

CONTROLE DE QUALIDADE DA CASCA CAULINAR DE *Croton floribundus*

Clara Beatriz de Lima (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Naiara Cássia Gancedo, Maria Auxiliadora Milaneze-Gutierrez (Coorientadora), João Carlos Palazzo de Mello (Orientador), e-mail: mello@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área: Ciências da Saúde; Subárea: Farmácia

Palavras-chave: Euphorbiaceae, Farmacognosia, Controle de qualidade.

Resumo

Croton floribundus Spreng. (Euphorbiaceae) é uma árvore nativa do Brasil, popularmente conhecida como “Capixingui”. Objetivando determinar os parâmetros relacionados com o controle de qualidade das cascas caulinares de *C. floribundus*, diferentes testes foram realizados, incluindo a análise organoléptica, tendo a amostra apresentado odor de mentol e cânfora e sabor amargo. A análise granulométrica indicou fragmentos com tamanho médio de 0,3 mm. Os testes qualitativos indicaram resultado positivo para os metabólitos secundários: taninos condensados, lactonas sesquiterpênicas e glicosídeos saponínicos. Os testes quantitativos indicaram teor de polifenóis totais de 53 mg de pirogalol/g DV e 0,0177 g de cafeína/g DV para metilxantinas. A pureza da amostra foi avaliada pela determinação do teor de cinzas totais e de umidade, obtendo-se 3,97%±0,19 (CV%4,78) e 10,21%±0,21 (CV%2,14), respectivamente. A análise dos extratos brutos preparados com solventes de diferentes polaridades frente o radical DPPH revelou ser a acetona 70% o melhor líquido extrator, por ter apresentado melhor capacidade antioxidante (IC₅₀=24,47 µg/mL) e maior teor de resíduo seco (0,30 g RS/g DV). Por fim, realizou-se o fracionamento do extrato bruto acetona 70% pelo método de cromatografia líquida a vácuo, obtendo-se seis frações que, em seguida, foram monitoradas por cromatografia em camada delgada. Com os resultados obtidos foi possível determinar a qualidade das cascas caulinares de *C. floribundus*, a qual pode ser utilizada em demais estudos fitoquímicos, visando uma melhor compreensão dos metabólitos presentes e do potencial biológico desta espécie.

Introdução

No gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) estão espécies ricas em diterpenos, alcaloides e flavonoides. Como exemplo, tem-se *Croton floribundus* Spreng., espécie popularmente conhecida como “Capixingui”. Na medicina popular as cascas e as folhas de *C. floribundus* são utilizadas na forma de banho para o tratamento de piolhos e micoses em geral, e suas cascas são preparadas,

na forma de chá, para o tratamento de câncer, tumores, verrugas, sífilis e leucemia (BRATTI et al., 2013).

A realização de análises de espécies vegetais com a potencialidade de se tornarem possíveis fitoterápicos são de extrema importância para a prospecção de moléculas potencialmente úteis no tratamento de doenças. Pelo fato de serem poucos os estudos relacionados com *C. floribundus*, parâmetros científicos que determinem o controle de qualidade das cascas caulinares dessa espécie são essenciais, sendo este o objetivo do presente estudo.

Materiais e métodos

Cascas caulinares de *C. floribundus* foram coletadas em abril de 2016 (autorização IBAMA-SISBIO nº 11995-6), no campus da Universidade Estadual de Maringá (23º24'24" W, 51º56' S) e depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM#30778).

Realizaram-se as seguintes análises: organoléptica segundo Oliveira et al. (2014); granulométrica; reações químicas de caracterização para alcaloides, glicosídeos cardiotônicos e saponínicos, flavonoides, antracênicos, taninos, lactonas sesquiterpênicas, cumarinas e fenólicos simples, além de análises quantitativas relacionadas com o teor de polifenóis totais e de metilxantinas. Também foram determinados os parâmetros de pureza, resíduo seco e o teor de umidade (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

As cascas secas e cominuídas de *C. floribundus* (20 g) foram extraídas por turbólise (15 min), utilizando-se os seguintes solventes em proporção volumétrica: água; etanol:água (1:1, 7:3 e 9,5:0,5); metanol; metanol:água (1:1); acetato de etila; diclorometano e acetona:água (7:3), na proporção 1:10 (p/v). Em seguida, os extratos foram filtrados e o volume completado para obtenção dos extratos brutos (EBs). Os EBs foram concentrados sob pressão reduzida e liofilizados. Com os extratos foram realizadas as determinações do resíduo seco e da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), segundo Sousa et al. (2007), com o objetivo de determinar o melhor solvente extrator. No método de DPPH em microplaca, 1 mg de cada EBs foram diluídos em metanol grau HPLC, obtendo-se a solução mãe (SM) na concentração de 1 mg/mL. Após, realizou-se a diluição seriada das SM, obtendo-se as concentrações de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 (µg/mL). Utilizaram-se os controles negativo (metanol e solução de DPPH 130 µM) e positivo (vitamina C e Trolox), utilizando somente metanol como branco. As leituras foram realizadas em leitor de microplacas (BioTek, Epoch 2) à 517 nm.

