



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



Trabalho de Licenciatura

**ESTUDO FITOQUÍMICO DA PLANTA
MEDICINAL *Aloe marlothii***

Autor: António Arnaldo Tchambule

Maputo, Outubro de 2011



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



Trabalho de Licenciatura

**ESTUDO FITOQUÍMICO DA PLANTA
MEDICINAL *Aloe marlothii***

Autor: António Arnaldo Tchambule

Supervisor: Prof. Dr. Victor Sevastynov

Maputo, Outubro de 2011

Declaração

Declaro que este trabalho de fim do curso é o resultado da minha investigação e nunca foi apresentado na sua essência para quaisquer fins, estando indicadas no texto e nas referências bibliográficas todas as fontes por mim consultadas.

Autor

.....
(António Arnaldo Tchambule)

Maputo, Outubro de 2011

DEDICATÓRIA

À minha família, especialmente à minha
mãe Verónica, ao meu irmão Arnaldo e à
minha irmã Alzira

AGRADECIMENTOS

A Deus por me ter chamado à existência e pelo seu incondicional amor divino;

Ao meu supervisor, o Prof. Dr. Victor Sevastynov que me acompanhou durante a realização deste trabalho e me despertou interesse pela fitoquímica;

A todos os professores do Departamento de Química que de forma directa ou indirecta contribuíram para a minha formação;

A minha mãe Verónica pelo materno carinho, pelos marcantes sacrifícios feitos para a minha formação humana e académica;

A todos os meus irmãos e minhas irmãs pela comunhão, convívio e partilha da vida.
Um agradecimento especial ao Arnaldo, que serviu de força motriz, inspiração e exemplo para mim;

Aos amigos, colegas e familiares que de forma directa e indirecta me apoiaram na realização do trabalho.

Um agradecimento especial vai dirigido aos amigos e colegas, Evaristo, Moisés, Hélio, Dércio, Saquia, Benildo, Soraya, Alda e Nilsa.

RESUMO

O trabalho está focado no estudo fitoquímico da planta medicinal *Aloe marlothii*, conhecida em Ronga, uma das línguas faladas na região sul de Moçambique, por *mangane*. A planta ocorre principalmente em Moçambique, África do Sul, Botswana e Zimbabwe e é muito usada na medicina tradicional como um meio alternativo para cuidados médicos das comunidades rurais de baixo poder aquisitivo. Dentre as actividades biológicas e farmacológicas que a planta exhibe, destacam-se as actividades purgativa, antiinflamatória e analgésica. É também usada no tratamento de gonorreia e sífilis e para fomentar a fertilidade feminina.

A planta representa uma fonte rica de compostos químicos altamente activos que conferem um grande espectro de actividades biológicas e farmacológicas que justificam o seu sucesso na medicina tradicional. Tais compostos, elaborados nas folhas e raízes, incluem antronas, antraquinonas, cromonas, alcalóides e flavonóides.

Os extractos brutos usados no presente estudo fitoquímico de *Aloe marlothii* foram obtidos a partir de folhas frescas extraídas por maceração e folhas secadas a 55⁰C, pulverizadas e extraídas por soxhlet. Os extractos brutos obtidos foram submetidos a cromatografia em coluna monitorada pela cromatografia em camada fina. Os ensaios qualitativos realizados com os extractos brutos foram positivos para as antronas, antraquinonas, alcalóides e flavonóides. Por técnicas cromatográficas, nomeadamente a cromatografia em coluna e a cromatografia em camada fina, isolaram-se as fracções de aloína *Rf* 0.58, aloeresina *Rf* 0.65 e homonataloína *Rf* 0.75, que após secagem resultaram em sólidos amorfos amarelos. A sua caracterização foi feita pela cromatografia em camada fina e pelos espectros no infravermelho.

Palavras chaves: *Aloe marlothii*; antraquinonas, antronas, alcalóides, cromonas, flavonoides, aloína; aloeresina; homonataloína.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJECTIVOS.....	4
2.1 Objectivo geral.....	4
2.2 Objectivos específicos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Género Aloe.....	5
3.2. Algumas espécies do género <i>Aloe</i> encontradas em Moçambique	6
3.3. Fitoquímica do género Aloe.....	8
3.3.1. Antronas.....	8
3.3.2. Antraquinonas.....	9
3.3.3. Flavonóides.....	12
3.3.4. Alcalóides	14
3.4. Métodos de análise química do género Aloe.....	16
3.5. Espécie <i>Aloe marlothii</i>	17
3.6. Compostos isolados e identificados em <i>Aloe marlothii</i>	18
3.6.1. Aloína.....	23
3.6.2. Actividade Biológica da Aloína.....	25
3.6.3. A aloína acelera a oxidação do etanol no organismo.....	26
3.6.4. Antraquinona: Aloe-emodina.....	28
3.6.5 Actividade biológica de aloe emodina.....	28
3.6.6. Aloeresina	29
3.6.7. Actividade biológica da Aloeresina.....	29
3.7. Biossíntese	30
3.7.1 Biossíntese das antronas	31
3.7.2 Biossíntese das antraquinonas.....	32
3.7.3 Biossíntese de flavonóides.....	33
3.7.4 Biossíntese de alcalóides.....	34
4. PARTE EXPERIMENTAL	36
4.1. Materiais e Equipamentos.....	36

4.2. Local de colheita de amostra.....	36
4.3. Identificação Botânica	37
4.4. Extração do material vegetal.....	37
4.4.1. Extração por Maceração.....	37
4.4.2. Extração por Soxhlet.....	38
4.5. Ensaio qualitativos	39
4.5.1 Ensaio de identificação de antronas e antraquinonas.....	39
4.5.2 Ensaio de identificação de flavonóides.....	39
4.5.3 Ensaio de identificação de alcalóides	39
4.6. Fraccionamento do extracto bruto por Cromatografia em Coluna	40
5. INQUÉRITO ETNOBOTÂNICO	42
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
7. CONCLUSÕES	51
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica do género Aloe em África	5
Figura 2. Espécies <i>Aloe</i> nativas do Sul de Moçambique.....	7
Figura 3. Núcleo fundamental das antronas.....	8
Figura 4. Conversão de antronas em antraquinonas.....	9
Figura 5. Dicetona do antraceno: núcleo fundamental das antraquinonas.....	9
Figura 6. Relação estrutura – actividade laxativa das antronas.....	10
Figura 7. Estrutura da aloe emodina.....	10
Figura 8. Ensaio de Borntrager para a identificação das antronas.....	11
Figura 9. Núcleo fundamental dos flavonóides.....	12
Figura 10. Gel e o látex (exsudato) das folhas de <i>A. marlothii</i>	18
Figura 11. Estruturas dos compostos identificados em <i>A.marlothii</i>	22
Figura 12. Diastereómeros da aloína.....	23
Figura 13. Metabolismo da aloína administrada oralmente.....	24
Figura 14. Perfil farmacofórico da aloína e da doxiciclina.....	26
Figura 15. Oxidação do etanol e redução de quinona pela troca efectiva de NAD ⁺ e NADH	27
Figura 16. Aloe emodina.....	28
Figura 17. Estrutura da aloeresina.....	29
Figura 18. Rota biossintética das antronas via acetil coenzima A.....	31
Figura 19. Rota biossintética de antraquinonas via ácido succilbenzóico.....	32
Figura 20. Rota biossintética de flavonóides.....	33
Figura 21. Aminoácidos e bases que dão origem a alcalóides.....	34
Figura 22. Rota biossintética dos alcalóides derivados da fenilalanina e tirosina.....	35
Figura 23. Localização de Goba.....	36
Figura 24. Esquema da extracção e fraccionamento dos extractos das folhas de <i>A. marlothii</i>	41
Figura 25. Aloína.....	45
Figura 26. Espectro da aloína.....	46
Figura 27. Aloeresina	46
Figura 28. Espectro da aloeresina.....	47
Figura 29. Homonataloína.....	47
Figura 30. Espectro da Homonataloína.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Classificação taxonómica da espécie <i>Aloe marlothii</i>	17
Tabela 2. Lista dos compostos (1970-2000) identificados em <i>Aloe marlothii</i>	19
Tabela 3. Resultados do fraccionamento do extracto de Soxhlet	44
Tabela 4. Resultados do fraccionamento do extracto de maceração	44
Tabela 5. Resultados dos ensaios qualitativos.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

A.	Aloe
Ac	Acetil
ATPase	Adenosina trifosfatase
CC	Cromatografia em coluna
CCF	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DTS	Doenças de transmissão sexual
EPC	Extracto do parénquima clorofiliano
EPR	Extracto do parénquima de reserva
EtOAc	acetato de Etil
HIV	Virus de Imunodeficiência Humana
Rf	Factor de retenção
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IV	Infravermelho
L-Dopa	dopamina
MeOH	Metanol
Me	Metil
MMP	Matrix metalloproteinase
NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido (forma oxidada)
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido (forma reduzida)
PAF	Factor plaqueta-activo
Rf	Factor de retenção
SNC	Sistema Nervoso Central
UV	Ultravioleta
Me	Metil
S-CoA	Acetil coenzima
NADP ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma oxidada)
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato(forma reduzida)

1. INTRODUÇÃO

Devido aos constrangimentos económicos e a fraca rede sanitária, grande parte da população moçambicana e de outros países em desenvolvimento tem a medicina tradicional como fonte primária para os seus cuidados médicos. Mas, mais do que serem uma alternativa para as populações de baixo poder aquisitivo, as plantas medicinais representam uma fonte natural rica em compostos químicos de interesse científico pelas suas altas actividades sobre os sistemas biológicos.

Neste trabalho é apresentado o estudo fitoquímico da planta medicinal da espécie *Aloe marlothii* conhecida em Ronga, língua falada na região sul de Moçambique, por *Mangane*. As partes mais usadas desta planta são as folhas e raízes. Quando cortadas, as folhas tiram um líquido amarelo, de consistência leitosa e sabor amargo que é usado como purgativo, anti-microbiano, analgésico e no tratamento da gonorreia e sífilis, doenças de transmissão sexual conhecidas por *xicandzameto* em Ronga. Para as soluções aquosas, as folhas são cortadas aos pedaços e fervidas em água durante aproximadamente 30 minutos ganhando a coloração vermelha, ou são deixadas em molho até a coloração amarela. A dosagem não é bem definida, mas para adultos tem sido administrada uma colher de sopa e para crianças numa colher de chá.

A planta é bastante conhecida pela sua alta actividade purgativa, podendo causar graves complicações à mulheres grávidas, razão pela qual não é administrada a mulheres grávidas na medicina tradicional. Atendendo e considerando que Moçambique é rico em espécies de plantas medicinais e faz parte dos quatro países com maior ocorrência da espécie de *Aloe marlothii* e apesar desta riqueza, até então foram desenvolvidos poucos estudos fitoquímicos a nível local para a confirmação científica dos seus alegados usos populares. Com base na revisão bibliográfica foi constatado que os níveis de fitoconstituintes nestas espécies varia em função da região, clima e do ambiente em que elas se desenvolvem, por esta razão torna-se importante o estudo desta planta com vista a se obter informações a nível local.

Tendo em conta os argumentos acima trazidos, é de referenciar que dois factores importantes conduziram a escolha desta planta como objecto de estudo para o presente trabalho.

O primeiro factor foi o facto de se notar que apesar de haver carência de estudos científicos, os conhecimentos etnofarmacológicos aliados a fraca rede sanitária em Moçambique fazem com que a espécie *Aloe marlothii* seja usada por grande parte da população de baixo poder aquisitivo como meio alternativo medicinal e um controlo científico é indispensável.

Outro factor importante é o fenómeno mundial de busca por medicamentos naturais aos quais se atribuem de forma enganosa, menos reacções adversas do que os medicamentos industrializados. Estes factores fazem com que do ponto de vista científico esta e outras espécies se tornem bons objectos de estudo e conhecimento científico.

Com isto, pretende-se com o desenvolvimento deste trabalho contribuir para o conhecimento do género *Aloe* em Moçambique, com informações sobre os seus constituintes químicos de suas espécies e para a confirmação científica dos seus alegados usos populares.

2. METODOLOGIA DO TRABALHO

Este trabalho teve como principais fases metodológicas a revisão bibliográfica, trabalho do campo (inquérito) e a análise laboratorial.

Revisão bibliográfica

A revisão bibliográfica consistiu numa primeira fase na selecção da literatura que fala do assunto em estudo dentre uma vasta literatura, de modo a se ter uma visão geral do que já foi feito por outros autores. Com base na revisão da literatura existente, foram sistematizadas as informações fitoquímicas sobre o género e a espécie de *Aloe marlothii* em particular, o seu uso na medicina tradicional, as principais classes de compostos elaborados e as respectivas actividades biológicas e farmacológicas, as técnicas para a análise e isolamento das dos principais fitoconstituintes do género e da espécie.

Trabalho do campo (inquérito)

Passado o processo teórico inicial do trabalho, seguiu-se a fase de pesquisa prática que teve como incidência a recolha de dados no campo. Chegado ao campo e identificado o local da ocorrência da planta, por meio de um inquérito, fez se a recolha dos dados, mas para que isso acontecesse baseou se numa amostra feita de uma forma aleatória simples da própria espécie em estudo. Para a confirmação da espécie em estudo e por se tratar dum trabalho científico seguiu-se a “Identificação Botânica” para evitar o risco de confundir a espécie por ser aparentemente semelhante a várias outras espécies do mesmo género.

Análise laboratorial

A análise laboratorial ou parte experimental, o ponto fulcral desse trabalho, consistiu na preparação do material vegetal para a extracção e obtenção dos extractos brutos usando dois métodos em paralelo, a maceração e soxhlet. Concluída a extracção realizaram-se os ensaios qualitativos e o fraccionamento cromatográfico para o isolamento dos principais constituintes da espécie em questão e a sua caracterização.

2. OBJECTIVOS

2.1 Objectivo geral

- Realizar o estudo fitoquímico das folhas de *Aloe marlothii*

2.2 Objectivos específicos

- Obter os extractos brutos por maceração e soxhlet a partir das folhas de *Aloe marlothii*;
- Realizar testes ensaios qualitativos para identificar os fitoconstituintes nos extractos brutos;
- Fraccionar os extractos brutos pela cromatografia em coluna acompanhada pela cromatografia em camada fina;
- Isolar as fracções com os fitoconstituintes aloína, aloeresina e homonataloína;
- Fazer a caracterização pela espectroscopia no infravermelho das fracções separadas dos grupos dos fitoconstituintes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Género *Aloe*

O termo *Aloe* deriva da palavra árabe *Alloeh* que significa substância brilhante e amarga, em referência ao exsudato ou látex seco excretado a partir das folhas. (Dagne, 2000 e Zonta, 1995). Com cerca de 420 espécies, o género, constitui um dos grupos com maior expressão em África, sendo nativo da África Sub-Sahariana, península da Árabia Saudita e de muitas ilhas da parte Ocidental do Oceano Índico. (Dagne, E, 2000).



Figura 1. Distribuição geográfica do género *Aloe* em África (Botanical Notes, 2009).

