



IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FITOQUÍMICOS ATRAVÉS DE REAÇÕES COLORIMÉTRICAS DE DA PLANTA *Erythrina velutina*: UM POSSÍVEL AGENTE ANTIFÚNGICO

Davi Azevedo Ferreira ¹
Wagner Bernardo da Silva ²
Francinalva Dantas de Medeiros ³

RESUMO

O aumento da resistência bacteriana e de outros microrganismos aos seus antimicrobianos, nos leva a pensar em alternativas terapêuticas que possam vir a ser novos potenciais antimicrobianos, com atividades otimizadas. As plantas medicinais são uma ampla fonte para obtenção desses novos compostos, pela presença dos seus fitoquímicos. O presente estudo objetiva realizar a identificação fitoquímica por reações colorimétricas, para identificação dos principais grupos fitoquímicos que possuam atividade antifúngica. Como metodologia do experimento, ocorreu a coleta e identificação botânica da *Erythrina velutina*, a coleta foi feita em tempos separados, para avaliar aspectos de sazonalidade, após isso obtenção dos extratos da planta (Extrato 1 e 2), e feitas as identificações fitoquímicas de flavonoides, taninos, terpenos e alcaloides. Foi identificado uma presença maior de taninos em ambos os extratos e em menor quantidade de flavonoides, evidenciando assim a espécie como potente antifúngico, pois taninos e flavonoides possuem esta propriedade. Dessa forma, o estudo em questão nos faz observar que os constituintes fitoquímicos da *E. velutina* não se alteram com a sazonalidade, na região coletada. Além disso, podemos ter potentes antifúngicos presentes dentro dos extratos selecionados.

Palavras-chave: *Erythrina velutina*, Atividade antifúngica, fitoquímica.

¹ Graduando pelo Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Cuité, daviavevedoferreira@hotmail.com;

² Graduando pelo Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Cuité, bernardodswagner@gmail.com;

³ Doutora em Fármacos e medicamentos pela Universidade de São Paulo –USP, SP – Brasil, Professora do curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campus Cuité, francinalvamedeiros@gmail.com;



INTRODUÇÃO

De acordo com Santana et al. (2014), o aumento da resistência bacteriana a vários antimicrobianos acarreta dificuldades nos cuidados terapêuticos e contribui para aumento das taxas de infecções hospitalares. A utilização dos mesmos deve ser criteriosa e restrita a algumas circunstâncias, pois o uso inadequado pode trazer falha do tratamento, como interações medicamentosas indesejáveis e aumento da resistência microbiana. Dessa forma, é evidente o seu uso racional como a prática de prescrição, que resulta na ótima indicação, dosagem, via de administração e duração de um esquema terapêutico ou profilático, proporcionando alcance de sucesso clínico com mínima toxicidade para o paciente e reduzido impacto sobre a resistência microbiana (SANTOS, 2019).

Assim, as plantas medicinais se apresentam como alternativas para o uso como antimicrobiano, tendo em vista que possuem metabólitos secundários com importantes atividades biológicas, nas quais podem possuir atividade antimicrobiana (REMPEL et al., 2019).

O Brasil, país de dimensões continentais, abriga uma vasta fauna e flora, sendo detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, se tornando uma imensa fonte de produtos naturais, necessitando de políticas públicas que garantam a preservação de sua biodiversidade, de seus saberes tradicionais e culturais, além de incentivo as pesquisas, como forma de valorização. Portanto, abriga várias espécies de plantas medicinais, com poder antimicrobiano, considerando-se que possuem substâncias inovadoras que podem possuir atividade contra microrganismos patogênicos. O interesse em estudos sobre produtos naturais, com tal potencial antimicrobiano, é justificado pelo aumento de microrganismos que adquirem resistência aos antimicrobianos sintéticos comerciais. Tendo em vista que as plantas medicinais têm ação terapêutica devido às várias substâncias provenientes do metabolismo secundário, chamadas de produtos naturais (MATOS; RIEDER, 2017; REMPEL et al., 2019).

