

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ERVA-DE-PASSARINHO (*Struthanthus marginatus* Desr. Blume) PARASITANDO LARANJEIRA (*Citrus sinensis* L. Osbeck)

Edvânia Moreira Alves¹, André Kulits Marins², Vagner Tebaldi de Queiroz², Patrícia Fontes Pinheiro², Adilson Vidal Costa², Leopoldina Leonor Fagundes³

¹Faculdade de Minas (FAMINAS), Av. Cristiano Ferreira Varella, 655, Bairro Universitário, CEP 36.880-000, Muriaé-MG

²CCA-UFES/Departamento de Zootecnia, Alto Universitário, s/n, Bairro Guararema, CEP 29.500-000, Alegre-ES, e-mail: patriciafontespinheiro@yahoo.com.br

³Departamento de Ciências Farmacêuticas (UFJF), Rua José Lourenço Kelmer, s/n, Bairro São Pedro, CEP 36036-900, Juiz de Fora-MG

Resumo- A erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus* Desr. Blume) tem sido utilizada na medicina popular em casos como afecção pulmonar, asma, bronquite, pneumonia, tosse e úlcera. Este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico da erva-de-passarinho, parasitando a laranjeira (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Para tal, foi realizada a prospecção fitoquímica bem como análises cromatográficas (CCD e CG/EM) para os extratos alcóolicos obtidos a partir da folha e do caule. As análises comparativas revelaram grande semelhança entre as classes de metabólitos presentes nas folhas e no caule. O perfil cromatográfico obtido por CCD revelou, para ambos os extratos, a presença de 5 pontos. Na análise preliminar por CG/EM foram identificados os compostos β -D-glicopiranosose e os ácidos etanodióico, butanodióico, propanóico, tetrônico e D-glicurônico no extrato da folha e os ácidos tetradecanóico, hexadecanóico, octadeca-9,12-dienóico, linoléico e benzenacético no extrato do caule. Espera-se que os resultados encontrados possam auxiliar no desenvolvimento de trabalhos de pesquisa relacionados à obtenção de novos produtos para a indústria Química e Farmacêutica.

Palavras-chave: erva-de-passarinho; metabólitos secundários; parasitismo, laranjeira, cromatografia gasosa.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias.

Introdução

As plantas compreendem uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos (SIMÕES, 2002). Nos países ocidentais, onde a química sintética é a base da indústria farmacêutica, 25% das moléculas alvo são originalmente isoladas de plantas (FUMAGALI et al., 2008).

O Brasil tem uma enorme biodiversidade, onde grande parte das espécies vegetais nativas ainda não foi estudada. O estudo fitoquímico dessas espécies é de grande importância e corresponde uma fonte inexplorada que pode ser usada para a descoberta de alternativas terapêuticas (FOGLIO et al., 2006).

As plantas do gênero *Struthanthus* são conhecidas como ervas-de-passarinho e parasitam pomares no Brasil, principalmente os de laranjeiras e goiabeiras (VIEIRA et al., 2005). A planta é transmitida de uma árvore a outra através do excremento dos passarinhos, que se alimentam da semente da planta e fabricam suco gástrico que favorece a germinação (VEGAS, 2000).

A erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus* Desr. Blume) tem sido utilizada na medicina popular em casos como afecção pulmonar, asma, bronquite, pneumonia, tosse e úlcera (FONSECA, 2005). Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi o estudo fitoquímico do caule e das folhas da erva-de-passarinho parasitando a laranjeira (*Citrus sinensis* L. Osbeck) no intuito de identificar as classes de metabólitos secundários e os principais constituintes químicos.

Metodologia

As amostras da erva-de-passarinho foram coletadas na cidade de Muriaé-MG. As folhas e o caule da erva-de-passarinho foram retirados, lavados e armazenados à 25 °C durante sete dias e, em seguida, separados e cortados para o preparo dos extratos. A extração foi realizada por maceração utilizando 60 g de material vegetal em 400 mL etanol 98% (v/v) por sete dias. A mistura resultante foi filtrada e incubada em estufa à 40 °C durante 12 horas.

