

Prospecção fitoquímica das flores de *Unxia kubitzkii*

Phytochemical prospecting of *Unxia kubitzkii* flowers

Denise L. de Castro*; Lucas M. Bruno; Gabrielle K. S. Alencar; Larissa V. Ruas; Amanda A. Silva.

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, *campus* Nilópolis (IFRJ).
Rua Coronel Délio Menezes Porto, 1045, Nova Cidade, Nilópolis, RJ. CEP: 26.530-060

*Autor para correspondência: denise.castro@ifrj.edu.br

Recebido em: 05/11/2017. Aceito em: 14/06/2018. Publicado em: 21/11/2018.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22407/1984-5693.2018.v10.p.135-142>

RESUMO

A prospecção fitoquímica das flores de *Unxia kubitzkii* buscou verificar quais metabólitos secundários estão presentes nesta espécie vegetal. Sendo baseada em testes qualitativos feitos com os extratos alcoólico e aquoso das flores da planta. A *Unxia kubitzkii* possui um reduzido número de informações na literatura, mas uma espécie do gênero foi encontrada e já descrita quimicamente (*Unxia camphorata*), apresentando elevado potencial medicinal por se tratar de um poderoso colagogo. O estudo fitoquímico das flores desta espécie nos permitiu verificar a presença de heterosídeos, saponinas, gomas, mucilagens, taninos, catequinas e ácidos voláteis, no extrato aquoso. A partir dos resultados obtidos com o extrato alcóolico, observou-se a presença de esteróides e triterpenóides, alcalóides e ácidos orgânicos.

Palavras-chave: *Unxia kubitzkii*, Prospecção fitoquímica, Metabólitos secundários.

ABSTRACT

The phytochemical prospecting of *Unxia kubitzkii* flowers sought to verify which secondary metabolites are present in this plant species. This based on qualitative tests made with the alcoholic and aqueous extracts of the flowers of the plant. *Unxia kubitzkii* has a small number of information in the literature, but a species of the genus was found and already described chemically (*Unxia camphorata*), presenting high medicinal potential because it is a powerful cholagogue. The phytochemical study of flowers of this species allowed us to verify the presence of heterosides, saponins, gums, mucilages, tannins, catechins and volatile acids in the aqueous extract. From the results obtained with the alcoholic extract, we observed the presence of steroids and triterpenoids, alkaloids and organic acids.

Keywords: *Unxia kubitzkii*; Phytochemical prospecting; Secondary metabolites.

INTRODUÇÃO

O estudo químico de espécies vegetais, tem sido cada vez mais alvo de pesquisas científicas, com o intuito de descobrir prováveis propriedades farmacológicas e medicinais, que possam ser atribuídas a seus constituintes químicos (SIMÕES *et al.*, 2004). Uma grande variedade de plantas vem sendo utilizada como matéria-prima na síntese de diversas substâncias bioativas. No Brasil a imensa diversidade botânica, aumenta a possibilidade de descoberta de novas substâncias bioativas, favorecendo assim a pesquisa fitoquímica com vistas a descoberta de novos fármacos. A pesquisa fitoquímica de uma planta é indicada principalmente quando não existem os estudos químicos da mesma, e tem como objetivo conhecer grupos de compostos químicos, identificando classes de metabólitos secundários relevantes presentes neste vegetal (SIMÕES *et al.*, 2004). A composição química de um extrato pode ser conhecida através de testes químicos qualitativos rápidos e de custo relativamente baixo, desta forma, podem-se sugerir as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse e direcionar a pesquisa fitoquímica (MATTOS, 1997).

Unxia kubitzkii, conhecida popularmente como botão-de-ouro, pertence à família Asteraceae, a segunda mais numerosa entre as angiospermas com cerca de 166 gêneros e 23.000 espécies. É uma florífera perene, herbácea prostrada, ramificada, que possui cerca de 30 a 50 centímetros. Possui folhas simples, com margem serradas, um pouco ásperas e de coloração verde amarelada. É uma planta nativa do Brasil e sua floração se estende durante todo o ano, sendo mais abundante na primavera e no verão. É encontrada em regiões de clima quente, e é uma planta bastante duradoura, pois ser muito resistente as pragas e doenças (LORENZI, 2001).

