

## **EXPERIMENTO 3**

### **Extração da Nicotina do tabaco pela Destilação por arraste de vapor d'água.**

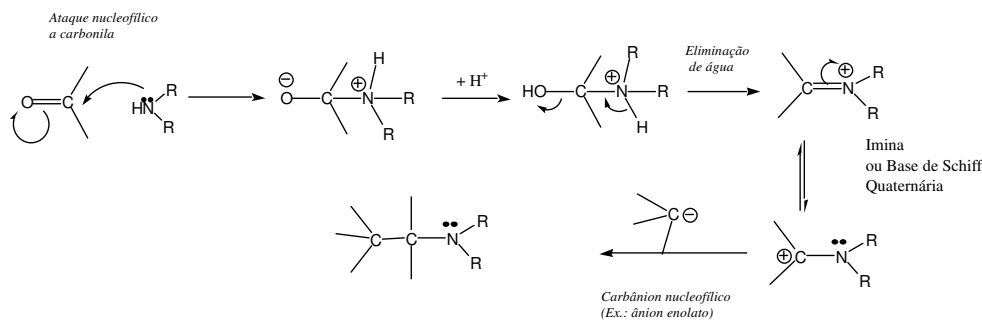
#### **1. Introdução**

##### **1.1. Alcalóides.**

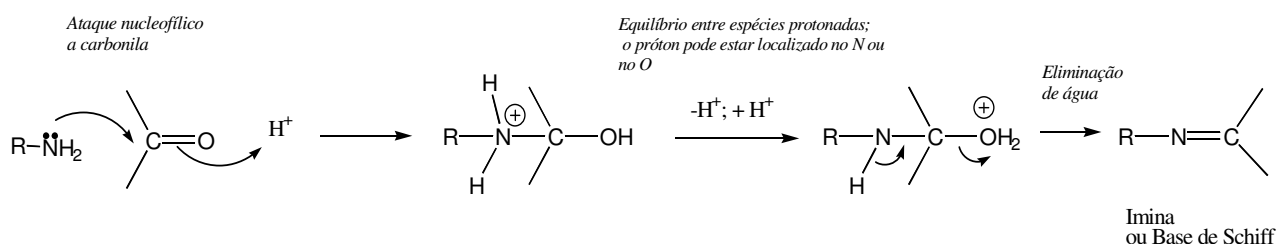
Alcalóides (termo lingüisticamente derivado da palavra árabe *al-quali*, denominação vulgar da planta da qual a soda foi originalmente obtida) são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos, que são encontrados predominantemente nas Angiospermas. Na sua grande maioria possuem caráter alcalino, com exceções tais como colchicina, piperina, oximas e alguns sais quaternários, como o cloridrato de laurifolina (KUTCHAN, 1995; EVANS, 1996). Uma definição para esta classe de substâncias apresenta certas dificuldades devido à ausência de uma separação precisa entre alcalóides propriamente ditos e aminas complexas de ocorrência natural. Para contornar esses problemas, PELLETIER (1983) formulou a seguinte definição: "Um alcalóide seria uma substância orgânica de origem natural cíclica contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos". Esta definição englobaria todos os compostos os quais foram considerados até o momento como alcalóides, mas excluiria compostos nitrogenados tais como: aminas simples, aminoácidos, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos, nucleotídeos, porfirinas, vitaminas e compostos nitro e nitroso. Outras definições foram cunhadas por diferentes pesquisadores (HESSE, 1978; IKAN, 1991; BRUNETON, 1993; WATERMAN, 1998), contudo até o momento nenhuma se apresentou completamente abrangente.

Os alcalóides contendo um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados de alcalóides verdadeiros e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias com o átomo de nitrogênio não pertencendo a um sistema heterocíclico são denominadas de protoalcalóides. Compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos são chamados de pseudoalcalóides.

A biossíntese dos alcalóides vem sendo extensivamente estudada e, atualmente, pode-se traçar um esquema para a rota biossintética de vários deles. Contudo, essas rotas metabólicas não foram ainda completamente delineadas em termos bioquímicos, pois muitas das enzimas envolvidas nas diversas etapas não foram ainda isoladas e caracterizadas. Normalmente, a formação do sistema heterocíclico dos alcalóides ocorre através de reações inter- ou intramoleculares através de dois mecanismos gerais: reações do tipo Mannich (Esquema 1) e formação de bases de Schiff (Esquema 2) (DEWICK; 1997).



