

TEORIA E PRÁTICA: IMPORTÂNCIA DA ATIVIDADE DE PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA NAS AULAS DE QUÍMICA ORGÂNICA PARA A IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Maria E. S. da Cunha¹; Antonia M. A. de Moura¹; Valdiléia T. Uchôa¹, José L. S. Sá¹, Evandro P. S. Martins¹.

¹Departamento de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual do Piauí – UESPI, Campus Torquato Neto, 2231, Pirajá, Teresina, Piauí, Brasil.

Palavras-Chave: Plantas medicinais, Química experimental, Ensino.

Introdução

O uso de produtos naturais para fins terapêuticos tem sido usado desde os tempos mais remotos e tem aumentado nas últimas décadas devido à grande disponibilidade, forma de tratamento mais barata, apresentado bons resultados terapêuticos e por ocasionarem menos efeitos colaterais quando comparados com medicamentos de origem sintética. O saber popular sobre os efeitos biológicos de espécies vegetais é passado pelas gerações, desde a antiguidade, e é muito importante para o estudo das moléculas bioativas (PEREIRA & CARDOSO, 2012). Diante disso, a OMS destaca a importância de derivados de plantas para conduzir o descobrimento de novas substâncias terapêuticas.

Um medicamento fitoterápico é produzido de matéria-prima vegetal e que possuem seus efeitos comprovados (DA SILVA; SILVEIRA; ERNANDES, 2022). Cabe destacar que ao utilizar uma planta medicinal de maneira industrial para a obtenção de um medicamento tem-se um fitoterápico. Com isso a busca por óleos essenciais, extratos ou constituintes isolados de várias espécies de plantas tornou-se uma alternativa ao passo que diversas espécies possuem propriedades biológicas como potencial anticâncer (SHUKLA et al., 2022) antidepressivo, (MARTINS; BRIJESH, 2018) antiviral (ABOU BAKER et al., 2021).

A medicina popular vem crescendo consideravelmente ao longo do tempo, com diversos estudos e análises acerca de temas importantes, em busca de encontrar possíveis curas e tratamentos para diversas doenças. O envolvimento da química dos produtos naturais, no âmbito nacional, levou a colaborações mais efetivas e abrangentes, que permitem enfrentar desafios diversos com diferentes estratégias (BERLINCK et al., 2017), uma vez que a flora brasileira apresenta grande diversidade de plantas, as quais podem ser encontrados ativos capazes de curar as mais variadas doenças existentes (RIBEIRO et al., 2014), Com isso, essa ciência tornou-se um alvo na busca por fitoterápicos que apresentem elevado potencial terapêutico.

Espécie como a *Morus nigra L.* conhecida popularmente como a "amoreira negra", tem ganhado destaque na literatura. Essa planta é amplamente usada na medicina popular para tratamentos de infecções e inflamações crônicas dos brônquios pulmonares, alergias, tosse.

Estudos fitoquímicos com a folha dessa planta identificaram a presença de diversos compostos como compostos fenólicos, estilbenos, flavonoides isoprenilados, cumarinas, cromonas e xantonas (OLIVEIRA et al., 2018), além de taninos hidrossolúveis, alcaloides (GUIZZO et al., 2015), terpenoides, saponinas, triterpenos (MALLHI et al., 2014). Essa

triagem fitoquímica depende de algumas variáveis como qualidade e quantidade de extração e do tipo de solvente usado.

Técnicas como a prospecção fitoquímica visam detectar a presença desses metabólitos e, com isso, orientar as etapas subsequentes do estudo vegetal. Quando inserida nas aulas a utilização da experimentação é importante ao passo que o aluno participa com mais autonomia, levando-o a tomar decisões, propor hipóteses o colocando como autor do próprio conhecimento, tendo o professor como mediador no processo de ensino e aprendizagem (MUNIZ DE SOUZA, 2022) sendo um processo essencial no processo de ensino. Dessa forma, as atividades experimentais são muito importantes, visto que pode dar instrumentos para que os alunos interpretem de forma crítica os conhecimentos passados em sala de aula (ABREU, 2009).