Os estudos fitoquímicos podem contribuir significativamente para a concretização do desenvolvimento de um país continental como o Brasil. Através da investigação da flora e seu quimismo, da divulgação e geração de novos conhecimentos e da formação de recursos humanos qualificados. A química de produtos naturais (QPN) de vegetais – fitoquímica, como é definida atualmente, se dedica principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos. A vida desses organismos, em todas as suas etapas de desenvolvimento, é assegurada e controlada pelas transformações químicas realizadas por metabolismos primário (principal atividade dos bioquímicos) e secundário - especializado (atividade primordial do químico de produtos naturais). Ainda há muito a ser pesquisado, identificado e utilizado em favor do bem-estar da humanidade, no que diz respeito a produtos naturais originados de plantas no Brasil (BRAZ- FILHO, 2010).

Este trabalho teve como objetivo realizar a prospecção fitoquímica dos extratos aquoso e acoólico, das folhas e flores *Unxia kubitzkii*, usando a marcha de análise proposta por Costa *et al.* (2001), tendo em vista ampliar os estudos farmacognósticos desta espécie vegetal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 2g de flores secas de *Unxia kubitzkii*. Os extratos foram preparados num volume de 100 mL de cada um dos solventes (água e etanol). A extração aquosa foi realizada a quente (utilizando condensador de refluxo acoplado a um balão de fundo redondo de 250mL, em manta de aquecimento). A extração alcoólica foi feita à frio. Esses extratos foram submetidos a

testes para a identificação das seguintes substâncias: heterosídeos cianogênicos, heterosídeos, antociânicos, saponinas, gomas, mucilagens e taninos, taninos pirocatéquicos, taninos pirogálicos, ácidos voláteis, catequinas, esteróides e triterpenóides, bases orgânicas, alcalóides, orto-fenóis, meta-fenóis, para-fenóis livres, cumarinas, ácidos orgânicos, fenóis, compostos antraquinônicos livres e flavonóides.

As análises foram realizadas no laboratório de pesquisas do IFRJ *campus* Nilópolis e foram baseadas na metodologia de marcha de análises de compostos, adaptada de Costa (2001).

Seguiu-se a marcha de análise proposta por Costa e seus colaboradores, da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, Brasil (COSTA, 2001, p.887). Assim, graças a um conjunto de técnicas simples, adquirem-se depressa informações sobre os principais grupos de constituintes, que depois se tornam úteis na escolha dos processos adequados para o isolamento e identificação de cada um dos compostos químicos naturais.

- Material (segundo Costa, 2001): 2g de flores secas;
- Extração (segundo Costa, 2001): Agita-se, num homogeneizador de laboratório, a substância e a quantidade de solvente suficiente para obter uma mistura fluida. A mistura é aquecida em torno de 70° – 80°, durante meia hora, em balão acoplado a um condensador de refluxo e deixada em contato durante 2-3 horas, sob agitação constante. Separa-se o resíduo, comprimindo a mistura quente através de pano fino. Filtra-se, ainda quente, por algodão ou placa porosa e, finalmente em papel. Evapora-se a solução obtida com auxílio de ar quente e banho-maria até obter uma concentração equivalente de 1:10, quando se utiliza material seco, ou 1:1 para material fresco. Quando se tornar muito espessa, ajusta-se a solução extrativa a uma concentração 2,5 ou 10 vezes menor. Quando for necessário, filtra-se de novo.

Marcha de análise (proposta neste estudo)

1-Extrato Aquoso



Figura 1. Preparação do extrato aquoso das flores da *Unxia kubitzkii*.