Esquema 1- Reação de Mannich



Esquema 2 – Formação de Bases de Schiff.

## 1.2. Extração e isolamento

Devido à presença do átomo de nitrogênio contendo um par de elétrons não compartilhado, os alcalóides são substâncias com caráter básico e possuem propriedades químicas que se assemelham aquelas da amônia. O grau de basicidade é muito variado, dependendo da estrutura da molécula e da presença e localização de outros grupos funcionais. Tendo este caráter de base fraca, os alcalóides são convertidos na forma de sal em soluções aquosas de ácidos minerais e libera um íon hidrogênio formando uma amina livre quando tratados com soluções alcalinas. Estas propriedades facilitam a sua extração e isolamento de outros constituintes vegetais. Muitas vezes estas substâncias estão na forma de sal de um ácido orgânico na planta. Compostos possuindo amônio quaternário  $[R_4N^+X^-]$ , como a, por exemplo, tubocurarina, possuem quatro grupamentos orgânicos covalentemente ligados ao nitrogênio, e a carga positiva deste íon é contrabalançada com algum íon negativo. Este íon de amônio quaternário, não possuindo um íon hidrogênio a ser liberado, não é afetado pelo tratamento com íon hidróxido, conseqüentemente apresentando propriedades químicas diferentes das outras aminas.

## 1.3. Tabaco

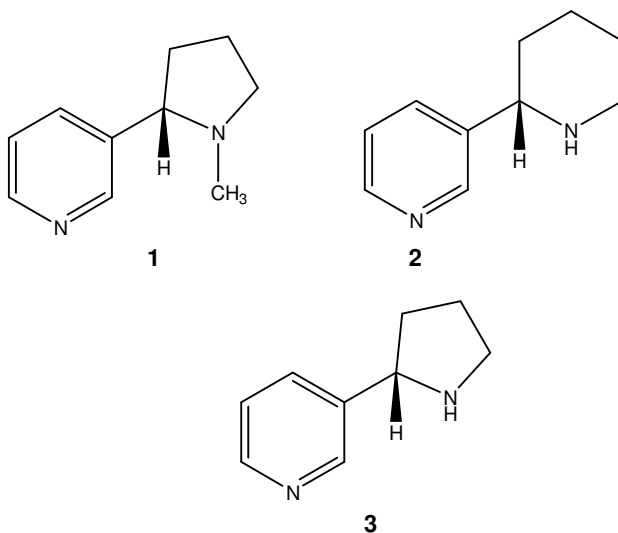
O tabaco é nome comum dado ao preparado obtido da folhas secas e curadas de plantas do gênero *Nicotiana* (Solanaceae), em particular a *N. tabacum* (Fig. 1), nativas da América

tropical, que são, hoje em dia, cultivadas para produção de fumo. Os povos indígenas da América acreditavam que o tabaco tinha poderes medicinais sendo empregado em cerimônias de cura. Devido a suas propriedades, foi levado para a Europa, no início do século XVI, pelos espanhóis onde era mascado ou, então, aspirado sob a forma de rapé (depois de secar suas folhas).



**Figura 1.** Indivíduos férteis de *Nicotiana tabacum*.

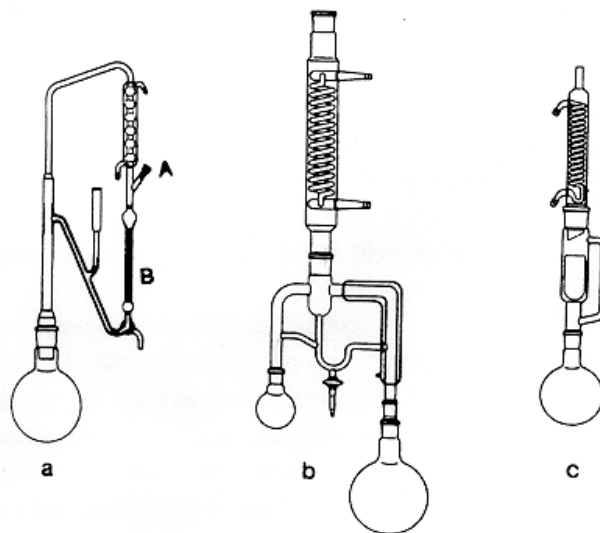
([www.nybg.org/bsci/belize/Nicotiana\\_tabacum.jpg](http://www.nybg.org/bsci/belize/Nicotiana_tabacum.jpg))