No processo de ensino e aprendizagem é essencial considerar que o conhecimento científico deve ser construindo a partir de relações oriundas da vivência, o que contribui para o desenvolvimento da autonomia do aluno. O uso da experimentação proporciona ao discente um conhecimento definido, visto que ele é capaz de descrever o que foi observado durante a atividade experimental, dificultando a fragmentação dos conteúdos e favorecendo uma aprendizagem significativa (QUEIROZ, 2004).

Neste sentido a utilização de atividades experimentais é relevante, visto que traz para o contexto da realidade a teoria que os alunos já sabem, assim a associação entre teoria e prática convertem-se em uma sequência de ensino que descreve de forma eficaz a diferença entre experimento e teoria que muitas das vezes é mostrada de forma dissociada e distorcida.

Assim, a presente atividade experimental realizada durante as aulas de química orgânica na turma de mestrado acadêmico em química da Universidade Estadual do Piauí teve como objetivo colocar os alunos como construtores do conhecimento, além de possibilita-los inferir sobre a identificação e uso dos metabólitos secundários para a saúde humana usando técnicas simples para detectar quantidades apreciáveis de diversos constituintes químicos presentes no extrato bruto das folhas da *M. nigra* (amoreira-preta) por meio da técnica de prospecção fitoquímica usando testes de reações químicas, pois são testes de baixo custo e relativamente simples.

Material e Métodos

A atividade de experimentação foi realizada por 8 alunos matriculados na disciplina, sendo selecionado para a descrição deste trabalho apenas um dos experimentos realizados. O trabalho é enquadrado como pesquisa de caráter experimental, usando a técnica de prospecção fitoquímica baseado na concepção da análise do extrato hidroalcoólico das folhas *M. nigra* através de testes de reações químicas por meio da abordagem quantitativa observacional, sendo todo o experimento auxiliado pelo professor da disciplina. Durante o experimento utilizou-se tubo de ensaio (50 ml), béquer (250 ml), pipeta graduada (10 ml), pipeta de plástico (2 ml) e proveta (25 ml).

Para a preparação do extrato, as folhas foram secas à temperatura entre 25° a 37°, trituradas e em seguida o material obtido foi transferido para um copo de vidro sendo adicionado 30 ml de álcool etílico 70% para iniciar o processo de extração por maceração. O líquido extrator foi colocado em contato com o material triturado por dois dias. Posteriormente a solução foi filtrada e a parte sólida foi descartada, na sequência a solução filtrada foi colocada pra evaporação por 3 dias para obtenção do extrato bruto das folhas da *M. nigra* para posterior

identificação dos metabólitos secundários. Posteriormente pesou-se 2 g do extrato, adicionando 20 ml de álcool etílico.

Para realização da prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *M. nigra*, utilizou-se a metodologia empregada por Matos (2009), que possibilita a identificação de várias classes de metabólitos secundários como:

Taninos: Para o teste branco, foi adicionado 3 ml da solução hidroalcoólica do extrato das folhas em um tubo de ensaio adicionando-se 3 gotas do FeCl_3 . A solução foi então agitada por 20 segundos e observada mudança de cor entre azul e vermelho, o que indicaria a presença de fenóis. Já a formação de precipitado azul indicaria a presença de taninos hidrolisáveis ou precipitado verde indicando a presença de taninos condensados.

Saponinas: Em um tubo de ensaio adicionou-se 3 ml da solução do extrato, 2 ml de clorofórmio e 3 ml de água. Em seguida a mistura foi agitada por 3 minutos e observada a possível formação de espuma abundante e persistente que indicaria a presença de saponinas.

Flavonoides: Em um tubo de ensaio adicionou-se 3 ml da solução do extrato e um pequeno pedaço de fita de magnésio. Terminada a efervescência de toda a fita de magnésio, adicionou-se 2 ml de HCl e observou-se a possível formação de um colarinho de cor vermelho nas bordas da solução, indicando a presença de flavonoides.