Utiliza-se o mínimo de 100mL da solução aquosa extrativa a 1:1 (material fresco) ou 1:10 (material seco).

1- Suspende-se uma tira de papel de picrato de sódio num balão fechado que contém a solução extrativa conforme a nota I; aquece a 50-60°. O aparecimento de cor vermelha indica heterosídeos cianogênicos.

1.1- Separam-se 3 porções de 5mL da solução aquosa e conduzê-las, respectivamente a valores de pH neutro, básico e ácido, e comparam-se as colorações obtidas com as que possuía antes. O aparecimento de cores diferentes indica a possível presença de heterosídeos antociânicos.

1.2- Agita-se vigorosamente os tubos de ensaio anteriores que contém as soluções neutra e alcalina e deixe-se em repouso durante pequeno espaço de tempo: o aparecimento de espuma persistente indica a presença de Saponinas.

1.3- Coloca-se num tubo de ensaio com 5mL de solução aquosa extrativa, pouco a pouco, solução de acetato de chumbo neutro até cessar o aparecimento de precipitado. Filtra-se, junta-se ao filtrado acetato básico de chumbo, para verificar se há o aparecimento de novo precipitado.

Repete-se um ensaio análogo, mas adicionando os reagentes por ordem inversa. Assim, junta-se noutra tubo de ensaio um novo volume de 5mL da solução aquosa extrativa e a solução de acetato básico de chumbo. Filtra-se. Junta-se ao filtrado uma solução de acetato neutro de chumbo.

Verifique o aparecimento de precipitados. A sua formação indica Gomas, Mucilagens e Taninos.

1.4- Embebe-se a madeira de um fósforo na solução aquosa extrativa, evapora-se quase a secura, umedeça-a em ácido clorídrico concentrado e seque-a ao calor de uma chama forte, evitando a sua carbonização. O aparecimento de cor vermelha indica Catequinas.

1.5- Junta-se a 5 mL da solução aquosa extrativa, gota-a-gota, alúmen de ferro a 1%. O aparecimento de precipitado escuro, corado, indica Taninos.

1.6- Junta-se a 20 mL de solução aquosa extrativa, 4 mL de formaldeído (0,40%) e 2 mL de ácido clorídrico concentrado: leva-se à fervura várias vezes; filtra-se. Lava-se o precipitado com água, álcool e depois com hidróxido de potássio a 5%. A formação de precipitado escuro, que deixa um resíduo colorido após a lavagem, indica a presença de Taninos pirocatéquicos.

1.7- Adiciona-se ao filtrado separado depois da precipitação dos taninos pirocatéquicos pelo formaldeído - ácido clorídrico (ensaio anterior), um excesso de acetato de sódio e, por fim, gota a gota, alúmen de ferro 1%. O aparecimento de coloração azul ou precipitado negro indica a presença de Taninos pirogálicos.

1.8- Separa-se 3 mL de solução aquosa extrativa, acidula-se com 0,5 mL de ácido sulfúrico 1N e ferve-se em tubo de ensaio. Determina-se o valor de pH dos vapores: um valor de pH inferior a 6 indica Ácidos voláteis.

2- Extrato Alcoólico

2.1- O extrato alcoólico foi obtido pela exposição de 2g de flores secas a 100 mL de álcool etílico absoluto por 24 horas. Observou-se e registrou-se a sua cor e odor. A partir da extração seguiram as etapas descritas.

2.2- Separa-se 2 porções de 20 mL e evapore-as a secura; distinga-as pelas letras A e B.

2.2.1- A primeira porção A, evapore-a num recipiente tarado. Pese e calcule o extrato seco em %.

2.2.2- O extrato seco correspondendo ao resíduo B, é lavado por 3 vezes com clorofórmio, de modo a obterem-se 3 mL da solução clorofórmica filtrada; se for necessário, decore-a pelo carvão ativo. Junte ao filtrado 2 mL de anidrido acético, agite suavemente e adicione 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado: forma-se logo cor azul, evanescente, que muda em seguida para verde, persistente, com esteróides e triterpenóides.

