

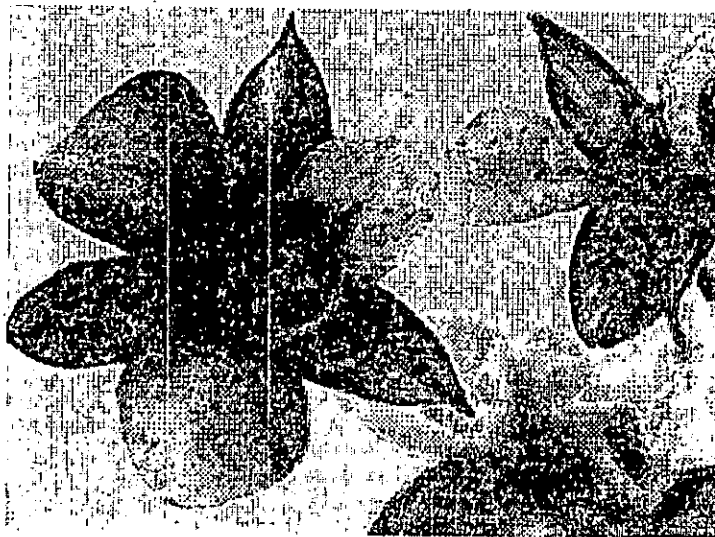
201654

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TRABALHO DE LICENCIATURA



ESTUDO FITOQUÍMICO DA PLANTA DICEROCARYUM

Autor : Paulo Tcheco  
Supervisor: Felisberto P. Pagula



---

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TRABALHO DE LICENCIATURA

ESTUDO FITOQUÍMICO DA PLANTA DICEROCARYUM

Autor: PAULO TCHECO

Supervisor: dr. FELISBERTO P. PAGULA

U. E. M. DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BIBLIOTECA
R. E. .... 46. T. 1. ....
DATA. 14. 1. 07. 2006
AQUISIÇÃO. OFERTA
COTA.....

---

## AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que, directa ou indirectamente contribuíram científica, técnica, material e moralmente durante todo o tempo de preparação e elaboração deste trabalho.  
Muito obrigado.

O autor

---

Paulo Tcheco

---

## DECLARAÇÃO DE HONRA

O presente Trabalho de Licenciatura foi elaborado pelo autor com base nos recursos a que ao longo do texto se faz referência.

O autor

---

Paulo Tcheco

Maputo, aos        de Outubro de 1995

---

## RESUMO

O presente trabalho constitui um estudo da planta "DICEROCARYUM". Esta planta é parte da flora nacional, e o interesse no seu estudo deve-se em parte pela sua utilização a nível tradicional pelas comunidades para diversos fins, particularmente como substituto do sabão para a lavagem do cabelo e do vestuário, daí a sua importância científica, porque de um lado a partir da avaliação da sua composição química pode-se alargar o seu campo de aplicação nas diferentes esferas de interesse, quer sociais, quer científicas, e por outro lado a possibilidade da sua aplicação na indústria cosmética local.

O seu estudo foi desenvolvido em duas partes, tendo a primeira consistido em:

- 1-levantamento das espécies existentes no país e possibilidades de cultivo e colheita.
- 2-Inquéritos sobre a utilidade da planta ao nível tradicional.
- 3-Pesquisa bibliográfica dos métodos de análise fitoquímicos (extracção, ensaios qualitativos, separação e isolamento de componentes e métodos de identificação dos mesmos).

A segunda fase consistiu na aplicação dos métodos de análise pesquisados para a separação e isolamento.

Na separação e isolamento dos componentes foram usadas as técnicas de cromatografia de camada fina em conjugação com a cromatografia de coluna de média pressão e a cromatografia de camada fina preparativa.

Dos ensaios qualitativos efectuados nos extractos, os resultados mostraram um comportamento que justifica a sua utilização como alternativa ao sabão industrial.

Foram isolados oito componentes.

---

# ÍNDICE

	página
<b>1. INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS</b>	<b>1</b>
1.1. Inserção do problema	1
1.2. Triterpenóides e esteróides	2
1.2.1. Química e distribuição	2
1.3. Solubilização por agentes de superfície activa	9
1.3.1. Sabões	11
1.3.2. Detergentes	13
1.4. Características da planta	14
1.4.1. Descrição da planta	14
1.4.2. Localização da planta e sua distribuição nacional	15
1.4.3. Aplicações da planta	15
1.5. Importância científica e económica	16
1.6. Métodos de limpeza	16
1.6.1. Água	17
1.6.2. Óleos e cremes	17
1.6.3. Detergentes	17
1.6.4. Sabões e sabonetes	17
1.6.5. Shampoos	18
1.7. Objectivos	18
<b>2. MÉTODOS</b>	<b>19</b>
2.1. Extracção	19
2.1.1. Métodos de extracção	19
2.2. Ensaio qualitativos (testes preliminares)	21
2.2.1. Teste para esteróides e triterpenóides (Liebermann-	

---

Burchard)	21
2.2.2. Teste para saponinas	21
2.2.3. Teste para confirmação da presença de saponinas	21
2.2.4. Teste para capacidade lavadora dos extractos	22
2.3. Separação e isolamento	22
2.4. Identificação	22
2.5. Descrição dos métodos	23
2.5.1. Cromatografia de camada fina	23
2.5.2. Cromatografia de coluna de média pressão	23
2.5.3. Cromatografia de camada fina preparativa	24
2.5.4. Preparação do extracto hidrolisado	25
2.6. Procedimento para separação e isolamento	25
2.6.1. Extractos não hidrolisados	25
2.6.2. Extractos hidrolisados	32

### 3. RESULTADOS . . . . . 40

### 4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS . . . . . 41

### 5. CONCLUSÕES . . . . . 42

### 6. BIBLIOGRAFIA . . . . . 43

---

## ANEXOS

- I. Reagentes e solventes usados
- II. Material usado
- III. Tabela de concentração e percentagem de extracção da planta
- IV. Fórmulas estruturais de algumas saponinas
  - IV.1. Saponinas triterpenoidais
  - IV.2. Saponinas esteroidais



## 1. INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS

### 1.1. Inserção do problema

Já desde os tempos remotos que o Homem para além de outras necessidades como a de cobrir o corpo, alimentar e abrigar-se, procurou no seu meio ambiente recursos que a natureza dispõe para a satisfação dessas necessidades mais elementares de higiene e saúde.

Neste contexto, as comunidades têm recorrido à prática de métodos tradicionais, aproveitando as propriedades que certas substâncias naturais apresentam.

O presente trabalho pretende avaliar um desses métodos tradicionais usados pelas comunidades para a produção de detergente.

Este aspecto mostra a preocupação das comunidades em cumprir com as regras de higiene de modo a evitar doenças cutâneas, pois considera-se o ambiente onde vive o Homem de forma transitória ou permanente, um factor ecológico importante.[10]

Por outro lado admite-se que as relações inter-humanas no âmbito familiar, na escola, no trabalho e no lazer são múltiplas e variadas o que condiciona a fisiologia cutânea.[10]

O uso destes recursos ainda hoje subsiste apesar do nível de desenvolvimento quer por o Homem viver no interior das zonas rurais distantes, quer por razões de baixos recursos financeiros ou quer ainda por razões culturais.

As saponinas como componentes responsáveis pelas propriedades detergentes, são glicosídeos de triterpenos e de esteróides e podem estar presentes em mais de 70 famílias de plantas, sendo facilmente detectadas pela sua capacidade de formar espuma.[4]

## 1.2. Triterpenóides e esteróides

### 1.2.1. Química e distribuição

Os compostos ligados à planta em estudo com propriedades detergentes pertencem a estas famílias.

A maioria das substâncias da planta é coberta pela palavra "terpenóide", um termo que é usado para indicar que todas substâncias têm origem biosintética comum.

Assim, terpenóides são todos baseados na molécula de isopreno  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$  e os seus esqueletos carbonados são construídos a partir da união de duas ou mais destas unidades de cinco carbonos.

#### UNIDADES ISOPRENICAS



Os terpenóides são classificados de acordo com o número destas unidades de  $\text{C}_5$ ; quando contêm duas ( $\text{C}_{10}$ ), três ( $\text{C}_{15}$ ), quatro ( $\text{C}_{20}$ ), seis ( $\text{C}_{30}$ ) ou oito ( $\text{C}_{40}$ ) são respectivamente monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos ou tetraterpenos.