Alcaloides: Em um tubo de ensaio foi colocado 3 ml da solução do extrato sendo adicionado 15 gotas de hidróxido de sódio (1M) e em seguida adicionando-se 2 ml de CH_3Cl . Posteriormente retirou-se a água e adicionou-se 15 gotas de HCl. Em seguida o CH_3Cl foi retirado e adicionado 3 gotas de reagente de Mayer, observando a possível formação de um precipitado floculoso indicando a presença de alcaloides.

Resultados e Discussão

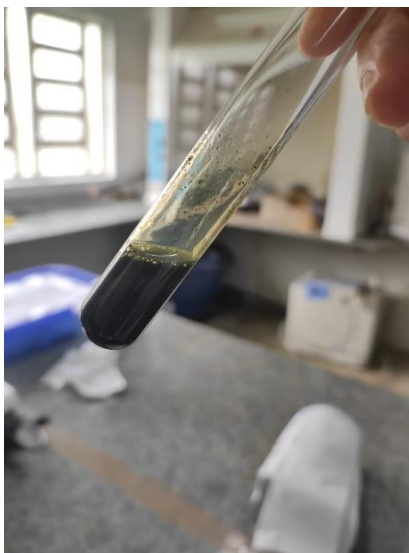
A técnica de prospecção fitoquímica usando testes de reações químicas é tida como uma técnica simples e eficiente para a identificação e quantificação de metabólitos secundários presentes nas mais variadas plantas com potencial ação biológica. Eles envolvem a aplicação de reagentes químicos específicos para identificar a presença de compostos como alcaloides, flavonoides, terpenoides e outros metabólitos secundários. Parâmetros como mudança de cor, formação de precipitados podem indicar a presença de metabólitos secundários específicos.

Os compostos fenóis são compostos que apresentam pelo menos um anel aromático com substituintes hidroxilas, além de serem amplamente utilizados em diversas aplicações, desde a indústria química até a indústria de alimentos e cosméticos. De acordo com a literatura, não há estudos que mostram a identificação de fenóis no extrato das folhas da *M. nigra*.

Os taninos por sua vez são um grupo heterogêneo de compostos polifenólicos de elevado peso molecular com a capacidade de formar complexos com polissacarídeos, alcalóides e, principalmente proteínas (ROSA *et al.*, 2016). A presença de taninos condensados foi confirmada nos extratos aquosos da *M. nigra* em estudo realizado por Sousa *et. al* (2018). Além disso, estudos mostram que plantas ricas em taninos são empregadas com ação antioxidante (ROSA *et al.*, 2016) para tratar hemorragias, feridas, queimaduras, problemas renais (GUIZ ZO *et al.*, 2015).

O teste fitoquímico para identificação de fenóis ou taninos resultou na formação acentuada de precipitado verde nas paredes do recipiente, indicando concentrações de taninos condensados presentes no material (Figura 1).

Figura 1. Precipitado verde nas paredes do recipiente indicando a presença de taninos condensados.



Fonte: Autor (2024)

Não foi observado a formação de precipitado azul, que seria indicativo da presença de taninos hidrossolúveis e nem a mudança de cor entre vermelho ou azul indicando a presença de fenóis. Na Tabela 1, pode-se observar os compostos identificados no teste realizado.

Tabela 1. Dados da prospecção fitoquímica do extrato hidroalcoólico da folha *M. nigra.b*.