- 2.3- Toma-se uma quantidade de solução alcoólica que corresponda a 20g da planta, pelo menos, evapore-a a um quinto do volume primitivo, adicione 0,5 mL de hidróxido de sódio 1N e se restabelece o volume primitivo, por adição de água. Agita-se em um funil de decantação com a mistura éter – clorofórmio (3:1); repete-se as extrações mais duas vezes.
- 2.3.1- Reúne-se estas soluções éter-clorofórmicas e destila-se o solvente. Junta-se ao resíduo 5mL de água destilada e mede-se o valor de pH. A reação alcalina indica Bases Orgânicas.
- 2.3.2- Junta-se a mistura obtida acima (2.3.1), ácido clorídrico 10N, até a reação ácida, a solução é aquecida e filtrada para 4 tubos de ensaio: adiciona-se a cada um dos tubos separadamente, 3 gotas de reagente de Bouchardat, Dragendorf, Mayer e de Bertrand. Agita-se e se observa imediatamente e decorrida uma hora: o aparecimento de precipitados indica a presença de Alcalóides.
- 2.4- Toma-se um volume de extrato equivalente a 10g de planta, adicione 1 mL de ácido clorídrico 1N (ou até pH 1) e reduz-se, por aquecimento, o seu volume a um quinto; esgota-se com três porções sucessivas de 20 mL de éter.
- 2.5- Se a solução etérea for corada, trate-a por carvão e depois reduza-a ao volume de 10mL.
- 2.5.1- Evapora-se, à secura, 3 gotas de solução etérea em placa de porcelana. Junta-se ao resíduo uma gota de reagente de Liebermann (solução recente a 6% de nitrito de potássio em ácido sulfúrico concentrado) e espera-se alguns minutos; dilui-se cuidadosamente, com uma gota de água e, depois de fria, alcaliniza-se com solução de hidróxido de sódio 4N. O aparecimento de colorações indica a presença de orto- fenóis e meta-fenóis.
- 2.5.2- Numa placa de porcelana junta-se 5 gotas de solução etérea, uma gota de reagente de Millon e aguarde alguns minutos; se não aparecer coloração, aquece-se numa estufa a 100°C durante 3 minutos: uma cor vermelha indica Para-fenóis livres.
- 2.5.3- Coloca-se 5 gotas da solução etérea obtida em 2.5 sobre um papel de filtro, de modo a obter duas manchas com 1cm de diâmetro. A uma destas manchas junta-se uma gota de solução de hidróxido de sódio 10N; cobre-se a metade da mancha e expõem-se à luz ultravioleta. Se descobre para observar. Fluorescência azul na parte descoberta da mancha indica a presença de cumarinas.
- 2.5.4- Evapora-se a parte restante da solução etérea (2.5), junta-se 5 mL de água destilada e determina-se o pH. A reação ácida confirma a presença de ácidos orgânicos.
- 2.5.5- Toma-se 1 mL da solução obtida em 2.5.4 e adiciona-se umas gotas de cloreto férrico. O aparecimento de coloração confirma a presença de fenóis.
- 2.5.6- Agita-se o resto da solução aquosa obtida em 2.5.4 com 3 mL de benzeno e 2 mL de solução de amônia 3N; deixa-se em repouso durante 10 minutos. Se a fase aquosa adquirir cor rosa ou vermelha indica a presença de compostos antraquinônicos livres.
- 2.6- Separa-se 5 mL da solução alcoólica (se for necessário descobre-a pelo carvão), junta-se 1 cm de magnésio em fita e 0,5 mL de ácido clorídrico concentrado; deixa-se reagir por 15 minutos; uma cor rosa indicam flavonoides presentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Simões *et al.* (2007), a pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos de espécies ou avaliar a sua presença, quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse. A análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma.