Um exemplo de planta medicinal que pode apresentar atividade frente a microrganismos é a *Erythrina velutina* que tem grande relevância terapêutica, pois é indicada na medicina popular como tranquilizante, sedativa, controladora de insônia e ainda como uma alternativa no tratamento de processos inflamatórios. Conhecida popularmente como mulungu, suinã, canivete e sobreiro, na qual é uma espécie predominante da Caatinga. É uma planta que pertence à família Fabaceae, na qual compreendem mais de 650 gêneros e 18.000 espécies (RODRIGUES et al., 2018; SILVA et al., 2013). Na literatura é relatada em estudos com atividade ansiolítica, anti-inflamatória, neuroprotetora, gastroprotetora, anticolinesterásica,



anticonvulsivante, anti esquizofrênica e antibacteriana (PALUMBO; GARDIN; NAKAMURA, 2016; MARCHIORO, 2005; SANTOS, 2019; RODRIGUES et al., 2018).

Segundo Gonçalves et al (2014) os estudos de atividade antimicrobiana com tintura de *E. velutina* demonstraram resultados positivos frente às espécies de *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*. Estudos fitoquímicos demonstram que as plantas pertencentes ao gênero *Erythrina* são fontes ricas em alcaloides e flavonoides, especialmente flavanonas e isoflavonas (CABRAL, 2009; SILVA et al., 2013; TEXEIRA; MORAES; CAMARA, 2018).

Segundo Vidal e Boulware (2015) a criptococose é uma doença que contribui para o aumento do número de óbitos em países desenvolvidos e subdesenvolvidos. Tendo em vista essa problemática, estudos envolvendo extratos de *Erythrina velutina* podem indicar um novo tipo de tratamento frente ao convencional, visto que os medicamentos convencionais para o seu tratamento podem trazer vários efeitos colaterais, como a insuficiência renal. Ela é uma doença causada por uma levedura encapsulada composta de polissacarídeo, o *Cryptococcus neoformans* que é um fungo cosmopolita e oportunista, pode ser encontrado em excretas de aves (pombos), cascas secas de árvores (eucalipto) e no solo (DOERING, 2009; EL-FANE et al., 2015).

A associação de compostos naturais, de plantas medicinais, com antibióticos convencionais, com mecanismos de ação semelhantes, torna-se uma estratégia alternativa e viável para superar o problema da resistência microbiana (PEREIRA et al., 2018).

Independentemente do surgimento e disponibilização de vacinas e antimicrobianos eficazes, os microrganismos continuam causando danos de grande impacto para a clínica médica, uma vez que se descobre novos mecanismos para as suas sobrevivências, o que chamamos de mecanismos de resistência microbiana. Este sério problema afeta a saúde individual e coletiva, tornando-se uma real preocupação nos que lidam com a saúde pública (COSTA; SILVA JÚNIOR, 2017).

Diante do exposto e em decorrência do elevado número de infecções por fungos, o presente estudo objetiva realizar a identificação fitoquímica por reações colorimétricas, para identificação dos principais grupos fitoquímicos que possuam atividade antifúngica.

METODOLOGIA

Coleta e identificação do material vegetal

A *E. velutina* foi selecionada de acordo com indicação popular de atividade terapêutica. O material vegetal foi coletado no período da manhã em 10/2019, na época de



floração, e em 01/2020, época de folhagem, no município de Cuité – PB, no Centro de Educação e Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Cuité, para analisar se a atividade antimicrobiana tem relação com a sazonalidade.

Como a presente proposta de projeto visa à obtenção de amostra proveniente do patrimônio genético, pois objetiva realizar processo extrativo, retirando substâncias do metabolismo secundário de plantas, esta seguirá as normas do CGEN - Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, de acordo com a Lei n.º 13.123, de 20 de maio de 2015.

Identificação botânica

As exsiccatas foram identificadas como *Erythrina velutina*, e depositadas no herbário do Centro de Educação e Saúde - CES, Campus de Cuité – PB, e está catalogada sob número 1181. Portanto, a correta determinação do material vegetal utilizado neste estudo permitirá a reprodução de novas investigações com a mesma espécie mediante novas coletas e comparação com o material testemunho.