Cada uma destas classes de terpenos é determinante no crescimento, metabolismo ou ecologia da planta.

Embora os terpenóides derivem biosinteticamente da molécula do isopreno, a qual ocorre como produto natural, esta substância não é precursora "in vivo". No seu lugar, o composto envolvido é o pirofosfato de isopentenilo  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OPP}$  que se forma a partir do acetato, via ácido mevalónico  $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{OH}, \text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{COOH}$ .

O pirofosfato de isopentenilo existe em células vivas em equilíbrio com o isómero

pirofosfato de dimetilalilo  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OPP}$ .

Na biosíntese, uma molécula de pirofosfato de isopentenilo e uma do pirofosfato de dimetilalilo ligam-se para formar o pirofosfato de geranilo ( $\text{C}_{10}$ ), precursor na formação de monoterpeno; o pirofosfato de geranilo e o pirofosfato de isopentenilo por sua vez ligam-se para formar o pirofosfato de farnesilo ( $\text{C}_{15}$ ), precursor da síntese de sesquiterpeno.

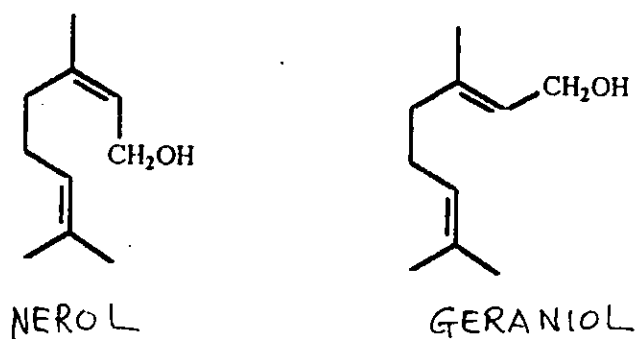
Diferentes combinações destas unidades  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_{10}$ ,  $\text{C}_{15}$  são depois envolvidas nas sínteses de terpenóides superiores, triterpenóides que se formam a partir de duas unidades de farnesilo.

A maioria dos terpenóides naturais têm estruturas cíclicas com um ou mais grupos funcionais (hidroxilo, carbonilo, carboxilo) tal que a etapa final na síntese envolve ciclização e oxidação ou outras modificações estruturais.

Os terpenóides são normalmente extraídos das plantas com éter de petróleo ou clorofórmio e podem ser separados por cromatografia em sílica-gel usando os mesmos solventes.

Contudo, é difícil detectar os terpenóides por serem incolores (com excepção de carotenóides ( $\text{C}_{40}$ )) e não haver reagente universal cromogénico sensível para esta classe de compostos.

O isomerismo é comum entre terpenóides e os compostos isolados são pares de isómeros, como por exemplo o geraniol e o nerol em monoterpenos.[6]

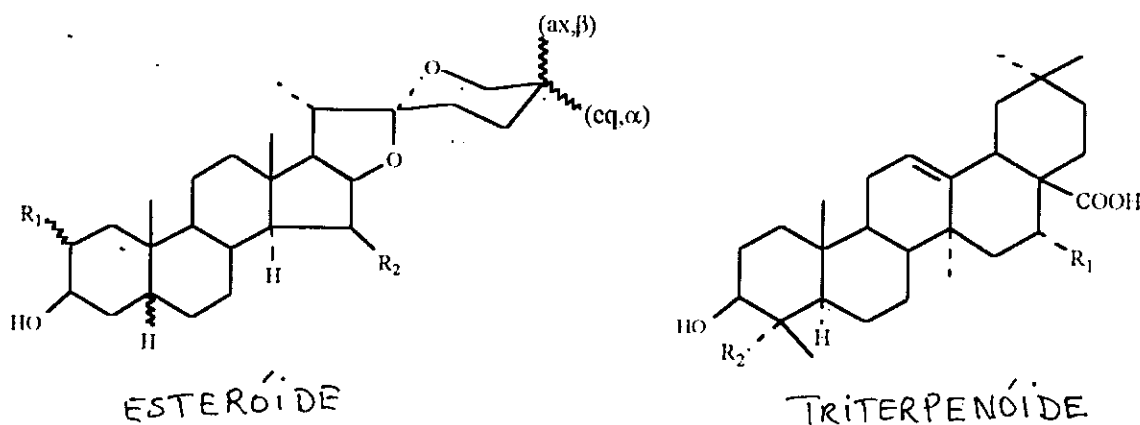


Os Triterpenóides como terpenos de seis unidades de isopreno (2-metil-butadieno-1,3) derivam biosinteticamente do hidrocarboneto acíclico, o esqualeno.

Estes compostos têm estrutura cíclica complexa, podendo ser álcoois, aldeídos ou ácidos carboxílicos. São incolores, cristalinos, muitas vezes com elevados pontos de fusão, são ópticamente activos e geralmente difíceis de caracterizar por possuir pouca reactividade química.

Contudo, para a sua caracterização emprega-se o teste de LIEBERMANN-BURCHARD, que consiste numa mistura de anidrido acético com ácido sulfúrico conc. que produz coloração azul-esverdeada com estes compostos quer com esteróides.

Também, existem os Esteróides, os quais possuem estruturas cíclicas semelhantes às dos triterpenóides, mas em vez de 30 átomos de carbono contêm em geral 27 a 29 átomos de carbono. Baseiam-se no sistema anelar de ciclopentano-perhidrofenantreno. [4]



A biosíntese de terpenóides pode ser dividida em três etapas: [3]

- 1) A formação de uma unidade biológica a partir de acetato.
- 2) A condensação desta unidade para formar terpenóides acíclicos.
- 3) A conversão de terpenóides acíclicos em cíclicos.

Neste processo, o ácido mevalónico (MVA) possui seis átomos de carbono, perde um desses átomos no grupo carboxilo e forma o isopentano.

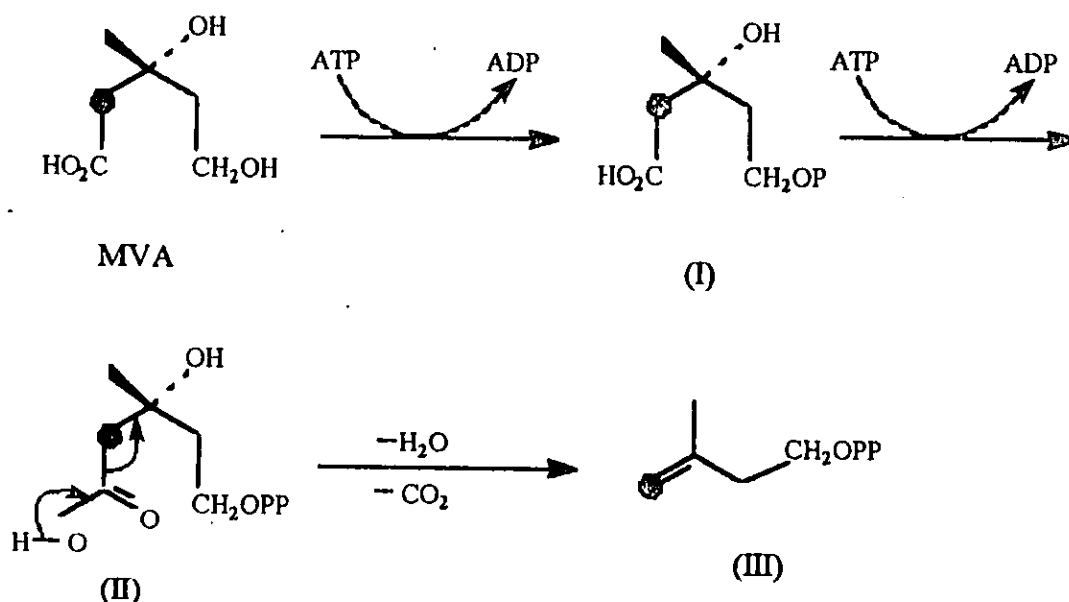
Autor  
TCHECO, Paulo

Obra  
Relatório do trab. de licenciatura

Cota

DATA	RÚBRICA	N.º CARTÃO
24/10/20	F. Munyemana	
22/05/00	Egidio R. Chitauli	
14/02/01	Egidio R. Chitauli	
15/05/09	Egidio Raul Chitauli	
18/06/01	Egidio Chitauli	
12/11/02	DIAS	
14/11/07	DIAS	
27/05/02	Diana A. Faife	
18/5/02	<del>Diana A. Faife</del>	
12/05/02	Diana A. Faife	
04/09/03	Diana A. Faife	
01/07/05	Benedito, Failla	
29/10/05	Bonifacio Mounre	
6/9/05	Bonifacio Mounre	
8/9/05	Bonifacio Mounre	
9/9/05	Bonifacio Mounre	
10/10/05	Elsa Chyule	
26/10/05	Bonifacio Mounre	
11/11/05	Elsa Chyule	
14/11/05	Elsa Chyule	
16/11/05	Bo - chyule	
18/11/05	elsa chyule	
29/11/05	Almirante C. Gina	
16/12/05	Almirante C. Gina	
13/02/06	Almirante C. Gina	