Classes de compostos identificados	Extrato da folha da <i>M. nigra</i>
Fenóis	Negativo (-)
Taninos hidrolisáveis	Negativo (-)
Taninos condensados	Positivo (+)

Fonte: Autor (2024)

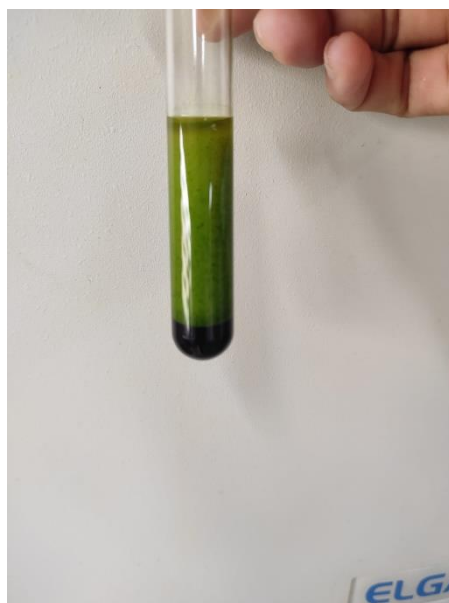
A não identificação de taninos hidrolisáveis como identificado em estudo realizado por Guizzo *et al.*, 2015, com as folhas de *M. nigra*, pode ter sido afetado pelo tempo de maceração, pela quantidade de folhas, condições ambientais, tipo de solvente extrator usado, por exemplo. As hipóteses levantadas surgem a partir do desenvolvimento autônomo do pensamento para a resolução dos problemas propostos.

As saponinas por sua vez são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionados ao sistema da defesa das plantas e indicadas como “fitoprotetoras”. É uma estrutura com caráter anfifílico, parte da estrutura com característica lipofílica e outra hidrofílica, sendo que essa característica determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes (FERREIRA FERNANDES *et al.*, 2019).

Sparg *et al.*, (2004) constataram a atividade anti-inflamatória de algumas saponinas. Uma das características das saponinas é ter a capacidade de formar espuma em soluções aquosas

(FERREIRA FERNANDES *et al.*, 2019). No presente estudo fitoquímico realizado pode-se observar a formação de uma espuma persistente e abundante, comprovando a existência de saponinas no extrato das folhas da *M. nigra* (Figura 2).

Figura 2. Formação de espuma persistente indicando a presença de saponinas no extrato.



Fonte: Autor (2024)

Em consonância com a comprovação experimental realizada, estudo realizado por Adam *et al.* (2019) identificaram saponinas presentes no extrato aquoso das folhas da *M. nigra*, sendo eficazes para a produção de nanopartículas de prata por meio da síntese verde.

Os flavonoides são compostos polifenólicos de origem vegetal e são encontrados nas partes aéreas de diferentes tipos de plantas. Além disso, possuem ações terapêuticas, dentre os flavonoides como a quercetina, vêm mostrando que possuem potencial ação anti-inflamatória (DA SILVA *et al.*, 2015). Espécies da *Morus* têm mostrado serem ricos em flavonoides (FUKAI; KAITOU; TERADA, 2005).

Estudos já realizados identificaram a presença de diversos compostos flavanoicos como o ácido 3-O-cafeoilquínico evidenciando que a utilização das folhas seria uma boa alternativa para minimizar as complicações induzidas pela diabetes (ARAUJO, 2015). Dessa forma podemos observar a importância terapêutica de se identificar a presença desses metabólitos secundários para o tratamento de diversas doenças.

No presente estudo realizado não foi possível identificar a presença dessa classe de compostos no extrato bruto da *M. nigra* (Figura 3), o que seria identificado pela formação de um colarinho vermelho nas bordas do tudo de ensaio. Evidenciando assim, que a atividade experimental demanda dos alunos a resolução e desenvolvimento de habilidades como identificar, analisar e estabelecer hipóteses sendo essencial para o desenvolvimento da sua criticidade.

Figura 3. Solução para a identificação de flavonoides no extrato.



Fonte: Autor (2024)

Os alcaloides são uma classe de compostos famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos (TERAMOTO; MARTINS; CUNHA, 2011). Esses compostos possuem diversas atividades biológicas, por isso correspondem a princípios ativos comuns em plantas medicinais e tóxicas.