As espécies do género *Aloe* são pequenas árvores paucicaules ou arbustos, com folhas suculentas agrupadas em rosetas terminais, dentadas ou espinhosas nas margens. Algumas destas espécies tem 5 m ou mais de altura, mas a maioria são arbustos de 0.5-1.5 m de altura, outras são muito pequenas e medem alguns centímetros. (Van Wyk, 1996). As flores são hermafroditas, com perianto composto por dois conjuntos de três peças florais agrupadas em inflorescências, o fruto é uma cápsula. A espécie mais conhecida é a *Aloe vera*, usada na indústria dos cosméticos, e no tratamento de queimaduras. No passado era usada no tratamento da tuberculose e infecções cutâneas. (Lérias, 2009).

As folhas de plantas do género *Aloe*, produzem dois tipos de produtos medicinais: o exsudato amargo, excretado das células de aloína presentes na zona do pacote vascular e o gel, um sumo presente no centro da folha (*hydrenchyma*) (Burger, 1994). O exsudato é uma droga natural bem conhecida pelos seus efeitos laxativo e catártico e também usada como agente de amargura em bebidas alcoólicas. O gel, devido às suas propriedades hidratantes, é incorporado em vários produtos cosméticos como cremes para a pele, na indústria farmacêutica e como um suplemento dietético em várias bebidas.

O gel de *Aloe* pode entre outras coisas, aumentar a imunidade, melhorar a função do fígado, prevenir a asma e agir como antiinflamatório, anti-úlceras, anti-diabete e agente anti-hipertensão (Davis, 1997 e Reynolds, 1999).

3.2. Algumas espécies do género *Aloe* encontradas em Moçambique

As espécies do género *Aloe* encontram-se distribuídas em quase todo território nacional, podendo ser encontradas no campo e em muitas propriedades privadas. Cinco espécies são conhecidas como nativas da região sul de Moçambique, nomeadamente *A. marlothii*, (“mangane” em Ronga ou Changana) *A. cooperi* (“Jejeje” em Changana), *A. parvibracteata* (“Xitretre” em Ronga), *A. spicata* e *A. arborescens* (“Xitretre” em Ronga). O Herbário do departamento de Ciências Biológicas da Universidade Eduardo Mondlane tem depositado exsiccatas de mais espécies do género *Aloe* como *A. bainesii*, *A. cameronii*, *A. chabaudii*, *A. mauri*, *A. komatiensis*, *A. rhodesiana* e *A. sessiliflora* que podem ser encontradas em Moçambique. (Bandeira, 2006). Na figura 2 estão representadas as espécies nativas da região sul.

Em espécie de *Aloe marlothii*, Moçambique é um dos quatro países com maior ocorrência. A lista inclui também África do Sul, Botswana e Zimbabwe. (Adushan; 2008).



Figura 2. Espécies *Aloe* nativas do Sul de Moçambique: (a) *Aloe marlothii*, (b) *Aloe cooperi*, (c) *Aloe parvibracteata*, (d) *Aloe spicata*, (e) *Aloe arborescens*

3.3. Fitoquímica do género *Aloe*

Devido às propriedades medicinais atribuídas ao género *Aloe*, os químicos interessaram-se em isolar e identificar os compostos responsáveis por essas propriedades curativas. A literatura descreve diversas classes de compostos com importantes actividades farmacológicas e biológicas, como antronas, cromonas, antraquinonas, alcalóides, flavonóides, pironas, cumarinas, glicoproteínas e naftalenos (Dagne, 2000).

3.3.1. Antronas

As Antronas são sem dúvida as mais importantes de todas as classes de compostos presentes na espécie de *Aloe marlothii* e no género *Aloe*. E desta classe o composto mais conhecido é aloína, que ocorre na forma de diastereómeros A e B, que são colectivamente conhecidos como barbaloina por terem sido primeiramente isolados de *Aloe vera*, (antigamente *Aloe Barbados* ou *A. barbadensis*). Acredita-se que esses compostos sejam os responsáveis principais pelas propriedades amargas e purgativas das bem conhecidas drogas comerciais de *Aloe* que são feitas a partir dos exsudatos das folhas de *A. ferox* e *A. vera* (Dagne, 2000). O exsudato das folhas de *Aloe* pode conter até 25% do peso seco. Num universo de 240 espécies de *Aloe*, a barbaloina foi identificada em exsudatos de 85 das espécies examinadas em cerca de 10-25% de concentração. A aloína não só ocorre em espécies do género *Aloe* como também foi identificada em extractos de *Rhamnus purshiana* (Adushan, 2008).

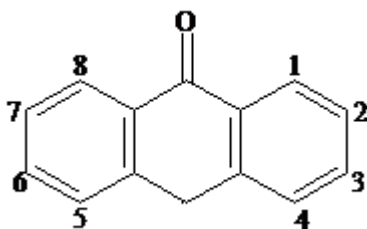


Figura 3. Núcleo fundamental das antronas

3.3.2. Antraquinonas

As antraquinonas são quimicamente definidas como substâncias fenólicas derivadas da dicetona do antraceno:

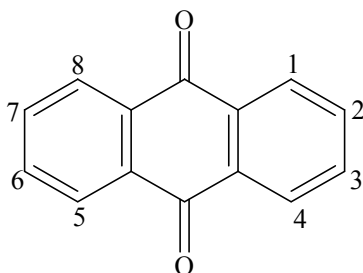


Figura 4. Dicetona do antraceno: núcleo fundamental das antraquinonas

Os derivados antraquinônicos são geralmente compostos alaranjados e solúveis em água quente ou álcool diluído. Podem estar presentes nos fármacos na forma livre ou na forma de glicósidos. As antraquinonas e antronas são caracterizadas farmacologicamente por suas ações laxativa (em pequenas doses) e purgativas (em maiores doses), propriedades atribuídas à presença de dois grupos hidroxilos nas posições C-1 e C-8 e um outro grupo substituinte diferenciado em C-3 (Da Fonte, 2005).

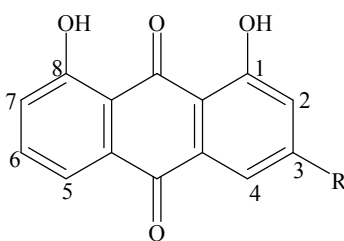


Figura 5. Relação estrutura – actividade laxativa/purgativa das antraquinonas

Laxantes deste tipo bloqueiam a reabsorção de sódio através do bloqueio da enzima *ATPase* dependente de Na^+/K^+ (efeito anti-reabsortivo). Ao mesmo tempo promove, em diferentes condições, a passagem de electrólitos e água na luz intestinal (efeito hidragogo). São também empregados terapêuticamente como catárticos, por irritar o intestino grosso, aumentando a mobilidade intestinal e, conseqüentemente, diminuindo a reabsorção de água (Izzo, 1999).

As antraquinonas são também produzidas por plantas das famílias Polygonaceae, Leguminosae, Rubiaceae e Rhamnaceae. Os derivados das antraquinonas como a aloe-emodina, exercem importantes actividades biológicas incluindo antimicrobiana, anticarcinogénica, antioxidante e são usados como critério para o controlo da qualidade de plantas usadas na medicina tradicional (Izzo, 1999).

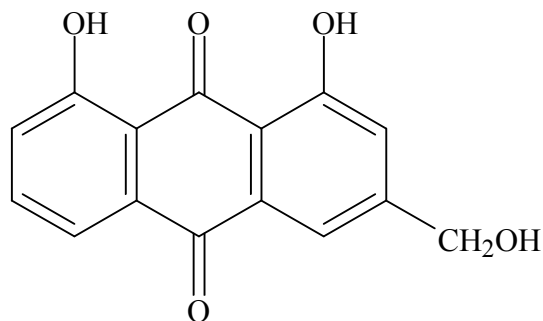


Figura 6. Estrutura da aloe emodina

Relação entre as antronas e antraquinonas

Nas plantas, as antronas são o primeiro grupo que se forma, entretanto são menos estáveis que as antraquinonas. As antronas convertem-se por auto-oxidação ou por reacções enzimáticas (peroxidases e oxidases) em antraquinonas (Van Gorkom, 1999).

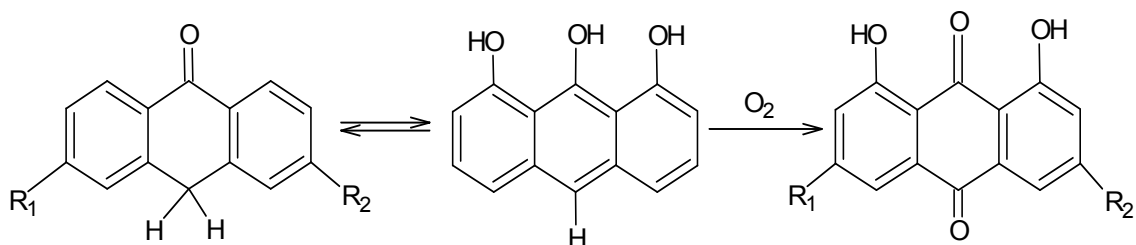


Figura 7. Conversão de antronas em antraquinonas

3.3.2.1. Testes de identificação das antronas e antraquinonas

Reacção de Borntrager

A reacção de Borntrager é frequentemente usada para a detecção de antraquinonas livres, onde a coloração rósea, vermelha ou violeta são desenvolvidas em meio básico. A microsublimação também é empregada para sua caracterização, uma vez que as antraquinonas passam directamente do estado sólido para o gasoso, cristalizando-se sob a forma de agulhas amarelas (Da Fonte, 2005).

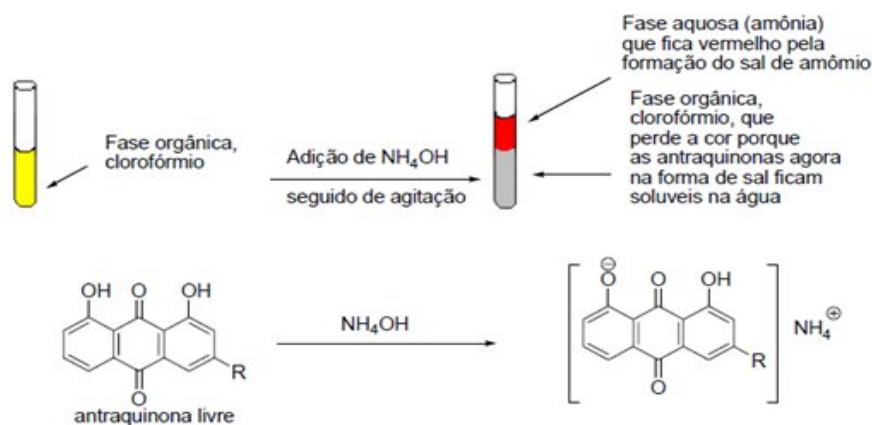


Figura 8. Ensaio de Borntrager para a identificação das antronas (Da Fonte, 2005).

3.3.3. Flavonóides

Os flavonóides estão presentes em várias espécies do género *Aloe*, incluindo *Aloe marlothii*. Num total de 380 espécies examinadas, foram identificados flavonóides em 31 espécies, sendo os compostos mais importantes: a apigenina, dihidroisoramantina, naringenina e isovitexina. (Viljoen, 1998).

Do ponto de vista químico, os flavonóides são compostos aromáticos que contêm 15 átomos de carbono (C15) no seu esqueleto básico. Este grupo de compostos polifenólicos apresenta uma estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos (A e B) e um heterociclo oxigenado (anel C), formando um sistema C6-C3-C6. Os flavonóides compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana. Entretanto, tais compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem actuar sobre os diversos sistemas biológicos (Pietta, 2000).

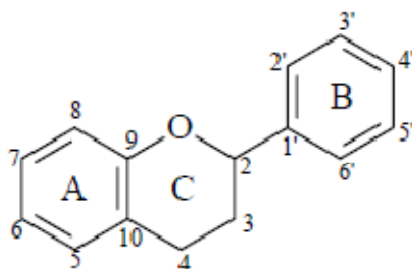


Figura 9. Núcleo fundamental dos flavonóides

3.3.3.1. Propriedades farmacológicas dos flavonóides

Dentre muitas, destacam-se as seguintes propriedades farmacológicas dos flavonóides: actividade antioxidante (esta constitui a actividade mais elucidada pelos estudos até agora desenvolvidos); antiinflamatório, vasodilatador; antialérgica; actividade antitumor, antihipertóxica, antiúlceras, antimicrobiana e antiviral. Pesquisas recentes demonstraram que alguns flavonóides actuam na inibição da replicação do HIV. (Lin, 1997).

3.3.3.2 Testes de identificação de flavonóides

Os flavonóides podem ser reconhecidos experimentalmente mediante testes de ensaios de coloração. A seguir são descritos ensaios gerais de reconhecimento, o de Shinoda, o de cloreto de alumínio e o de cloreto férrico (Martínez, 2005).

Ensaio de Shinoda.

Este ensaio é feito com o ácido clorídrico e Magnésio. Os flavonóides com o núcleo de benzapirona (flavonóis, flavononas flavonas) produzem colorações rosas quando às suas soluções se adiciona Magnésio e clorídrico concentrado. Ainda não se conhece o mecanismo desta reacção mas o ensaio é muito usado para a identificação destas classes de compostos. Observação: o desenvolvimento da cor pode se dar imediatamente ou após algum tempo.

Reacção com o cloreto de Alumínio

Este ensaio pode ser realizado do seguinte modo: sobre um papel de filtro desmarcam-se duas áreas A e B, e depositam-se sobre elas algumas gotas do extracto e espera-se secar. Em seguida coloca-se em uma das áreas uma gota de solução de cloreto de alumínio 5% em etanol. Elimina-se o etanol. Verifica-se o comportamento da substância nas duas áreas frente a luz ultravioleta. A fluorescência indica a presença de flavonóides.

Reacção com cloreto férrico

Em dois tubos de ensaio coloca-se o extracto diluído (cerca de 5 mL) e adiciona-se pela parede de um dos tubos uma gota de cloreto férrico 2%. A confirmação dos flavonóides é feita pelo desenvolvimento da cor que varia entre o verde, amarelo-castanho e violeta conforme o tipo de flavonóides.

3.3.4. Alcalóides

A grande variedade estrutural dos alcalóides não permite uma definição exacta e consistente, entretanto podem ser considerados como compostos orgânicos de origem natural (geralmente vegetal), nitrogenado (com o nitrogénio geralmente endocíclico) derivados geralmente de aminoácidos, de carácter mais ou menos básico, de distribuição restringida com propriedades farmacológicas importantes a doses baixas e que respondem a reacções comuns de precipitação (Acosta, 2008).

3.3.4.1. Propriedades comuns dos alcalóides

- Tem um ou mais nitrogénios endocíclicos no estado terciário;
- Formam precipitados insolúveis com os reagentes seguintes: ácido pícrico, ácido fosfomolibdénico, ácido fosfotungsténico, ácido tánico, reagente de Nerst, $K_2[HgI_2]$;
- São geralmente cristalinos, incolores, não voláteis e insolúveis em água;
- A maioria é opticamente activa e tem sabor amargo;
- Ocorrem na natureza em forma de sais com ácido málico, cítrico ou com glicósidos;
- Todos são extremamente activos fisiologicamente e afectam o sistema nervoso central (SNC), respiratório e tem efeitos tóxicos (Acosta, 2008).

3.3.4.2 Funções dos alcalóides nas plantas

As principais funções nos vegetais são de protecção contra viroses, bacterioses, infecções fúngicas, herbívora. Também actuam como atraentes ou repelentes para outros organismos e conferem resistência ao stress ambiental (Acosta, 2008).

