Caracterização química do óleo de *Croton tiglium* por CGMS

Anna Claudia Morais de Oliveira Capote (PIBIC), Francieli Kanumfre de Carvalho (Co-autora), Aline da Silva Justo (Co-orientadora), Flávio Luis Beltrame (Orientador), e-mail: flaviobeltra@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Ciências Farmacêuticas.

Ciências da Saúde, Farmácia, Farmacognosia.

Palavras-chave: Plantas medicinais, terpenos, fitoquímica.

Resumo

Devido ao crescimento na procura por procedimentos estéticos que levem ao rejuvenescimento, o mercado estético e dermatológico esta em evolução buscando formulações e tratamentos inovadores. Exemplo disso são os estudos que avaliam a fórmula de Hetter que contem em sua composição o óleo das sementes da espécie vegetal *Croton tiglium*, o qual contém ativos vegetais (como os diterpenos) que podem exercer um efeito estimulador da produção de colágeno na pele de pessoas que passam por um procedimento de *peeling* com o uso dessa fórmula. Neste projeto será avaliada a possibilidade de caracterização química das substâncias presentes nessa matriz vegetal (óleo das sementes da espécie *C. tiglium*), a fim de identificar e tentar relacionar os efeitos biológicos observados com essas substâncias. Para a pesquisa, foi adquirido de fonte comercial o óleo, o qual foi usado para o preparo da fórmula de Hetter. Desse preparo também foram obtidas as "camadas inferior e superior" da formulação, após separação das fases. As amostras foram injetadas em um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectro de massa (CGMS) e os resultados foram analisados para a obtenção de um perfil químico.

Introdução

Planta medicinal é definida como uma espécie vegetal utilizada com propósitos terapêuticos (ANVISA, 2013). Dessas podem ser preparados extratos que são obtidos de matéria prima vegetal seca (soluto) e um solvente (líquido extrator) (ANVISA, 2018), podendo apresentar diversas consistências.

Dentre as muitas espécies vegetais existentes, pesquisadores relatam ações farmacológicas e fisiológicas associadas a plantas do gênero Croton (Euphorbiaceae): anti-inflamatórios, anticonvulsivantes e outras (LI *et al.*, 2016). As atividades são reflexos da alta diversidade química dessas espécies, ricas em metabólitos secundários, (terpenoides, alcaloides e flavonoides). Devido à diversidade química, os extratos podem também desenvolver atividades tóxicas (normalmente, a toxicidade das sementes de *C. tiglium* é devida à presença de ésteres de forbol e ácido crotônico) (LOPES; ANDRADE, 2012).

As técnicas de *peeling*, tanto físico quanto químico, são utilizadas desde a antiguidade (LAWRENCE, 2000). Em 1960, Baker e Gordon divulgaram o uso de uma fórmula que continha fenol, água e Septisol® além do óleo obtido da espécie *C. tiglium*. Essa fórmula foi amplamente difundida nos consultórios médicos para a realização de *peeling* químico, sendo depois aperfeiçoada por Hetter, que definiu diferentes quantidades de fenol e principalmente de óleo de Croton para serem usados em diferentes partes da face (KADUNC, VANTI, 2009). Entretanto o uso dessas formulações na clínica médica até os dias atuais se faz de forma mais

empírica e sem muitos estudos sobre os possíveis componentes da formulação que poderiam ser responsáveis pela ação esperada.

Estudos que avaliem conhecer melhor os componentes das fórmulas de Hetter/Gordon&Baker, como uma possibilidade de entender os mecanismos pelos quais essas fórmulas exercem seus efeitos são desejados, pois assim se pode avaliar possiblidades de se potencializar a ação pró-inflamatória atribuída aos componentes ativos. Dessa forma, esse estudo busca através do uso da técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, tentar identificar os principais componentes químicos presentes no óleo de cróton que compões as fórmulas utilizadas na prática médica para o procedimento de *peeling* e assim começar a decifrar os mecanismos pelos quais esses componentes exercem sua ação geradora do resultado dermatológico buscado pelos médicos atuais.

