

UNIVERSIDADE CESUMAR UNICESUMAR
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Bixa orellana* L.

ANA FLAVIA DE SOUZA PRADO

MARINGÁ – PR

2020

Ana Flavia de Souza Prado

ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Bixa orellana* L.

Artigo apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Cesumar – UNICESUMAR como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Farmácia, sob a orientação do Prof. Dr. Heber Amilcar Martins e Coorientação do Prof. Dr. Rogério Aparecido Minini dos Santos.

MARINGÁ – PR

2020

FOLHA DE APROVAÇÃO
ANA FLAVIA DE SOUZA PRADO

ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Bixa orellana* L.

Artigo apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Cesumar – UNICESUMAR como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Farmácia, sob a orientação do Prof. Dr. Heber Amilcar Martins e Coorientação do Prof. Dr. Rogério Aparecido Minini dos Santos.

Aprovado em: ____ de _____ de ____.

BANCA EXAMINADORA

Nome do professor – (Titulação, nome e Instituição)

Nome do professor - (Titulação, nome e Instituição)

Nome do professor - (Titulação, nome e Instituição)

ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Bixa orellana* L.

Ana Flavia de Souza Prado

Heber Amilcar Martins

Rogério Aparecido Minini dos Santos

RESUMO

O emprego de plantas com fins terapêuticos é uma das formas mais antigas de prática medicinal da humanidade. Entretanto, poucas foram validadas do ponto de vista farmacológico, fitoquímico, biológico e principalmente clínico. A *Bixa orellana* L., popularmente conhecida como urucum ou colorau, é muito utilizada pelos latino-americanos como corante em alimentos, mas pouco estudada. Portanto, baseado em suas características e devido a poucos estudos dos constituintes químicos dessa planta, o objetivo deste trabalho foi realizar testes fitoquímicos com o extrato etanólico das sementes de *Bixa orellana* L., a fim de identificar classes de compostos constituintes e relacionar com suas propriedades terapêuticas. Para isso, com o emprego de 500mL de etanol a 95%, foi realizada a extração de 250g de sementes por 48h. Após esse período, o extrato etanólico foi filtrado com o auxílio de papel filtro e evaporado para secagem utilizando o rotaevaporador com pressão reduzida (<100) a 40°C. Os testes fitoquímicos foram realizados no extrato concentrado a 1% em dimetilsulfóxido para a pesquisa dos seguintes compostos: alcaloides, antraquinonas, flavonoides, saponinas e taninos. Diante desta pesquisa, foi detectada a presença dos componentes: alcaloides, flavonoides e taninos no extrato etanólico obtido a partir das sementes da *Bixa orellana* L. A presença desses metabolitos pode explicar algumas propriedades farmacológicas da planta como: ação antimicrobiana, anti-hipertensiva, hipolipidêmica, anti-inflamatória, antitumoral, antioxidante, cicatrizante, entre outras.

Palavras-chave: *Bixaceae*. Extratos Vegetais. Etnobotânica.

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF *Bixa Orellana* L.

ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes is one of the oldest forms of medicinal practice for mankind. However, few have been validated from the pharmacological, phytochemical, biological and mainly clinical point of view. *Bixa orellana* L., popularly known as annatto tree or paprika, is widely used by Latin Americans as a food coloring, but little studied. Therefore, based on its characteristics and due to few studies of the chemical constituents of this plant, the aim of this study is to carry out phytochemical tests with the ethanolic extract of the seeds of *Bixa orellana* L., in order to identify classes of constituent compounds and relate them to their therapeutic properties. For this, with the use of 500mL of 95% ethanol, 250g of seeds were extracted for 48 hours. After this period, the ethanolic extract was filtered with the

aid of filter paper and evaporated for drying using the reduced pressure rotator (<100) at 104°F. Phytochemical tests were performed on the extract concentrated at 1% in dimethylsulfoxide to search for the following compounds: alkaloids, anthraquinones, flavonoids, saponins and tannins. In view of this research, positive results were observed for the components: alkaloids, flavonoids and tannins in the ethanolic extract obtained from the seeds of *Bixa orellana* L. The presence of these metabolites may explain some pharmacological properties of the plant, such as: antimicrobial, antihypertensive action, hypolipidemic, anti-inflammatory, anti-tumor, antioxidant, healing, among others.

Keywords: *Bixaceae*. Plant Extracts. Ethnobotany.