3.3.4.3 Testes para identificação de alcalóides

As técnicas de reconhecimento são baseadas na capacidade que os alcalóides tem, na forma de sais (extractos ácidos), de se combinarem com o iodo e metais pesados como bismuto, mercúrio, tungstênio para formar precipitados; estes ensaios preliminares podem ser realizados no laboratório ou no campo. Na prática, utilizam-se reagentes gerais para detecta-los (Acosta, 2008).

Reagente de Wagner — I₂/KI

A solução de iodo-iodeto de potássio (Reagente de **Wagner**), forma com as soluções aquosas acidificadas dos sais dos alcalóides os precipitados castanhos.

Reagente Mayer — K₂[HgI₄]

Com a maioria dos alcalóides em soluções neutras ou pouco acidas o tetraiodomercurato de potássio, (reagente de **Mayer**), forma os precipitados brancos ou ligeiramente amarelos.

Reagente de Dragendorff – K[BiI₄]

O tetraiodobismutato de potássio forma com os sais clorídricos e sulfatos dos alcalóides, os precipitados amorfos de cor alaranjada-vermelha ou vermelha-castanha.

Reagente de Hager

A solução de ácido pícrico (reagente de **Hager**) a 1%, reage com todos os alcalóides, (excepto a cafeína, colchicina, morfina, teobromina) com formação dos picratos-precipitados de cor amarela.

3.4. Métodos de análise química do género *Aloe*

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia em camada fina, revelaram-se eficazes no estudo das folhas e raízes do género *Aloe*. (Dagne, 2000). A cromatografia em coluna também mostrou-se eficaz no estudo do Género (Adushan, 2008). Os sistemas de solventes EtOAc-MeOH-H₂O (77:13:10) e CHCl₃-MeOH (4:1) são apropriados para análise de constituintes das folhas, e éter de petróleo/CHCl₃ (1:1) e CHCl₃-EtOAc (7:3) para os constituintes das raízes. Placas de cromatografia em camada fina (CCF) desenvolvidos podem ser vistos a luz UV₂₅₄ e UV₃₆₆ (Dagne, 1994).

O sistema de solventes EtOAc-MeOH-H₂O (77:13:10) separa três importantes fracções das folhas na ordem de eluição: homonataloína (RF = 0.75), aloeresina A (Rf = 0.65), aloína (Rf = 0.58). Porém, o principal problema do uso deste sistema é que a água fica contida em cada fracção. E para remove-la é necessária a adição do tolueno para formar uma mistura azeotrópica estável com água, permitindo deste modo uma remoção mais fácil. Temperaturas altas (ponto de ebulição de tolueno é de 110°C) são requeridas para a remoção do solvente, o que arrisca a degradação dos produtos isolados. A substituição da água por acetonitrilo que tem um ponto de ebulição de 81°C e portanto mais volátil, veio resolver o problema. Constatou-se que uma relação de 75:10:2 de acetato de etil (EtOAc), metanol (MeOH) e acetonitrilo (CH₃CN) dispõe um grau de separação altamente comparável ao da mistura que contém água (Adushan, 2008).

A CLAE da fase reversa do extracto metanólico do exsudato das folhas provou ser um dos melhores métodos para estabelecer os perfis químicos em *Aloe*. Considerando que é muito difícil distinguir a aloína A e B por CCF, estes diastereómeros podem ser separados facilmente pela CLAE (Reynolds, 1991).

3.5. Espécie *Aloe marlothii*

Aloe Marlothii é o nome científico da planta conhecida vulgarmente, na região sul de Moçambique pelos nomes: *Mhanga Yiculo* em Ronga ou Changana, *Mbangane* em Chitsope e *Mhang* em Xitswa. Em português é conhecida pelo nome Mangana Grande. (Bandeira, 2006).

Aloe marlothii cresce em populações densas e produz grande inflorescência das folhas coloridas que atraem diversas comunidades de pássaros. Os Aloes são parcial ou completamente polinizadas por aves (Hargreaves, 2008).

Tabela I. Classificação taxonómica da espécie *Aloe marlothii*

Família	Asphodelaceae
Sub família	Alooideae
Gênero	<i>Aloe</i>
Espécie	<i>A.marlothii</i>

A planta é separada em dois produtos básicos: gel e o exsudato ou látex, como mostrado na Figura 10 (Lulinski, 2003). O exsudato ou extracto do parênquima clorofiliano (EPC) é um líquido de consistência leitosa, coloração amarela, sabor amargo e aroma rançoso, que é produzido por células excretoras do mesófilo, localizado logo abaixo da epiderme das folhas (Leung, 1977). O gel ou extracto do parênquima de reserva (EPR) é a polpa da folha ou mucilagem, uma substância clara e pouco consistente, semelhante a uma geleia, obtida do tecido parenquimal que compõe a porção interna da folha (Tyler, 1993).

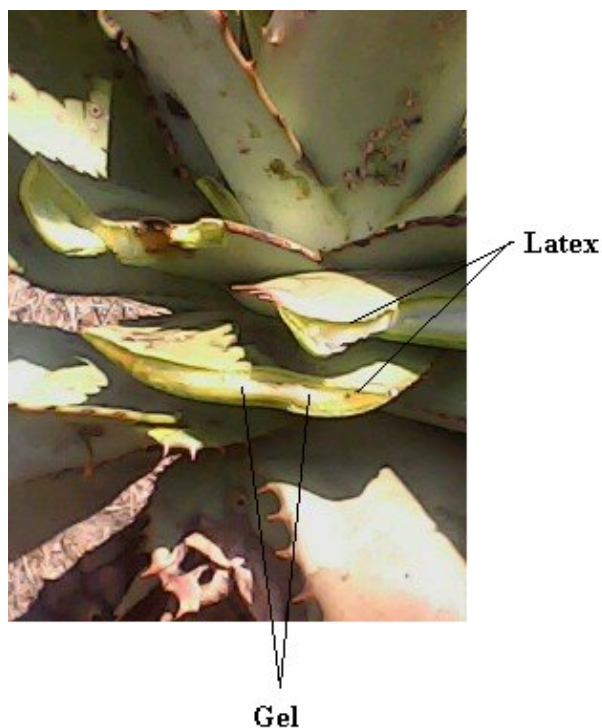


Figura 10. Gel e o látex (exsudato) das folhas de *A. marlothii*

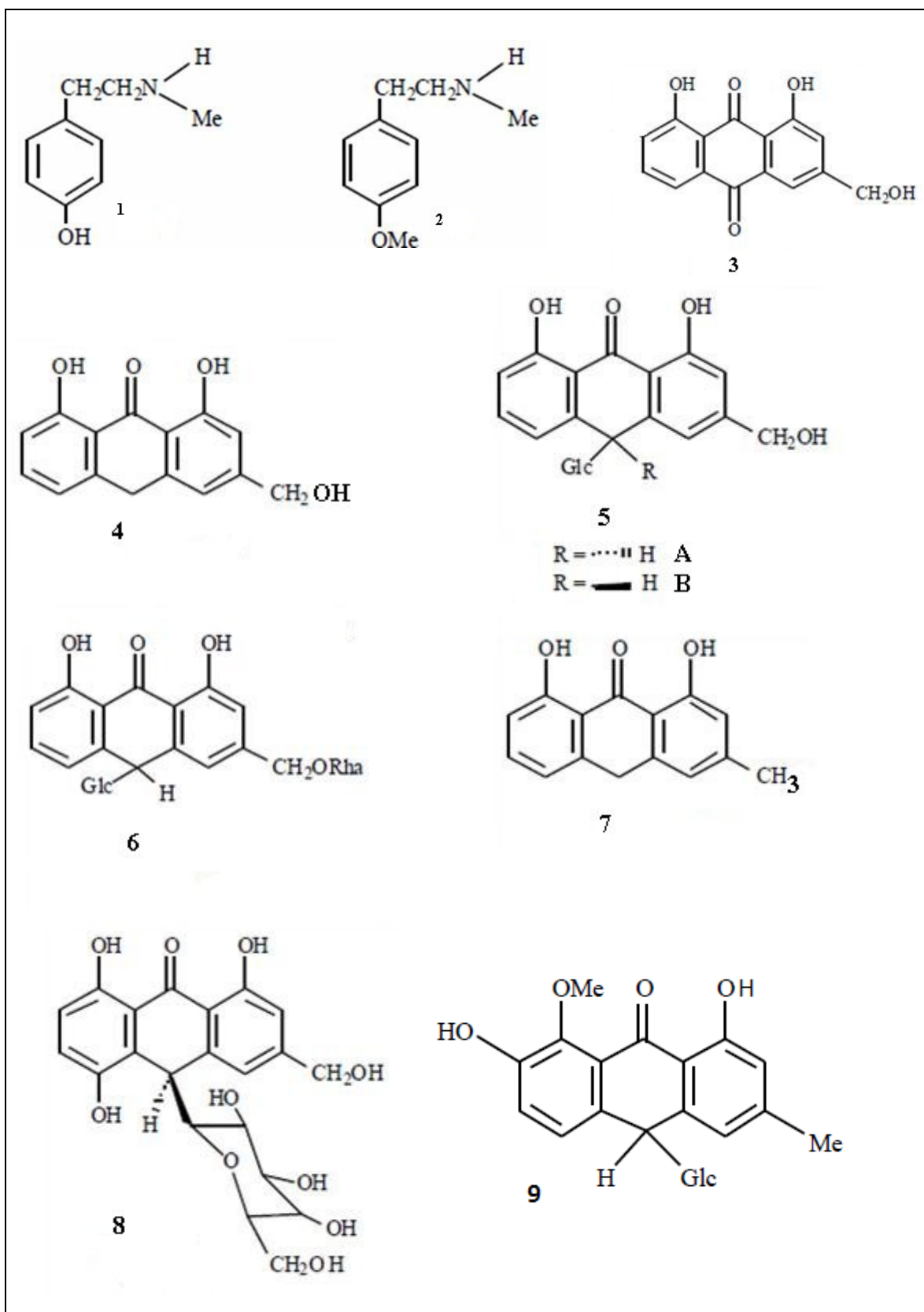
Os principais metabólitos secundários descritos e identificados parénquima clorofiliano (EPC) são os compostos fenólicos do tipo antronas, antraquinonas, flavonóides, alcalóides e cromonas. As antraquinonas são as mais estáveis sendo que a maioria das antronas é relativamente oxidada a antraquinonas. O extracto do parénquima clorofiliano (EPC) é rico em glicósidos das antronas aloína A e B. (Leung, 1977).

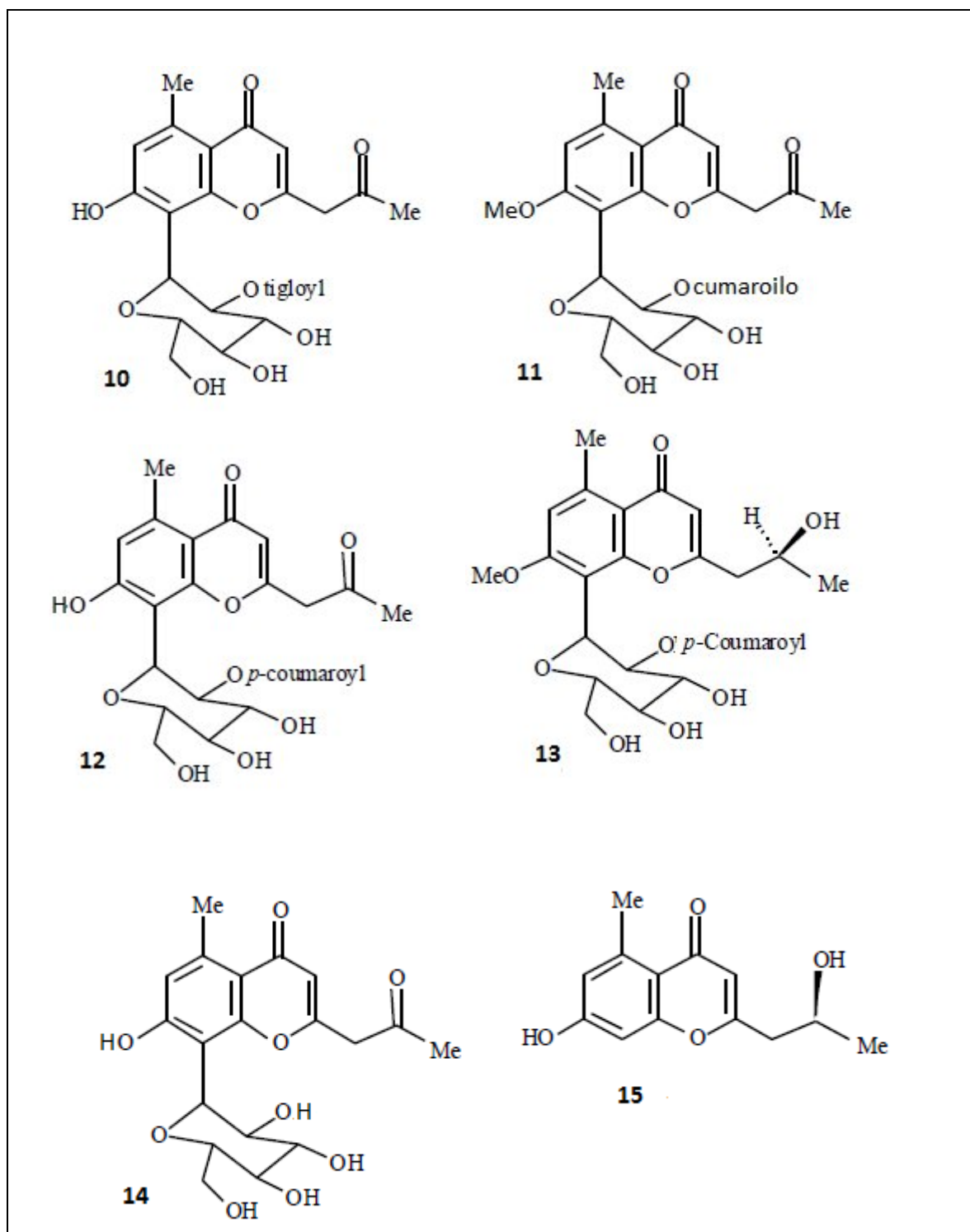
3.6. Compostos isolados e identificados em *Aloe marlothii*

A tabela a seguir apresenta uma lista de compostos elaborados pela espécie de *Aloe marlothii*. Muitos destes compostos ocorrem também noutras espécies do género. Entretanto a 5-Hidroxiclaloína-A-6'-O-acetato e 7-O-Metilaloeresina A foram identificados apenas em *Aloe marlothii* nas espécies analisadas (Dagne, 2000).