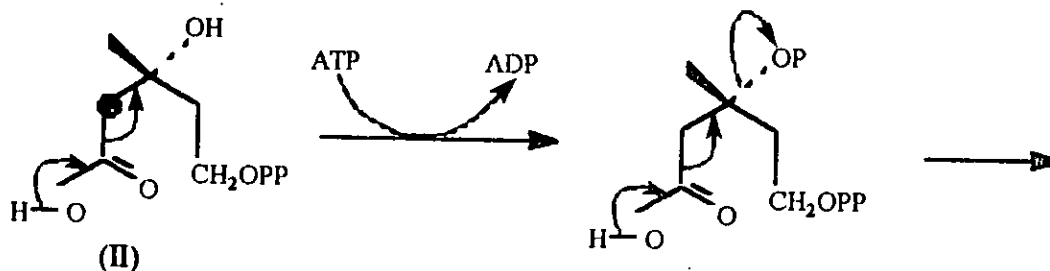
As etapas envolvidas nesta transformação são como se mostra (ADP é difosfato de adenosino e ATP é trifosfato de adenosino).

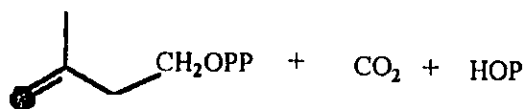


A primeira fosforilação de MVA produz MVA 5-fosfato (I) ( $P=PO_3H_2$ ), depois segue-se a segunda fosforilação para dar MVA 5-pirofosfato (II) ( $PP=P_2O_6H_3$ ).

Seguidamente o (II) perde uma molécula de água para formar 3-metilbut-3-enil (pirofosfato de isopentenilo) (III).

Embora os detalhes desta conversão ainda não estejam clarificados, consideremos esta trans-eliminação:



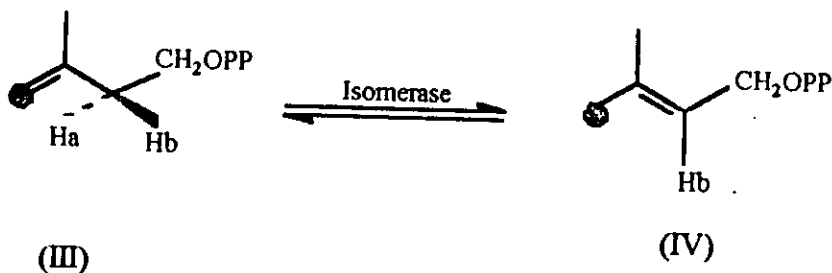


(III)

A evidência disso resulta do facto de uma mole de ATP ser convertida numa mole de ADP e também se produzir uma mole de fosfato inorgânico.

Assim, a unidade de isopreno biogenética é o pirofosfato 3-metilbut-3-enil, mas a sua participação na biosíntese de terpenóides envolve o seu equilíbrio, em presença de uma enzima apropriada, com o pirofosfato 3-metilbut-2-enil( $\beta,\beta$ -dimetilalilo) (IV).

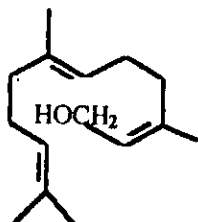
Esta isomerização é estereo-específica:



sendo  $\text{H}_a$  o protão que elimina-se.

O grupo metilo está na posição *trans* em relação ao grupo  $\text{CH}_2\text{OPP}$ .

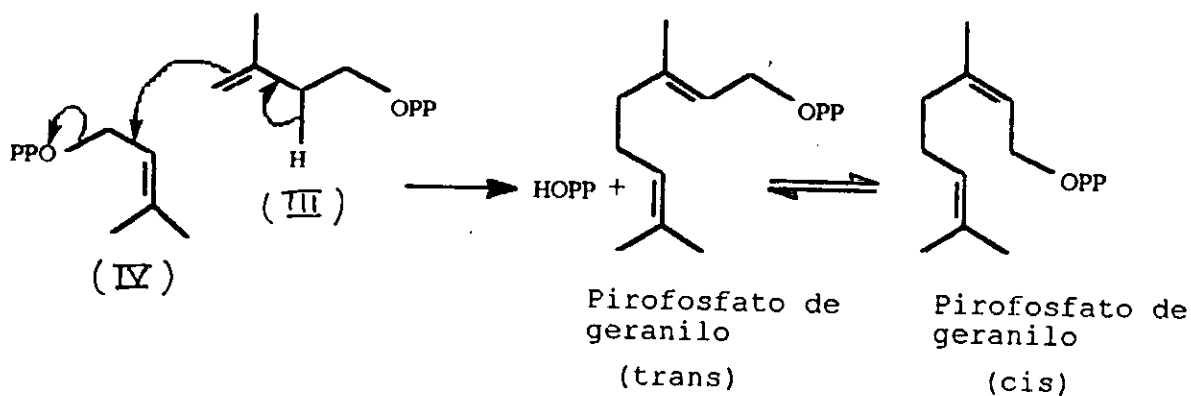
Na base de estudos biosintéticos realizados, uma outra regra de isopreno estabelece que os membros do grupo isopentano devem ser deriváveis a partir de um precursor hipotético como o geraniol, o farnesol e o esqualeno.



farnesol

Biosíntese de monoterpenóides- Todas as evidências experimentais mostram que as unidades (III) e (IV) combinam-se para formar pirofosfato de geranilo  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OPP}$  (isómero *trans*), (III) actuando como reagente nucleófilo e (IV) como reagente electrófilo (para dar ligação cabeça-cauda). As etapas envolvidas não foram ainda esclarecidas.

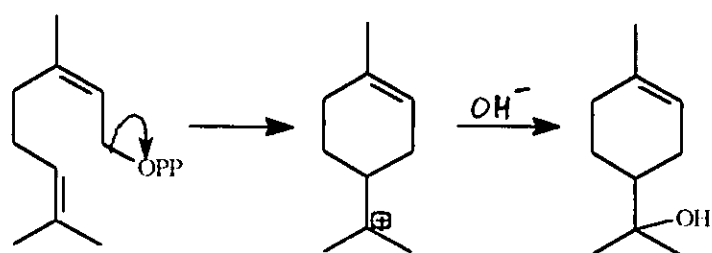
A reacção é a seguir mostrada na sua forma simples:



Daqui, o pirofosfato de geranilo serve como precursor de monoterpenóides monocíclicos via isómero-*cis* (nerol).

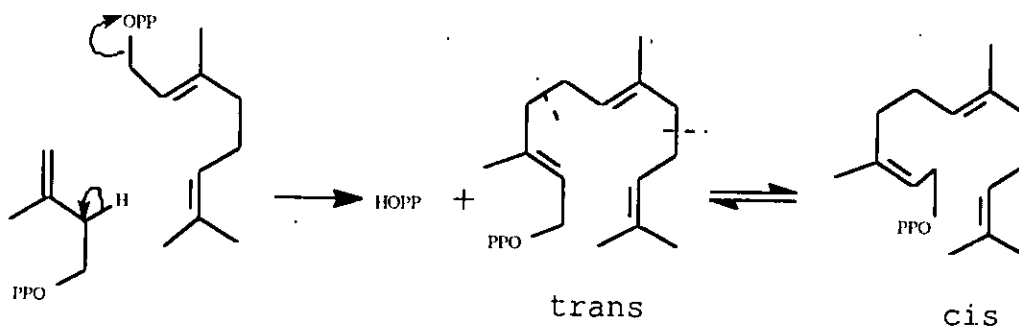
Os mecanismos envolvidos na formação do anel ainda não foram esclarecidos, mas o favorável é via intermediário iónico (veja ciclização do geraniol catalizada por ácido para dar  $\alpha$ -terpeniol).