Após a obtenção dos extratos secos foi realizada a triagem fitoquímica para as classes saponinas espumílicas; ácidos orgânicos;

açúcares redutores; polissacarídeos; proteínas; fenóis e taninos; flavonóides, leucoantocianidinas, catequinas e flavonas; flavonóis, flavanonas, xantonas; alcalóides; purinas; esteróides e triterpenóides conforme metodologia descrita por Barbosa (2001).

O perfil cromatográfico dos extratos foi obtido por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando como fase estacionária sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck). A fase móvel utilizada foi hexano/acetona (80:20) e o extrato foi dissolvido em metanol. Foram realizadas três aplicações na placa de vidro contendo a fase estacionária. A primeira aplicação contendo 3 gotas de metanol, a segunda e a terceira continham, respectivamente, 3 gotas e 12 gotas do extrato dissolvido. Após a completa eluição da fase móvel e evaporação do solvente, as placas foram expostas à luz ultravioleta, para detecção de possíveis substâncias fluorescentes e posteriormente à revelação com solução de vanilina-ácido sulfúrico.

Para a identificação dos constituintes químicos principais, os extratos foram derivatizados pelo processo de silição e posteriormente analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). Foram pesados 3 mg do extrato em vidro cônico para reações e, em seguida, adicionou-se 60 µL de piridina, agitando-se a mistura até a completa homogeneização. A esta solução foram adicionados 100 µL da mistura reacional de N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) contendo 4% de trimetilclorosilano (TMCS). Essa mistura foi aquecida em banho de glicerina (70 °C/30 min.).

Os extratos siliados foram analisados por cromatografia gasosa e espectrometria de massas (CG-EM), em aparelho marca Shimadzu PQ5050A usando coluna capilar de sílica fundida DB-1 (30 m x 0,25 mm de diâmetro; filme de 0,25 µm) usando hélio como gás de arraste. A temperatura do injetor foi de 290 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 80 °C por 5 minutos, aumentando de 80 °C a 285 °C na razão de 4 °C /min. A temperatura final permaneceu em 285 °C por 40 minutos. A temperatura na interface do sistema CG-EM foi de 290 °C. O detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons (70 eV) e varredura de massas entre os intervalos de 30 e 600 Da. Para a análise, 1 µL da mistura foi injetado no cromatógrafo (ORSA e HOLMBOM, 1994).

A identificação foi feita por comparação com os espectros de massas da biblioteca Wiley 7 e com as fragmentações descritas em Silverstein (2002).

Resultados

As classes de metabólitos secundários presentes nos diferentes extratos encontram-se na tabela 1. Os testes positivos para as folhas da erva-de-passarinho foram: ácidos orgânicos (permanência da coloração verde-escuro em presença do reativo de Pascová); açúcares redutores (aparecimento de precipitado vermelho-tijolo após ebulição em banho-maria); catequinas (presença da coloração vermelha intensa); esteróides e triterpenóides (presença da coloração verde persistente); flavanonas (coloração vermelho-alaranjado em pH 10,98) flavonas, flavonóis e xantonas (coloração amarelo-claro em pH 11,35); saponinas espumídicas (formação de espuma estável).

Tabela 1. Classes de metabólitos secundários presentes nos extratos obtidos a partir da erva-de-passarinho parasitando a laranjeira

Classes de metabólitos secundários	Laranjeira	
	Folha	Caule
Ácidos orgânicos	+	+
Açúcares redutores	+	+
Catequinas	+	+
Esteróides e Triterpenóides	+	+
Flavanonas	+	+
Flavonas, Flavonóis, Xantonas	+	+
Saponinas espumídicas	+	+
Taninos catéquicos	-	+

* - sinal positivo (+) indica que a classe química foi detectada e o sinal negativo (-) indica que não se pode afirmar que a referida classe esteja presente na amostra, ou seja, os resultados foram negativos.

