

PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DA PARTE AÉREA E SUBTERRÂNEA DE *Kyllinga odorata* Vahl

José Jailson Lima Bezerra (1); Carlos Luiz da Silva (2); Ticiano Gomes do Nascimento (3); Ana Paula do Nascimento Prata (4)

(1) Mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Alagoas (UFAL). E-mail: josejailson.bezerra@hotmail.com

(2) Acadêmico de Agroecologia, Centro de Ciências Agrárias (CECA), Universidade Federal de Alagoas (UFAL). E-mail: indjuventude@gmail.com

(3) Docente, Escola de Enfermagem e Farmácia (ESENFAR), Universidade Federal de Alagoas (UFAL). E-mail: ticianogn@yahoo.com.br

(4) Docente, Centro de Ciências Agrárias (CECA), Universidade Federal de Alagoas (UFAL). E-mail: ana.prata@ceca.ufal.br

Resumo: A família Cyperaceae Juss. é amplamente difundida em várias regiões do Brasil. Alguns estudos farmacológicos tem evidenciado o potencial medicinal de espécies desta família, o que tem contribuído satisfatoriamente para a elucidação de novos compostos de importância terapêutica. Desta forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de proceder um estudo fitoquímico preliminar utilizando o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para analisar os constituintes químicos presentes nos extratos hidroalcoólicos da parte aérea e subterrânea de *Kyllinga odorata* Vahl. O material vegetal foi coletado no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), no mês de agosto de 2017. Para realizar a prospecção fitoquímica, foram obtidos extratos hidroalcoólicos desta espécie. As frações do extrato bruto da parte aérea (solubilizado em metanol) e da parte subterrânea (solubilizado em hexano e clorofórmio) de *K. odorata* foram analisadas por meio da técnica de CLAE, em comprimentos de onda a 254, 275 e 320 nm, durante 72 minutos. Os resultados obtidos revelaram que os compostos identificados por meio da técnica utilizada na parte aérea foram os derivados do Ácido ferúlico, derivados do Ácido p-coumarico e a Miricitrina, enquanto que na parte subterrânea, foi constatada a presença de quatro substâncias conhecidas: derivado do Ácido clorogênico, Quercetina, Luteolina e Crisina. É importante ressaltar que este estudo faz parte de uma análise preliminar dos constituintes químicos de interesse farmacológicos presentes na espécie *K. odorata*, e que novas pesquisas são necessárias para comprovar os efeitos medicinais da planta.

Palavras-chave: Análise fitoquímica, CLAE, Cyperaceae, *Kyllinga odorata*.

INTRODUÇÃO

Cyperaceae Juss. é uma família que ocorre em várias regiões do Brasil e, apesar de não existir gêneros endêmicos no país, estima-se que 203 são espécies endêmicas brasileiras, das quais 40 pertencem a *Rhynchospora*, 28 a *Cyperus*, 25 a *Scleria*, 22 a *Bulbostylis*, 19 a *Pleurostachys*, 16 a *Eleocharis* e 11 a *Hypolytrum* (ALVES et al., 2009). Embora as espécies desta família sejam frequentemente associadas a ambientes alagadiços, estas também ocorrem em ambientes mais

drenados, como topos de morro, além de constituírem importante elemento florístico e ecológico na composição sucessional de áreas sujeitas à ação antrópica (TREVISAN et al., 2008).

Segundo pesquisas desenvolvidas por Adeniyi et al., (2014) foi possível comprovar o efeito medicinal de algumas espécies de Cyperaceae. Os autores sugeriram que alguns dos extratos vegetais possuem compostos com propriedades antimicrobianas que podem ser utilizados como agentes antimicrobianos em novos fármacos para o tratamento de doenças infecciosas causadas por patógenos (ADENIYI et al., 2014). Dentre as espécies de Cyperaceae citadas na literatura como possíveis plantas medicinais, observa-se que o rizoma de *Kyllinga odorata* tem sido utilizado no Paraguai como medicamento, e que as flavonas e taninos seriam responsáveis pela atividade diurética, antiespasmódica, antidiarreica e adstringente atribuída a *K. odorata* (GONZÁLEZ et al., 2009).

É importante ressaltar que métodos fitoquímicos como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são essenciais na condução de pesquisas para analisar os princípios ativos de plantas e suas atividades biológicas (KATAOKA e CARDOSO, 2013). A fitoquímica tem colaborado significativamente para o conhecimento da constituição química dos vegetais, suas propriedades e funções, direcionando sua utilização, seja como alimentos ou fármacos, confirmando ou não sua indicação no conhecimento popular (BEZERRA et al., 2011). De acordo com Silva et al., (2014), realmente há um interesse crescente na extração e purificação de produtos naturais para alimentos, produtos farmacêuticos e aplicações em cosméticos.