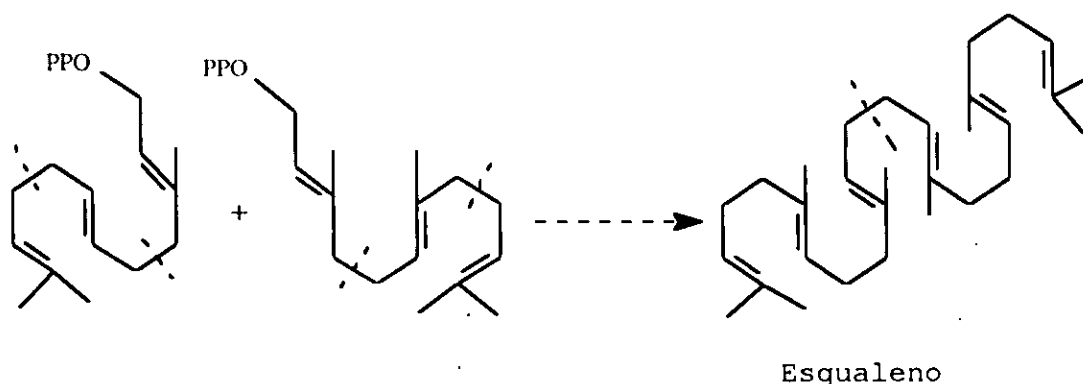


$\alpha$  - terpeniol

Biosíntese de sesquiterpenóides- O argumento considerado em monoterpenóides pode ser aplicado para sesquiterpenóides, mas neste caso o precursor é o pirofosfato de farnesilo. O pirofosfato de geranilo contém estrutura 3-metilbut-2-enil donde se pode deduzir que este pode reagir com o nucleofílico pirofosfato de 3-metilbut-3-enil para aumentar a cadeia através da unidade de cinco carbonos. Este forma o isómero-*trans* e então tal como monoterpenóides cíclicos, o pirofosfato de farnesilo pode passar por ciclização via iões carbónio para formar sesquiterpenóides cíclicos. Contudo, o curso de ciclização depende da geometria do pirofosfato de farnesilo.



Biosíntese de triterpenóides- O composto precursor é o esqualeno mas a biosíntese continua objecto de muita discussão. Formalmente, deve-se considerar como sendo formado por ligação de dois resíduos de pirofosfato de farnesilo unidos cauda-cauda. Esta reacção pode ser representada na forma:



Na formação da ligação os intermediários envolvidos continuam por esclarecer.

### 1.3. Solubilização por agentes de superfície activa

Agentes de superfície activa são substâncias compostas de dois grupos na sua estrutura química.

Um dos grupos é a cadeia carbonada da molécula (grupo hidrofóbico), solúvel em óleo ou gordura e o outro é um grupo ionizado, solúvel em água (grupo hidrofílico).

Como exemplo tomemos a molécula de sulfato lauril de sódio  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{11}-\text{SO}_4^-\text{Na}^+$  onde a parte carbonada é hidrofóbica e a outra é hidrofílica.

Chama-se anfipatia à existência de duas partes numa molécula, uma das quais tem afinidade pelo solvente e a outra antipática a ele [Hartley, p.56].

Estas substâncias, como uma classe de compostos, incluem sabões, detergentes e shampoos que formam associações em soluções e originam partículas de dimensões coloidais chamadas micelas responsáveis pela actividade superficial e solubilização.

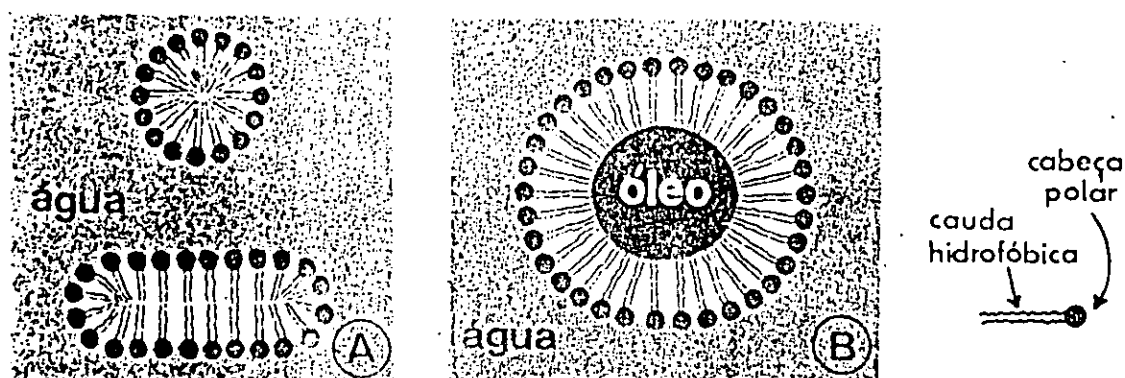


figura 1. Estrutura micelar. Secção transversal da estrutura sugerida de uma micela.

A- micelas em água

B- micela envolvendo uma gotícula de óleo em água

Os principais tipos de micelas podem ser:

Aniônico: O anião é a espécie de superfície activa.

Laurato de potássio  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COO}^-\text{K}^+$

Catiônico: O catião é a espécie de superfície activa.

Brometo de hexadecil trimetilamónio

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{15}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3-\text{Br}^-$

Anfólitico: Dependendo do pH da solução, este tipo comporta-se como aniônico, não iónico ou catiónico.

N-dodecil-N:N-dimetil betaína

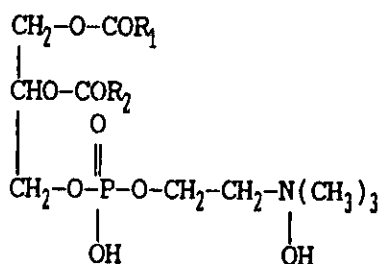
$\text{C}_{12}\text{H}_{25}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$

Não iónico: Metade deste tipo é solúvel em água, pode conter grupos hidroxilo ou uma cadeia polioxietilénica.

Éter monohexadecil polioxietileno

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{15}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{21}-\text{OH}$

Compostos de ocorrência natural: Fosfatídeos são também agentes de superfície activa como a lecitina (dialquilglicerilfosforil colina).



sendo  $R_1$  e  $R_2$  resíduos de ácidos gordos variando de  $C_{12}$ - $C_{18}$ .

As propriedades de lavar, humedecer, dispersar e emulsificar se devem à existência destes dois grupos.[2]

Para complementar estas considerações tomemos o caso clássico de hidrólise de gorduras (saponificação) para a formação de sabões e como são obtidos os detergentes.

### 1.3.1. Sabões

A hidrólise básica de glicerídeos (ésteres derivados de glicerol) dá origem aos sais dos ácidos carboxílicos (sabões) e ao glicerol.

O sabão ordinário pode ser simplesmente uma mistura ou não de sais de ácidos gordos de cadeia longa.

O sabão, por batimento pode incorporar-se-lhe ar e dar-lhe a propriedade de flutuar; podem adicionar-se-lhe perfumes, corantes e germicidas. Quimicamente, porém, o sabão permanece essencialmente o mesmo e actua do mesmo modo.

A acção detergente dos sabões, através desta figura, permite fazer uma ideia dos factores em causa.

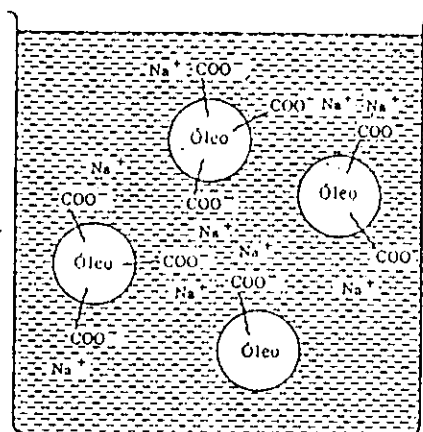


Figura 2. Emulsificação do óleo em água por intermédio do sabão. As cadeias carbonadas dissolvem-se no óleo; os grupos polares  $\text{-COO}^-$  dissolvem-se em água.