Os testes qualitativos realizados para amostras do caule apresentaram resultados semelhantes aos encontrados para as classes de metabólitos presentes na folha (Tabela 1), a exceção da classe Taninos catéquicos. Esta classe mostrou-se presente apenas em amostras do caule durante a realização do teste para fenóis (presença de coloração azul-claro acinzentado).

O perfil cromatográfico do extrato das folhas por CCD, permitiu a visualização de 5 manchas com valores de fator de retenção (Rf) de 0,18; 0,25; 0,32; 0,38; 0,46. Durante a análise por CCD do extrato do caule também foram observadas cinco manchas. Os valores de Rf encontrados foram 0,16; 0,21; 0,27; 0,31; 0,39.

Os compostos, preliminarmente identificados por CG/EM, do extrato seco das folhas de erva-de-passarinho encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Compostos identificados por análise em CG/EM de extrato das folhas da erva-de-passarinho

T.R.(min.)*	Possível Composto
10,02	Ácido etanodióico
11,06	N-alil-n-metilbutilamina
16,52	Ácido butanodióico
17,37	Ácido propanóico
25,21	Ácido tetrônico
32,28	Ácido D-glicurônico
32,51	Ácido 2-ceto-D-glicônico
32,61	Sorbose
34,59	β -D-glicopirranose
36,19	Inositol
42,07	D-xilopirranose
50,32	6,7-dihidroxicumarina

* - T.R.(min.) – tempo de retenção em minutos.

Os resultados preliminares, obtidos pela análise por CG/EM do extrato seco do caule de erva-de-passarinho, podem ser visualizados na tabela 3.

Tabela 3. Compostos identificados por análise em CG/EM de extrato de caule da erva-de-passarinho

T.R.(min.)*	Possível Composto
11,05	N-alil-n-metilbutilamina
32,48	Ácido 2-ceto-D-glicônico
32,56	Sorbose
32,65	Ácido tetradecanóico
34,55	D-xilopirranose
36,12	Inositol
37,62	Ácido hexadecanóico
41,48	Ácido octadeca-9,12-dienóico
41,65	Ácido linoléico
51,35	6,7-dihidroxicumarina
55,37	Ácido benzenacético

* - T.R.(min.) – tempo de retenção em minutos.

Foram identificados 11 e 12 compostos presentes, respectivamente, nos extratos do caule e das folhas. Destes, os compostos N-alil-n-metilbutilamina, ácido 2-ceto-D-glicônico, sorbose, inositol, D-xilopirranose e 6,7-diidroxicumarina foram comuns aos dois extratos. A β -D-glicopirranose e os ácidos etanodióico, butanodióico, propanóico, tetrônico e D-glicurônico se mostraram presentes apenas no extrato da folha. Por outro lado, os ácidos tetradecanóico, hexadecanóico, octadeca-9,12-dienóico, linoléico e benzenacético foram encontrados no extrato do caule.

Discussão

Pela análise da tabela 1, observa-se que de todas as classes de metabólitos analisadas, 7 apresentaram o mesmo resultado tanto para os extratos das folhas quanto do caule da erva-de-passarinho. A diferença observada foi quanto à ausência de taninos catéquicos nas folhas.

Os taninos são formados pela condensação de duas ou mais unidades flavanoídicas e possuem habilidade para formar complexos solúveis com alcalóides, gelatinas e diversas proteínas. Essa habilidade que os taninos exibem para interagir com proteínas torna essa classe de substâncias bastante tóxica a insetos, fungos e bactérias (SILVA, 2004).

Para as folhas e caules foi possível detectar a presença de flavononas, flavonóis, xantonas. Esses compostos são essenciais ao crescimento e reprodução da planta e atuam na defesa contra patógenos e possíveis predadores (SHAHIDI E NACZK, 1995).

Os compostos identificados na análise realizada por CG/EM para os extratos das folhas e caule pertencem à classe de ácidos orgânicos e/ou derivados de carboidratos. Estes resultados corroboram com os encontrados durante a prospecção fitoquímica.

