

ESTUDO FITOQUÍMICO DE FOLHAS E CASCA DE CINAMONO (*MELIA AZEDARACH* L.)

Anderson Barros Archanjo¹, André Kulitz Marins¹, Danielle Ferreira Vieira¹, Adilson Vidal Costa¹, Vagner Tebaldi de Queiroz¹, Lenir Cardoso Porfírio², Patrícia Fontes Pinheiro¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo – Centro de Ciências Agrárias / Departamento de Zootecnia, e-mail: aba.08@hotmail.com

²Universidade Federal do Espírito Santo – Centro de Ciências Agrárias / Departamento de Medicina Veterinária – Curso de Medicina Veterinária, Alto Universitário s/n, Guararema, 29.500-000, Alegre-ES,

Resumo - O conhecimento da relação entre plantas e o tratamento de doenças tem contribuído para uma nova geração de terapia, que inclui os chamados biofármacos. As plantas produzem metabólitos secundários, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de medicamentos. Os compostos pertencentes às classes dos terpenos, compostos fenólicos e alcalóides constituem três grandes grupos de metabólitos secundários. A espécie *Melia azedarach* L, conhecida popularmente como cinamomo tem uma variedade de aplicações clínicas comprovadas, dentre elas: atividade antiviral, antimicrobiana, antiparasitária e inseticida. Diante desse fato, esse trabalho teve como objetivo realizar a prospecção fitoquímica das folhas e casca secas do cinamono (*Melia azedarach* L) a fim de detectar as principais classes de metabólitos secundários. Posteriormente, as folhas e a casca do cinamono serão submetidas a testes para a avaliação da atividade biológica de seus extratos, visando assim desenvolver novos produtos para o tratamento de doenças.

Palavras-chave: Cinamono, *Melia azedarach* L, prospecção fitoquímica, metabólitos secundários, plantas medicinais.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias.

Introdução

Os compostos biologicamente ativos exercem ação específica sobre um ser vivo, seja ele, animal, vegetal ou microorganismo. Os compostos orgânicos naturais de origem vegetal, produto de metabolismo primário e/ou secundário, são biologicamente ativos, quando apresentam ação tranquilizante, analgésica, antiinflamatória, citotóxica, anticoncepcional, antimicrobiana, antiviral, fungicida, inseticida etc (PLETSCH, 1998).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides. Os terpenos são sintetizados a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. Os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (SIMÕES et al., 2007).

A *Melia azedarach* L, conhecida popularmente como cinamomo, tem uma variedade de aplicações clínicas comprovadas como atividade antiviral, antimicrobiana, antimalárica, antiparasitária, inseticida, contraceptiva, antifoliculogênica e citotóxica (ARAÚJO et al., 2009). É citada na literatura como espécie que possui a capacidade de produzir compostos

cianogênicos (GIBBS, 1974), ou seja, à capacidade da liberação de ácido cianídrico (HCN), substância altamente tóxica (PEREIRA e PINTO, 1962; PEREIRA et al., 1965). Estudos fitoquímicos demonstraram maior concentração de compostos polares no fruto, destacando-se os taninos e compostos fenólicos (DANTAS et al., 2000). Outros compostos, entre eles os triterpenos, esteróides e alcalóides também já foram identificados (ARAÚJO et al., 2009).

Visando detectar as principais classes de metabólitos secundários presentes no cinamono (*Melia azedarach* L), esse trabalho objetivou realizar a prospecção fitoquímica de suas folhas e casca secas. Posteriormente, as folhas e a casca do cinamono serão submetidas a testes para a avaliação da atividade biológica de seus extratos, visando, assim, desenvolver novos produtos para o tratamento de doenças.

Metodologia

Material vegetal

As folhas e a casca do cinamono (*Melia azedarach* L) foram coletadas na área experimental do Centro de Ciências Agrárias/CCA-UFES do município de Alegre-ES. Esse material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar por um período de 7 dias a 40 °C e, posteriormente, transferidos para moimho de faca

para obtenção de um fino pó. Os extratos moídos foram acondicionados em recipientes hermeticamente fechados e mantidos em ambiente protegido da incidência de luz para posterior análise da prospecção fitoquímica.