Para o fracionamento do EB de acetona 70% foi realizado o método de Cromatografia Líquida à Vácuo (CLV) (sílica gel 60, mesh 70-230), fase móvel (v/v): *n*-hexano; *n*-hexano:acetona (7:3 e 1:1); acetona; acetona:metanol (7:3 e 1:1) e metanol. As frações foram monitoradas com cromatoplasmas de sílica gel GF₂₅₄ (CCD), observadas sob luz ultravioleta (254 e 365 nm), e reveladas com *p*-anisaldeído sulfúrico 0,5% (v/v). As fases

móveis foram acetato de etila:ácido fórmico:água (9,6:0,2:0,2, v/v) e acetona:clorofórmio:ácido fórmico:água (7:2:0,5:0,5, v/v).

Resultados e Discussão

As cascas de *C. floribundus* apresentaram face externa de coloração cinza e face interna rosada, odor característico de mentol e cânfora, e sabor amargo. Nas análises relacionadas com a determinação do controle de qualidade, as cascas de *C. floribundus* apresentaram $3,97\% \pm 0,19$ (CV%4,78) de cinzas totais e $10,21\% \pm 0,21$ (CV%2,14) de umidade. A análise granulométrica das cascas revelou fragmentos com diâmetro médio de 0,3 mm.

Nas análises qualitativas indicaram a presença de taninos condensados, glicosídeos saponínicos e lactonas sesquiterpênicas. Os taninos são compostos classificados como hidrolisáveis e condensados, facilmente oxidáveis em soluções alcalinas, formando complexos com metais pesados e possuindo a capacidade de precipitar substâncias proteicas. Já os glicosídeos saponínicos são originados a partir da via do acetato, possuem característica de tensoativo, formando espuma persistente, mesmo com adição de ácido. Nas análises qualitativas de identificação de metabólitos secundários foram utilizadas, de forma comparativa, plantas que comprovadamente contém os metabólitos analisados, evitando dessa forma, falsos positivos.

Na determinação do teor de metilxantinas, a casca caulinar apresentou 0,0177 g de cafeína/g de droga vegetal (DV). Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante presente nos tecidos vegetais. A técnica de determinação do teor de polifenóis totais se baseia na redução do reagente de Folin-Ciocalteu pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul que absorve a luz entre o comprimento de onda 620-740 nm. O teor de polifenóis totais encontrado nas cascas de *C. floribundus* foi de 53 mg de pirogalol/g DV.

Após produção dos EBs da casca caulinar de *C. floribundus* com solventes de polaridade crescente, determinou-se a acetona 70% como o melhor líquido extrator, por apresentar maior teor de resíduo seco (0,30 g RS/g DV) e melhor capacidade antioxidante, com IC_{50} de $24,47\mu\text{g/mL} \pm 0,46$ (CV%1,90). As seis frações obtidas após a aplicação de 5,04 g de EB de acetona 70% e realização do método de CLV foram monitoradas por CCD e reveladas com *p*-anisaldeído 0,5%. Depois de liofilizadas, calculou-se o rendimento de cada fração, obtendo-se um rendimento final de 99,28%. Estas frações serão trabalhadas com o propósito de isolamento de substâncias químicas, que servirão ao controle físico-químico de qualidade do extrato e da droga vegetal.

Conclusões

Com as análises qualitativas foi evidenciada na casca caulinar de *C. floribundus* a presença de taninos condensados, saponinas e lactonas

sesquiterpênicas. Nos testes quantitativos foi detectada uma baixa concentração de metilxantinas e um teor considerável de polifenóis. A cromatografia líquida à vácuo mostrou ser um método rápido e eficaz de fracionamento do extrato bruto acetona 70%, o qual apresentou melhor capacidade antioxidante e maior teor de resíduo seco.

Com os resultados obtidos foi possível determinar a qualidade das cascas caulinares de *C. floribundus*, a qual pode ser utilizada em demais estudos fitoquímicos, visando uma melhor compreensão dos metabólitos presentes e do potencial biológico desta espécie.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq, CAPES e Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Referências

BRATTI, C.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A.H.; OLIVEIRA, A.P.A.; MARAFIGA, B.G.; FERNANDES, S.S.L. Levantamento de plantas medicinais nativas da Fazenda Azulão em Dourados-MS. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 675-683, 2013.

Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5. ed. Brasília: Anvisa, v. 1 e 2, p. 546 e 904, 2010.

OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M.K. **Farmacognosia**, identificação de drogas vegetais. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; JIMENEZ, J.P.; CALIXTO, F.D.S. **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Comunicado Técnico Embrapa, v. 127, p. 1-4, 2007.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.S.; ARAÚJO, D.S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n.2, p. 351-355, 2007.