Tabela 2. Lista dos compostos (1970-2000) identificados em *Aloe marlothii*

Classe / Compostos	Nº Estrutura	Referência
Alcalóides		
N-Metiltiramina	1	(Nash, R. J 1992)
O,N-Dimetiltiramina	2	(Nash, R. J 1992)
Antraquinona		
Aloe-emodina	3	(Reynolds, T 1985)
Antronas		
Aloe-emodina antrona	4	(Sigler, A 1994)
Aloína A/B (Barbaloína)	5	(Manitto, P, 1990)
Aloinósido A/B	6	(Hörhammer, L 1965)
Crisofanolantrona	7	(Sigler, A 1994)
5-Hidroxilaloína A 6'-O-acetato	8	(Bisrat, D, 2000)
Homonataloína A/B	9	(Rauwald, H. W 1992)
Cromonas		
2'-O-Tigloilaloésina	10	(Conner, J. M. 1990)
7-O-Metilaloeresina A	11	(Bisrat, D, 2000)
Aloeresina A	12	(Gramatica, P, 1982)
Aloeresina D	13	(Conner, J. M 1989)
Aloesina (Aloeresina B)	14	(Haynes, L. J 1970)
Aloesol	15	(Holdsworth, D.K, 1972)
Aloesona	16	(Holdsworth, D.K, 1972)
Flavonóides		
Apigenina	17	(Viljoen, A. M, 1998)
Dihidroisoramanetina	18	(Viljoen, A. M, 1998)
Naringenina	19	(Viljoen, A. M, 1998)
Isovitexina	20	(Viljoen, A. M, 1998)





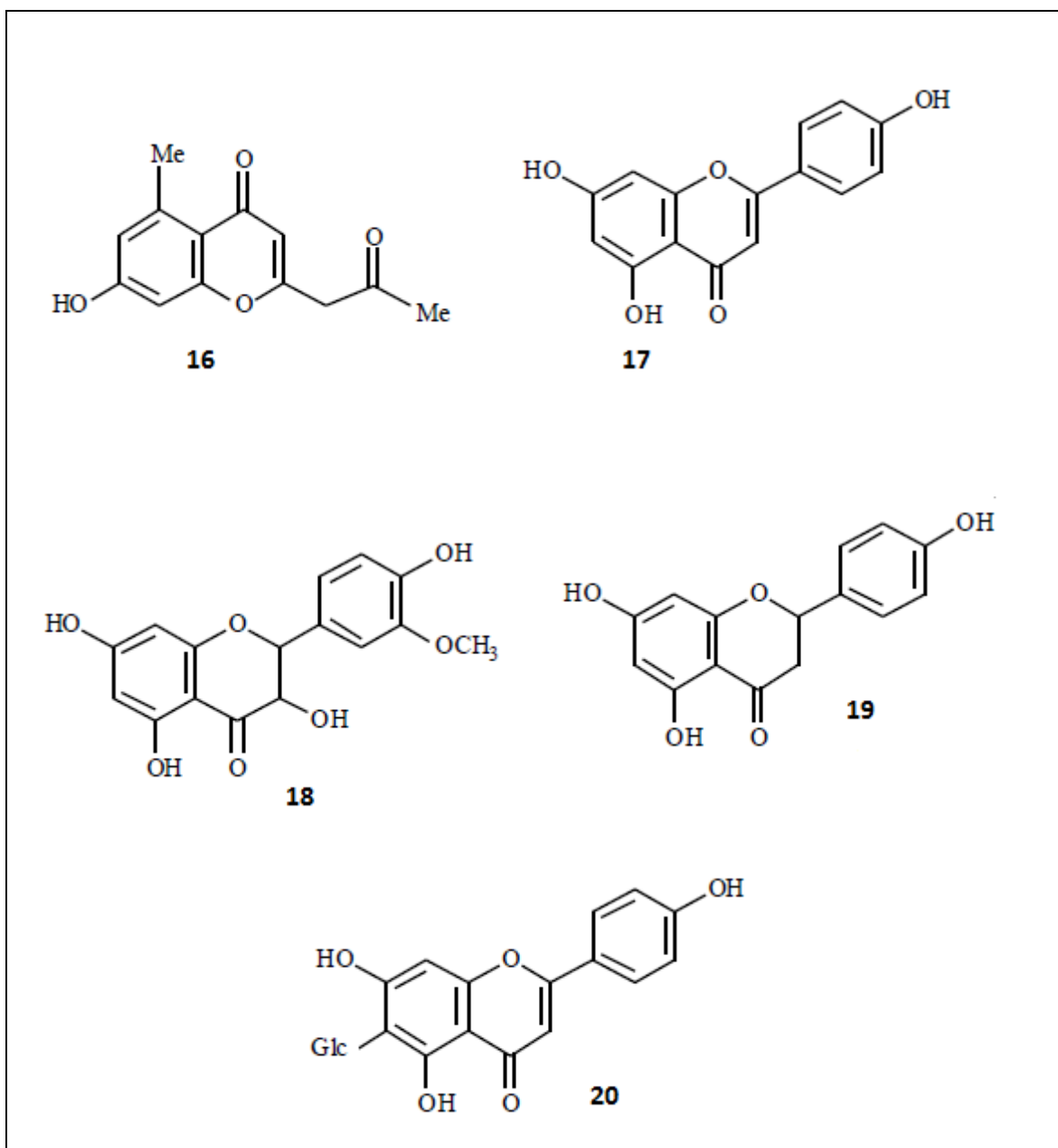


Figura 11. Estruturas dos compostos identificados em *Aloe marlothii*

3.6.1. Aloína

Aloína, de nome IUPAC 10-glucopiranosil-1,8-dihidroxi-3-(hidroximetil) - 9(10H)-antracena, também conhecida por barbaloína, é a principal antrona presente nas folhas das espécies do género *Aloe* incluindo *Aloe marlothii* (Dagne, 2000). O seu teor nas folhas varia de espécie, estação, ano e da idade das folhas. Vários estudos indicam um teor compreendido entre 10 a 25% do peso seco do exsudato das folhas. (Adushan, 2008).

A aloína ocorre naturalmente como uma mistura de diastereoisómeros, aloína **A** (configuração no C₁₀, C_{1'}: S, S) e aloína **B** (configuração no C₁₀, C_{1'}: R, S) que diferem entre si apenas na configuração do carbono 10 (C-10) na molécula da antrona aloemodina. Actualmente, a aloína serve como um dos compostos restritos no controlo de qualidade das espécies do género *Aloe* usados na medicina e na alimentação (Wamer, 2003).

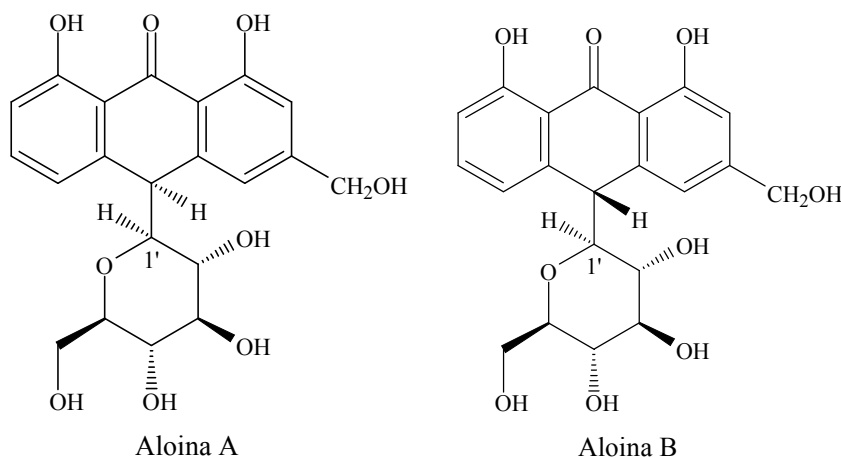


Figura 12. Diastereómeros da aloína

A aloína administrada oralmente é hidrolisada enzimaticamente pela microflora intestinal) para formar aloe emodina antrona que sofre uma auto-oxidação subsequente para formar a quinona, aloe emodina, como mostrado na figura 13. (Chung, 1996).

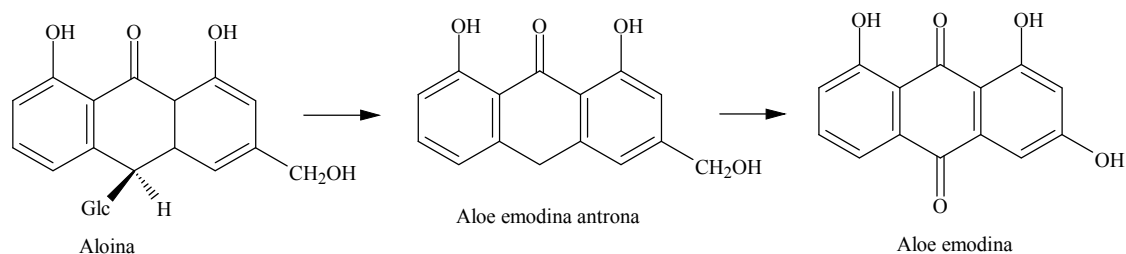


Figura 13. Metabolismo da aloína administrada oralmente

3.6.2. Actividade Biológica da Aloína

A actividade mais bem documentada e conhecida da aloína é a sua acção purgativa. A aloe emodina exerce a sua acção na mucosa colónica, mas seu mecanismo de acção ainda é incerto. Foi também postulado que aloe emodina actua perturbando o equilíbrio entre a absorção de água do lúmen intestinal via transporte de sódio activo e a secreção de água no lúmen. Aloe emodina também estimula a libertação do factor plaqueta-activo (PAF) na mucosa colónica ileal que também contribui para a acção efeito purgativa ([Izzo, 1999](#)).

A aloína mostrou boa actividade inibitória em MMP-8 por um mecanismo inibidor predominantemente não-competitivo. A actividade inibitória de aloína em MMP-8 é comparável com a da tetraciclina doxiciclina modificada que é a enzima inibidora mais poderosa conhecida. O oxigénio do grupo carbonilo no C-12 e do grupo OH no C-11 na estrutura da doxiciclina são essenciais para essa actividade. Comparando as estruturas da doxiciclina e a estrutura de aloína, o grupo carbonilo no C-9, (entre as hidroxilas a C-8 e C-1 na antrona), é consistente com o do perfil farmacofórico e parece razoável para postulado de que a inibição da aloína em MMPs é devido a uma interacção semelhante a que há entre a doxiciclina e MMPs, conforme indicado na figura 15 da página seguinte ([Barrantes, 2003](#)).

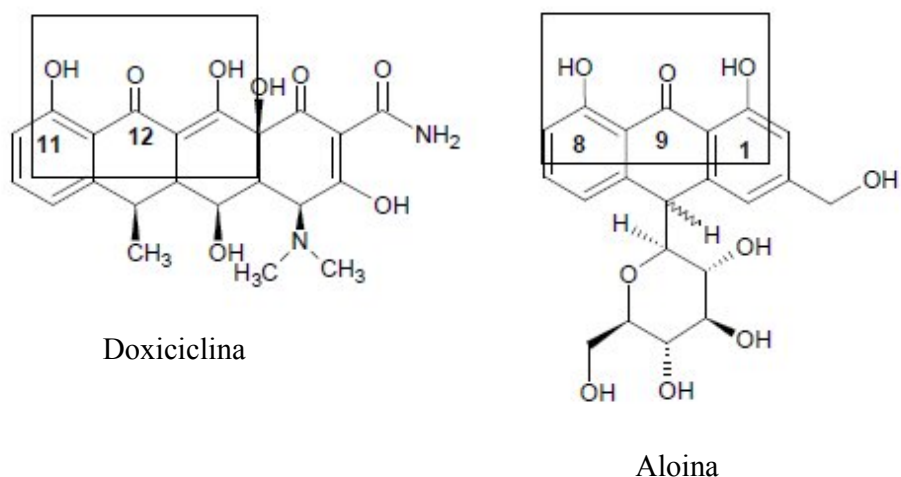


Figura 14. Perfil farmacofórico da aloína e da doxiciclina

3.6.3. A aloína acelera a oxidação do etanol no organismo

Como já foi indicado, a aloína administrada oralmente liberta a aloe emodina, uma quinona. Esta quinona, no fígado aumenta o taxa de oxidação do álcool por uma interação cooperativa entre a quinona reductase e álcool desidrogenase. (Chung, 1996).

O etanol é o álcool mais abusado em todo mundo. Ele é facilmente absorvido e distribuído no organismo e produz, dentre muitos, efeitos tóxicos, depressão do sistema nervoso central (SNC). O organismo elimina o etanol primeiramente por uma oxidação catalizada pela coenzima nicotinamida adenina dinucleótido, NAD^+ (forma oxidada) para formar acetaldeído. Posteriormente o acetaldeído é oxidado para o acetato pela enzima mitocondrial aldeído dihidrogenase. O acetato resultante é usado no ciclo de Krebs que ocorre na mitocôndria para a produção de energia (Chung, 1996).

A oxidação contínua do etanol seguida pela intoxicação do organismo resulta na mudança do estado redox mitocondrial para a sua forma reduzida o que é justificado pelo decréscimo da concentração de NAD^+ para NADH (forma reduzida). Nessas condições a escassez de NAD^+ e a abundância de NADH levam a redução da taxa de oxidação do etanol e da taxa de oxidação dos ácidos gordos no fígado. A acumulação dos ácidos gordos prejudica o fígado (Chung, 1996).

A aloe emodina que resulta do metabolismo da aloína é reduzida a hidroquinona e essa redução ocorre numa direcção oposta a da oxidação do etanol em termos do consumo das coenzimas NAD^+ e NADH . Enquanto o álcool consome o NAD^+ produzindo o NADH , a hidroquinona, consome o NADH e produz NAD^+ como mostra o Figura 16 a seguir (Chung, 1996).

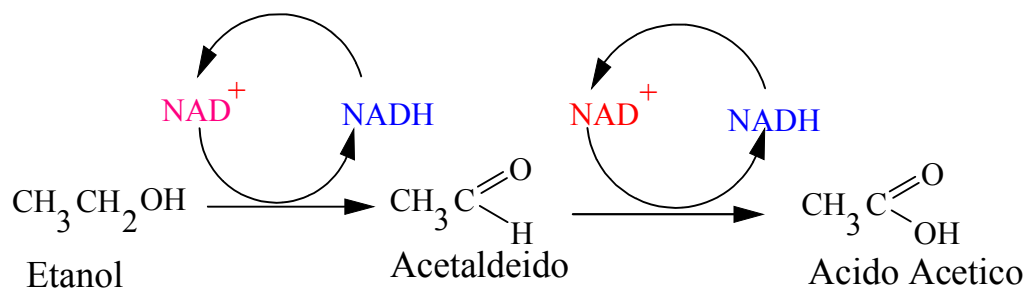


Figura 15. Oxidação do etanol e redução de quinona pela troca efectiva de NAD^+ e NADH para a manutenção de um estado redox normal de hipatocelular citoplásmico.

3.6.4. Antraquinona: Aloe-emodina

Aloe emodina é encontrado em folhas e raízes de muitas espécies de *Aloe* e *Senna*. Esta antraquinona normalmente ocorre em combinação com seus glicósidos ou na sua forma reduzida (antrona). A quantidade de aloe emodina em plantas surge da decomposição oxidativa de seus glicósidos em vez da sua biossíntese directa. Apesar de ser um componente secundário das plantas, muitos estudos tem provado que aloe-emodina é o metabólito activo da aloína e senósidos (Boudreau, 2006).