Em estudo anterior de Pereira e Castro (2007), o vegetal foi analisado inteiro, sendo os resultados apresentados na tabela 1. Para o estudo do presente trabalho, as flores foram analisadas separadas das folhas, e esperava-se que os resultados dos estudos de suas partes separadas fossem ser diferentes dos apresentados por Pereira e Castro (2007).

Essa diferença de resultados pode ser explicada pelo fato de ser uma planta arbustiva e perene, fazendo com que as folhas se tornem local no qual há uma grande circulação de nutrientes e substâncias. Enquanto que flores são mais utilizadas para chamar a atenção de espécies de animais, que possam polinizar a planta, ou seja, tendo função reprodutiva e possuindo menor concentração de substâncias classificadas como metabólitos secundários. A presença dos metabólitos secundários pode atribuir a planta potencial medicinal, como ocorreu na *Unxia camphorata* (BUSMAN *et al.* 2005). Vale ressaltar a importância de estudar as partes da planta de forma isolada, pois caso seja realizado um estudo fitoquímico, saiba em qual parte do vegetal a substância está presente em maior concentração.

Tabela 1. Resultado da prospecção fitoquímica em partes aéreas de *Unxia kubitzkii* H.Rob. (+) significa presente e (-) significa ausente.

Substâncias Investigadas	Resultados
Heterosídeos Antociânicos	+
Saponinas	+
Gomas, Mucilagens e Taninos	+
Catequinas	+
Taninos Pirocatéquicos	+
Esteróides e Triterpenóides	+
Bases Orgânicas	-
Cumarinas	-
Compostos Antraquinônicos Livres	-
Ácidos Orgânicos	+

Fonte: (PEREIRA & CASTRO, 2007).

O solvente escolhido para uma extração tem papel fundamental nos resultados que se espera, pois ele garante uma seletividade. Sendo assim, as substâncias analisadas em extrato aquoso são mais polares e por isso conseguem ser extraídas com água. Os resultados obtidos na análise das flores foram comparados com o trabalho de Pereira e Castro (2007).

Foi perceptível que os taninos pirogálicos estão ausentes tanto nas flores como nas folhas do botão-de ouro. As catequinas, que estão presentes, tendo resultado positivo nas folhas, não estavam presentes nas flores. Vários outros fatores podem influenciar estes resultados, como período do ano da coleta do material vegetal, horário da coleta, tipo de solo e região do país.

Os resultados encontrados para as análises fitoquímicas dos extratos aquoso e alcoólico de *Unxia Kubitzkii*, estão descritos nas tabelas 2 e 3 a seguir.

Tabela 2. Resultado da prospecção fitoquímica do extrato aquoso das flores de *Unxia kubitzkii*

Substâncias Investigadas	Resultados
Heterosídeos Antociânicos	+
Heterosídeos cianogênicos	+
Saponinas	+
Gomas, Mucilagens e Taninos	+
Catequinas	+
Taninos	+
Taninos Pirocatéquicos	+
Taninos pirogálicos	-
Bases Orgânicas	-
Cumarinas	-
Compostos Antraquinônicos Livres	-
Ácidos Orgânicos	+

Ao compararmos os resultados apresentados nas tabelas 1, 2 e 3, das análises feitas no vegetal inteiro e em suas partes separadas, verificamos pouca diferença. Observou-se a presença de esteróides e triterpenóides, alcalóides e ácidos orgânicos no extrato alcoólico das flores de *Unxia kubitzkii*, enquanto que no estudo realizado anteriormente, estudo das folhas, observou-se a presença de esteróides e triterpenóides, alcalóides, orto-fenóis, meta-fenóis, cumarinas, ácidos orgânicos e fenóis (ALENCAR *et al*, 2016). Os resultados podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado da marcha de análise do extrato alcoólico de *Unxia Kubitzkii* H. Rob.