As folhas de tabaco podem conter entre 0,6 a 0,9 % de (-) nicotina (1), um alcalóide que se apresenta como líquido oleoso volátil, e uma pequena quantidade de outros alcalóides estruturalmente relacionados, como a anabasina (2) e a nor nicotina (3), na forma de sais dos ácidos málico e cítrico. A nicotina em pequenas doses tem uma ação estimulante sobre o sistema respiratório, mas quando ingerida em doses elevadas causa uma depressão desse sistema. A nicotina possui um efeito tóxico para seres humanos por atuar no sistema nervoso, interagindo com os receptores nicotínicos. A forte interação da nicotina os receptores pode ser, parcialmente, explicada por a sua semelhança estrutural com a acetilcolina. Estudos farmacológicos demonstraram que a nicotina pode melhorar a memória pelo estímulo da transmissão dos impulsos nervosos, o que explica a baixa incidência da Doença de Alzheimer em fumantes. Contudo, quaisquer benefícios para a saúde conferidos pelo fumo são muito mais que contrabalançados pelo aumento no risco de doenças cardíacas e respiratórias.

#### 1.4. Aparelhos Utilizados para o isolamento de compostos voláteis de plantas

A metodologia básica para o isolamento de óleos essenciais a partir de material vegetal é a destilação. Algumas aparelhagens foram desenhadas especialmente para esta função e estão representadas na figura abaixo.



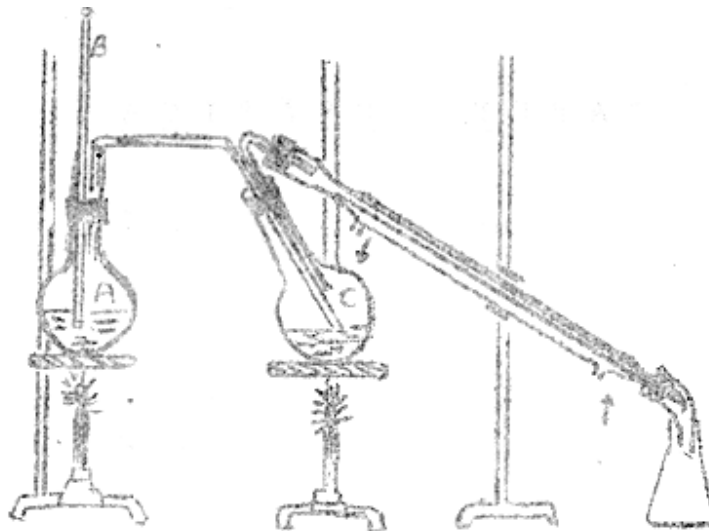
- a) Aparelho de Clevenger (recomendado na Farmacopéia)
- b) Aparelho de Likens-Nickerson (simultâneo extração com solvente/destilação)<sup>3</sup>
- c) Aparelho para extração com solvente (Sohxlet)

A destilação de óleos essenciais com um aparelho do tipo Clevenger (a) ocorre de maneira rápida e simples. O óleo e a água sobem na forma de vapor pelo aparelho. Após percorrem o condensador, estes voltam a forma líquida e são recebidos na porção de coleta (B), como o óleo e a água são imiscíveis estes podem ser facilmente separados. Uma vantagem desta aparelhagem é que os componentes não voláteis da planta, como clorofila, ceras e graxas, permanecem na fase aquosa. A desvantagem deste método é o aquecimento intenso, devido ao alto ponto de ebulição da água, que pode formar uma série de artefatos. Para prevenir a degradação pela alta temperatura e o contato prolongado com a água pode-se proceder à extração com solvente em um aparelho de Soxhlet (c). A desvantagem deste método é que toda uma série de substâncias pode ser extraída com o solvente orgânico, dificultando a análise posterior do óleo essencial. Os inconvenientes acima podem ser contornados pelo emprego de um aparelho de destilação/extração com solvente simultâneo, como o de Likens-Nickerson (b). Neste sistema, o óleo e a água destilam, a partir do balão maior, e no condensador ocorre a extração com o solvente que é fornecido pelo balão menor. Devido a suas diferenças de densidade e solubilidade, a água e o solvente podem ser separados sendo o óleo recolhido no balão menor com o solvente evitando o contato posterior com a água aquecida.