As gotículas, agora com cargas idênticas, repelem-se umas às outras.

As moléculas do sabão têm uma extremidade polar,  $\text{-COO}^- \text{Na}^+$ , e uma extremidade apolar, a longa cadeia carbonada de 12 a 18 átomos de carbono; a extremidade polar é solúvel em água e a apolar solúvel em óleo.

Normalmente, as gotículas de óleo em contacto com água tendem a aglutinar-se; disto resulta a formação de uma camada de óleo e de uma camada da água; porém, a presença do sabão altera a situação. As extremidades apolares das moléculas do sabão dissolvem-se na gotícula do óleo, enquanto as extremidades carboxílicas se projectam para o exterior, para a camada aquosa circundante (ver a figura 2).

Devido à presença dos grupos carboxilato carregados negativamente, cada uma das gotículas fica assim rodeada de uma atmosfera iónica. A repulsão entre cargas eléctricas idênticas impede a coalescência das gotículas de óleo e obtém-se assim uma emulsão estável de óleo em água.

O sabão limpa, ao emulsionar a gordura que constitui ou contém a sujidade.

Esta propriedade emulsionante e, portanto, detergente não é exclusiva dos ácidos carboxílicos: apresenta-a qualquer molécula formada por uma longa parte apolar e por uma parte polar.

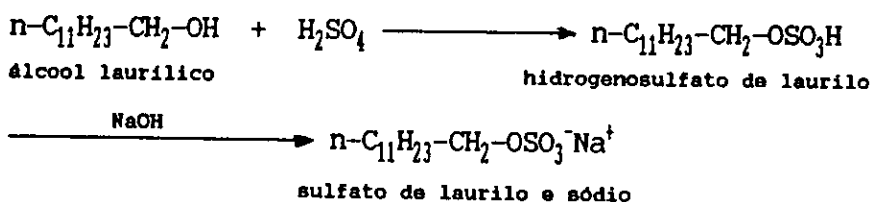
### 1.3.2. Detergentes

Os álcoois de 12 a 18 átomos de carbono utilizam-se em quantidades enormes na manufactura de detergentes (produtos tenso-activos para a limpeza).

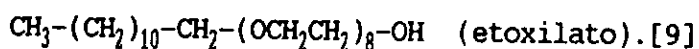
Embora os detergentes sintéticos difiram consideravelmente uns dos outros quanto a estrutura química, as suas moléculas têm uma característica comum, a qual é também apresentada pelo sabão ordinário: uma parte muito grande apolar, com natureza de hidrocarboneto, e uma extremidade polar solúvel em água.

Os álcoois de 12 a 18 átomos de carbono convertem-se em sais de hidrogeno-sulfato de alquilo, como exemplo, o álcool laurílico tratado com ácido sulfúrico seguido da soda cáustica forma-se o sulfato de laurilo e sódio onde a parte apolar é a longa cadeia carbonada e a parte polar é o grupo iónico  $-\text{OSO}_3^- \text{Na}^+$ .

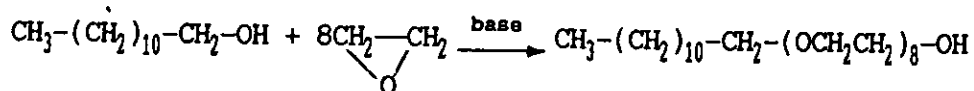
A equação da reacção é :



Um outro exemplo é o tratamento dos álcoois com óxido de etileno em meio básico com formação de um detergente não iónico



A reacção é:



#### 1.4. Características da planta

##### 1.4.1. Descrição da planta

Esta planta pertence à família PEDALIACEAE, género DICEROCARYUM, apresenta duas espécies SENECIÓIDE e ERIOCARPUM.

É uma erva com raiz principal lenhosa e persistente da qual caules prostrados sustentam numerosos ramos laterais.

As folhas têm formas variadas, sendo estreitamente laminadas ou largamente ovadas e serradas.

As flores têm cor branca, rosa ou violeta e encontram-se nas axilas das folhas. O fruto é lenhoso com dois picos levantados na parte central da superfície superior. Tem duas ou cinco sementes castanho-escuras a pretas.[12]

As duas espécies da planta diferenciam-se em:[8]

Espécie ERIOCARPUM

Tem folhas alongadas, ovais e grossamente dentadas.

Fruto de forma circular com a parte central ligeiramente levantada e densamente pubescente.

Tem duas sementes com funícolos longos em cada um dos dois lóbulos.

Espécie SENECIÓIDE

Tem folhas laminadas.

Fruto de forma largamente elíptica com a parte central distintamente bem levantada e normalmente liso.

Tem cinco sementes com funícolos curtos em cada um dos dois lóbulos.

Em termos de habitat, esta planta encontra-se:

Espécie ERIOCARPUM- Em terrenos arenosos junto à costa, por vezes associado à Dactyloctenium e Ipomoea Bilboa e em zonas arenosas de pasto, encostas de dunas e nas margens dos rios.[12]

Espécie SENECIÓIDE- Em zonas de pastagem ou savana aberta, zonas arenosas e abunda na vegetação de terrenos abandonados e em dunas de areia marítima.[8]

#### 1.4.2. Localização da planta e sua distribuição nacional

Sem distinção da espécie, encontra-se distribuída em todas as regiões e em todas as épocas do ano, especialmente no Verão e na época das chuvas.

O seu nome vernáculo depende da sua localização geográfica:

- Cabo Delgado: Piriviri
- Zambézia: Cõa, Ecuá
- Manica e Sofala: Cesso
- Sul do Save: Lihlehlua

#### 1.4.3. Aplicações da planta

Além desta planta ser comumente utilizada como substituto do sabão, possui outras aplicações conforme as diferentes partes que a compõem.

##### Folhas.

- A infusão das folhas é usada como remédio de desordens gástricas e intestinais e na obstetrícia do gado.[8]
  - Como um substituto do sabão para a limpeza.[8]
  - Para alimentação. As folhas são cozidas como espinafre.[10]
  - Para lavagem do cabelo e da roupa. Mergulha-se a planta num recipiente contendo certa quantidade de água conforme a quantidade das folhas disponíveis que depois de espremidas libertam um líquido viscoso aplicado sobre o cabelo e a roupa.[10]
- A planta fresca ou seca, a água aplicada pode ser fria ou morna.[10]

##### Folhas e Raiz.

- Contra o sarampo. Lava-se a pessoa com as folhas, a raiz é fervida e é dada para beber.[10]



---

### Planta inteira.[10]

- Ajuda a dilatação nos partos de mulheres e fêmeas. A infusão é instalada no interior do sexo e também dada para beber.
- Contra várias doenças: dores abdominais, constipações, pneumonia, varíola, gonorreia, hidrocele.
- Anticonceptivo.

### 1.5. Importância científica e económica

Sendo esta planta de aplicação diversificada e particularmente como substituto do sabão, o seu estudo reveste-se de grande importância científica ao conhecer os componentes que lhe conferem as propriedades detergentes, da mesma forma que é do domínio científico a composição e a produção do sabão industrial, detergentes e shampoos.

A importância económica deste estudo pode resumir-se no aproveitamento da planta para a sua aplicação na indústria cosmética local, embora não se tenha feito o estudo de viabilidade económica por não ser do âmbito deste trabalho.

O estudo limitou-se ao nível da avaliação das potencialidades da planta.

### 1.6. Métodos de limpeza[10]

Existem diferentes métodos para a manutenção da aparência cutânea constituindo actos correntes da vida diária.

De entre vários métodos destacam-se os seguintes:

- Água
- Óleos e cremes
- Detergentes
- Sabões e sabonetes
- Shampoos
- Dicerocaryum.

### 1.6.1. Água

A água varia na sua composição e quantidade em substâncias minerais.

### 1.6.2. Óleos e cremes

Para indivíduos que toleram mal o sabão, têm procurado outras substâncias para a limpeza entre as quais óleos e cremes.