Substâncias Investigadas	Resultados
Esteróides e Triterpenóides	+
Bases Orgânicas	-
Alcalóides	+
Orto-fenóis, Meta-fenóis	-
Para-fenóis livres	-
Cumarina	-
Ácidos Orgânicos	+
Fenóis	-
Compostos antraquinônicos livres	-
Flavonóides	-

CONCLUSÕES

Após a realização dos testes qualitativos para identificar os metabólitos secundários presente nas flores de *Unxia kubitzkii*, foi possível realizar uma comparação com os resultados obtidos na prospecção fitoquímica das folhas de *Unxia kubitzkii*. Quanto ao extrato aquoso pôde-se obter um detalhamento maior da presença dos seguintes compostos: heterosídeos, saponinas, gomas, mucilagens, taninos, catequinas e ácidos voláteis. A partir dos resultados obtidos com o extrato alcóolico, observou-se a presença de esteróides e triterpenóides, alcalóides e ácidos orgânicos, em comum com o estudo anterior.

As pesquisas fitoquímicas são a base da descoberta de novas moléculas que podem ser utilizadas como prováveis fármacos.

O Brasil se coloca como um dos países que possuem a maior diversidade de espécies vegetais do planeta. Essa diversidade merece ser estudada para que provavelmente, venha a fornecer a estrutura de novas moléculas com propriedades farmacológicas. Estas substâncias e suas atividades, uma vez descobertas, seguirão então para sua elucidação estrutural e proposição de rotas reacionais para sua síntese e utilização farmacológica.

AGRADECIMENTOS

Ao laboratório de pesquisas do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Nilópolis. À direção do *campus* que possibilitou o desenvolvimento da pesquisa. Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pelo fomento de uma das bolsas do projeto. A Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação do IFRJ pelo auxílio bancada disponibilizado para a pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, G. K. S.; CASTRO, D. L.; RUAS, L. V., SILVA, A. A. Prospecção Fitoquímica do Extrato Alcóolico das folhas de *Unxia kubitzkii* H. ROB. 2016. **Anais do 56º Congresso Brasileiro de Química**, Belém, 2016. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2016/trabalhos/13/9099-22859.html>>. Acesso em: 25 de maio de 2017.
- BRAZ FILHO, R., Contribuição da Fitoquímica para o desenvolvimento de dm País Emergente. **Química Nova** (33) 1, 229-239, 2010.
- BUSMANM, D.V., ZOGHBIR, G. B., POTIGUARA, C.V., ANDRADE E.H.A. Volatiles from different organs of *Unxia camphorata* L. f. growing wild in the Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**. V. 33, 1269-1273, 2005.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. V.III, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 887-893, 2001.
- CRONQUIST, A. **Phylogeny and taxonomy of the Compositae**. Am. Midl. Nat. 53: 478-511, 1955.
- LORENZI, H. **Plantas Ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Plantarum, 1088p. 2001.
- MATOS F.J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC; 1997.
- PLANTAMED. **Plantas e ervas medicinais e fitoterápicos**. Disponível em <<http://www.plantamed.com.br>> Acessado em: 25 de maio de 2017.
- SILVA, A; LEAL, D.; ALECAR, G.; VENANCIO, L; Prospecção Fitoquímica das Flores de *Unxia Kubitzkii* H.ROB em extrato aquoso. **Anais do 56º Congresso Brasileiro de Química** - Belém. Estudo fitoquímico. Núcleo de estudos e pesquisas de plantas medicinais. Disponível em: <<http://www.neplame.univasf.edu.br/fitoquiaceutica.html>>. Acesso em: 03dez, 2015.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis: UFSC, 2007.
- PEREIRA, A.C., CASTRO, D.L., Prospecção Fitoquímica e Potencial Citotóxico de *Unxia kubitzkii* H.Rob. (Asteraceae-Heliantheae). **Revista Brasileira de Biociências**. V. 5, supl. 2, p. 231- 233, Porto Alegre, 2007.