Estudos identificaram em extratos metanólicos da *M. nigra* contém alguns alcaloides como esteroides e triterpenos. A formação de um precipitado floculoso indicou a presença dessas substâncias (Figura 4-B). Atrelado a isso, a utilização da experimentação durante as aulas de orgânica se mostraram ser eficazes ao passo que contribui para a formação do profissional pesquisador na área de química.

Figura 4. Extrato com hidróxido de sódio, água destilada e clorofórmio (A) e depois de retirada da água e adicionado o reagente de Mayer (B).



(A)



(B)

Fonte: Autor (2024)

As folhas da *M. nigra* são destacadas na literatura por desempenhar diversas propriedades biológicas como ação antioxidante, anticâncer, antidepressivo. Pode-se observar na Tabela 2, todos os metabólicos secundários detectados no extrato hidroalcoólico das folhas da *M. nigra*.

Tabela 2. Dados da prospecção fitoquímica dos metabólicos secundários do extrato hidroalcoólico da folha *M. nigra*.

Classes de compostos identificados	Extrato da folha da <i>M. nigra</i>
Fenóis	Negativo (-)
Taninos	Positivo (+)
Saponinas	Positivo (+)
Flavonoides	Negativo (-)
Alcaloides	Positivo (+)

Fonte: Autor (2024)

Durante toda a realização do experimento o professor desempenha o papel de mediador, onde professor e aluno podem colaborar juntos no processo de ensino-aprendizagem e não de forma separada como na pedagogia tradicionalista na qual professor era tido como único detentor do conhecimento e o aluno tinha apenas o papel de absorver o que foi ensinado (LIBÂNEO, 1992), mostrando-se essencial na construção do conhecimento pelos alunos durante a aula.

Conclusões

A extração das substâncias ativas presentes nos vegetais para finalidades terapêuticas tem sido um incentivo para o crescimento do estudo das plantas. O uso de plantas tem se mostrado como uma estratégia de sucesso na inovação tecnológica de medicamentos, devido às diversas propriedades biológicas apresentadas.

Usando de técnicas simples e eficientes como a prospecção fitoquímica na disciplina de orgânica para a identificação de metabólitos em espécies de plantas foi possível aproximar os conhecimentos teóricos dos alunos com a prática, colocando-os como coadjuvante e pesquisador ativo. Além disso, no presente estudo realizado foi possível identificar por meio da técnica de prospecção fitoquímica, usando reações químicas, do extrato hidroalcoólico das folhas da *M. nigra*, a presença de metabólitos secundários como taninos condensados, saponinas, flavonoides e alcaloides evidenciando assim a presença de diversos princípios ativos nas folhas da *M. nigra* e mostrando o seu potencial terapêutico para o tratamento de diversas enfermidades como anticâncer, antidepressivo como destacado na literatura.

É indiscutível a relevância de aulas práticas no ambiente de sala de aula para a promoção do ensino, sendo essenciais para o desenvolvimento de habilidades cognitivas, motoras e sociais dos estudantes. Tal prática incrementada em aulas de química orgânica proporcionou aos estudantes um olhar crítico sobre os resultados, preparando-os para tomar decisões e discutir os resultados de maneira mais fundamentada tendo como principal consequência a participação ativa dos estudantes na aprendizagem.

Fica evidente, portanto, que as aulas experimentais melhoram de forma significativa o aprendizado em Química, pois com a promoção de um ensino contextualizado é possível chegar além da memorização de tabelas e valores favorecendo a formação da criticidade do discente.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao financiamento e apoio da Capes, CNPq e UESPI.

Referências

ABOU BAKER, D. H. et al. Antiviral activity of *Lavandula angustifolia* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against avian influenza H5N1 virus. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, 2021.

ABREU, J.K.G.; Aprender química através de pesquisa bibliográfica. Trabalho apresentado a SEED, Programa de Desenvolvimento Educacional. Antonina, 2009.

ARAUJO, C. M. Universidade Federal de Ouro Preto, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em ciências biológicas, 2015.