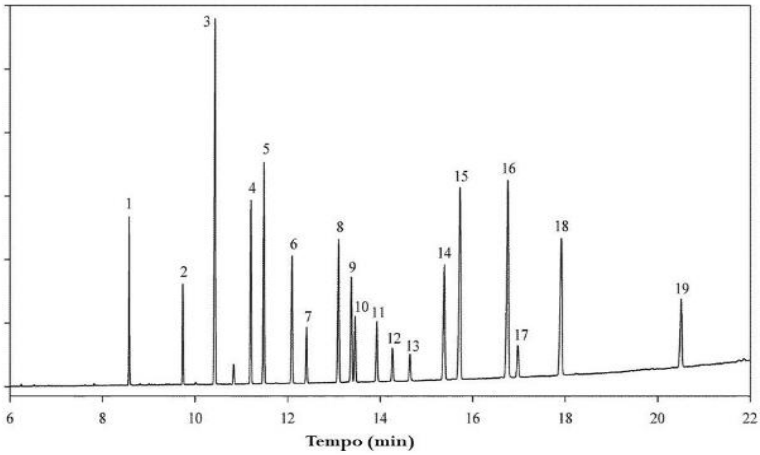
Material e Métodos

O óleo de *C. tiglium* foi obtido comercialmente (Delasco®). Esse foi utilizado para o preparo das amostras usadas na análise química por cromatografia gasosa acoplada a um analisador de massas (CGMS). As amostras foram obtidas de acordo procedimento de preparo da fórmula de Hetter, para tanto, antes foi preparada uma solução estoque de 1,6% de óleo de croton e 98,4% de solução de fenol a 88%. Dessa formulação, foram retirados 40% da solução estoque, 55% de água e 5% de Septisol®, gerando uma formulação com uma concentração final de óleo igual a 1,6%. Como esta formulação apresenta um caráter extemporâneo, após o preparo, a mesma foi deixada em descanso por 10 minutos. Após esse período houve a formação de duas fases, que foram separadas (a camada superior foi retirada com o auxilio de uma seringa, e transferida para outro frasco, já a camada inferior foi mantida no mesmo frasco). Também foi realizada a análise do óleo comercial adquirido buscando identificar os principais componentes presentes nessa matriz vegetal. As análises de CGMS foram realizadas na Universidade do Mississippi (EUA) e a interpretação e análise dos dados aqui na UEPG.

Resultados e Discussão

Os dados obtidos foram colocados em planilha do Excel, e utilizando alguns bancos de dados para pesquisa, como o SciFinder, periódicos CAPES e SciELO, foi possível a análise dos picos que formavam os cromatogramas, com a intenção de realizar a caracterização química dos componentes do óleo de *C. tiglium*, e assim realizar a sugestão dos possíveis marcadores químicos presentes na camada superior e inferior obtidas da fórmula de Hetter. A Figura 1 apresenta o cromatograma obtido da análise do óleo de croton comercial. Na avaliação da composição química do óleo comercial por CGMS foi possível identificar 19 ácidos graxos majoritários. O fabricante do óleo utiliza a identificação destes ácidos graxos para a determinação da qualidade e comprovação que o óleo extraído pertence à espécie *C. tiglium*. Esses ácidos graxos foram tabulados e analisados.

Figura 1. Cromatograma do óleo de croton comercial obtido pela técnica de CGMS demonstrando os picos dos ácidos graxos metil ésteres.



A análise cromatográfica das camadas superior e inferior da fórmula de Hetter possibilitou serem identificadas substâncias já descritas na literatura para espécies vegetais pertencentes à família Euphorbiaceae. Esses dados são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1: Substâncias presentes na camada superior e camada inferior da solução de Hetter que foram identificadas pela técnica de CGMS, sendo mencionadas previamente em literatura(* monoterpeno; ** sesquiterpeno).