Obtenção do extrato vegetal

O material vegetal coletado, cascas de *E. velutina*, foi devidamente higienizada, pesada e seca em estufa de ventilação forçada à temperatura constante de 40 °C. Foram realizadas pesagens nas 48 horas, para se verificar se o peso se mantinha constante. Após secagem o material vegetal foi submetido a trituração em moinho de facas, até a obtenção de um pó com granulometria em torno de 10 mesh. Foi utilizada solução hidroalcoólica na proporção 3:7 de água:etanol (v/v). A extração se deu por maceração por 7 dias, com agitações diárias, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. Logo em seguida foi realizada a filtração simples do extrato.

Determinação de grupos químicos característicos

Diante de reações químicas descritas por Cardoso (2009), realizaram-se testes para identificação dos metabólitos secundários mediante reações químicas que caracterizam os grupos de substâncias.

A identificação dos grupos fitoquímicos foi realizada através de reações colorimétricas por meio de reagentes específicos, para as espécies químicas de produtos naturais, em tubos de ensaios com frações do extrato.

Identificação de Taninos



Reação com cloreto férrico baseado no fato que os fenóis formam complexos coloridos com íon Fe^{3+} , com uma cor verde-azulada.

Procedimento: em um tubo de ensaio foram adicionados a 2 mL da amostra 3 gotas da solução de cloreto férrico 5% (FeCl_3) e observado com resultado positivo o desenvolvimento de uma cor verde-azulada, identificando a presença do composto.

Identificação de Flavonoides

Reação de Shinoda (magnésio e ácido clorídrico) se baseia no fato de que os derivados flavônicos que são de cor amarela reduzem-se adquirindo coloração rosa-avermelhada.

Procedimento: Foi adicionado a 2 mL da amostra, em tubo de ensaio, uma pequena quantidade de magnésio metálico e 2 gotas de ácido clorídrico concentrado (HCl 1%). Observando se ocorre a mudança de coloração.

Identificação de Alcaloides

Reação de Dragendorff é uma reação em que ocorre a precipitação dos alcalóides com metais pesados (bismuto, mercúrio, tungstênio e iodo), formando uma cor vermelho tijolo.

Procedimento: Foi adicionado a 2 mL da amostra a um tubo de ensaio e acrescentado 3 a 4 gotas do reativo de Dragendorff (iodo bismutado de potássio). Agitou-se e observou se ocorria o aparecimento de precipitado e/ou a mudança de coloração da solução.

Identificação de Terpenos (Reação de Liebermann-Burchard)

A Reação de Liebermann-Burchard (reação de caracterização do núcleo esteróide): baseia-se no fato de que o reagente de Liebermann-Burchard promoverá desidratação e desidrogenação no núcleo fundamental esteróide resultando derivados com ligações duplas conjugadas, portanto corados, tal coloração poderá ir do castanho ao esverdeado. O aparecimento de uma coloração acastanhada a esverdeada indica reação positiva para esteróides/ triterpenos.

Procedimento: foi transferido 2 mL do extrato para um tubo de ensaio. Ao resíduo do tubo, foi adicionado o reagente de Liebermann-Burchard, preparado com 0,5 mL de anidrido acético P. A. e 3 a 4 gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Deixar o tubo em repouso por alguns minutos. Observando se ocorre mudança de coloração.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados fitoquímicos dos dois extratos demonstraram-se positivos para taninos e flavonoides, como evidenciaram na figura 1 e 2. Na identificação de taninos os testes mostraram-se positivos, pois a reação com cloreto férrico é um tipo de reação ácido-base de



Lewis, tendo como doador de elétrons os hidroxilos do catecol de tanino, onde há formação parcial de carga para uma posterior eliminação de átomos de hidrogênio e cloreto até atingirem a formação de um complexo verde escuro, sugerindo a presença de taninos. Essa classe de substâncias é conhecida na literatura por apresentar ação antimicrobiana, sendo assim ponto positivo na pesquisa para a eficácia do ensaio microbiológico (RODRIGUEZ et al., 2013).

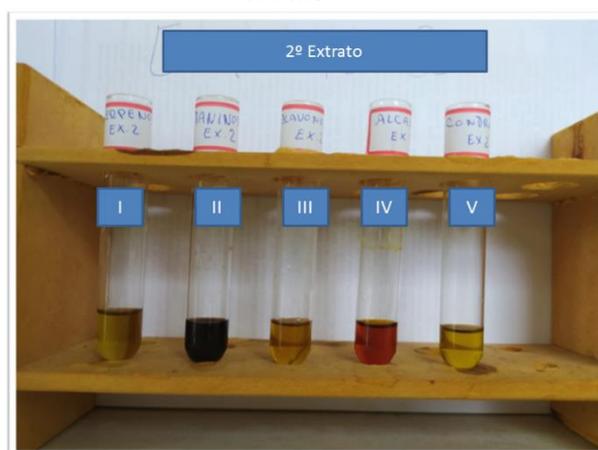
Figura 1: Determinação fitoquímica do 1º extrato.