1 INTRODUÇÃO

O emprego de plantas com fins terapêuticos é uma das formas mais antigas de prática medicinal da humanidade. A investigação dessas plantas a partir de seu uso popular, fornece informações importantes para a elaboração de estudos farmacológicos e fitoquímicos, que tem como objetivo o desenvolvimento de fitoterápicos ou isolamento de substâncias ativas (DANTAS et al., 2018).

As plantas possuem inúmeras substâncias em sua composição, as quais também são chamadas de metabólitos. Os metabólitos primários exercem uma função indispensável para as plantas, já os metabólitos secundários não são essenciais, mas desempenham um papel importante na diferenciação entre espécies, podendo possuir propriedades terapêuticas (SILVA; BIZERRA; FERNANDES, 2018).

A pesquisa fitoquímica tem como objetivo conhecer os constituintes químicos das plantas ou avaliar a sua presença. São importantes na identificação desses compostos e na descoberta de novos compostos que poderão ter uso terapêutico (SILVA; BIZERRA; FERNANDES, 2018).

Amplamente difundido em nossa cultura, particularmente na alimentação, o urucum, comumente conhecido como colorau, recebe o nome botânico de *Bixa Orellana* L. Pertencente à família *Bixaceae*, é uma planta nativa da floresta tropical da América Central e do Sul (ALVES; MING, 2015). É utilizada na medicina popular para o tratamento de diabetes, infecções cutâneas, queimaduras, febre, diarreia e asma (PÉREZ; SÁNCHEZ, 2010).

Além disso, é aplicada como expectorante, laxante, anti-hemorragico, antipirético ou anti-inflamatório (CAPELLA et al., 2016). Ainda utilizada para tratar bronquite, tuberculose, dispepsia e condições do coração (LIMA et al., 2001), possui usos secundários como uma adjuvante na cicatrização de feridas (COSTA, 2007). Mais recentemente, foi descrito como antisséptico, antioxidante, diurético, afrodisíaco, hipoglicemiante, vermífugo, fonte de vitaminas e agente com propriedades antitumorais, sobretudo no combate ao câncer oral (ALVES; MING, 2015).

Segundo Silva, Bizerra e Fernandes, (2018) suas folhas são levemente róseas, dispostas em panículas terminais, seus frutos são do tipo cápsula deiscente, ovoides, com 2 ou 3 carpelos, cobertos de espículos flexíveis, de cor vermelha, esverdeada ou parda, contendo muitas sementes pretas cobertas por um arilo ceroso de cor vermelha e odor característico. Possui vários constituintes químicos, tendo destaque os carotenoides, flavonoides, ácido gálico, ácido alfitólico e óleo essencial, além de vestígios de alcaloides (COSTA, 2007).

A partir de processos mecânicos por meio de atrito ou raspagem das sementes, através de solventes, ou ainda mediante a processos enzimáticos, o pigmento do urucum é extraído da camada externa das sementes (QUIROZ et al., 2019).

Esse pigmento é constituído basicamente de cis-bixina, um carotenoide que representa mais de 80% dos carotenoides totais ali presentes. Da bixina são obtidos os demais pigmentos do urucum, como a norbixina (VALÉRIO et al., 2015). Devido a retirada do grupo metil éster da bixina origina a norbixina, um ácido dicarboxílico. As diferenças estruturais conferem à bixina características lipossolúveis, devido à presença do éster metílico na molécula, enquanto a norbixina apresenta maior hidrossolubilidade em razão da presença do grupamento carboxila, sítio de interações com moléculas de água (LIMA et al., 2006).

Estudos avaliando a toxicidade do urucum em modelos animais indicam não haver efeitos genotóxicos, teratogênicos, mutagênicos ou clastogênicos (LIMA et al., 2001). De acordo com Demczur Junior e Ribani, (2015), um extrato orgânico (etanólico 95%) de *Bixa orellana* L., apresentou significativa ação antibacteriana, frente a bactérias Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*), já o extrato hidroalcolico apresentou atividade antimicrobiana contra *Streptococcus pyogens*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus*.

Portanto, baseado nas características apresentadas e devido a poucos estudos dos constituintes químicos dessa planta, o objetivo deste trabalho foi realizar testes fitoquímicos com o extrato etanólico das sementes de *Bixa orellana* L., a fim de identificar classes de compostos constituintes e relacionar com suas propriedades terapêuticas.