Amostra	Pico	Tr (min)	Composto	Referência	Espécie/parteda planta
Camada superior	3	19,572	3-noneno-2-one	Sbihi et al. (2018)	*Ricinus communis* (Euphorbiaceae) Semente
Camada inferior	4*	5,41	Eucalipto	Martins et al. (2017)	*Croton rhamnifolioides* Folhas
	6*	6,304	Linalool	Rosa et al. (2003)	*Croton cajucara* Folhas
	7*	8,422	Terpineol	Magalhães et al. (1998)	*Croton nepetaefolius*
	8*	10,575	Cinamaldeído (E)	Del Toro Sánchez et al. (2006)	*Ditaxis heterantha* (Euphorbiaceae) Semente
	9*	12,527	Eugenol	Ximenes et al. (2013)	*Croton adamantinus* Folhas
	10**	14,533	Cariofileno	Radulović et al. (2006)	*Croton antanosiensis* Folhas
	11	14,986	Cumarina	Murillo (2001)	*Croton draco* Folhas
	14**	17,609	Alfa- farneceno	Xie et al. (2012)	*Ricinus communis* (Euphorbiaceae)
	19**	19,874	Alfa- farneceno	Xie et al. (2012)	*Ricinus communis* (Euphorbiaceae)

ISSN 1676-0093

	20	20,368	L- Fenchona	Boniface et al. (2016)	*Alchornea cordifolia* Folhas
	21	29,362	Ácido n-Hexadecanóico	Natarajan et al. (2014)	*Phyllanthus wightianus* Folhas
	25	33,579	Ácido oléico	Lin et al. (2016)	*Croton tiglium* Folhas
	26	34,003	Ácido octadecanóico	Saishri et al. (2016)	*Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae) Folhas
	33	44,414	Ácido palmitoleico	King et al. (2009)	*Jatropha curcas* (Euphorbiacea) Semente

Conclusão

Com base no que foi determinado no estudo cromatográfico do óleo obtido das sementes da *C. tiglium*, foi possível identificar os componentes majoritários dessa matriz vegetal, destacando-se os ácidos graxos que são os marcadores de qualidade empregados pela empresa produtora desse material. Ao analisar quimicamente a camada superior e camada inferior da solução de Hetter preparada com o óleo de Croton, foi possível determinar a presença de diferentes substâncias químicas que já são descritas na literatura, entretanto a informação mais relevante foi a de que as substâncias presentes no óleo de cróton, majoritariamente se encontraram na camada inferior (orgânica), caracterizadas principalmente como monoterpenos e sesquiterenos. Sugerindo que esta seja a camada mais ativa da fórmula de Hetter.

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Dr. Flávio Luis Beltrame, pela contribuição de seus conhecimentos e sugestões na orientação desta pesquisa. Agradeço a minha co-orientadora Aline da Silva Justo e a co-autora Francieli Kanumfre de Carvalho pelas correções e incentivos com o trabalho de pesquisa. A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste.

Referências

ANVISA, Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC no. 48 de 25 de outubro de 2013.

ANVISA, Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, Consulta Pública no. 469 de 29 de janeiro de 2018.

KADUNC, B. V.; AVANTI, A.. Avaliação da toxicidade sistêmica do fenol em peelings faciais. **Surg Cosmet Dermatol.** 1: 10-14, 2009.

LAWRENCE, N.. History of dermabrasion. **Dermatologic**. 26(2): 95-101, 2000.

LI, C., et al. Croton tiglium Extract Induces Apoptosis via Bax/Bcl-2 Pathways in Human Lung Cancer A549 Cells**. Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention**, v. 17, n. 11, p.4893-4898, 2016.

LOPES, E. L., et al.. Flavonoides e sesquiterpenos de Croton pedicellatus Kunth. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p.2169-2172, 2012.