As amostras (extratos) foram submetidas às análises fitoquímicas para determinação das principais classes químicas de metabólitos secundários, de acordo com o protocolo descrito por MATOS (1997).

Flavonóides por classes:

Mediram-se a massa de 2 g do material moído em um béquer, acrescentaram-se 15 mL de etanol 70%, e aqueceu-se por 30 minutos. Realizou-se a filtração do extrato obtido em um béquer (250 mL) e evaporou-se o solvente até *secura* (60 °C). Dissolveram-se alguns miligramas do extrato seco em 20 mL de água. Transferiram-se para três tubos de ensaio, 3 mL da solução para cada tubo. Acidulou-se um dos tubos a pH 3 e alcalinizou-se os dois restantes a pH 8,5 e 11. Os resultados obtidos foram comparados com os dados da Tabela 1 para a detecção da presença de compostos pertencentes às diferentes classes de flavonóides.

Tabela 1. Dados para a determinação de Flavonóides por classes

Constituintes	Coloração em meio		
	pH 3	pH 8,5	pH 11
Flavononas, flavonóis e xantonas	-----	-----	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelho	-----	Vermelho púrpura
Flavononóis	-----	-----	Vermelho-laranja

Subclasses de Flavonóides

Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas:

Em dois tubos de ensaio adicionaram-se 3 mL da solução preparada anteriormente, acidulou-se o primeiro com solução de HCl a pH 1-3 e alcalinizou-se o outro a pH 11 com solução de NaOH. Aqueceu-os, cuidadosamente, em bico de Bunsen durante dois a três minutos. Observaram-se modificações na coloração, comparando com os tubos utilizados no teste anterior. Os resultados obtidos foram também comparados com os dados da Tabela 2 para a detecção da presença de compostos pertencentes às diferentes subclasses de flavonóides.

Tabela 2. Dados para a determinação de Subclasses de Flavonóides

Constituintes	Coloração em meio	
	Ácido	Alcalino
Catequinas (Taninos catequicos)	pardo-amarela	-----
Flavanonas	-----	Vermelho-alaranjado

Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas:

Transferiram-se para um tubo de ensaio, 3 mL da mesma solução extrativa usada no teste anterior e acrescentaram-se alguns miligramas de magnésio em raspas, e 0,5 mL de HCl concentrado. Aguardou-se o término da efervescência, e observou-se por comparação a mudança na coloração em relação aos tubos acidificados dos testes anteriores.

Compostos Fenólicos

Dissolveram-se alguns miligramas de extrato seco obtido anteriormente em 5mL de água destilada, filtrou-se e adicionaram-se uma a duas gotas de solução alcoólica de FeCl₃ a 2%.

Taninos

Pesou-se 1 g do material moído em um béquer e colocaram-se 50 mL de água destilada, levando à ebulição por 5 minutos. O extrato foi filtrado e 2 mL foram colocados em tubos de ensaio para realização das seguintes reações:

- *Reações de sais de ferro:* ao extrato aquoso (2 mL), juntaram-se 5 mL de água destilada e algumas gotas de cloreto férrico 2% (2g de FeCl₃ dissolvido em 50 mL de água e, em seguida, adicionaram-se 2 mL de HCl 3N e completou-se o volume com etanol para 100 mL.

- *Reação com gelatina:* ao tubo de ensaio contendo o extrato acrescentaram-se uma a duas gotas de HCl 10% e de solução aquosa de gelatina 2,5%, gota a gota para evitar-se a redissolução do precipitado formado.

- *Reação com acetato de cobre:* juntaram-se ao extrato algumas gotas de solução aquosa de acetato de cobre 3%.

- *Reação com acetato de chumbo:* adicionaram-se ao extrato gotas de acetato de chumbo 10%.