2 METODOLOGIA

2.1 PREPARO DO EXTRATO

As sementes foram adquiridas na loja Grãos & Cia da cidade de Maringá/PR. O extrato etanólico foi obtido a partir de 250g de sementes em 500mL de etanol a 95% por maceração durante 48h. Após esse período, o extrato etanólico foi filtrado com o auxílio de papel filtro e evaporado utilizando o rotaevaporador com pressão reduzida (<100) a 40°C. O extrato concentrado foi transferido para um recipiente de vidro âmbar e armazenado na geladeira.

2.2 TESTES FITOQUÍMICOS

Os testes fitoquímicos foram realizados no extrato concentrado a 1% em dimetilsulfóxido para a pesquisa dos seguintes compostos: alcaloides, antraquinonas, flavonoides, saponinas e taninos.

2.2.1 Teste para pesquisa de alcaloides

Preparo dos reagentes:

- a) Reativo de Dragendorff – foi preparada duas soluções: A e B. No preparo da solução A, foi dissolvido 0,85g de subnitrato de bismuto em 10mL de ácido acético glacial e água destilada q.s.p. 40mL. Para preparar a solução B, dissolveu-se 8g de iodeto de potássio em água destilada q.s.p. 20mL. Em seguida, foi misturado 5mL de cada solução preparada, 10mL de ácido acético glacial e 20mL de água destilada.
- b) Reativo de Wagner – dissolveu-se 1,27g de iodo ressublimado e 2g de iodeto de potássio em água destilada q.s.p. 100mL.
- c) Reativo de Valser-Mayer – misturou-se 1,36g de cloreto mercurioso e iodeto de potássio em água destilada q.s.p. 100mL.
- d) Reagente de Bertrand – foi dissolvido 5g de ácido sílicotúngstico em ácido sulfúrico 6N q.s.p. 100mL.

Após o preparo dos reagentes, foi adicionado 1mL do extrato em 4 tubos de ensaio e 2 gotas dos reagentes. Foi observado se houve turvação ou precipitação comparando com o branco.

2.2.2 Teste para pesquisa de antraquinonas

Para a pesquisa de antraquinonas, foi realizada a reação direta. Misturou-se 0,2g de extrato em 5mL de NH_4OH 3M e observou-se se formou coloração rósea ou avermelhada comparando com o branco.

2.2.3 Teste para pesquisa de flavonoides

Na pesquisa genérica de flavonoides, foi adicionado fragmentos de magnésio metálico em 2mL do extrato. Em seguida, na capela, adicionou-se 1mL de HCl concentrado e observou-se se ocorreu o desenvolvimento da coloração rósea ou avermelhada comparando com o branco.

2.2.4 Teste para pesquisa de saponinas

Para a pesquisa de saponinas, preparou-se em tubos de ensaio uma série de diluições:

Tabela 1 - Diluições do extrato para a pesquisa de saponinas

Tubos	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Extrato (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Água destilada (mL)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Volume total (mL)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Fonte: tabela do autor.

Após realizar as diluições, agitou-se cada tubo por 15 segundos e os deixou em repouso durante 15 minutos. Em seguida, verificou-se se ocorreu a formação de um anel de espuma persistente de aproximadamente 1cm.

2.2.5 Teste para pesquisa de taninos

Realizou-se a reação com sais de ferro para a pesquisa de taninos. Misturou-se 2mL de extrato, 10mL de água destilada e 4 gotas da solução de cloreto férrico a 1% em metanol. Observou-se, então, se houve alteração de cor para azul ou verde comparando com o branco.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RENDIMENTO DO EXTRATO

O extrato das sementes de *Bixa orellana* L. foi obtido conforme a técnica descrita por Costa (2007) e Viuda-Martos et. al. (2012). Obteve-se um rendimento de 18g de extrato etanólico concentrado a partir de 250g de sementes. Devido a propriedades extrativas,

adequação tecnológica, toxicidade e fatores econômicos, poucos solventes são utilizados na extração de plantas medicinais (PINTO, 2005). Desta forma, o rendimento do obtido pode ser considerado satisfatório, pois a polaridade de extratos etanólicos lhes confere maior capacidade extrativa (SILVA; BIZERRA; FERNANDES, 2018).