Tendo em vista que a identificação de metabólitos secundários em plantas potencialmente medicinais é extremamente relevante para o conhecimento científico farmacológico, o presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo fitoquímico preliminar utilizando o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para analisar os constituintes químicos presentes nos extratos hidroalcoólicos da parte aérea e subterrânea de *Kyllinga odorata* Vahl.

METODOLOGIA

Material botânico

Os espécimes de *Kyllinga odorata* Vahl foram coletados no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), no mês de Agosto de 2017 de acordo com as técnicas usuais para taxonomia (MORI et al. 1989). Uma exsicata foi identificada pela Prof^a Dr^a Ana Paula do Nascimento Prata e depositada no Herbário do Instituto de Meio Ambiente de Alagoas (MAC), sob o número MAC-64293.

Obtenção do extrato

O material coletado foi lavado com água corrente para a retirada das impurezas e, posteriormente, foi separado em parte aérea (PA) e parte subterrânea (PS) com o auxílio de uma tesoura de poda. Após este processo, foi submetido a secagem em estufa sob temperatura de 45°C por 4 dias e triturados em moinho de facas para obtenção do pó. Os extratos foram preparados a partir da pesagem de 10 g do pó da PA e PS de *K. odorata*. Em seguida, faz-se a extração por maceração utilizando 200ml de solução hidroalcoólica (50% de álcool / 50% de água destilada). A solução ficou em repouso durante 48 horas para que os compostos presentes no pó fossem extraídos. Após este prazo, o sobrenadante foi retirado, e posteriormente adicionou-se mais 80ml da solução hidroalcoólica (50%) no material precipitado com a finalidade de realizar mais uma extração.

Concentração dos extratos

O material botânico sob a forma de extrato hidroalcoólico foi concentrado em evaporador rotativo acoplado a bomba a vácuo sob temperatura constante de aproximadamente 60°C para eliminação do solvente orgânico e obtenção do extrato bruto (BASTOS et al., 2011). Foi realizado um particionamento dos extratos brutos utilizando como solventes o acetato de etila (para os extratos da parte aérea) e o clorofórmio com hexano (para os extratos da parte subterrânea). Antes de secar as frações obtidas do particionamento do extrato bruto da PA e PS em estufa à 60°C, foi realizada a pesagem dos frascos vazios, onde os extratos foram armazenados para determinação posterior do peso do resíduo seco.

Análise fitoquímica preliminar por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O perfil cromatográfico foi realizado em CLAE com detector de ultravioleta (UV) e arranjo de diodo (DAD), onde frações do extrato bruto da parte aérea (solubilizado em metanol) e

da parte subterrânea (solubilizado em hexano e clorofórmio) de *K. odorata* foram injetados numa taxa de fluxo de 0,6 mL/min e por 72 minutos, utilizando por fase estacionária uma coluna de fase reversa Jupiter 5u C18 300A, e por fase móvel uma mistura de metanol, água e ácido trifluoroacético 0,1%. Os cromatogramas foram registrados nos comprimentos de onda a 254, 275 e 320 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constituintes químicos identificados na parte aérea (PA) de *Kyllinga odorata* Vahl

O tempo de retenção e os comprimentos de ondas expressos por meio de um cromatograma obtido pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) possibilitaram a identificação de algumas substâncias presentes nos extratos hidroalcoólicos da parte aérea (PA) de *K. odorata*. Os principais resultados podem ser observados na Tabela 1.