Legenda: I- Terpenos(Liebermann-Burchard); II- Taninos (Cloreto férrico); III- Flavonoides (Reação de Shinoda); IV- Alcaloides (Dragendorff); V- Controle.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2020.

Figura 2: Determinação fitoquímica do 2º extrato.



Legenda: I- Terpenos(Liebermann-Burchard); II- Taninos (Cloreto férrico); III- Flavonoides (Reação de Shinoda); IV- Alcaloides (Dragendorff); V- Controle.

Fonte: Dados da Pesquisa, 2020.

As reações de flavonoides também se demonstraram levemente positivas para ambos os extratos (tabela 1). Durante a reação o magnésio metálico é oxidado pelo HCl concentrado, gerando produtos como o hidrogênio molecular, que é eliminado na forma de gás e o cloreto de magnésio, forma complexos com os flavonóides, dando coloração característica. O magnésio bivalente atua no grupo carbonil de dois flavonoides, produzindo uma cor vermelha, esse aumento de intensidade se deve ao fato de o magnésio bivalente intensificar a coloração. Nos flavonóides, o magnésio bivalente possui duas ligações de coordenação fortes e duas fracas; os primeiros são formados pelos oxigênios dos grupos carbonila e os segundos pelas hidroxilas da posição 3, desse modo a intensidade aumenta conforme resulta em uma coloração que varia de vermelho a vermelho (RODRIGUEZ et al., 2013).

Tabela 1 - Resultado das identificações das espécies de produtos naturais com substâncias químicas.

Testes fitoquímicos	Extrato 1	Extrato 2
Taninos	+++	+++
Flavonoides	+	+
Alcalóides	-	-



Terpenos	–	–
-----------------	---	---

Fonte: Dados da Pesquisa, 2020.

Os resultados obtidos condizem com o encontrado na literatura, em que os testes para taninos e flavonoides também se demonstraram positivos. Já os testes para alcalóides apresentaram resultados positivos contrapondo o nosso estudo onde os resultados para terpenos e alcalóides demonstraram-se negativos. Além disso, o extrato possui bom potencial para atividade antimicrobiana, pela elevada presença de taninos no fitocomplexo (FERREIRA, 2018).

Estudos demonstram que os taninos e flavonoides possuem alta atividade antifúngica, podem haver moléculas dessas classes de fitoquímicos promissoras para tratamentos de infecções fúngicas. A presença de taninos condensados, flavonoides glicosilados e taninos hidrolisáveis da planta *Caryocar brasiliensis*, se mostram potentes agentes antifúngicos perante cepas de *Cryptococcus neoformans* (PASSOS et al., 2002).

Com o grande aumento das infecções, dentre elas as fúngicas, vemos os extratos de *Erythrina velutina* como potenciais agentes antifúngicos, pois observamos uma grande quantidade de taninos, e em menor de flavonoides, compostos fitoquímicos que podem possuir atividades promissoras como fungicida (DOERING, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização dessa pesquisa podemos concluir que a presença de taninos e flavonoides nos extratos não sofrem variação sazonal, podendo ocorrer a coleta de material para produção do extrato em qualquer período. Além disso, identificamos que a *Erythrina velutina* pode ser um potencial agente antifúngico, sendo de suma importância esta descoberta, pois necessitamos de novos agente fungicidas, de preferência mais potentes, tratando de infecções fúngicas resistentes.

O trabalho resalta ainda os estudos com a flora local, do bioma Caatinga, e a valorização dos usos tradicionais e populares dessas espécies.



AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao laboratório de farmacognosia (Laboratório J14) da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, do Centro de Educação e Saúde (CES), Campus Cuité, pela disponibilidade e liberação de equipamentos para realização dos experimentos.