Cumarinas

Pesaram-se 2 g do material moído, e adicionaram-se 1 mL de HCl 10% e 10 mL de etanol 70%, aqueceu-se durante 10 minutos (60 °C). Após filtração, reduziu-se o volume, por aquecimento, a 5 mL e realizou-se a extração com 10 mL de acetato de etila (P.A.) em funil de separação. O extrato em acetato de etila foi concentrado a 5 mL e transferido para um tubo de ensaio. Adicionaram-se 5 mL de solução alcoólica de KOH a 5% ao tubo de ensaio.

Terpenóides e esteróides

Pesaram-se 2 g do material moído em um béquer, colocaram-se 20 mL de etanol 50% e ferveu-se por 30 minutos. Filtrou-se o sobrenadante e repetiu-se a extração por duas vezes, utilizaram-se em cada, 10 mL de etanol 50%. Filtraram-se os extratos e, posteriormente foram reunidos em um béquer. Adicionaram-se 10 mL de solução saturada de acetato básico de chumbo e centrifugou-se. O líquido sobrenadante foi filtrado para um funil de separação, adicionando-se água destilada e extraíndo a solução hidroalcoólica com duas porções de 15 mL de clorofórmio. Os extratos de clorofórmio foram reunidos e concentrados até 10 mL para realização das reações seguintes:

- *Reação de Lieberman-Buchard*: utilizaram-se 5 mL do extrato clorofórmio, levando-o a resíduo. Adicionou-se 0,5 mL de anidrido acético, transferiu-se para um tubo de ensaio que continha 1 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- *Reação de Kedde*: evaporaram-se 3 mL do extrato clorofórmio, juntaram-se ao resíduo quatro gotas de solução alcoólica 1% de ácido 3,5-dinitrobenzóico (0,1g em 10 mL de etanol) e 2 gotas de KOH 1N.
- *Reação de Baljet*: 3 mL do extrato clorofórmio foram evaporados e adicionados 4 a 5 gotas de ácido pícrico 0,5% e 2 gotas de KOH 1N.

2-desoxiaçúcares:

Reação de Keller-Killiani: Evaporaram-se cerca de 3 ml de extrato. Dissolveu o resíduo em cerca de 1,0 ml de ácido acético glacial, juntaram-se à solução 8 a 10 gotas de cloreto férrico a 2%. Transferiu-se cuidadosamente a solução, através das paredes, para um tubo de ensaio contendo cerca de 1,0 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Saponinas

Em um béquer pesou-se 1g do material moído e adicionaram-se 80 mL de água destilada. Esse

extrato foi neutralizado com gotas de solução (20%) de carbonato de sódio e aquecido até ebulição. Foi resfriado, filtrado e transferido para um balão de 100 mL. Dez tubos de ensaio foram numerados de 1 a 10. A cada tubo foi adicionado o seu respectivo volume de extrato obtido. De ordem inversa, começando do tubo 1. Foram adicionados 9 mL de água destilada de forma decrescente até o tubo 9. Ou seja: no tubo 9 foi adicionado 1 mL de água destilada e no tubo 10 não houve adição de água destilada. Cada tubo foi vedado com uma rolha e agitado por 15 segundos. A bateria de tubos ficou em repouso por 15 minutos para posterior detecção do índice de espuma.

Alcalóides

Em um béquer foram colocados 2 g do material moído da planta. Agitaram-se com 20 mL de ácido clorídrico 1%, aqueceu-se por 10 minutos (60 °C). Após esfriar, filtrou-se para um funil de separação e alcalinizou-se com 10 mL de solução aquosa de NH₄OH 10% (m/v) (~ pH 11; ~10 mL). A solução alcalina foi extraída com duas porções de 10 mL de clorofórmio (P.A.). Em seguida, a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e filtrada para um béquer. Evaporou-se o clorofórmio em banho de areia sob exaustão a 37 °C. Em seguida, ressuspendeu-se o resíduo em 5 mL de HCl 1%. Em quatro tubos de ensaio colocou-se 1 mL do resíduo ressuspensão e adicionaram-se os reagentes de Dragendorff, Mayer, Bertrand e Bouchardat nos seus respectivos tubos.

Reagente de Mayer: Dissolveram-se 1,35g de cloreto de mercúrio em 60 mL de água e 5g de iodeto de potássio em 20 mL de água. Misturaram-se as duas soluções e diluiu-se com água até 100 mL.