Tal como os sabonetes e sabões, o objectivo é reduzir a tensão na superfície da pele, em contacto com o ar.

### 1.6.3. Detergentes

Os detergentes são compostos de moléculas que contêm grandes grupos de hidrocarbonetos:

-os grupos hidrofóbicos (que não têm afinidade pela água) contêm um ou mais grupos apolares;

-os grupos hidrofílicos (que têm afinidade pela água)

As partes não polares (grupos hidrofóbicos) dissolvem-se em gorduras e óleos, e as porções polares (grupos hidrofílicos) são solúveis em água.

### 1.6.4. Sabões e sabonetes

São formas de uso diário como meio de limpeza; quando se lhes adicionam água, emulsionam as gorduras.

Alguns investigadores consideram o uso de sabões e sabonetes como estando condicionado fundamentalmente pelo tipo da pele (seca ou oleosa) e o seu estado seja irritada ou eczematizada.

### 1.6.5. Shampoos

Os shampoos são detergentes que se usam como meio de lavagem do coiro cabeludo, em certos casos até como forma de aplicação terapêutica.

Estes podem tomar diferentes tipos que permitem a classificação de acordo com a sua aparência física, ingredientes e propriedades. De acordo com Sagarin, os shampoos podem tomar as seguintes formas:

- Líquidas
- Creme líquido ou loção, creme
- Shampoos de ovos
- Shampoos de ervas

Os shampoos de ervas, apesar da sua popularidade em áreas como águas duras, estes apresentam uma aplicação limitada.

Neste grupo de shampoos inclui-se a *Dicerocaryum*.

### 1.7. Objectivos

Tem-se como objectivos ao realizar este estudo:

- 1-fazer levantamento das espécies existentes no país e possibilidades de cultivo e colheita.
- 2-fazer inquéritos sobre a utilidade da planta ao nível tradicional.
- 3-fazer pesquisa bibliográfica dos métodos de análise fitoquímicos (extracção, ensaios qualitativos, separação e isolamento de componentes e métodos de identificação dos mesmos).

## **2. MÉTODOS**

Os métodos utilizados no estudo desta planta foram os métodos fitoquímicos e estudam a enorme variedade de substâncias orgânicas elaboradas e acumuladas pelas plantas.

Estes métodos incluem a extracção, separação e isolamento e identificação.[5]

### **2.1. Extracção[1]**

A extracção é uma técnica usada para separar uma substância de uma mistura. Pode definir-se como a separação de um componente de uma mistura por meio de um solvente.

A extracção pode ser líquido-líquido ou sólido-líquido.

Na prática, a extracção líquido-líquido é utilizada para separar substâncias de soluções ou suspensões líquidas; a extracção sólido-líquido é utilizada para separar substâncias de um sólido por meio de um solvente.

No caso da extracção líquido-líquido, o procedimento consiste em agitar por algum tempo, num funil de separação, duas soluções imiscíveis e deixar em seguida separar as duas camadas. Os diferentes solutos distribuem-se entre as duas fases de acordo com as suas solubilidades relativas.

Deste modo, os sais inorgânicos, praticamente insolúveis em solventes orgânicos mais comuns, permanecem na fase aquosa enquanto os compostos orgânicos que não formam pontes de hidrogénio (hidrocarbonetos, derivados halogenados) insolúveis em água, passam para a fase orgânica.

A extracção pode ser descontínua ou contínua. A contínua utiliza-se quando um sistema a extrair forma emulsões intratáveis, ou quando o composto orgânico é mais solúvel em água do que em solvente orgânico usado para o efeito.

#### **2.1.1. Métodos de extracção**

Dos métodos de extracção sólido-líquido, entre os quais na realização do trabalho usaram-se a maceração e o soxhlet, consideremos:

1. Maceração - consiste em submeter um material sólido previamente moído à acção de um solvente à temperatura ambiente.

Certas substâncias do sólido solubilizam-se no solvente de acordo com a sua polaridade.

2. Infusão - consiste em impregnar um solvente em ebulição sobre um material sólido previamente moído, deixando ficar em contacto durante certo tempo.

3. Decocção - consiste em ferver substâncias para lhes extrair princípios activos. Se o material é sólido previamente moído, junta-se-lhe o solvente adequado e submete-se à fervura.

4. Soxhlet - é uma extracção exhaustiva de um sólido por meio de um líquido e consiste em fazer refluxo a quente durante certo tempo até descoloração do material em extracção contido no interior de um cartucho. Esta extracção é muito útil para tratamento de produtos naturais existentes em tecidos animais.

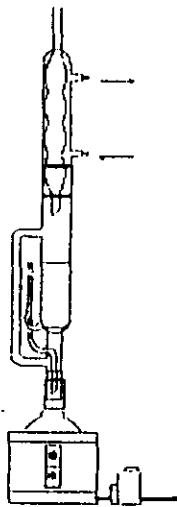


Figura 3. Extracção por soxhlet.

## 2.2. Ensaaios qualitativos (testes preliminares)

São testes para a verificação da presença de certos componentes orgânicos determinantes nas propriedades da planta.

Esses componentes orgânicos são as saponinas que podem ser esteroidais e triterpenoidais e também a verificação da acção lavadora dos extractos.

No caso das saponinas, a solução para o ensaio é obtida tomando um certo volume de extractos concentrados no rotavapor e evaporam-se até à secura, e para o outro caso consideram-se extractos brutos.

### 2.2.1. Teste para esteróides e triterpenóides (Liebermann-Burchard)

Extrai-se o resíduo seco contido em pequenos copos, três vezes com duas gotas de clorofórmio. Filtra-se a solução clorofórmica para um tubo de ensaio seco. Junta-se 1 ml de anidrido acético e agita-se suavemente. Junta-se três gotas de ácido sulfúrico e agita-se suavemente. [4]

### 2.2.2. Teste para saponinas

Toma-se o resíduo insolúvel em clorofórmio no teste anterior, redissolve-se em água e filtra-se para um tubo de ensaio. Agita-se fortemente o tubo. [10]

### 2.2.3. Teste para confirmação da presença de saponinas

Juntam-se 2 ml de ácido clorídrico ao tubo de ensaio do teste anterior. Deixa-se em banho-maria durante 1 hora. Depois de arrefecer neutraliza-se com hidróxido de sódio agitando. [10]

#### 2.2.4. Teste para capacidade lavadora dos extractos

Para este teste consideremos a tabela:

tubo de ensaio 1	tubo de ensaio 2	tubo de ensaio 3
água da torneira (ensaio em branco)	extracto aquoso da planta (amostra)	sabão líquido industrial (padrão)
óleo do motor	óleo do motor	óleo do motor

Onde os três tubos de ensaio limpos e secos contêm volumes iguais de água da torneira (ensaio em branco), extracto aquoso da planta (amostra) e sabão líquido industrial (padrão) respectivamente no primeiro, no segundo e no terceiro tubo. Em seguida junta-se aos três tubos, três gotas de óleo de motor e submetem-se a um aquecimento moderado durante cerca de 5 mn.[10]

#### 2.3. Separação e isolamento

A separação e o isolamento dos componentes da planta foi realizada usando a cromatografia de camada fina[5] apoiada à cromatografia de coluna, cromatografia de coluna de média pressão e cromatografia de camada fina preparativa.

#### 2.4. Identificação[5]

A identificação da substância isolada é feita com base nas suas propriedades e depois comparada com os dados da literatura, tais como:

- ponto de fusão, se se tratar de um sólido
- ponto de ebulição, se se tratar de um líquido
- valor de  $R_f$ , sob condições padrão
- registo de espectros de infra-vermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e de massa (MS).

## 2.5. Descrição dos métodos[11]

### 2.5.1. Cromatografia de camada fina

É a técnica mais largamente usada para a separação de uma mistura nos seus componentes.

É de fácil execução, larga aplicação a diversas amostras, elevada sensibilidade, velocidade de separação e de baixo custo.

A cromatografia de camada fina é a técnica de separação na qual uma camada fina de alumina ou sílica-gel é usada como adsorvente sobre uma placa, sendo a mais comum a de alumínio.