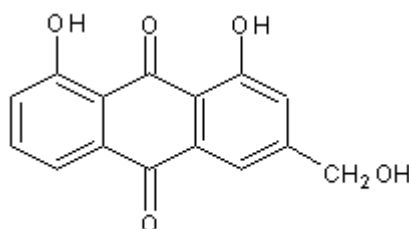


Figura 16. Aloe emodina

3.6.5 Actividade biológica de aloe emodina

A lista das propriedades biológicas de aloe emodina aumenta regularmente a medida que mais estudos são levados a cabo com esta molécula altamente activa. O mecanismo do efeito antiinflamatório de aloe emodina e de outras antraquinonas envolvem uma oxidação (Choi, 2003). Muitas espécies de oxigénio reactivo e reacções mediadas por radicais livres estão envolvidas em respostas inflamatórias. Antraquinonas como aloe-emodina actuam como antioxidantes e combatem muitas destas respostas. A aloe-emodina reduz a inflamação de linfócitos e células de Kupfer no fígado. Pretratamento do fígado com aloe-emodina reduz o dano causado por espécies tóxicas como tetracloreto de carbono. Aloe emodina também exhibe actividade antibacteriana. Aloe-emodina possui actividades contraditórias no crescimento das células. (Choi, 2003).

Apesar de todas estas actividades biológicas promissoras à medicina, as antraquinonas têm também efeitos prejudiciais. Estes incluem efeito genotóxico, mutagénico, e promotores de tumores. Assim uma precaução deveria ser considerada com respeito a antraquinonas, e estudos adicionais precisam ser levados a cabo para definir as actividades de cada componente com mais precisão (Choi, 2003).

3.6.6. Aloeresina

A aloeresina foi primeiramente descrita em 1970 por Haynes e coworkers. Semelhantemente a aloína, a aloeresina tem um açúcar C-glicosídico. A ligação carbono-carbono que liga o açúcar a aglicona é muito forte. Esta cromona é difundida ao longo do género, ocorrendo em cerca de 40% das espécies já examinadas. (Haynes, 1970).

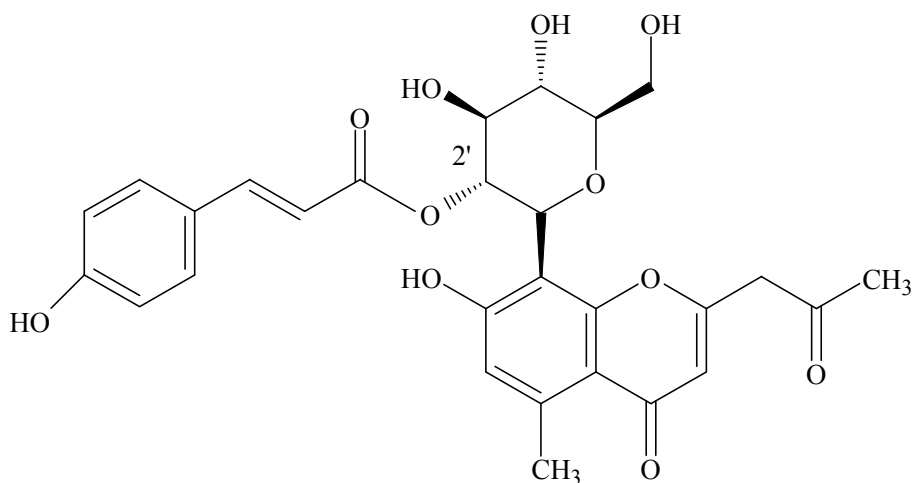


Figura 17. Estrutura da aloeresina

3.6.7. Actividade biológica da Aloeresina

A aloeresina mostra actividade de embranquecimento da pele. Este composto exhibe actividade inibitória contra a enzima tirosinase. A Tirosinase catalisa a conversão de tirosina em dopa, dopaquinona e a subsequente autopolimerização para melanina. A Pigmentação da pele resulta da síntese e distribuição de melanina (Piao, 2002).

3.7. Biossíntese

Há três principais precursores dos metabólitos secundários: ácido chiquímico (ou chiquimato), acaetil coenzima A (ou acetato) e aminoácidos (Simões, 2007).

As antronas e antraquinonas podem ser biossintetizados a partir de unidades de ácido chiquímico ou de acetil coenzima A, (Figuras 18 e 19). Os flavonóides são produtos de origem biossintética mista. Eles são biossintetizados através da rota (ou via) do ácido chiquímico (ou chiquimato) e do acetato (acetil coenzima A) (Figura 20). A via do ácido chiquímico origina derivados do ácido cinâmico com nove átomos de carbono (ou C₆C₃), na forma de coenzima A, e a via do acetato origina um tricetídeo com seis átomos de carbono; a condensação de um dos derivados de ácido cinâmico com o tricetídeo gera uma chalcona com 15 átomos de carbono, que é o precursor inicial de toda a classe dos flavonóides. A partir da chalcona, todos os demais derivados de flavonóides são formados (Simões, 2007).

Os alcalóides possuem origem biossintética a partir das vias do ácido chiquímico ou mevalônico em combinação com diversos aminoácidos e apresentam uma enorme diversidade química, mas de fácil sistematização (Acosta, 2008).

3.7.1 Biossíntese das antronas

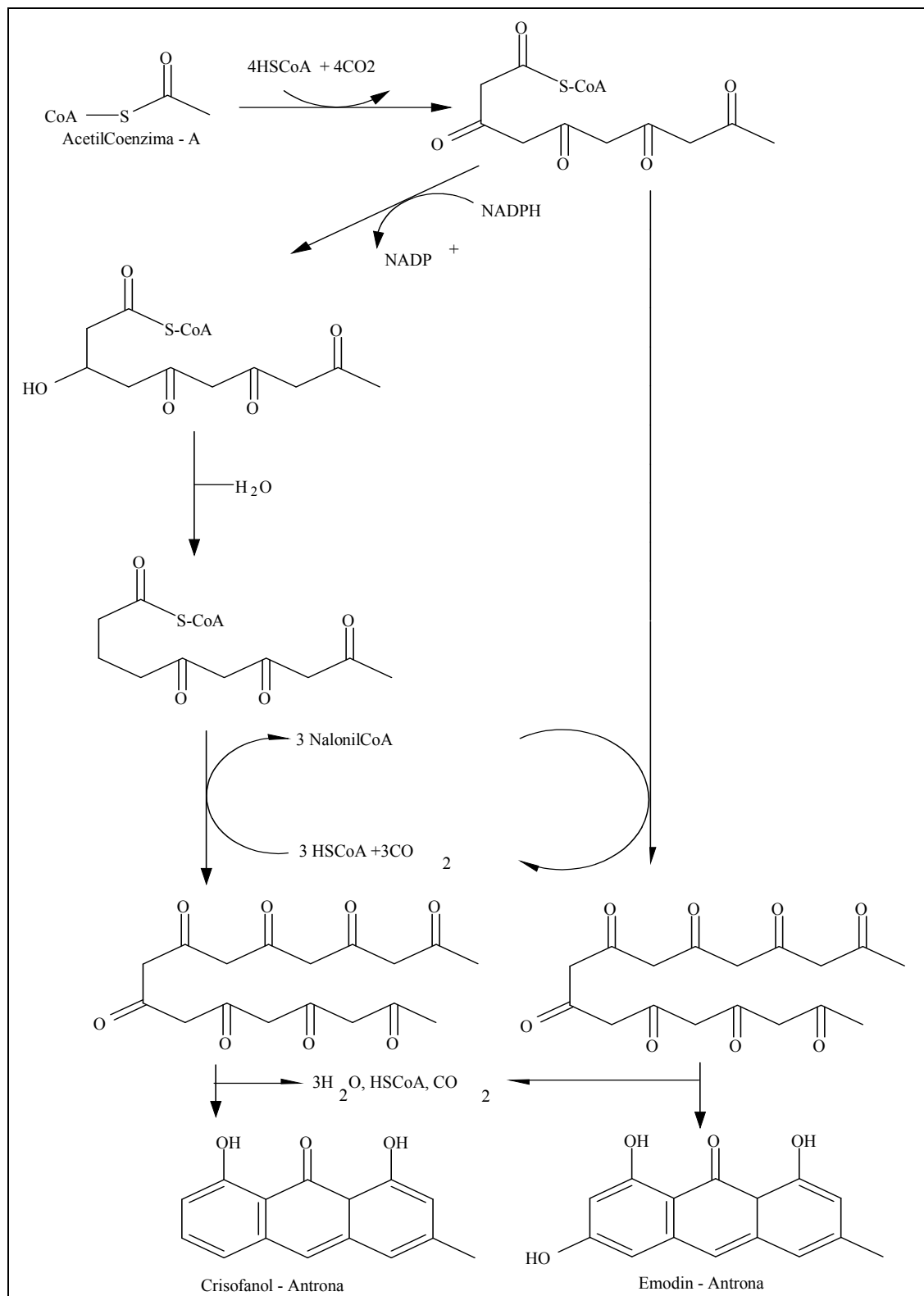


Figura 18. Rota biossintética das antronas via acetil coenzima A. (Simões, 2007)

3.7.2 Biossíntese das antraquinonas

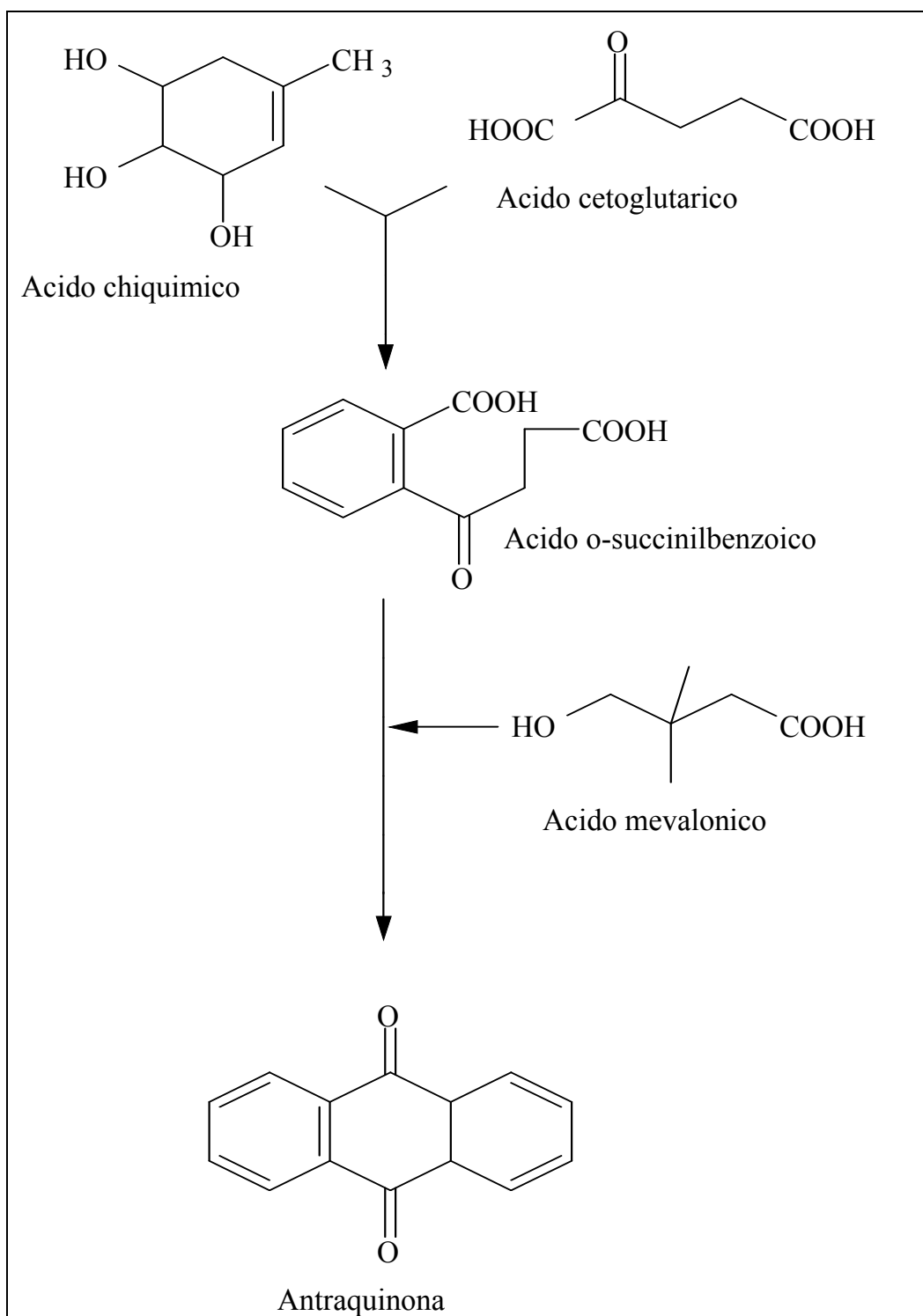


Figura 19. Rota biossintética de antraquinonas via ácido succilbenzóico. (Simões, 2007)

3.7.3 Biossíntese de flavonóides

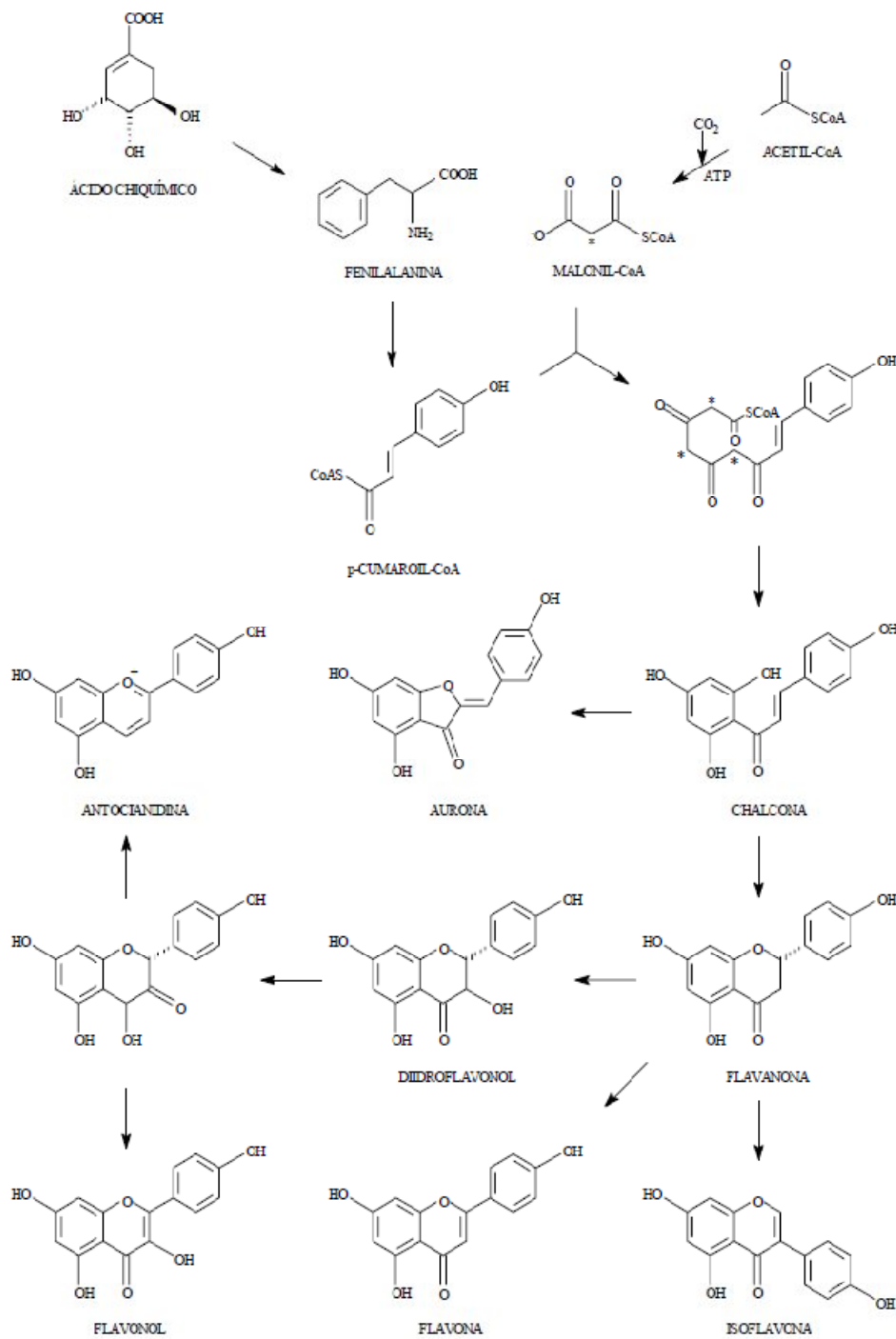


Figura 20. Rota biossintética de flavonóides (Lin, 1997).