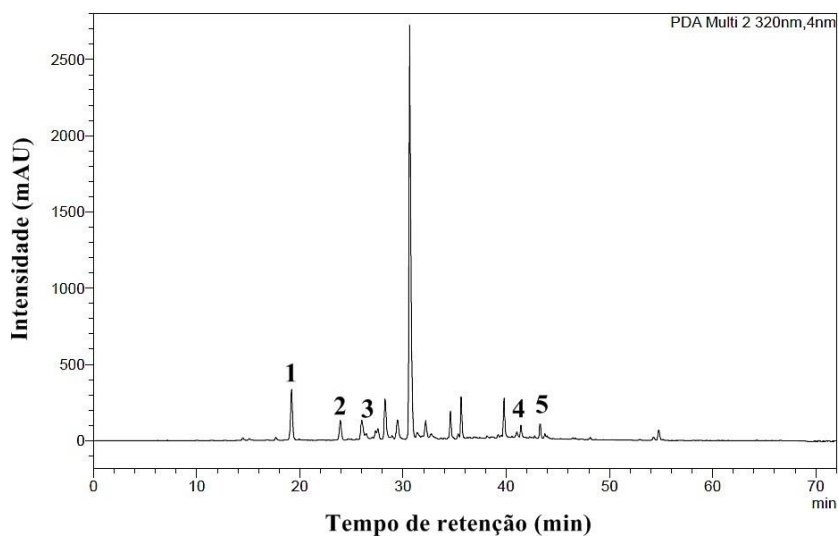
Tabela 1. Identificação dos compostos químicos fenólicos ou alcaloídicos presentes em *Kyllinga odorata* Vahl (Parte Aérea) usando cromatograma no comprimento de onda a 320nm.

Nº Pico	Tempo retenção (min)	Composto	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)	λ_3 (nm)
1	19,19	Derivado do Ácido ferúlico	215	-	322
2	23,91	Derivado do Ácido p-coumarico	-	-	309
3	26,00	Derivado do Ácido ferúlico	197	-	321
4	41,41	Miricitrina	-	266	364
5	43,28	Derivado do Ácido p-coumarico	-	-	310

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

É possível verificar a partir do perfil cromatográfico dos extratos hidroalcoólicos da PA de *K. odorata* (Figura 1) que as principais substâncias identificadas foram: derivados do Ácido ferúlico (1 e 3), derivados do Ácido p-coumarico (2 e 5) e a Miricitrina (4).

Figura 1. Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico da parte aérea (PA) de *Kyllinga odorata* Vahl no comprimento de onda a 320nm.



Substâncias identificadas pelos números: Derivado do Ácido ferúlico (1 e 3), Derivado do Ácido p-coumarico (2 e 5), Miricitrina (4).

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

A Miricitrina, um dos compostos identificados na PA de *K. odorata* (Figura 1), também foi identificada em outras pesquisas fitoquímicas. De acordo com estudos cromatográficos realizados por Barbosa et al., (2006), comprovou-se a presença do composto Miricitrina em extratos hidroalcoólicos das folhas de *Chrysobalanus icaco*. Meotti et al., (2006) indicam que a Miricitrina, é um flavonoide que ocorre naturalmente em plantas superiores, e produz antinocicepção quando avaliada em modelos químicos de nocicepção em camundongos, bem como produzir efeitos anti-hiperalgésicos. É importante ressaltar que a Miricitrina produz antinocicepção quando administrado em níveis periféricos ou centrais (MEOTTI et al., 2007). Outras pesquisas indicam ainda que a Miricitrina pode ser usada como um antioxidante natural para proteção contra a citotoxicidade induzida pela acrilamida (CHEN et al., 2013).

De acordo com pesquisas realizadas por Tucker et al., (2006) vinte e três diferentes constituintes químicos foram identificados como componentes dominantes da dihydrokaranone e aristolochene em *Kyllinga odorata*. Estes autores ressaltam ainda que dihydrokaranone e aristolochene não foram anteriormente relatados nos óleos essenciais das Cyperaceae.

Constituintes químicos identificados na parte subterrânea (PS) de *Kyllinga odorata* Vahl

Na Tabela 2, estão listadas as principais substâncias que ocorrem nos extratos hidroalcoólicos da PS de *K. odorata*. Os compostos foram identificados por meio da corrida cromatográfica durante 72 minutos usando cromatograma no comprimento de onda a 320nm. Por meio das técnicas utilizadas, não foi possível realizar a identificação completa de alguns compostos, sendo estes, desconhecidos ou derivados de outra substância.

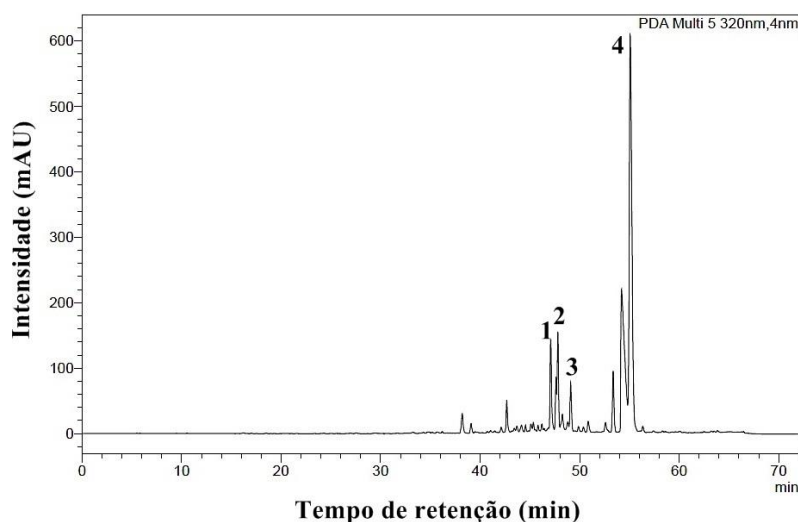
Tabela 2. Identificação dos compostos químicos fenólicos ou alcaloídicos presentes em *Kyllinga odorata* Vahl (Parte Subterrânea) usando cromatograma no comprimento de onda a 320nm.

