SANTOS, ELYTANIA VEIGAMENEZES, AFRÂNIO FARIAS DE MELO JUNIOR, DARIO ALVES DE OLIVEIRA, MARIA OLÍVIA MERCADANTE SIMÕES, ANECIS RIANE BARBOSA ARAÚJO

Análise em cromatografia gasosa de compostos bioativos do óleo de sementes de Tontelea micrantha, com potencial farmacológico.

Introdução

As plantas sintetizam em seu metabolismo substâncias associadas diretamente à sua defesa que apresentam proteção antioxidante e contra ataques de micro-organismos. Estes metabólitos possuem as mais variadas estruturas químicas e apresentam potencial fitoterápico, sendo assim amplamente utilizados nas indústrias farmacêuticas.

Nos produtos do metabolismo secundário das plantas encontram-se os óleos essenciais, que são misturas complexas que podem conter mais de uma centena de compostos orgânicos. Seus constituintes químicos podem pertencer às mais diversas classes de compostos, porém os terpenos são as classes mais encontradas (GONÇALVES et al., 2003).

A família Celastraceae é composta por espécies amplamente estudadas no âmbito farmacológico, tais como a *Maytenus rigida* e a *Austroplenckia populnea* que apresentam ação antimicrobiana, e várias outras espécies que são usadas na medicina popular tendo funções que vão desde laxativos a antitumorais (LORENZI, 2005; MIRANDA, 2009).

A presença de sesqueterpenos, substâncias biodegradáveis que são um dos principais componentes dos óleos essenciais, é característica da família Celastraceae que se destaca por apresentar atividade inseticida e antitumoral (GONZÁLES, 2000).

Tontelea micrantha (Celastraceae), é um arbusto, com características do Cerrado que também é conhecido como rufão, saputá mirim ou bacupari rasteiro. Os frutos, que são comestíveis, amadurecem de Janeiro a Março, possuem de três a quatro sementes por fruto com dois cotilédones (DIAS, 2009). O óleo extraído das sementes de *T. micrantha* é utilizado, tradicionalmente, para tratar inflamações da garganta e pode ser utilizado puro ou em chás para tosse e gripe. O óleo do Rufão também é usado externamente em massagens contra cólicas intestinais e dores nas articulações, e o pó da raiz é usado tradicionalmente para o tratamento de infecções urinárias (DIAS, 2009).

Tendo em conta a importância farmacológica da planta já comprovada em outros estudos, o principal objetivo do trabalho é a caracterização da constituição química do óleo essencial de *T. micrantha*, gerando informações para a obtenção de variedades mais adequadas ao uso terapêutico e um conhecimento maior acerca das propriedades químicas das substâncias responsáveis pelo potencial medicinal já conhecido na espécie.

Material e métodos

A. Coleta e obtenção do óleo

As sementes de *Tontelea micrantha* foram coletadas no município de Montes Claros- MG. O óleo foi adquirido com a comunidade do Assentamento Americanas, Grão Mogol-MG, sedo proveniente de sementes *T. micrantha que* foram submetidas à extração mecânica a frio para obtenção do óleo, e posteriormente centrifugado para retirar possíveis materiais sólidos provenientes do processo de extração.

B. Cromatografia Gasosa acoplada ao espectrofotômetro de massas (CG-EM)

Em um balão de fundo redondo (5 mL) foram colocados 10 mg de óleo , e adicionados 1mL de solução de KOH em metanol (0,5 mol L^{-1}), posteriormente a mistura foi aquecida a 100 °C, sob refluxo por uma hora. 400 μ L de solução de HCl (36%) em metanol (4:1, v/v) foram adicionados à mistura e o aquecimento, realizado novamente, a 100 °C por uma hora

Após resfriamento, adicionou-se água destilada (2 mL) e os derivados obtidos, extraídos com CH₂Cl₂ (2x3 mL). A fase orgânica, seca com MgSO₄ anidro, foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo obtido, após completa remoção do solvente foi ressuspenso em 1 mL de CH₂Cl₂ e analisado em CG-EM, metodologia adaptada de JHAM et al. (1982).

C. Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (CG-DIC)

Em tubo criogênico (2 mL), 12 mg do óleo foram dissolvidos em 100 μL de uma solução de etanol (95%)/ hidróxido de potássio 1mol/L (5%). Após agitação em vórtex (10 segundos), o óleo foi hidrolisado em um forno de micro-ondas doméstico, durante 5 minutos. Após resfriamento, foram adicionados 400 μL de ácido clorídrico a 20%, cerca de 0,05g de NaCl (~20 mg) e 600 μL de acetato de etila.

Apoio financeiro: FAPEMIG









Após mais uma vez, a mistura passar por agitação em vórtex por dez segundos e repouso por cinco minutos, uma alíquota de 300 µL da camada orgânica foi retirada, colocada em tubos de microcentrífuga e seca por evaporação, obtendo-se assim os ácidos graxos livres, adaptado de CHRISTIE (1989).

Posteriormente, os ácidos graxos livres foram metilados com 100 µL BF3 / metanol (14%) por aquecimento durante 1dez minutos em banho de água a 60 °C para análise.

Resultados e discussão

Análises cromatográficas do óleo

As análises do óleo por CG-EM e CG-DIC revelam a predominância de três ácidos graxos sendo eles: linoléico, oléico (insaturado) e palmítico (saturado), representando mais de 90% da composição dos ácidos graxos do óleo. No CG-EM ocorre também a presença do ácido esteárico (Tabela 1; Figuras 1 e 2).

Nas análises cromatográficas é possível perceber uma maior quantidade de ácidos graxos insaturados e estes apresentam propriedades farmacológicas já comprovadas. O ácido linoléico contém ω-6, que confere a característica de cicatrização ao ácido graxo, pois é capaz de manter a permeabilidade da pele e inibir o processo pró-inflamatório. O ácido também possui relacionada capacidade de causar apoptose de células malignas inclusive de melanomas, inibindo a produção de citocinas e a peroxidação. Porém, há relatos do efeito de concentrações elevadas e isso pode causar uma toxicidade do mesmo (MCCUSKER & GRANT-KELS, 2010).

O ácido oléico é um potente cicatrizante, pois é capaz de modelar a resposta inflamatória, e age na resposta proinflamatória e anti-inflamatória elevando a expressão da citocinas inflamatórias. A capacidade cicatrizante deste ácido graxo também é atribuída à expressão de outros mediadores ligados diretamente ao sistema imune. Além do potencial cicatrizante, o ácido oléico apresenta potencial antimicrobiano e anticancerígeno, inibindo o processo de angiogênese das células (CARDOSO et al, 2011).

Os demais ácidos graxos presentes no óleo de T. micrantha podem ser agrupados de acordo com a característica medicinal que podem exercer, como a função anti-inflamatória no ácido caprico, láurico e linolênico, a função antimicrobiana no ácido caprico, láurico, palmítico e palmitoleico, a função pro-inflamatória no ácido palmítico, palmitoleico, araquídico e esteárico, a função antioxidante no ácido caprico e linolênico, a função anticancerígeno no ácido linolênico e a função anti-obesidade no ácido esteárico e caprico (SENGUPTA & GHOSH, 2012).

Conclusão/Conclusões/Considerações finais

A composição de ácidos graxos do óleo de T. micrantha demonstra que este é composto prioritariamente por ácidos graxos de cadeia média e insaturados, com destaque para o ácido linoléico e oléico que possuem propriedades medicinais. Porém, é preciso uma maior investigação científica para comprovar o potencial farmacológico do óleo de T. micrantha e sua toxicologia.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (PPGB), ao Laboratório de Química Instrumental do Instituto de Ciências Agrárias (ICA-UFMG) na pessoa do Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério, ao Laboratório de Cromatografia do Instituto de Ciências Exatas na pessoa da Dra. Vanny Ferraz da UFMG, ao Laboratório de Bioprospecção e recursos Genéticos/Química de Produtos Naturais e à Universidade Estadual de Montes Claros.