3.7.4 Biossíntese de alcalóides

Devido a grande diversidade estrutural dos alcalóides a sua biossíntese não será abordada de forma geral. Irá se apresentar de forma detalhada a biossíntese do grupo de alcalóides derivados da fenilalanina e tirosina. Segundo a classificação dos alcalóides, de acordo com a sua origem biossintética, os aminoácidos precursores são: Aminoácidos alifáticos, a ornitina e a lisina. Aminoácidos aromáticos: o ácido nicotínico, a fenilalanina, a tirosina, o triptofano, o ácido antranílico e a histidina. Além destes aminoácidos, intervém também bases púricas, unidades terpénicas e derivadas do acetato.

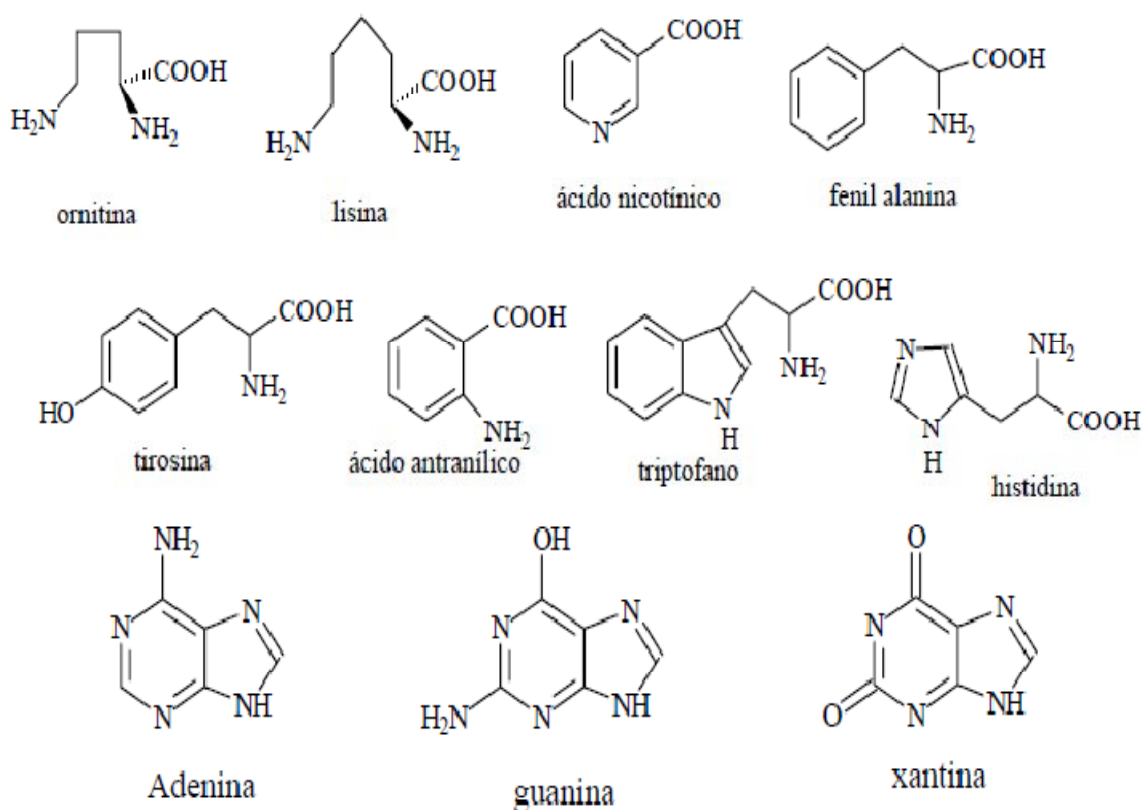


Figura 21. Aminoácidos e bases que dão origem a alcalóides (Acosta, 2008).

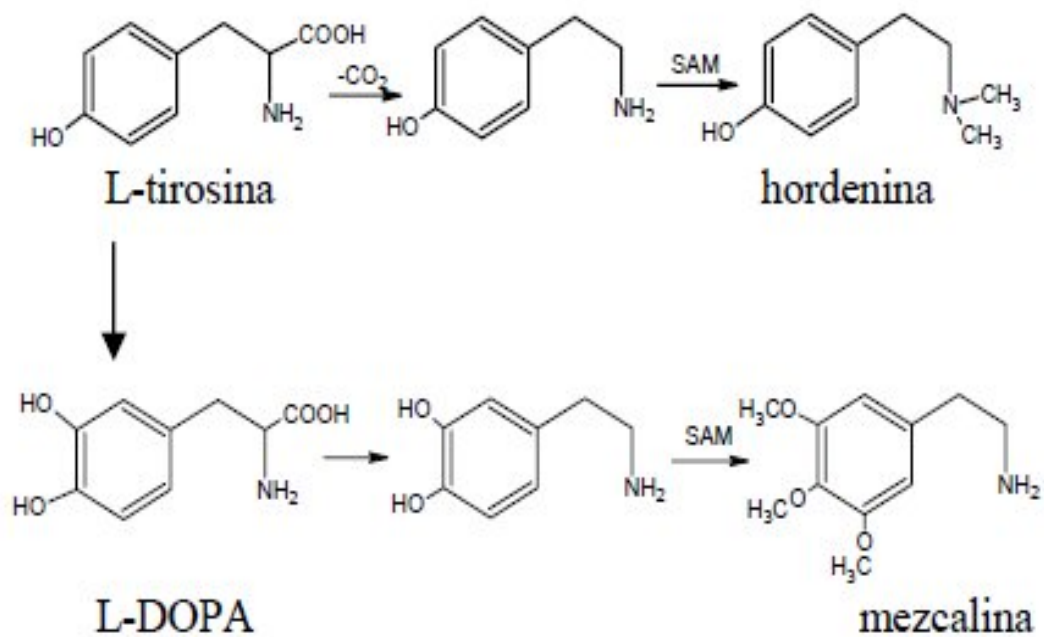


Figura 22. Rota biossintética dos alcalóides derivados da fenilalanina e tirosina. (Acosta, 2008).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e Equipamentos

Na cromatografia em camada fina (CCF) foram empregadas placas de Alumínio recobertas por Sílica gel 60 Merck F₂₅₄. Na cromatografia em coluna (CC) foi empregada uma coluna de vidro eluída normalmente sob pressão atmosférica. A fase estacionária utilizada foi sílica gel 60 Merck (70-230 Mesh). A proporção utilizada entre a amostra e a fase estacionária foi de 1:30. Para a concentração dos extractos e recuperação dos solventes foi usado o vaporizador rotativo Burch R-210, equipado com o banho-maria. Os cromatogramas foram revelados em vapores de iodo e na luz ultravioleta (UV; $\lambda = 254$ e 366 nm). Os espectros do infravermelho foram obtidos no laboratório de criminalística com aparelho Shimadzu FTIR-8400s, utilizando-se como suporte pastilhas de brometo de potássio (KBr).

4.2. Local de colheita de amostra

As folhas de *Aloe marlothii* usadas no presente trabalho foram colectadas no dia 23 de Setembro de 2010 na localidade de Goba, a 83 Km da Cidade de Maputo. A localidade de Goba pertence ao posto administrativo de Changalane, distrito de Namaacha, província de Maputo conforme ilustrado na figura 23 abaixo.

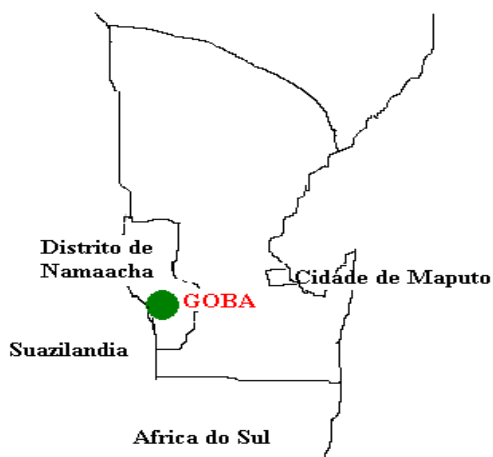


Figura 23. Localização de Goba

4.3. Identificação Botânica

A identificação botânica das folhas da espécie de *Aloe marlothii* foi feita no herbário do departamento de ciências biológicas sob orientação dos técnicos responsáveis pela colheita das amostras para o herbário.

O herbário tem exemplares de *Aloe marlothii* que foram usadas para a comparação. Após a identificação botânica as folhas foram levadas ao laboratório de investigação 3.03 do departamento de química onde foram analisadas.

4.4. Extração do material vegetal

A extração das folhas de *Aloe marlothii* foi conduzida pelos métodos de Soxhlet e Maceração, ambos com o mesmo sistema de solventes constituído por MeOH - H₂O 70:30 %v/v e monitorados pela cromatografia em camada fina (CCF) realizada periodicamente em vários estágios dos processos.

4.4.1. Extração por Maceração

Para a maceração, 200 g das folhas frescas de *A.marlothii* foram cortadas em pequenos pedaços e colocadas num balão volumétrico de 500 mL com 300 mL do sistema de solventes MeOH - H₂O 70:30 %v/v, durante 17 dias ao abrigo da luz.

Após a maceração obteve-se por filtração 335 mL do extracto. O extracto bruto foi concentrado a pressão reduzida no vaporizador rotativo e o volume final após a concentração foi de 50 mL. O resíduo da filtração lavado com 150 mL de água quente para o seu reaproveitamento. O extracto resultante foi também concentrado no vaporizador rotativo.

Após a secagem dos dois extractos obteve-se 30 g do extracto bruto correspondente ao rendimento de 15%.

4.4.2. Extração por Soxhlet

1461,046 g de folhas frescas frescas de *Aloe marlothii* foram secadas na estufa a 55°C durante 10 dias até o peso constante de 208,98 g de folhas secas. A diferença das massas indicou uma perda de massa de 1256,066 g equivalente a 85,70% que correspondem a água e outros compostos voláteis na constituição das folhas.

As folhas secas foram trituradas e 140 g foram colocadas em cartuchos e submetidas a extração por soxhlet com 600 mL do sistema de solventes constituído por MeOH – H₂O 70:30 %v/v até a descoloração do material vegetal que durou 40 horas.

Depois da extração, o extracto foi separado e o resíduo da extração presente em cartuchos, por conter ainda quantidade remanescente do sistema de solventes, foi primeiramente secado no nicho a temperatura ambiente para a evaporação do metanol, cujos vapores são tóxicos, e seguidamente secado na estufa para a eliminação da água. O extracto foi filtrado com recurso a papel de filtro Whatman 185 mm para a remoção das partículas sólidas suspensas e depois concentrado no vaporizador rotativo. O extracto concentrado resultante foi transferido do balão para uma placa de Petri onde foi secado a temperatura ambiente resultando num peso seco de 40 g correspondente a 28,57%.

4.5. Ensaio qualitativos

Os extractos brutos da maceração e soxhlet foram submetidos à ensaios qualitativos para a identificação das principais classes de metabólicos principais. As análises foram positivas para as antronas, antraquinonas, alcalóides e flavonóides.

4.5.1 Ensaio de identificação de antronas e antraquinonas

As antraquinonas e antronas foram identificadas pela reacção de Borntrager. Num tubo de ensaio colocou-se 3 mL de extracto bruto e fraccionou-se com 3 mL de clorofórmio. À fracção clorofórmica adicionou-se 1 mL hidróxido de amónio a 10%.

O aparecimento da coloração vermelha na camada aquosa indicou a presença de antraquinonas livres e coloração amarela na fase orgânica indicou a presença de antronas.

4.5.2 Ensaio de identificação de flavonóides

Num tubo de ensaio com 3 mL do extracto bruto, inseriram-se fitas de Magnésio e 4 gotas de ácido clorídrico concentrado. A reacção foi violenta, as paredes do tubo de ensaio aqueceram e observou – se a libertação de gás. No fim da reacção houve formação da cor castanha, através da qual constatou-se a presença de flavonóides.

4.5.3 Ensaio de identificação de alcalóides

Para a identificação de alcalóides foram tomados 30 mL do extracto bruto num béquer para banho-maria para secagem total. Em seguida, adicionaram-se 20 mL de ácido sulfúrico a 1% levando-se a seguir à fervura por cerca de 2 minutos; depois de resfriado foi filtrado através de funil com papel de filtro para um copo. O volume obtido foi distribuído em dois tubos menores e gotejou-se o reagente de Mayer (tetraiodomercurato de potássio, $K_2[HgI_4]$) e de Dragendorff (tetraiodobismutato de potássio, $K[BiI_4]$), em cada tubo.

No tubo de ensaio onde gotejou-se o reagente de Mayer observou-se a formação de um precipitado ligeiramente amarelo e no tubo de ensaio com o reagente de Dragendorff houve formação de um precipitado amorfo de cor alaranjada - vermelha.

4.6. Fraccionamento do extracto bruto por Cromatografia em Coluna

O extracto bruto (40 g) obtido na extracção por soxhlet foi fraccionado pela cromatografia em coluna empregando-se a Sílica gel, como fase estacionária e o sistema de solventes AcOEt-MeOH-CH₃CN 75:10:2, como fase móvel.

Para o fraccionamento cromatográfico, o extracto bruto foi misturado com sílica gel e triturado em cadinho de porcelana até a formação duma mistura homogénea. Na coluna previamente lavada, pôs-se um pouco de algodão no fundo e de seguida, a sílica gel. Passou-se o sistema de solventes para empacotar a sílica. A mistura homogénea da sílica e extracto bruto foi colocada na coluna sobre a sílica empacotada e passou-se o sistema de solventes da fase móvel para o fraccionamento.

Seguiu-se o mesmo procedimento cromatográfico para fraccionar os 30 g do extracto bruto obtidos por maceração.