Nº Pico	Tempo retenção (min)	Composto	$\lambda 1$ (nm)	$\lambda 2$ (nm)	$\lambda 3$ (nm)
1	47,80	Derivado do Ácido clorogênico	-	249	323
2	48,26	Quercetina	-	248	-
3	49,09	Luteolina	-	256	-
4	55,07	Crisina	-	267	303

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

De acordo com o cromatograma obtido por meio da técnica de CLAE dos extratos hidroalcoólicos da parte subterrânea de *K. odorata* (Figura 2) pode-se observar que apenas quatro substâncias foram devidamente identificadas por meio das técnicas utilizadas: Derivado do Ácido clorogênico (1), Quercetina (2), Luteolina (3) e Crisina (4).

Figura 2. Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico da parte subterrânea (PS) de *Kyllinga odorata* Vahl no comprimento de onda a 320nm.



Substâncias identificadas pelos números: Derivado do Ácido clorogênico (1), Quercetina (2), Luteolina (3), Crisina (4).

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

O composto majoritário identificado no cromatograma dos extratos hidroalcoólicos da parte subterrânea de *K. odorata* é um flavonoide conhecido como Crisina (pico 4 da Figura 2). A partir de estudos fitoquímicos realizados por Noori et al., (2015) observa-se que a Crisina também foi identificada em outras espécies da família Cyperaceae. Segundo Khoo et al., (2010) esta substância inibe a proliferação e induz a apoptose na maioria das células cancerígenas, e é provável que seja mais potente do que outros flavonoides no tratamento de leucemia.

A Luteolina identificada no pico 3 (Figura 2) é uma flavona que pode ser encontrada em muitas plantas medicinais (SEELINGER et al., 2008). Estes autores relatam ainda que esta substância, assim como outros flavonoides, é frequentemente encontrada em vegetais sob a forma de glicosídeos. Segundo López-Lázaro (2009), numerosos estudos pré-clínicos demonstraram que a Luteolina possui uma ampla gama de atividades biológicas e vários mecanismos de ação foram elucidados, sendo inclusive utilizada no tratamento do câncer.

Outro composto também identificado nos extratos hidroalcoólicos da PS de *K. odorata* foi a Quercetina (pico 2 da Figura 2). Estudos farmacológicos indicam que esta substância embora não tenha influência na deposição de colágeno, atenua o estresse oxidativo pulmonar e a resposta inflamatória resultante da administração intratraqueal de bleomicina (MARTINEZ et al., 2008). Relatos e evidências epidemiológicas sugerem que dietas ricas em flavonoides, como a Quercetina, têm efeitos na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares, câncer e insuficiências renal e hepática (BEHLING et al., 2004).

CONCLUSÃO

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) demonstrou ser um método eficaz para a identificação de substâncias presentes nos extratos hidroalcoólicos de *Kyllinga odorata* Vahl. Os compostos identificados por meio da técnica utilizada na parte aérea de *K. odorata* foram os derivados do Ácido ferúlico, derivados do Ácido p-coumarico e a Miricitrina, enquanto que na parte subterrânea, foram constatadas a presença de quatro substâncias conhecidas: derivado do Ácido clorogênico, Quercetina, Luteolina e Crisina. Vale ressaltar que este estudo faz parte de uma análise preliminar dos constituintes químicos de interesse farmacológicos presentes na espécie *K. odorata*, e que novas pesquisas são necessárias para comprovar os efeitos medicinais da planta.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) no desenvolvimento deste trabalho, através da concessão de bolsa de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ADENIYI, T.A.; ADEONIBEKUN, P.A.; OMOTAYO, E.A. Investigating the phytochemicals and antimicrobial properties of three sedge (Cyperaceae) species. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 6, n. 3, p. 276, 2014.