O adsorvente mais comumente usado é a sílica-gel no qual se pode incorporar indicadores ultra-violeta (U.V) para ajudar a localização de substâncias separadas através de absorção de luz ultra-violeta (U.V) no comprimento de onda de 254 e 366 nanómetros (nm).

Na prática, a amostra a ser separada é aplicada sobre a camada 1 a 2 cm de uma extremidade da placa ou origem. A fase estacionária com zonas da amostra na base é colocada na vertical num tanque contendo pequena quantidade da fase móvel. A separação é atingida quando um solvente (fase móvel) atravessa uma fase fixa (fase estacionária).

A natureza e a composição química da fase móvel é determinada pelo tipo da substância a separar e o tipo de adsorvente a ser usado.

A acção capilar faz com que a fase móvel se desloque através do meio num processo chamado desenvolvimento, sendo o mais comum o ascendente.

Depois de secar a placa, as manchas separadas podem ser visualizadas por meio de luz U.V, de iodo ou por pulverização com reagentes específicos.

Para exprimir a posição de uma substância separada num cromatograma usa-se o valor de  $R_f$  ou  $R_f$ .

### 2.5.2. Cromatografia de coluna de média pressão

É também uma técnica de separação de misturas.

Difere da cromatografia de camada fina na adsorção que ocorre no interior de um



tubo contendo o adsorvente empacotado e a mistura a separar.

A cromatografia de coluna é também uma técnica de fraccionação dos componentes da mistura de acordo com as suas polaridades. Funciona também como técnica de pré-purificação antes de testar a pureza duma substância.

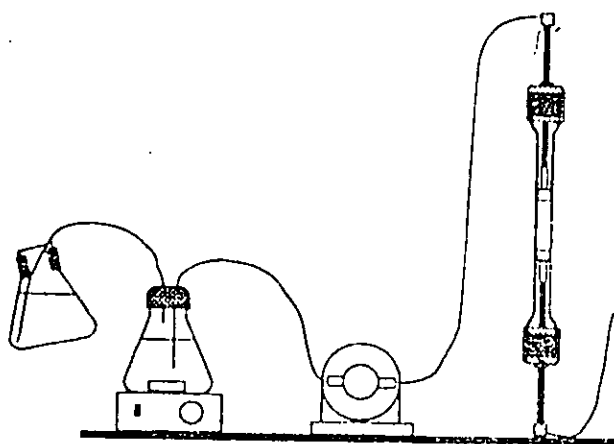


Figura 4. Cromatografia de coluna de média pressão.

### 2.5.3. Cromatografia de camada fina preparativa

É uma cromatografia de camada fina na qual a amostra é aplicada na forma de banda numa placa, normalmente de dimensões de 20x20 cm.

Esta cromatografia é usada para o isolamento de substâncias cujos  $R_f$  defiram significativamente em cromatografia de camada fina simples.

A vantagem desta técnica é, as zonas separadas serem facilmente removíveis da placa, extraídas e filtradas.

Se a aplicação da banda for manual, torna-se difícil isolar uma substância de outras sem contaminação devido a ondulação da banda.

#### 2.5.4. Preparação do extracto hidrolisado[13]

Ao extracto etanólico das folhas da planta seca (Folhas-P.S/EtOH) fez-se uma hidrólise ácida.

Mediu-se 10ml do extracto para um balão de 100 ml e 6,3 ml de ácido sulfúrico concentrado. Aqueceu-se a mistura sob refluxo durante 1 hora.

Depois de arrefecer, transferiu-se a mistura para um funil de separação e extraiu-se com 4,2 ml de clorofórmio. Repetiu-se a operação três vezes e os extractos reunidos.

Filtrou-se o extracto final em presença de sulfato de sódio anidro.

Ao filtrado, evaporou-se à secura e o resíduo foi dissolvido em 2 ml de mistura clorofórmio/metanol (1:1).

#### 2.6. Procedimento para separação e isolamento

##### 2.6.1. Extractos não hidrolisados

O extracto etanólico do caule da planta seca (caule-P.S/EtOH) foi submetido à cromatografia de camada fina cujo o cromatograma constitui a referência (R), a partir do qual se confirma a planta tratar-se de uma mistura complexa de diversos componentes.

fase móvel: clorofórmio/metanol (64:50)

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: vanilina-ácido sulfúrico.

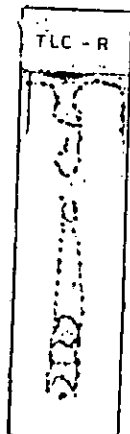


Figura 5. Cromatograma de referência (R).

O procedimento consistiu nos seguintes passos:

a) Cromatografia de coluna de média pressão

A amostra depois de concentrada quase à secura no rotavapor, é misturada com sílica-gel 60 (230-400 mesh ASTM) na proporção de 1:3 e moída para melhor homogeneização.

Esta mistura é colocada no interior da coluna previamente montada contendo sílica-gel 40 (70-230 mesh ASTM) que constitui a fase estacionária.

O eluente é o sistema éter de petróleo (75ml):clorofórmio (75ml) / clorofórmio (75ml):metanol (75ml) que vai eluindo a amostra no interior da coluna.

O eluente é aplicado na forma de gradiente para se obter fracções de polaridade diferente, que são recolhidas em tubos de ensaio pequenos. As fracções depois de concentradas são submetidas à cromatografia de camada fina.

b) Cromatografia de camada fina TLC-1

fase móvel: éter de petróleo/clorofórmio (1:1)

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.

Neste cromatograma obtiveram-se três grupos de componentes:

1A- Os de menor polaridade, foram arrastados até à frente.

1B- Os de polaridade média, que depois de misturados foram submetidos ao tratamento subsequente.

1C- Os de polaridade elevada, que permaneceram na origem.

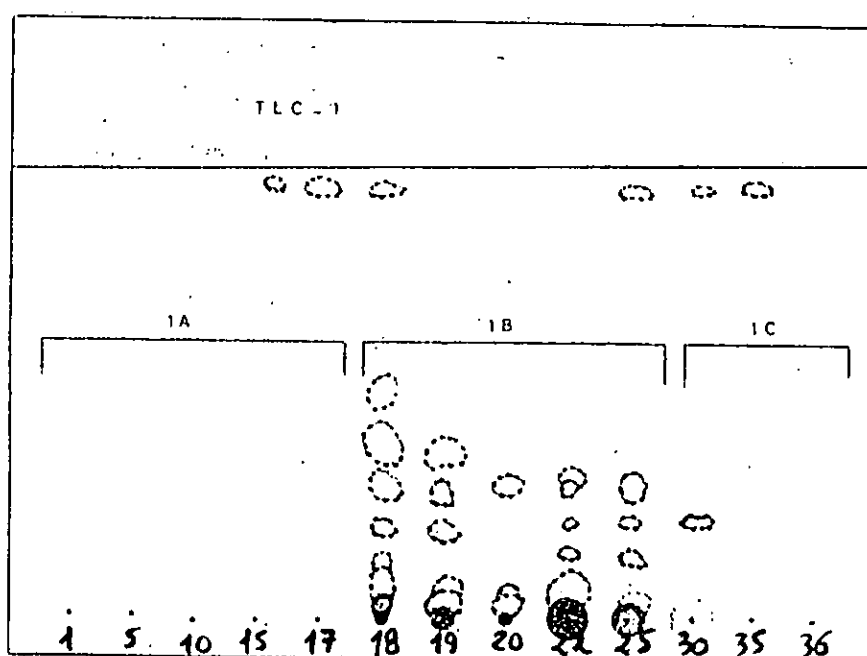


Figura 6. Cromatograma TLC-1.

### c) Cromatografia de camada fina TLC-2

O grupo 1B depois de misturado foi submetido à cromatografia de camada fina TLC-2.

fase móvel: clorofórmio/tolueno/metanol (11:2:0,2)

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.



Figura 7. Cromatograma TLC-2.

Deste cromatograma se conclui que a mistura permanece complexa, daí a necessidade de continuar a fraccionação do grupo 1B.

d) Cromatografia de coluna de média pressão

O princípio de funcionamento é o mesmo, apenas variou o volume dos eluentes: 60ml de éter de petróleo:60ml de clorofórmio / 60ml de clorofórmio:60ml de metanol.