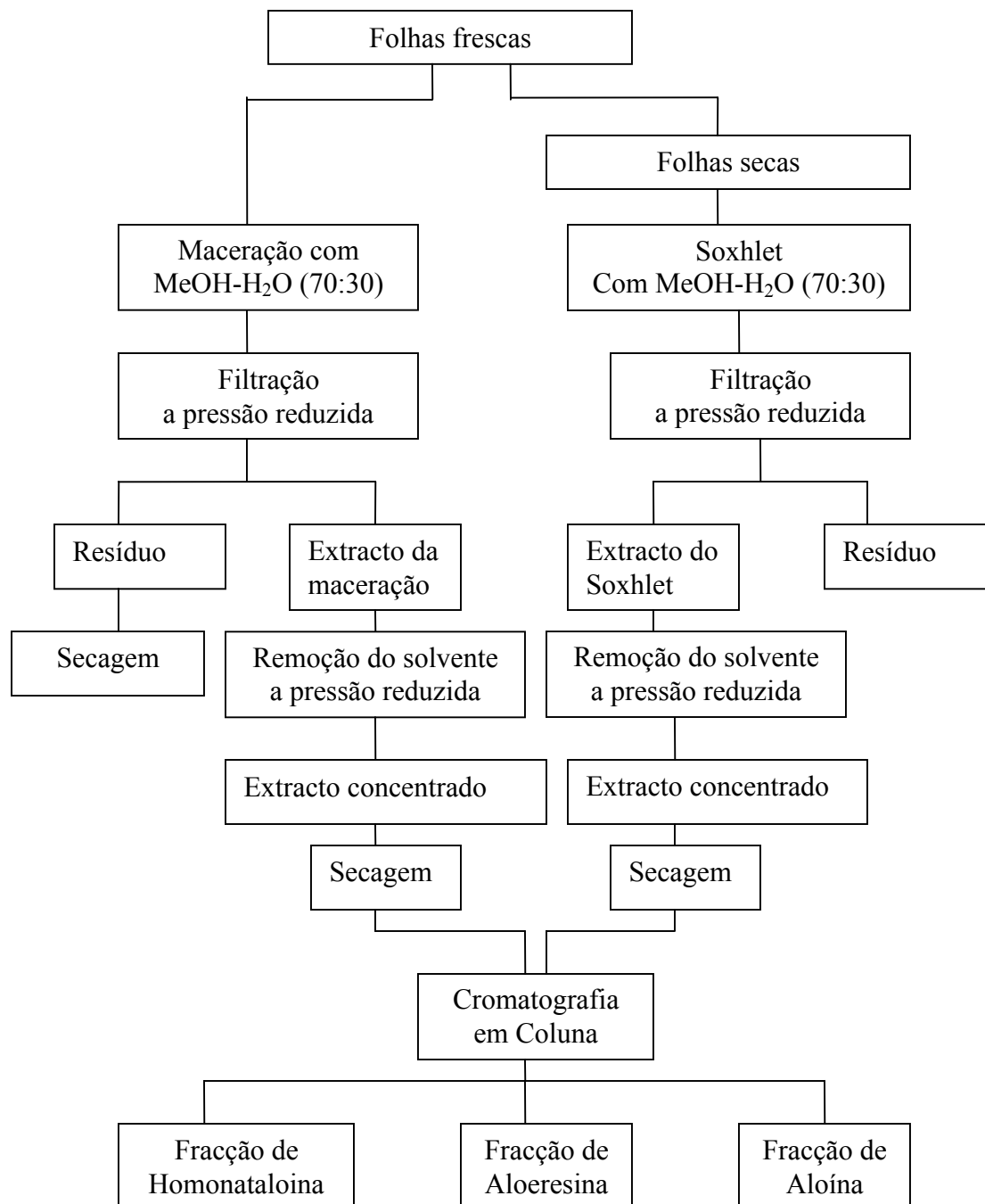


Figura 24. Esquema da extração e fracionamento dos extractos das folhas de *A. marlothii*.

5. INQUÉRITO ETNOBOTÂNICO

Do ponto de vista de abordagem o inquérito foi qualitativo, este não requer o uso de métodos e técnicas estatísticas (Da Silva, 2001). O número de entrevistados numa pesquisa qualitativa não obedece critérios estatísticos, depende da qualidade das informações que são obtidas, assim como da profundidade e do grau de recorrência e divergência destas informações (Duarte, 2002).

Os dados etnobotânicos referentes a este inquérito foram obtidos por meio de uma entrevista semi-estruturada numa abordagem informal em que as informações colhidas durante a entrevista eram anotadas. As entrevistas foram conduzidas com pessoas idóneas que conhecem e já trabalharam com a planta, compreendendo 8 anciões na localidade de Goba, província de Maputo, 4 anciões vendedores de plantas medicinais nos mercados informais de Xipamanine e Compone na Cidade de Maputo. A localidade de Goba como local para colecta de amostras da planta foi indicada pelo Herbário do departamento de Ciências Biológicas da UEM, como o local para as amostras usadas no Herbário.

Na página seguinte apresenta-se a ficha usada no inquérito dividida em três secções, sobre o informante, sobre a planta e sobre o seu uso.

FICHA DE CAMPO

Data _____ Ficha de campo n^o _____

Pesquisa Etnobotânica sobre _____

Local _____

1 - Sobre o Informante

Nome: _____ Idade: _____ anos

Sexo: _____ Profissão: _____

Naturalidade: _____ Tempo que reside no local: _____ anos

Quanto tempo trabalha com plantas medicinais? _____

2 - Sobre a planta

Nome(s) conhecido(s) _____

Habitat: _____

Possui: látex () resina () seiva () cor _____

Época de floração: _____ Cor das flores: _____

Fruto: carnosos () secos () cor _____ odor _____

Sementes: cor _____ odor _____

3 - Sobre o uso

Que parte da planta é utilizada? _____

Para que serve? _____

Como prepara o remédio? _____

Qual é a dosagem? Quantas vezes ao dia? _____

Pode ser misturada com outras plantas? Sim () não () Quais? _____

Há contra indicação? _____

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas colectadas da amostra corresponderam a 1661,041 g, a sua comparação com as folhas das espécies existentes no herbário do departamento de ciências biológicas e a certificação dos técnicos do herbário confirmaram que as folhas analisadas no presente trabalho são de *Aloe marlothii*. 1461 g das folhas foram cortadas, secadas e extraídas por soxhlet com MetOH-H₂O (70-30%) resultando em 40 g do extracto bruto que após o fraccionamento cromatográfico com o sistema de solventes AcOEt-MeOH-CH₃CN 75:10:2 resultou no isolamento de 3 compostos maioritários: aloína (Rf 0,58), aloeresina (Rf 0,65) e homonataloína (Rf 0,75). Para a extração por maceração 200 g de folhas frescas foram cortadas e extraídas com MetOH-H₂O (70-30%), o extracto bruto foi de 30 g e também resultou no isolamento da aloína, aloeresina e homonataloína. Os resultados destes fraccionamentos cromatográficos estão indicados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Resultados do fraccionamento do extracto de Soxhlet (40 g)

Composto	Cor	Volume (x10ml)	Rf	Massa (mg)	Rendimento (%)
Aloína	Amarela	35	0.58	852	2,13
Aloeresina	Amarela	29	0.65	623	1,56
Homonataloína	Amarela	15	0,75	152	0,38

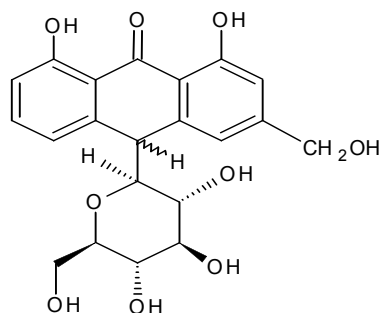
Tabela 4. Resultados do fraccionamento do extracto de maceração (30g)

Composto	Cor	Volume (x10ml)	Rf	Massa (mg)	Rendimento (%)
Aloína	Amarela	25	0.58	201	0,67
Aloeresina	Amarela	14	0.65	111	0,37
Homonataloína	Amarela	20	0,75	185	0,55

Ambos extractos brutos de soxhlet e maceração levaram qualitativamente aos mesmos resultados, o isolamento das fracções da aloína, aloeresina e homonataloína como maioritários. No entanto o rendimento do extracto bruto de soxhlet foi maior para as fracções de aloína (2,13%) e aloeresina (1,56%); o extracto da maceração teve rendimento maior só para a homonataloína (0,55%) em comparação com o extracto de soxhlet (0,38%). A relação das fracções aloína:aloeresina:homonataloína no extracto de soxhlet é de 5,6:4,1:1; e para o extracto da maceração é de 1,1:0,6:1 o que mostra que o rendimento da homonataloína tenha sido favorecido pela extração a frio (maceração).

6.1. Fracionamento da aloína

A aloína, a antrona mais importante do género *Aloe*, foi satisfatoriamente separada em maior quantidade que os outros 2 compostos isolados, tanto no extracto de maceração assim como no extracto de soxhlet. A aloína apresentou-se como sólido amarelo e a sua certificação foi feita pela cromatografia em camada fina (CCF), tendo resultado no R_f igual a 0,58, o mesmo descrito na literatura nas condições em que a CCF é eluída com o sistema de solventes AcOEt-MeOH-CH₃CN 75:10:2. O extracto de soxhlet resultou no maior rendimento da aloína, 0,852 mg correspondentes a 2,13%, do que o extracto da maceração 0,201 mg correspondentes a 0,67%.



Fórmula Molecular: C₂₁H₂₂O₉

Massa Molecular: 418 g/mol

R_f - 0,58

Figura 25. Aloína

A separação dos 2 diastereómeros A e B não foi feita pela cromatografia em coluna e a cromatografia em camada fina usadas neste trabalho. Os 2 diastereómeros foram obtidos como uma mistura e, segundo a literatura poderiam ser separados pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Os dados da espectroscopia no infravermelho (KBr) para a aloína indicaram as frequências de absorção ν_{\max} 3311 cm⁻¹ para os grupos OH, 1485 cm⁻¹ para os carbonos aromáticos, 1380-1287 cm⁻¹ para a ligação C-O do álcool e fenol.

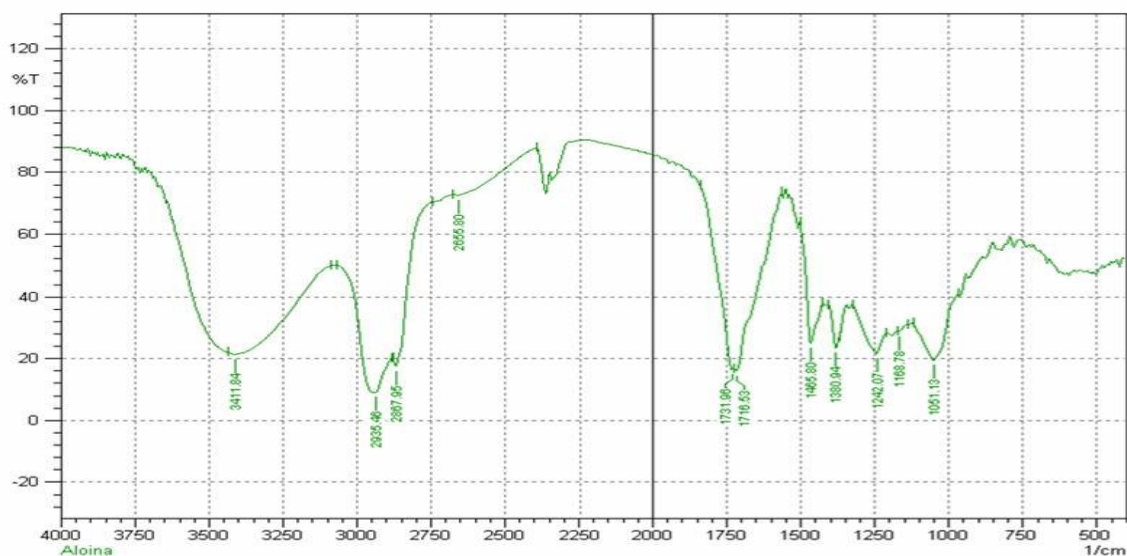
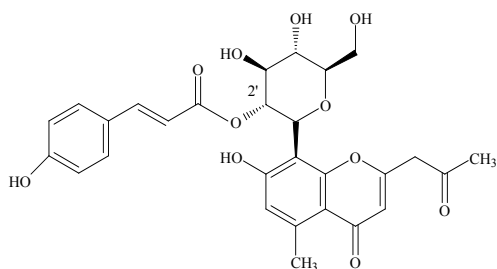


Figura 26. Espectro da aloína

6.2. Fraccionamento da aloeresina

A aloeresina, uma das importantes cromonas da espécie de *Aloe marlothii* e do género *Aloe*, foi satisfatoriamente isolada também como sólido amarelo, mas um pouco mais claro que a aloína. Dos três compostos separados, este foi o segundo em ordem de eluição após a homonataloína. A certificação da aloeresina foi igualmente feita pela cromatografia em camada fina (CCF) tendo-se obtido o Rf de 0,65 em concordância com a literatura (Adushan, 2008).



Fórmula Molecular: $C_{28}H_{28}O_{11}$

Massa Molecular: 540 g/mol

Rf - 0,65

Figura 27. Aloeresina

O extracto bruto de soxhlet foi o que nos obteve maior rendimento da aloeresina, 0,623 mg correspondente ao rendimento de 1,56%, provavelmente pelo facto de a devida extracção ser a quente e exaustiva. Isto é uma indicação de que a extracção a quente foi melhor para o bom rendimento desta cromona. O extracto da maceração resultou em 0,111mg correspondente ao rendimento de 0,37%.

O espectro Infravermelho (KBr) da aloeresina mostra a frequência ν_{\max} dos grupos hidroxilos a 3440 cm^{-1} , dos grupos carbonilos a 1731 cm^{-1} , dos carbonos aromáticos a 1665 cm^{-1} , da ligação C-O do álcool e fenol a $1259\text{-}1238\text{ cm}^{-1}$.

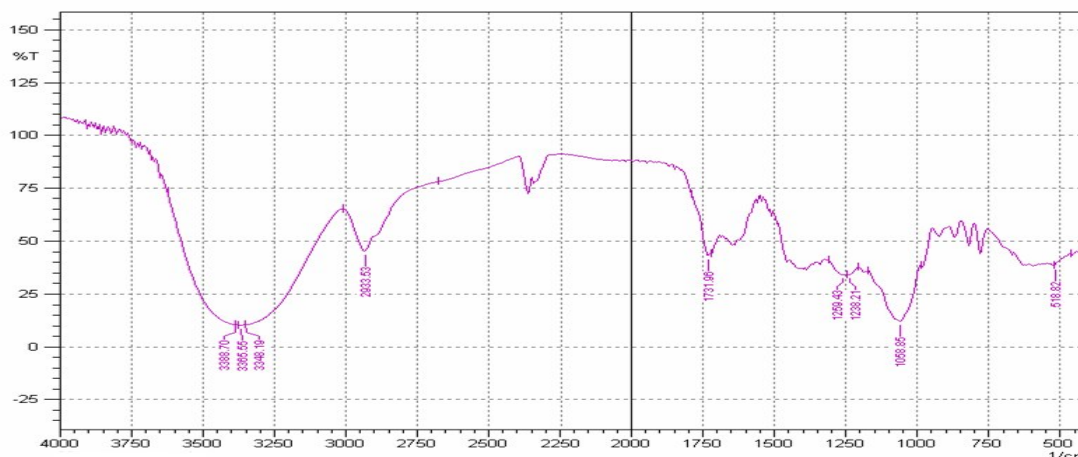
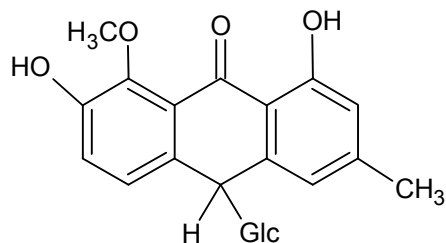


Figura 28. Espectro da aloeresina

6.3. Fracionamento da homonataloína

A homonataloína, a primeira antrona obtida em ordem de eluição teve o R_f de 0,75. Apresentou-se também como sólido amarelo. Contrariamente aos outros dois compostos, o maior rendimento foi no extracto da maceração, 0,185 mg (0,55%). O extracto de soxhlet resultou em 0,152 (0,38%). A maceração foi mais favorável para a obtenção desta antrona.