BERLINCK, Roberto G. S.; BORGES, Warley de S.; SCOTTI, Marcus T.; VIEIRA, Paulo C. **A Química de Produtos Naturais do Brasil no Século XXI**. Química nova, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.

Böck, F. C.; Helfer, G. A.; Costa, A. B.; Dessuy, M. B.; Ferrão, M. F. Rapid Determination of Ethanol in Sugarcane Spirit Using Partial Least Squares Regression Embedded in Smartphone. **Food Analytical Methods**, 11(4), 1951-1957, 2018.

DA SILVA, R. et al. 36-Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico Flavonoids: Chemical composition, medical actions and toxicity Acta Toxicol. Argent. v.23, p.36-43; 2015. Disponível em: <http://www.google.com.br/>.

FERREIRA FERNANDES, B. et al. ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DAS PLANTAS MEDICINAIS COM PRESENÇA DE SAPONINAS E SUA IMPORTÂNCIA MEDICINAL. **Revista da Saúde de Lages**, v. 5, n.9, 2019.

FUKAI, T.; KAITOU, K.; TERADA, S. Antimicrobial activity of 2-arylbenzofurans from *Morus* species against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7–8, p. 708–711, dez. 2005.

GUIZZO, P. L. et al. Controle de Qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L. (MORACEAE). *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences* **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 36, n. 2, p. 259–265, 2015.

LIBÂNEO, J. C. Publicado anteriormente na Revista da ANDE, n° 6, 1982. Republicado aqui com algumas alterações. Dermeval SAVIANI, “Tendências pedagógicas contemporâneas”, p.65. Ande, 1992.

MALLHI, T. H. et al. Hepatoprotective activity of aqueous methanolic extract of *Morus nigra* against paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 9, n. 1, p. 60–66, 2014.

MARTINS, J.; BRIJESH, S. Phytochemistry and pharmacology of anti-depressant medicinal plants: A review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2018.

MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental, 3a. ed., **Editora UFC: Fortaleza**, 2009

MUNIZ DE SOUZA, T. a Experimentação No Ensino De Química Na Educação Básica Entre a Teoria E a Práxis. **Ensino de Ciências e Tecnologia em Revista – ENCITEC**, v. 12, n. 1, p. 39–51, 2022.

OLIVEIRA, C. C. DE et al. Anticonvulsant activity of β -caryophyllene against pentylenetetrazol-induced seizures. **Epilepsy and Behavior**, v. 56, p. 26–31, 1 mar. 2018.

PASSOS, L. M. L.; Souza-Sartori, J. A.; Bergamin-Lima, R.; Zocca, T. N.; Baptista, A. S.; Aguiar, C. L. Extração de proteína total e atividade antioxidante de torta de filtro de cana de açúcar. **Revista de Química Industrial**, 741, 22-28, 2013.

PEREIRA, Renata J.; CARDOSO, M. das G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p.146-152, 2012.

QUEIROZ, Salete Linhares; DE ALMEIDA, Maria José PM. Do fazer ao compreender ciências: reflexões sobre o aprendizado de alunos de iniciação científica em química. **Ciência & Educação**, v. 10, n. 01, p. 41-54, 2004.

RIBEIRO, D. . et al. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 4, p. 912–930, 2014.

SHUKLA, M. K. et al. Unravelling the therapeutic potential of orchid plant against cancer. **South African Journal of Botany**, 2022.

ROSA, R. C. A. et al. Triagem fitoquímica dos extratos aquosos de *Bauhinia candicans*, *Foeniculum vulgare*, *Mentha pulegium* e *Morus nigra*. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 1, p. 44–51, 26 ago. 2016.

SPARG, S. G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 94, n. 2–3, p. 219–243, 2004.

TERAMOTO, A.; MARTINS, M. C.; CUNHA, M. G. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA PRESERVAÇÃO DE ISOLADOS DE *Corynespora cassicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 2, 2011.