3.2 TESTES FITOQUÍMICOS

Os testes fitoquímicos realizados com o extrato concentrado a 1% em dimetilsulfóxido se mostraram eficientes na identificação dos metabolitos apesar da dificuldade em observar alterações devido a cor natural do extrato. Foram executados utilizando as técnicas descritas pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia.

3.2.1 Teste para pesquisa de alcaloides

Os alcaloides são compostos nitrogenados de caráter alcalino, sintetizados a partir do metabolismo secundário das plantas (SILVA, 2008), possuem diversas atividades farmacológicas, entre elas estão: anticancerígena, antifúngica, antibacteriana e antiparasitária (SIMÕES, 2017).

A pesquisa de alcaloide foi avaliada pela reação de turvação ou precipitação ao adicionar os reagentes de: Dragendorff, Wagner, Valser-Mayer e Bertrand. Foi observado turvação nos tubos de ensaio onde foram adicionados os reagentes de Wagner e Valser-Mayer, desta forma, o extrato apresentou resultado positivo para alcaloides. Resultados semelhantes foram descritos por Silva, Bizerra e Fernandes (2018) e Coelho et al. (2003), identificando a presença de alcaloides nas sementes de *Bixa orellana* L.

3.2.2 Teste para pesquisa de antraquinonas

As quinonas são compostos orgânicos que resultam da oxidação de fenóis, sendo as antraquinonas os principais anéis encontrados em quinonas naturais. A atividade laxante é responsável pela utilização terapêutica desse composto (SIMÕES, 2017).

Para a pesquisa de antraquinonas, realizou-se a reação Borntrager direta, que se caracteriza pela mudança de cor para rósea ou avermelhada. O extrato apresentou resultado negativo para antraquinonas, pois não foi observada mudança na coloração. Este resultado

também é descrito por Silva, Bizerra e Fernandes (2018), que não identificaram a presença de glicosídeos antraquinônicos para os extratos etanólicos das folhas, caules e sementes.

3.2.3 Teste para pesquisa de flavonoides

Os flavonoides são metabolitos secundários de plantas, muito importantes e diversificados, demonstram efeitos antimicrobianos, antioxidante, anti-hipertensivo, hipolipidêmico, anti-inflamatório, antineoplásico, entre outras (MACHADO et al., 2008).

Para realizar a pesquisa de flavonoides, foi realizada a reação de Shinoda, essa, se caracteriza pela mudança de cor para rósea a vermelha. Sendo assim, o extrato apresentou resultado positivo para estes constituintes. A presença de flavonoides no extrato etanólico das folhas, caules e sementes de *Bixa orellana* L. foi identificada por Silva, Bizerra e Fernandes (2018) e Coelho et al. (2003).

3.2.4 Teste para pesquisa de saponinas

As saponinas são derivadas do metabolismo secundário das plantas, possuem ação hipocolesterolemiantes, diurética, anti-inflamatória, antitumoral e antiviral (CASTEJON, 2011).

Em solução aquosa formam uma espuma persistente e abundante, desta forma, a pesquisa desses compostos foi realizada com a agitação de uma série de diluições do extrato com água destilada, obtendo-se resultado negativo, pois não ocorreu a formação de espuma persistente.

Apesar de negativo, estudos como o de Silva, Bizerra e Fernandes (2018) mostram resultados positivos para saponinas em extratos obtidos a partir de sementes e outras partes da *Bixa orellana* L.

3.2.5 Teste para pesquisa de taninos

Os taninos, muito conhecidos por sua característica adstringente, são divididos em dois grandes grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Estudos mostram diversas propriedades desses compostos: ação antimicrobiana, auxílio no tratamento de feridas, queimaduras e inflamações, dentre outras (CASTEJON, 2011).

Para identificar esses compostos, foi realizado teste com cloreto férrico, esse, resulta uma cor verde na presença de taninos condensados e uma cor azul na presença de taninos hidrolisáveis. No extrato, foi possível observar a coloração azul, indicando a presença de taninos hidrolisáveis. Coelho et al. (2003), descrevem resultados semelhantes em seus estudos, apontando a presença de taninos em extrato etanólico de *Bixa orellana* L.

5 CONCLUSÃO

A pesquisa fitoquímica tem como objetivo descobrir os constituintes químicos das plantas ou avaliar a sua presença. São importantes na identificação desses compostos e na descoberta de novos compostos que poderão ter uso terapêutico.