As plantas possuem a habilidade de acumular ácidos orgânicos em seus vacúolos. Isto pode ser evidenciado no suco de frutas cítricas (pH ~ 2,5) devido a presença do ácido cítrico. Estes ácidos não estão restritos apenas aos frutos e podem aparecer também nas folhas de muitas plantas. As crassuláceas apresentam uma notável variação das quantidades de ácidos em suas folhas durante o dia (HARBONE & BAXTER *apud* OLIVEIRA, 2002). Os ácidos orgânicos possuem poder bacteriostático e bactericida gram-negativo, *in vitro*, desde que as moléculas ácidas encontrem-se ionizadas e que haja contato com a bactéria por tempo adequado (GARCIA et al., 2000).

Nas últimas décadas, polissacarídeos de origem vegetal emergiram como uma importante classe dos produtos naturais bioativos. Atividade antitumoral, imunoestimulante, anticomplemento, anti inflamatória, anticoagulante, antiviral, hipoglicêmica e hipocolesterolemiantes têm sido relatados para uma grande variedade de polissacarídeos (SIMÕES, 2002).

Conclusão

Por meio das análises qualitativas comparativas dos extratos alcóolicos das folhas e caule da erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus* Desr. Blume) parasitando a laranjeira (*Citrus sinensis* L. Osbeck) foi possível detectar

grande semelhança em relação às classes de metabólitos secundários analisadas. A única diferença observada foi quanto à ausência de taninos catéquicos nas folhas.

Na análise preliminar, por CG/EM, observou-se que a β -D-glicopiranosose e os ácidos etanodióico, butanodióico, propanóico, tetrônico e D-glicurônico se mostraram presentes apenas no extrato da folha. Por outro lado, os ácidos tetradecanóico, hexadecanóico, octadeca-9,12-dienóico, linoléico e benzenacético foram encontrados no extrato do caule.

Espera-se que os resultados encontrados para o estudo fitoquímico da erva-de-passarinho, realizado no presente trabalho, possam servir como fonte de informação para comparações de análises semi-quantitativas que serão realizadas em etapas futuras e para nortear pesquisas de ações farmacológicas.

Agradecimentos

À FAMINAS, ao Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) da UFV e ao Centro de Ciências Agrárias e Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFES.

Referências

- BARBOSA, Wagner Luiz Ramos. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatografia de Extratos Vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v.4, p.12-19, 2001.

- FONSECA, Z. A. Fitomedicinal – plantas e ervas medicinais. Disponível em <http://www.plantamed.com.br/>. Acesso em mar. 2005.

- GARCIA, R.G.; ARIKI, J.; MORAES, V.M.B.; KRONKA, S.N.; BORGES, S.A.; MURATA, L.S.; CAMPOS, V.A. Ação isolada ou combinada de ácidos orgânicos e promotor de crescimento em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, V. 2, n. 2, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516635X2000000200004&lng=pt&nrm=is>. Acesso em dez. 2006.

-OLIVEIRA, R.B. Ácidos orgânicos. Disponível em: <http://www.oocities.org/br/plantastoxicas/acidoss.html>. Acesso em abr. 2002.

- ORSA, F., HOLMBOM, B. A convenient method for the determination of wood extractives in papermaking process water and effluents. **Journal Pulp Paper Science**. v. 20, p. 361, 1994.

- ROBBERS, J. E. et al.; **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1997.

- SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications**. Lancaster PA: Technologic Publishing Co, 1995.

- SIMÕES, C.M.O., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Editora: UFSC, p. 403-434, 2002.

- SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. G. M.; RODRIGUES FILHO, E.; ELIAS, C.N. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Medicina Tropical**. v. 37, p. 396-399, 2004.

- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Editora Guanabara. Rio de Janeiro, 2002.

- VEGAS, C. Erva de Passarinho. *Jornal O Estado do Paraná*, Curitiba, 06 de Agosto de 2000. Pragas, p. 1.

-VIEIRA, O.M.C.; SANTOS, M.H.; SILVA, G.A. Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva-de-passarinho). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. V. 15, p. 149-154, 2005.