EFEITO DA SAZONALIDADE E IDADE DA PLANTA NO PERFIL CROMATOGRÁFICO, TEOR DE MARCADORES DO EXTRATO SECO DAS FOLHAS DE ALEURITES MOLUCCANUS (EUPHORBIACEAE)

Gustavo Santin Schneiker, Tainara Myreli Pressi, Otto Mauricio Santos Gerlach, Rene Artur Ferreira, Jose Roberto Santin, Valdir Cechinel Filho, Tania Mari Belle Bresolin

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Medicinais

Introdução: Aleurites moluccanus (L.) Willd., Euphorbiaceae, é uma árvore exótica, introduzida no Brasil na década de 1920, proveniente da Ásia, conhecida como nogueira-da-índia (1). Suas folhas são utilizadas na medicina popular para tratar dores, febre, asma, hepatite, úlcera gástrica e processos inflamatórios em geral (2). Esta espécie foi alvo de um projeto em parceria Universidade x Empresa, tendo sido recentemente licenciada sua patente, concedida pelo INPI em janeiro de 2021, para um laboratório de fitoterápicos brasileiro (2). Os estudos prévios demonstraram a aprovação o extrato seco em estudos clínicos de Fase I (2). Este projeto em parceria com a indústria farmacêutica está em andamento, para a continuidade dos estudos clínicos de Fase II e III, visando, especialmente, a desenvolver um novo local de plantio, além de empregar folhas de árvores antigas e mais jovens de uma Fazenda em Tijucas (SC). O novo plantio foi iniciado em 2019, no município de Camboriú (SC), empregando cultivo orgânico. Estudos sazonais anteriores mostraram que o inverno era a melhor estação para coletar as folhas, porém as amostras foram examinadas somente quanto à atividade antinociceptiva (2). Portanto, o presente trabalho visa a comparar as características das amostras provenientes de árvores antigas, jovens e novas, de dois locais distintos, quanto ao rendimento, perfil cromatográfico, caracteres macroscópicos e características físico-químicas, a fim de subsidiar a futura coleta em escala industrial para a produção de um novo fitoterápico.

Objetivos: Comparar amostras sazonais de folhas de Aleurites moluccanus provenientes de árvores jovens, adultas e recém-plantadas, em dois locais distintos, em Santa Catarina.

Metodologia: As amostras de A. moluccanus utilizadas no presente trabalho foram denominadas como V (verão), O (outono), I (inverno) e P (primavera), quanto à idade das plantas, foram denominadas: 1 (plantas velhas, de >10 anos), 2 (jovens, 6 a 8 anos) e 3 (novas, cerca de 2-3 anos). No verão de 2022, foram coletadas duas amostras em Tijucas (SC): V1 e V2, e 1 amostra em Camboriú (SC): V3. A coleta de amostras se repetiu nas estações subsequentes da mesma forma que o verão, sendo: O1, O2 e O3 para outono; I1, I2 e I3 para inverno; P1, P2 e P3 para primavera. Primeiramente, foi analisado o rendimento do material fresco e, após, secagem em estufa de ar circulante a 35°C durante sete dias, bem como o rendimento do extrato seco liofilizado após 48 horas de liofilização. Foi analisado o aspecto morfológico das folhas, a perda por dessecação (PD) e cinzas totais (CT). Foi realizada a análise do perfil e teor de 3-O-ramnosilswertisina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), conforme metodologia previamente validada (3).