Reagente de Dragendorf: Juntaram-se 50 mL de água a 5g de carbonato de bismuto, adicionaram-se 12 mL de ácido clorídrico e agitou-se até sua quase dissolução; juntaram-se aos poucos e agitando-se sempre, 25g de iodeto de potássio e, após a dissolução, completou-se com água até 100 mL.

Reagente de Bertrand: dissolveram-se 5g de ácido silicotúngstico em água para obtenção de 100 mL de solução.

Reagente de Bouchardat: Dissolveram-se 2g de iodeto de potássio e 1g de iodo em 50 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL com água destilada.

Antraquinonas

Realizou-se a reação de Borntraeger: Ferveu-se, por 10 minutos, 0,2g do material pulverizado com 10 mL de H₂SO₄ 2N. Filtrou-o para um funil de separação, adicionando-se 10 mL de acetato de etila. Após agitação e separação das fases, recolheu-se a fase orgânica em um tubo de ensaio. Acrescentaram-se 2 mL de NaOH 2N e agitou-se.

Resultados

As classes de metabólitos secundários detectadas para os extratos secos de folhas e da casca de cinamono (*Melia azedarach* L.) são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados da prospecção fitoquímica de extratos de folhas e da casca de cinamono (*Melia azedarach* L.)

Classes Químicas	Folhas	Casca
Flavononas, flavonóis e xantonas	+	-
Chalconas e auronas	-	-
Flavononóis	+	+
Catequinas – Taninos catéquicos	-	+
Flavanonas	+	+
Compostos Fenólicos	+	+
Taninos	+	+
Cumarinas	-	-
Núcleo estereoidal	+	+
Lactonas alfa-beta insaturadas	+	+
2-desoxiaçúcares	-	+
Saponinas	+	+
Alcalóides	-	-
Antraquinonas	+	-

Para a determinação de flavonóides por classes nas folhas de cinamono, observou-se coloração amarela da solução em pH 11, o que indicou a presença de flavononas, flavonóis e xantonas e no mesmo pH a solução teste para flavononóis apresentou coloração vermelho-laranja, o que confirma a presença desse metabólito.

A presença de catequinas (taninos catéquicos) e flavanonas para a casca do cinamomo foi caracterizada pelo aparecimento da coloração pardo-amarela, em meio ácido, e vermelho-alaranjado, em meio alcalino.

A mudança de cor da solução teste para compostos fenólicos foi o indicativo da presença dessa classe de compostos para os extratos das folhas e da casca do cinamomo.

Nas reações testes para taninos, a formação de precipitado foi o indicativo da presença deste

composto nos extratos das folhas e da casca do cinamono.

A presença de terpenóides e de esteróides, foi confirmada pelo aparecimento de coloração castanho-avermelhada. Indicativo da presença do núcleo estereoidal tanto nos extratos secos de folhas, quanto na casca do cinamono.

A coloração vermelha violácea intensa indicou a presença de lactonas α - β insaturadas nas amostras analisadas. O surgimento da coloração vermelho-acastanhada na zona de contato dos líquidos foi indicativo da presença de 2-desoxiaçúcares.

O aparecimento de espuma nos tubos testes para saponinas foi indicativo da presença deste metabólito nos extratos secos das folhas e da casca do cinamomo. A presença intensa da coloração vermelha na camada aquosa foi indicativa da presença de antraquinonas apenas no extrato seco das folhas do cinamomo.

Discussão

Os resultados da prospecção fitoquímica para extratos secos das folhas e casca do cinamomo (*Melia azedarach* L.) revelam semelhanças na composição química em relação aos metabólitos secundários detectados. Foram testadas 14 classes, as diferenças observadas foram apenas em relação à presença de: flavononas, flavonóis e xantonas, catequinas (taninos catéquicos), 2-desoxiaçúcares e antraquinonas.