## 2. Técnica

### 2.1. Montagem da Aparelhagem.

Montar a aparelhagem conforme esquema abaixo, sem conectar os balões.



O balão gerador de vapor (A) contendo um tubo de vidro (B), que serve para igualar a pressão, encontra-se conectado ao balão de destilação (C) por um tubo condutor de vapor. O vapor d'água mais a substância a ser separada condensam no condensador reto e são recolhidos no

frasco coletor. Deve-se evitar que a temperatura da água do gerador de vapor baixe, pois com a diminuição da pressão o líquido do balão (C) pode passar para o balão (A) por sifonamento.

## 2.2. Extração da Nicotina.

Aqueça previamente o balão gerador de vapor até ebulição. Coloque entre 10-15 g de tabaco no balão de destilação (C) e adicione 100 mL de uma solução de hidróxido de sódio (3 mol/L). Aqueça o balão contendo o tabaco e a solução alcalina a uma temperatura próxima de seu ponto de ebulição, então conecte o balão gerador de vapor e destile a mistura até que o odor de nicotina não seja mais intenso.

Ao final da destilação, dissolva de 30-40 g de cloreto de sódio no destilado e resfrie a solução até uma temperatura entre 15-20°C. Proceda a extração do destilado com 3 porções de 20 mL de éter. Lave os extratos etéreos combinados com uma porção de 5 mL de água destilada, recolha a fase etérea e seque sobre sulfato de sódio anidro. Reserve a fase etérea para a aula seguinte.

Filtre o extrato com um papel de filtro pregueado e elimine a fase etérea em um evaporador rotatório a vácuo.

Adicione 1 mL de água e 4 mL de metanol ao resíduo dissolvendo-o por através de movimentos circulares sob aquecimento em um banho de água. Após a dissolução, adicione uma ponta de espátula de carvão ativado e filtre através de uma coluna de poucas miligramas de celite em um erlenmeyer de 25 mL. Adicione ao filtrado 10 mL de uma solução saturada de ácido pícrico em metanol.

Espere completar a precipitação (5-10 min) e filtre a solução em um Büchner e colete os cristais formados. Transfira o produto cristalino para um erlenmeyer de 25 mL e proceda a recristalização com água quente, filtre o produto a vácuo e permita que os cristais sequem com a corrente de ar. Determine o rendimento e o ponto de fusão do produto.

## 3. Bibliografia

BRUNETON, J. *Pharmacognosie-Phytochimie Plantes Médicinales*. 2 ed. Paris:Technique et Documentation-Lavoisier, 1993. 915p.

DEWICK, P.M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester: John Wiley, 1997. 466p.

EVANS, W. C. *Trease and Evan's Pharmacognosy*, 14 ed. London: W B Saunders, 1996. 612 p

HESSE, M. *Alkaloid Chemistry*. New York: Wiley-Interscience, 1978, 231 p.

IKAN, R. *Natural Products: a Laboratory guide*. 2<sup>a</sup> ed. San Diego: Academic, 1991. 360 p.

KUTCHAN, T. Alkaloid Biosynthesis-The Basis for Metabolic Engineering of medicinal Plants. *Plant Cell*, v. 7, p. 1059-1070, 1995.

MAARSE, H.; VAN OS, F.H.L. Volatile oil of *Origanum vulgare* L. ssp *vulgare* II. Oil content and quantitative composition of the oil. *Flavour Ind.*,v. 4, p. 481-84, 1973.

PELLETIER, S.W. ed. (1983-1988) *Alkaloids Chemical and Biological Perspectives*, Vol 1-6, New York , USA, Willey

VOGEL, A.I. (1989) *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. (Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Smith, P.W.G., Tatchel, A.R. revisors), 5 ed. Harlow, England: Longan Group,. Cap. 2, p. 171-173, 1989.

WATERMAN, P.G. Chemical Taxonomy of alkaloids. In: Roberts, M.F.; Wink, M. (ed.) *Alkaloids: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications*, New York: Plenum, 1998, p.87-107.