Resultados: A droga vegetal (folha e pecíolo) apresentou variação de acordo com a idade da planta: quanto mais velha a planta, menor a folha e o pecíolo, e menos glóbulos presentes na folha. O rendimento do material seco foi de 31,1; 35,0 e 31,0% para V1, V2 e V3, respectivamente. No outono, foi de 36,1; 37.0 e 25,6%, para O1, O2 e O3, respectivamente; no Inverno, foi de 30,8; 33,1 e 31,4% para I1, I2 e I3, respectivamente, enquanto na Primavera, foi de 29,3; 32,4 e 29,5 para P1, P2 e P3, respectivamente. O rendimento variou de 25,6-37%, sendo que, para a folha cultivada em Camboriú, o rendimento foi similar em todas as estações do ano, levemente inferior no outono. O rendimento do extrato liofilizado foi de 1,1; 0,8 e 1,5% para V1, V2 e V3, respectivamente, 0,2; 9,7 e 1,8% para O1, O2 e O3, respectivamente; de 2,3; 0,1 e 0,72% para I1, I2 e I3, respectivamente e, finalmente, para a primavera foi de 1,0; 1,1 e 1,5% para P1, P2 e P3, respectivamente. O rendimento foi bastante variável, de 0,2-2,3%, exceto para uma das amostras que demonstrou um comportamento diferenciado em uma das estações do ano e não apresentou secagem adequada. De modo geral, a amostra cultivada em Camboriú apresentou um rendimento superior, especialmente no outono. As CT foram em média de 6,9; 9,5 e 6,9% para V1, V2 e V3, respectivamente, Para outono: 10,2; 9,6 e 7,5% para O1, O2 e O3, respectivamente. Para o Inverno: 8,1; 9,8 e 8,7% para I1, I2 e I3, respectivamente. Para a Primavera: 9,3; 11,3 e 8,1% para P1, P2 e P3, respectivamente. O percentual de CT variou de 6,9-11,3% entre as amostras, sendo a planta jovem a que mostrou maior teor de CT. As folhas velhas e novas mostraram valores similares. A PD foi em média 13,7; 13,9 e 15% para V1, V2 e V3, respectivamente. Para o outono: 15,6; 15; 17,1% para O1, O2 e O3, respectivamente. Para o Inverno: 13,2; 12 e 13,0% para I1, I2 e I3, respectivamente. Para a primavera: 13,8; 12,8 e 13,2% para P1, P2 e P3, respectivamente. O PD variou de 12-17,1% e a planta nova (Camboriú) apresentou maior umidade em relação às demais, em todas as estações do ano. Na análise por CLAE, foi revelado um perfil cromatográfico similar entre as amostras, nas diferentes estações do ano, com teor obtido de 0,72; 0,35 e 0,49% para V1, V2 e V3 respectivamente; 0,72; 0,29 e 0.79% para O1, O2 e O3 respectivamente; 0,4; 0,38 e 0,34% para I1, I2 e I3, respectivamente; 0,87; 0,69 e 0,54% para P1, P2 e P3, respectivamente. O teor das folhas mais antigas foi superior ao das demais em todas as estações do ano. As plantas novas, cultivadas em Camboriú mostram um teor similar ao das antigas no outono e inverno, sendo o outono a estação que apresentou o maior teor do marcador 3-O-ramnosilswertisina.

Considerações finais: O presente estudo demonstrou que a idade das árvores afetou a forma e o tamanho das folhas de A. molucannus. O rendimento de secagem das folhas e pecíolos foi maior no outono, para o material mais velho. A perda por dessecação foi superior na amostra de Camboriú, especialmente no outono. A amostra que mais apresentou cinza foi a amostra jovem de inverno. Os resultados da CLAE demonstraram que o maior teor encontrado foi na primavera para a amostra mais antiga e no outono, para as plantas novas, cultivadas há cerca de três anos, que já apresentam um teor de marcador similar ao das plantas antigas. Este estudo deve ser aprofundado, incluindo o biomonitoramento da atividade anti-inflamatória in vitro das amostras, a fim de definir a(s) estação(ões) do ano mais indicada(s) para a coleta do material vegetal.

Financiamento ou apoio: Art 170 Governo Estado de SC (Bolsa GSS), Laboratório Farmacêutico Eurofarma (São Paulo, Brasil), FINEP/MCT (Financiadora de Estudos e Projetos/Ministério da Ciência e Tecnologia) (n. 01.05.0812.00), CNPq (Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia), MS/DECIT (Ministério da Saúde/ Departamento de Ciência e Tecnologia da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos), CT-BIOTEC (Fundos Setoriais de Biotecnologia) e CT-Saúde (Fundos Setoriais de Saúde (Edital Bioinova n. 551023/2007-4), Laboratório Herbarium (Colombo, PR).

Referências

1) LORENZI, H. Árvores exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2003. 368 p. ISBN: 8586714194. 2) BRESOLIN, T. M. B et al. Desenvolvimento de fitoterápicos a partir das folhas da nogueira-da-índia (Aleurites moluccanus): relato de experiência de parceria entre uma universidade comunitária e indústrias farmacêuticas nacionais. Fiocruz - Instituto de Tecnologia em Farmacos. Revista Fitos, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 538-546, 2020. 3) CESCA, T. G. et al. Validation of Stability Indicating HPLC method for the major flavonoids in the of spray dryer leaf extract of Aleurites moluccana L. Willd. Curr Pharm Anal, v. 8 n. 4, p. 349-359, 2012. ISSN: 1875-676X.