Diante desta pesquisa, foi detectada a presença dos componentes: alcaloides, flavonoides e taninos no extrato etanólico obtido a partir das sementes da *Bixa orellana* L. A presença desses metabolitos pode explicar algumas propriedades farmacológicas da planta como: ação antimicrobiana, anti-hipertensiva, hipolipidêmica, anti-inflamatória, antitumoral, antioxidante, auxílio no tratamento de feridas, queimaduras, entre outras.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. F.; MING, L. C. Chemistry and pharmacology of some plants mentioned in the letter of Pero Vaz de Caminha. **Ethnobiology and Conservation**, v. 4, n. 2015, 2015.

CAPELLA, S. O. et al. Potencial cicatricial da *Bixa orellana* L. em feridas cutâneas: estudo em modelo experimental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 104-112, 2016.

CASTEJON, F. V. Taninos e saponinas. **Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação–Universidade Federal de Goiás, Goiânia**, v. 30, p. 1292-1298, 2011.

COELHO, A. M. S. P. et al. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Lecta-USF**, p. 47-54, 2003.

COSTA, C. K. **Estudo Fitoquímico de *Bixa orellana* L., Bixaceae e Aplicação de seu óleo em Formulação Cosmética**. 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.

- DANTAS, T. L. et al. Estudo etnofarmacológico de plantas medicinais: atividade antimicrobiana de extratos de *Allium sativum* L. (ALHO) E *Bixa orellana* L. (URUCUM). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 1, p. 1-7, 2018.
- DEMÇZUK JR, B.; RIBANI, R. H. Updates on chemistry and use of annatto (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, n. 1, p. 37, 2015.
- LIMA, R. J. C. et al. Taninos hidrolisáveis em *Bixa Orellana* L. **Química Nova**, v. 29, n.3, p. 507-509, 2006.
- LIMA, L. R. P. et al. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.4, p.196-200, 2001.
- MACHADO, H. et al. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, 2008.
- PÉREZ, H. de la C. L.; SÁNCHEZ, G. M. La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. **Revista Cubana Farmacia**. v. 44, n.2, p. 231-244, 2010.
- PINTO, M. A. S. **Técnicas de separação e identificação aplicadas a produtos naturais**. 2005. 50f. Monografia (Graduação em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2005.
- SILVA, A. I. B. da. **Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e matanólicos do Marmeleiro (*Croton blanchetianus*) do bioma Caatinga**. 2019. 50f. Monografia. (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Nova Esperança de Mossoró, Mossoró, RN, 2008.
- SILVA, F. D. A.; BIZERRA, A. M. C; FERNANDES, P. R. D. Testes fitoquímicos em extratos orgânicos de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Holos**, v. 2, p. 484–498, 2018.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. SBFgnosia. **Alcaloides**. Disponível em: <http://sbfgnosia.org.br/Ensino/alcaloides.html>. Acesso em: 30 out. 2020.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. SBFgnosia. **Antraquinonas**. Disponível em: <http://sbfgnosia.org.br/Ensino/antraquinonas.html>. Acesso em: 30 out. 2020.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. SBFgnosia. **Flavonoides e Antocianos**. Disponível em: http://sbfgnosia.org.br/Ensino/flavonoides_e_antocianinos.html#:~:text=2.,Identifica%C3%A7%C3%A3o%20gen%C3%A9rica%20de%20flavonoides&text=Colocar%20cerca%20de%202%20ml.,%20observando%20se%20desenvolve%20colora%C3%A7%C3%A3o. Acesso em: 30 out. 2020.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. SBFgnosia. **Saponinas**. Disponível em: <http://sbfgnosia.org.br/Ensino/saponinas.html>. Acesso em: 30 out. 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. SBFgnosia. **Taninos**. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/taninos.html>. Acesso em: 30 out. 2020.

QUIROZ, J. Q. et al. Optimization of the microwave-assisted extraction process of bioactive compounds from annatto seeds (*Bixa orellana* L.). **Antioxidants**, v. 8, n. 2, p. 37, 2019.

VALÉRIO, M. A. et al. Annatto seed residue (*Bixa orellana* L.): nutritional quality. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 326-330, 2015.

VIUDA-MARTOS, M. et al. *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of extracts from annatto (*Bixa orellana* L.) Leaves and seeds. **Journal of Food Safety**, v. 32, n. 4, p. 399-406, 2012.