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{24}O_9$

Massa Molecular: 432 g/mol

R_f - 0,75

Figura 29. Homonataloína

O espectro Infravermelho (KBr) da homonataloína mostra a frequência ν_{\max} do grupo hidroxila a 3440 cm^{-1} , do grupo carbonilo a 1716 cm^{-1} , da ligação C=C a 1683 cm^{-1} dos carbonos aromáticos a $1465\text{-}1458\text{ cm}^{-1}$ e da ligação C-O do álcool e fenol a $1259\text{-}1058\text{ cm}^{-1}$.

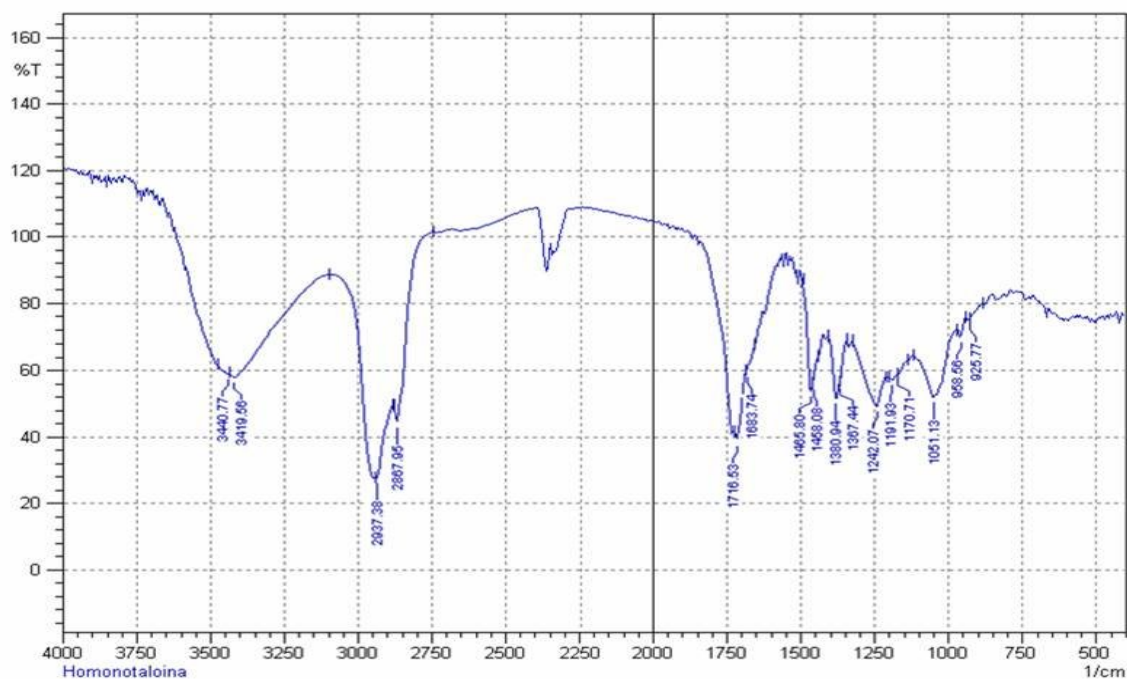


Figura 30. Espectro da Homonataloína

Os dados experimentais (Rf, IV) obtidos e analisados no presente trabalho permitem concluir que as frações isoladas correspondem a aloína, aloeresina e homonataloína obtidos como compostos maioritários das folhas da espécie de *Aloe marlothii*.

6.4. Ensaios qualitativos

Ainda em conformidade com a literatura, os ensaios qualitativos realizados com as reacções de reconhecimento correspondentes confirmaram a ocorrência de importantes classes de compostos de interesse farmacológicos como os flavonóides, alcalóides, antronas e antraquinonas, além dos 3 compostos isolados como maioritários,

Tabela 5. Resultados dos ensaios qualitativos.

Tipos de compostos	Reagente	Reacção positiva
Flavonóides	Ácido clorídrico concentrado e fita de Mg	Coloração castanha
Antronas	Benzeno e solução aquosa de hidróxido de amónio	Cor amarela na fase orgânica
Antraquinonas	Benzeno e solução aquosa de hidróxido de amónio	Coloração vermelha na fase aquosa
Alcalóides	Reagente de Dragendorff	Precipitado amorfo de cor alaranjado - vermelha
Alcalóides	Reagente de mayer	Precipitado ligeiramente amarelo

As reacções positivas foram confirmadas pela mudança de cores correspondentes para o caso dos flavonóides, antronas e antraquinonas conforme indicado na tabela 6. Para os alcalóides foi a formação de precipitados.

Os ensaios qualitativos permitem concluir que *Aloe marlothii* biossintetisa antronas, antraquinonas, cromonas, flavonóides e alcalóides de entre varias classes de compostos biológica e farmacologicamente activos.

6.5. Inquérito etnobotânico.

O inquérito etnobotânico indica que a espécie de *Aloe marlothii* é conhecida em Ronga pelos nomes *Manga yiculo* ou simplesmente *Mangane*. O seu habitat compreende terras rochosas e montanhosas e a época de floração está compreendida entre Maio -Setembro;

As partes mais usadas desta planta são as folhas e raízes. Quando cortadas, as folhas tiram um líquido amarelo, de consistência leitosa e sabor amargo que é usado como purgativo, laxativo, antimicrobiano, analgésico e no tratamento de doenças de transmissão sexual conhecidas por *xicandzameto* em Ronga. Para as soluções aquosas, as folhas são cortadas aos pedaços e fervidas em água durante aproximadamente 30 minutos ganhando a coloração vermelha, ou são deixadas em molho até a coloração amarela. A dosagem não é bem definida, mas para adultos tem sido administrada uma colher de sopa e para crianças numa colher de chá. Para controlar os efeitos da sua alta actividade purgativa, a administração das soluções aquosas é acompanhada pelas soluções das plantas medicinais *Tlhantlangate* ou *Liendzayendza* caso os seus efeitos sejam muito pronunciados.

Como contra indicação as mulheres grávidas não podem usar a planta sob o risco de complicações do feto ou aborto. Esta contra-indicação deve-se ao pronunciado efeito purgativo/laxativo das antronas e antraquinonas. As folhas e raízes encontram mais uso na medicina tradicional pelo facto de concentrarem grande parte dos compostos activos nesta espécie, de facto, de acordo com a literatura muitos compostos conhecidos nesta espécie e no género foram isolados nas folhas e raízes.

7. CONCLUSÕES

1. A partir dos estudos fitoquímicos de *A.marlothii* realizados, até a este momento, foi possível a identificação e isolamento de vários fitoconstituintes provenientes das folhas através dos testes qualitativos. Assim, verificou-se que nas folhas de *A.marlothii*, dentre outros, sobressaem as antronas, antraquinonas, cromonas, alcalóides e flavonóides.
2. A extracção por soxhlet levou ao maior rendimento das fracções de aloína (2,13%) e aloeresina (1,56%); e a extracção por maceração levou ao maior rendimento da homonataloína (0,55%).
3. O sistema de solventes EtOAc – MeOH – CH₃CN e a cromatografia em coluna, uma técnica clássica de separação, revelaram-se eficazes na separação dos fitoconstituintes da espécie de *Aloe marlothii*;
4. Foi também possível o isolamento de três fitoconstituintes importantes das folhas, nomeadamente a aloína, aloeresina e homonataloína, através do fracionamento cromatográfico. Essa identificação, foi possibilitada pela análise dos dados da cromatografia em camada fina e dados da espectoscopia no infravermelho comparados com os dados da literatura.
5. Os usos alegados da espécie de *Aloe marlothii* na medicina tradicional são confirmados pela elaboração de diversas classes de compostos biologicamente activos, incluindo antronas, antraquinonas, cromonas e flavonóides que conferem a planta um extenso espectro de actividades biológicas e farmacológicas, tais como Purgativo, Laxativo Antiinflamatório, Analgésico, Antimicrobiano e no tratamento de DTS.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, G. J. A. (2008). *Alcaloides y Compuestos Nitrogenados*, Universidad de Antioquia, , Medellín. pp.6-15
- Adushan, P. (2008). *Synthesis and Biological Activity of Aloin Derivatives*, Dissertação de Mestrado, University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg - South Africa. pp.1-9
- Bandeira, S.; Bolnick, D.; Barbosa, F. (2006). *Flores Nativas do Sul de Moçambique; UEM, Departamento de Biologia; 1ª Edição; Maputo. pp 56 – 57.*
- Barrantes, E., Guinea, M. (2003). *Life Sciences*, **72**, 843-850.
- Bisrat, D.; Dagne, E.; Van Wyk, B.-E.; Viljoen, A. M. (2000). *Phytochemistry*, **55**, 949-952.
- Boudreau, M. D., Beland, F. A., (2006). *Journal of Environmental Science and Health*, **24**, 103-154.
- Burger, A.; Grubert, M.; Schuster, O., (1994). *SOFW Journal*. **120**, 527-529.
- Capasso, F.; Borrelli, F.; Capasso, R. (1998). *Phytotherapy Research*, **12**, S124–S127.
- Che, Q.; M.; Akao, T.; Hattori, M.; Kobashi, K.; Namba, T. (1991). *Planta Med.* **57**, 15–19.
- Choi, S.; Chung, M., (2003). *Seminars in Integrative Medicine*, **1**, 53-62.
- Chung, J. H.; J. C. Cheong, J. Y.; Lee, H; Roh, K.; Cha, Y. N. (1996). *Biochem. Pharmacol.* **52**, 1461–1468.
- Conner, J. M.; Gray, A. I.; Reynolds, T. (1989). Waterman, P. G. *Phytochemistry*, **28**, 3551.
- Conner, J. M.; Gray, A.I.; Reynolds, T. (1990). Waterman, P.G. *Phytochemistry*, **29**, 941.
- Da Fonte, N. N.; (S/D). *Drogas com Antraquinonas*, Departamento de Farmácia, UFPR, Paraná.
- Da Silva E. L.; Menezes, E. M.; (2001). *Metodologia da Pesquisa e Elaboração de Dissertação*; 3a edição, UFSC/PPGEP/LED, Florianópolis, pp.19-23.

- Dagne, E.; Bistrata, D. V.; Van Wyk, B-E. (2000). *Current Organic Chemistry*, 4, 1055- 1078.
- Dagne, E.; Yenesew, A.; Asmellash, S; (1994). *Phytochemistry*, 35, 401.
- Davis, R. H. (1997). *Aloe vera: A Scientific Approach*; Vantage Press, New York.
- Duarte, R., (2002). *Cadernos de Pesquisa*, n. 115, Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, pp.4-10
- Gramatica, P.; Monti, D.; Speranza, G.; Manitto, P. (1982). *Tetrahedron Lett.*, 23, 2423.
- Hargreaves, A.L.; Harder L.D; Johnson, S.D.; (2008). *South African Journal of Botany* 74. 606–612.
- Haynes, L. J., Holdsworth, D. K., (1970). *Journal of the Chemical Society (C)*, 2581-2586.
- Holdsworth, D. K. (1972). *Planta Med.*, 22, 54.
- Hörhammer, L. Z. (1965). *für Naturforsch*, 19b, 222.
- Izzo, A. A.; Sautebin, L.; Borrelli, F.; Longo, R., Capasso, F. (1999). *European Journal of Pharmacology*, 368, pp.43-48.
- Lérias, P.; Escudeiro, A. (2009). *Laços de Família: As Famílias dos Agaves e dos Aloés*, Universidade de Lisboa, Lisboa.
- Leung, A. Y. (1977). *Aloe - Vera in Cosmetics. Drug & Cosmetic Industry*, v.120, n.6, p.34-35.
- Lin, M.; Anderson, H.; Flavin, M.T.; Pai, Y.S. (1997). *Journal Natural Products*, vol. 60, pp.884-8.
- Lulinski, S., J. Serwatowski. (2003). *Journal of Organic Chemistry*, v.68, n.24, pp.9384-9388..
- Manitto, P.; Manti, D.; Speranza, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1990), 1297.
- Martínez, A. (2005). *Flavonóides*, Universidad de Antioquia, Medellín, pp.20-21.
- Matos F. J. A. (1997). *Introdução à Fitoquímica Experimental: Edições UFC*; Fortaleza, p.39.
- Nash, R. J.; Beaumont, J.; Veitch, N. C.; Reynolds, T.; Benner, J.; Hughes, C.N.G.; Dring, J. V.; Pietta P. G. (2000). *J Nat Prod*; 63: 1035-1042.

- Piao, L. Z.; Park, H. R.; Park, Y. K.; Lee, S. K.; Park, J. H.; Park, M. K.; (2002). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50, 309-311.
- Pietta P. G. (2000). *J Nat Prod* 63: 1035-1042.
- Rauwald, H. W.; Lohse, K. (1992). *Planta Med.*, 58, 259.
- Reynolds, T. (1985). *Bot. J. Linn. Soc.*, 90, 157.
- Reynolds, T.; Dweck, A. C. (1999). *J. Ethnopharmacol.*, 68, 3.
- Reynolds, T.; Herring, C. (1991). *Brit. Cact. Succ. J.*, 9, 77.
- Sigler, A.; Rauwald, H. W. Z. (1994). *Naturforsch.*, 49c, 286.
- Simões, E. (2007). *Farmacognosia da Planta ao medicamento*. Porto Alegre. Editora da Universidade/UFRGS, pp.421 e 662.
- Tyler, V. E. A. (1993). *Pharm Hist*, v.35, n.4, pp.163-8.
- Van Gorkom, B. A. P. (1999). *Aliment and Pharmacology Therapeutic* 13, pp 443-452.
- Van Wyk, B.-E.; Smith, G. (1996). *Guide to the Aloes of South Africa*. Briza Publications, Pretoria.
- Viljoen, A. M.; Van Wyk, B.-E.; Van Heerden, F. R. (1998). *Pl. Syst. Evol.*, 211, 31.
- Wamer, W. G.; Vath, P.; Falvey, D. E. (2003). *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 34, No. 2, pp. 233–242.
- Zonta, F.; Bogoni, P.; Masotti, P.; Micali, G. (1995). *J. Chromatogr A*, v.718, n.1, Dec 1, pp.99-106.
- (S/A). (2009). *Botanical Notes*, Vol. 1, Issue 1, University of California. pp.1-10