REFERÊNCIAS

- CABRAL, A. L. G. S. **Constituintes químicos de *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae)**. Paraíba, 163p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 2009.
- CARDOSO, C. M. Z. Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral. São Paulo: Pharmabooks, 2009.
- COSTA, A. L. P.; SILVA JÚNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. **Estação científica**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- DOERING, T. L. How sweet it is! Cell wall biogenesis and polysaccharide capsule formation in *Cryptococcus neoformans*. **Annual review of microbiology**, v. 63, p. 223, 2009.
- EL-FANE, M.; BADAOU, L.; OULADLAHSEN, A.; SODQI, M.; MARIH, L.; CHALIB, A.; FILALI, K. M. Cryptococcosis during HIV infection. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 25, n. 4, p. 257-62, 2015.
- FERREIRA, Guilherme Diogo. **Desenvolvimento de tintura de mulungu (*Erythrina velutina*) para a farmácia escola Manoel Casado de Almeida**. 2018. 41 fl. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Bacharelado em Farmácia, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil, 2018.
- GONÇALVES, L. O. et al. Caracterização genética de mulungu (*Erythrina velutina* Willd.) em áreas de baixa ocorrência. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 290-298, 2014.
- MATOS, I. S.; RIEDER, A. Distribuição geográfica das coletas, estudos e publicações acadêmicas sobre nove plantas medicinais utilizadas para o controle de diabetes em mato grosso. **Raega - o espaço geográfico em análise**, v. 40, p. 63-78, 2017.
- PALUMBO, C. F. G.; GARDIN, N. E.; NAKAMURA, M. U. *Erythrina* mulungu Mart. ex Benth e *Erythrina velutina* Willd. – Aspectos farmacológicos e perspectiva antropológica de plantas brasileiras. **Arte Médica Ampliada**, v. 36, n. 4, p. 152-161, 2016.
- PASSOS, X. S.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; FERNANDES, O. F. L. et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de medicina tropical**, v. 35, n. 6, p. 623-627, 2002.
- PEREIRA, A. V.; GÓIS, M. B.; AZEVEDO, T. K. B.; FERAZ, F. N.; VIEIRA, S. L. V.; CAVALCANTE-DANTAS, V. M.; PEREIRA, J. V.; RODRIGUES, O. G.; PEREIRA, M. S. V. Effects of associations of tannins from *Anacardium occidentale* and *Anadenanthera colubrina* with cephalosporin against bovine *Staphylococcus aureus* isolates. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 85, n. 1, p. 1-8, 2018.
- REMPEL, C.; MACIEL, M. J.; BERGMANN, P. C.; MORÁS, A. P. B. Efeito antimicrobiano de plantas medicinais: uma revisão de estudos científicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 4, p. 58-82, 2019.
- RODRIGUES, D. R. et al. Caracterização fenotípica, genética e simbiótica de *Erythrina velutina* rhizobia da floresta seca da Caatinga. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 503-512, 2018.
- SANTANA, R. S.; VIANA, A. C.; SANTIAGO, J. S.; MENEZES, M. S.; LOBO, I. M. F.; MARCELLINI, P. S. Consequências do uso excessivo de antimicrobianos no pós-operatório: o contexto de um hospital público. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 41, n. 3, p. 149-54, 2014.
- SANTOS, L. Q. Uso racional de antimicrobianos no ambiente hospitalar. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 15, n. 2, p. 122-132, 2019.
- SILVA, M. B.; SANTANA, A. S. C. O.; PIMENTEL, R. M. M.; SILVA, F. C. L.; RANDAU, K. P.; LOARES, L. A. L. Anatomy of leaf and stem of *Erythrina velutina*. **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 23, n.2, p. 200-206, 2013.
- TEXEIRA, M. G.; MORAES, M. M.; CAMARA, C. A. G. CHEMICAL PROFILES OF ESSENTIAL OILS AND FATTY ACIDS FROM *Erythrina velutina*. **Química Nova**, v. 42, n. 1, p. 65-70, 2019.
- VIDAL, J. E.; BOULWARE, D. R. Ensaio de Fluxo Lateral para antígeno criptocócico: Um importante avanço para melhorar o continuum de cuidados com HIV e reduzir a mortalidade relacionada à meningite criptocócica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 57, p. 38-45, 2015.