Referências bibliográficas

GONÇALVES, L.A. et al. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (Ocimum selloi Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 6, n. 1, p.8-14, 2003.

LORENZI H. Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas. Ed Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda: 119-130, 2005.

MIRANDA RRS. Et al Evaluation of antibacterial activity of "Mangabarana" Austroplenckia populnea Reissek (Celastraceae). Rev. Bras. Farmacogn, 19: 370-375, 2009.

GONZÁLES A.G. Et al Ethnobotanical uses of Celastraceae. Bioactive metabolites. Studies in Natural Products Chemistry, 23: 649-738, 2000.

DIAS JE, LAUREANO LC. Farmacopéia popular do cerrado. Articulação Pacari, Góias, 2009.

JHAM G.N, TELES F.F..F, CAMPOS L.G. Use of aqueous HCl/MeOH as esterification reagent for analysis of fatty acids dericed from soybean lipids. jaocs; 59(3) 1982.















CHRISTIE W W. Gas Chromatography and Lipids. Pergamon Press 1989.

MCCUSKER MM, GRANT-KELS JM. Healing fats of the skin: the structural and immunologic roles of the ω -6 and ω -3 fatty acids. Clin. Dermatol 28: 440-451,

CARDOSO CR, FAVORETO JR S, OLIVEIRA LL, VANCIM JO, BARBAN GB, FERRAZ DB, SILVA JS. Oleic acid modulation of the immune response in wound healing: A new approach for skin repair. Immunobiology; 215: 409-415, 2011.

SENGUPTA A, GHOSH M. Comparison of native and capric acid-enriched mustard oil effects on oxidative stres and antioxidant protection in rats. **Br. J. Nutr**; 107: 845-849, 2012.



GERAIS FAPEMIG FADENOR

Tabela 1. Perfil de ácidos graxos detectados por cromatografia gasosa acoplado ao detector por ionização de chamas (CG-DIC) do óleo da semente de *Tontelea micrantha*.

	ı		
Ác. Graxo	RT (min)	%	Composto
C10:0	1.47	0.17	Ác. Caprico
C12:0	2.28	0.44	Ác. Laurico
C16:0	4.91	10.75	Ác. Palmitico
C16:1	5.19	0.99	Ác. Palmitoleico
C18:0	6.53	2.54	Ác. Estearico
C18:1n9	6.92	30.50	Ác. Oleico (ω-9)
C18:1n6	7.31	2.36	Ác. Oleico (ω-6)
C18:2n9	7.61	45.91	Ác. Linoléico (ω-9)
C18:2n6	7.70	2.10	Ác. Linoléico (ω-6)
C20:0	8.05	0.31	Ác. Araquídico
C18:3n3	8.32	0.40	Ác. Linolênico
Outros		3.53	
Area total		100.00	

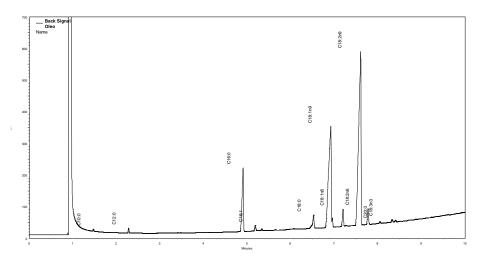


Figura 1. Cromatograma do óleo fixo da semente de Tontelea micrantha derivatiza (CG-FID).

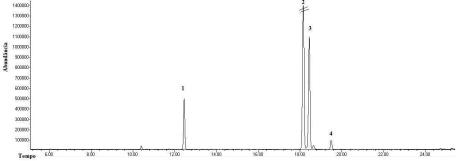


Figura 2. Cromatograma de íons totais obtidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrmetria de massa (CG-EM) do óleo derivatizado extraido da semente de *Tontelea micrantha*. 1. Ácido palmítico; 2. Ácido linoléico; 3. Ácido oléico; 4. Ácido esteárico.