ALVES, M.; ARAÚJO, A.C.; PRATA, A.P.; VITTA, F.; HEFLER, S.; TREVISAN, R.; GIL, A.S.B.; MARTINS, S.; THOMAS, W. Diversity of Cyperaceae in Brazil. **Rodriguésia**, p. 771-782, 2009.

BARBOSA, W.L.R.; PERES, A.; GALLORI, S.; VINCIERI, F.F. Determination of myricetin derivatives in *Chrysobalanus icaco* L. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 333-337, 2006.

BASTOS, I.V.G.A.; SILVA, G.K.C.; RODRIGUES, G.C.R.; MELO, C.M.; XAVIER, H.S.; SOUZA, I.A. Estudo fitoquímico preliminar e avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico bruto de *Caesalpinia echinata* Lam. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 3, p. 219-222, 2011.

BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BEZERRA, D.A.C.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; PEREIRA, A.V.; SOUSA, E.O.; RODRIGUES, O.G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 1, 2011.

CHEN, W.; FENG, L.; SHEN, Y.; SU, H.; LI, Y.; ZHUANG, J.; ZHANG, L.; ZHENG, X. Myricitrin inhibits acrylamide-mediated cytotoxicity in human Caco-2 cells by preventing oxidative stress. **BioMed research international**, v. 2013, 7p. 2013.

GONZÁLEZ, Y.; Morphoanatomy and ethnobotany of rhizome, stem and scape of " kapi'i kati" *Kyllinga odorata* (Cyperaceae) and its substituents in and around Asuncion del Paraguay. **Lilloa**, v. 46, n. 1/2, p. 58-67, 2009.

KATAOKA, V.M. F.; CARDOSO, C.A.L. Avaliação do perfil cromatográfico obtidos por CLAE-DAD e da atividade antioxidante das folhas de espécies *Campomanesia sessiliflora* (O. Berg) Mattos e *Campomanesia xanthocarpa* O. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 15, n. 1, p. 121-129, 2013.

KHOO, B.Y.; CHUA, S.L.; BALARAM, P. Apoptotic effects of chrysin in human cancer cell lines. **International journal of molecular sciences**, v. 11, n. 5, p. 2188-2199, 2010.

MARTINEZ, J.A.B.; RAMOS, S.G.; MEIRELLES, M.S.; VERCEZE, A.V.; ARANTES, M.R.; VANNUCCHI, H. Efeitos da quercetina na lesão pulmonar induzida por bleomicina: um estudo preliminar. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, n. 7, p. 445-452, 2008.

MEOTTI, F.C.; LUIZ, A.P.; PIZZOLATTI, M.G., KASSUYA, C.A.L.; CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S. Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 316, n. 2, p. 789-796, 2006.

MEOTTI, F.C.; FACHINETTO, R.; MAFFI, L.C.; MISSAU, F.C.; PIZZOLATTI, M.G.; ROCHA, J.B.T.; SANTOS, A.R.S. Antinociceptive action of myricitrin: involvement of the K⁺ and Ca²⁺ channels. **European journal of pharmacology**, v. 567, n. 3, p. 198-205, 2007.

MORI, S.A.; SILVA, L.A.M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. Manual de manejo de herbário fanerogâmico. Ilhéus: Centro de Pesquisa do Cacau (**CEPLAC**), p. 104, 1989.

NOORI, M.; JAFARI, M.; ZAKERI, M. Root and Aerial Parts Flavonoids of 3 Iranian *Carex* L.(Cyperaceae) Species. **International Journal of Plant Research**, v. 5, n. 3, p. 51-56, 2015.

SEELINGER, G.; MERFORT, I.; WÖLFE, U.; SCHEMPP, C.M. Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin. **Molecules**, v. 13, n. 10, p. 2628-2651, 2008.

SILVA, I.C.M.; SANTOS, W.L.; LEAL, I.C.R.; ZOGHBI, M.G.B.; FEIRHMANN, A.C.; CABRAL, V.F.; MACEDO, E.N.; CARDOZO-FILHO, L. Extraction of essential oil from *Cyperus articulatus* L. var. *articulatus* (pripioca) with pressurized CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 88, p. 134-141, 2014.

TREVISAN, R.; FERREIRA, P.M.A.; BOLDRINI, I.I. A família Cyperaceae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 3, 2008.

TUCKER, A.O.; MACIARELLO, M.J.; BRYSON, C.T. The essential oil of *Kyllinga odorata* Vahl (Cyperaceae) from Mississippi. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 4, p. 381-382, 2006.