A presença de metabólitos secundários está em consonância com alguns resultados encontrados na literatura científica. Segundo Maciel *et al.* (2006) ao realizarem a análise fitoquímica de extratos de *M. azedarach*, utilizados com atividade larvicida e ovicida em *Haemonchus contortus* foram constatadas a presença de taninos condensados e triterpenos.

De acordo com Robbers *et al.* (1997) taninos compreendem um grande grupo de substâncias complexas presentes no reino vegetal. Em quase todas as famílias botânicas há espécies que contêm taninos. Quando ocorrem em grandes quantidades, geralmente se localizam em determinados órgãos da planta como as folhas, os frutos, o córtex ou o caule. Costumam ser divididos em duas classes químicas, com base na identidade dos núcleos fenólicos existentes e na maneira como se unem. Como ésteres são facilmente hidrolisados, produzindo ácidos fenólicos e açúcar, são conhecidos como taninos hidrolisáveis. Os taninos condensados compõem a segunda classe. Os taninos precipitam proteínas e podem combinar-se a elas, tornando-as resistentes às enzimas proteolíticas.

Os limonóides são também conhecidos como meliacinas e são assim denominados devido ao seu sabor amargo. Tais substâncias foram isoladas de plantas pertencentes às famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae. Sua rota biossintética em plantas prevê como precursor um triterpeno que, no final, dá origem aos tetranotriterpenóides pela perda de quatro átomos de carbono do precursor original. Os limonóides são conhecidos pelo fato de apresentarem atividade contra insetos, seja interferindo no seu crescimento, seja pela inibição na ingestão de alimentos (SIMÕES *et al.*, 2007).

Conclusão

Os testes preliminares e qualitativos realizados para os extratos secos de folhas e da casca de cinamomo (*Melia azedarach* L.), constataam uma composição similar em relação às principais classes de metabólitos secundários estudadas.

As diferenças observadas foram quanto aos testes para a detecção das classes flavononas, flavonóis e xantonas e de antraquinonas, que foram negativos para o extrato seco da casca. Os testes para a detecção de catequinas – taninos catéuicos e de 2-desoxiaçúcares foram negativos apenas para o extrato seco das folhas de cinamomo.

O estudo fitoquímico realizado para extratos secos de folhas e da casca de cinamomo (*Melia azedarach* L.), será tido como base para pesquisas das ações farmacológicas dos metabólitos secundários encontrados e, também, servirá como fonte de dados para comparações de análises semi-quantitativas que serão realizadas em etapas futuras.

Agradecimentos

Ao Centro de Ciências Agrárias e Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFES.

Referências

- ARAÚJO, S.A.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; DANTAS, T.V.M.; et al. Usos potenciais de *Melia azedarach* L. (Meliaceae): Um levantamento. **Arq. Inst. Biol.**, V.76, n.1, p.141-148, 2009.
- DANTAS, D. A.; MAGANHA, M.; BERETTA, T. E.; et al. Estudo fitoquímico dos frutos de *Melia azedarach* L. (Cinamomo, Meliaceae). **Anais do Encontro de Pesquisa e Iniciação Científica da UNIDERP**, Campo Grande, Brasil, p.119-120, 2000.

- GIBBS, R. D. **Chemotaxonomy of flowering plants**. V.4. Montreal: McGill-Queen's, 1974. 1980pp

- MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F., COSTA, C.T.C.; CASTRO, C.M.S. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. **Vet. parasitol.**, v.140, p.98-104, 2006.

- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997. 141 p.

- PEREIRA, A.S.; PINTO, M.G. Determinação da toxicidade da mandioca pelo paladar das raízes "in natura". **Bragantia**, Campinas, v.21, nota n.25, p.CXLV-CL, 1962.

- PEREIRA, A.S.; NERY, J.P.; IGUE, T. Seleção de novos clones de mandioca para mesa, pela toxicidade e paladar de suas raízes "in natura". **Bragantia**, Campinas, v.24, nota n.10, p. LV-LVIII, 1965.

- PLETSCHE, M.. A aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia cienc. desenvolv**, V. 4, p. 12-15, 1998.

- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER V.E. **Farmacognosia e farmacobiocnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1997.

- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre: editora UFRGS, 2007. 1104p.