As fracções recolhidas depois de concentradas foram submetidas à cromatografia de camada fina.

e) Cromatografia de camada fina TLC-3

Mantiveram-se todas as condições do desenvolvimento como na alínea c).

fase móvel: clorofórmio/tolueno/metanol (11:2:0,2)

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.

Obtiveram-se três grupos de componentes:

3A- Os de baixa polaridade, depois de misturados foram submetidos ao tratamento subsequente.

3B- Os de polaridade média.

3C- Os de polaridade elevada.

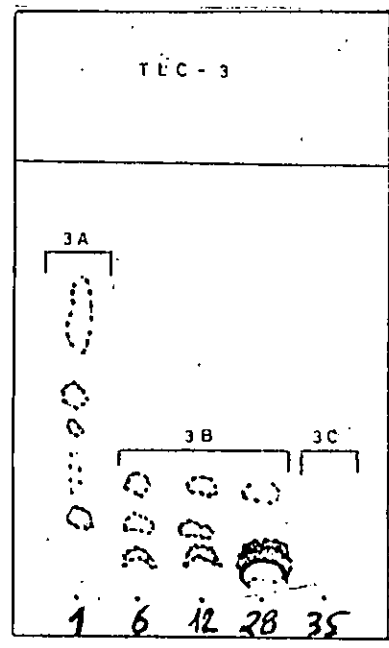


Figura 8. Cromatograma TIC-3.

#### f) Extracção

O grupo 3A foi submetido à extracção depois da sua adsorção em alumina básica (actividade I). Os solventes foram n-hexano, clorofórmio e acetona. A extracção foi feita com ajuda de agitador eléctrico durante meia hora três vezes cada solvente.

Depois da concentração dos solventes no rotavapor, foram submetidos à cromatografia de camada fina.

#### g) Cromatografia de camada fina TLC-4

Foi desenvolvida nas mesmas condições da alínea e), excepto a fase móvel na qual se aumentou a polaridade.

fase móvel: clorofórmio/tolueno/metanol (11:2:0,25)

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.

Neste cromatograma visualizaram-se dois componentes com R<sub>f</sub> distintos no extracto de acetona.

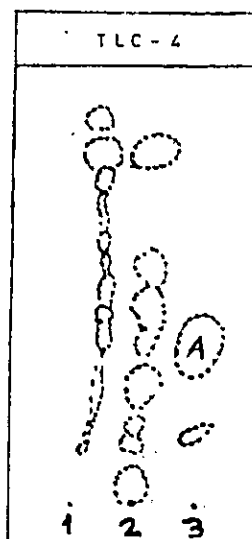


Figura 9. Cronatograma TLC-4.

Como estes dois componentes estão separados, torna-se necessário isolá-los, o que é feito usando a cromatografia de camada fina preparativa.

h) Cromatografia de camada fina preparativa

fase móvel: clorofórmio/tolueno/metanol (11:2:0,25)

fase estacionária: sílica-gel G adsorvida em placa de vidro 20x20 cm. A espessura da camada é de 0,5 mm.

revelação: vanilina-ácido sulfúrico.

Depois de demarcar as zonas separadas, foram raspadas, extraídas em metanol, filtradas e concentradas. Assim se isolaram os dois componentes, e para verificar a sua pureza, foram submetidas à cromatografia de camada fina usando as mesmas condições do cromatograma TLC-4.

i) Cromatografia de camada fina TLC-5

Verificação da "pureza" dos componentes isolados.

fase móvel: clorofórmio/tolueno/metanol (11:2:0,25)

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.



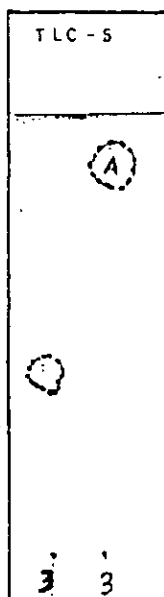


Figura 10. Cromatograma TLC-5.

### 2.6.2. Extractos hidrolisados

O procedimento consistiu nos seguintes passos:

#### a) Cromatografias de camada fina TLC-1 e TLC-2

Ao extracto hidrolisado na mistura clorofórmio/metanol (1:1), fizeram-se cromatografias de camada fina usando fases móveis singulares na ordem crescente de polaridade, n-hexano, tolueno, clorofórmio e acetona para ver o comportamento do extracto em cada uma dessas fases móveis tendo-se chegado à seguinte conclusão, com base nos cromatogramas individuais:

-No cromatograma com n-hexano como fase móvel, após a revelação em câmara de iodo, concluiu-se a amostra ser de polaridade elevada, porque permaneceu na origem.

-Nos cromatogramas com fases móveis tolueno e clorofórmio que a seguir se identificam como TLC-1 e TLC-2 respectivamente, após a revelação em câmara de iodo, observou e concluiu-se que a amostra contém mistura de componentes de polaridade média.

-No cromatograma com acetona, que não é aqui apresentado, concluiu-se esta fase móvel, é muito polar, porque foi arrastada até à frente.

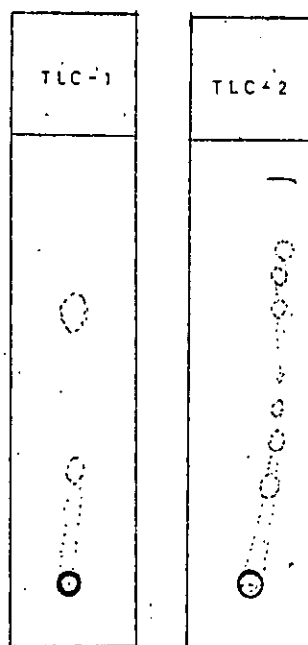


Figura 11. Cromatogramas TLC-1 e TLC-2.

#### b) Cromatografia de coluna de média pressão

Pelo comportamento observado nos cromatogramas atrás referidos, houve necessidade de fraccionar a amostra usando de cada vez os eluentes tolueno e clorofórmio. A preparação da amostra para a eluição já foi considerada no caso de extractos não hidrolisados.

##### Eluição com tolueno

Usando um volume de 80ml deste eluente, fez-se correr a coluna a uma velocidade de 1 gota/minuto.

Recolheram-se as fracções em dez tubos pequenos.

##### Eluição com clorofórmio

Com um volume de 90ml de eluente recolheram-se 12 fracções.

c) Cromatografia de camada fina

1. Cromatografia TLC-3

fase móvel: tolueno

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: vanilina-ácido sulfúrico.

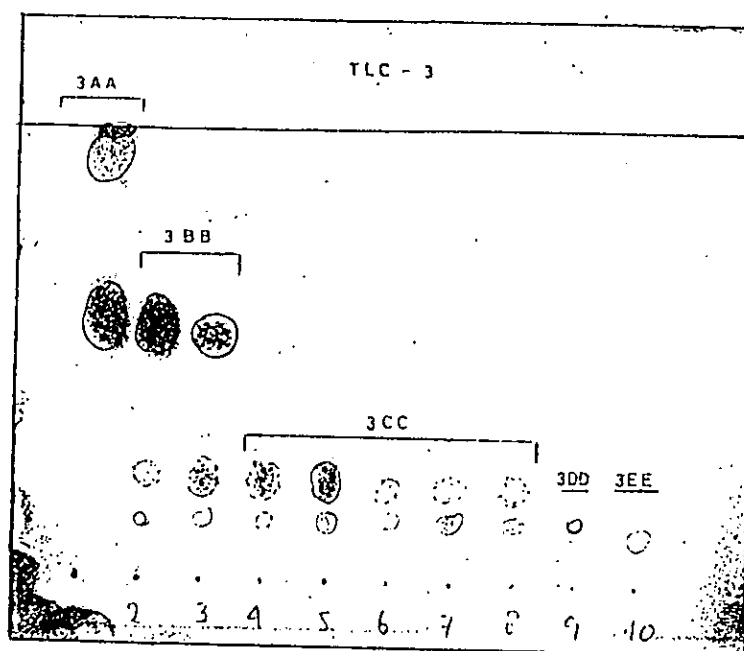


Figura 12. Cromatograma TLC-3.

Neste cromatograma foram obtidos cinco grupos de componentes com características quase similares em termos de polaridade.

3AA- Com duas manchas, uma boa indicação para proceder ao isolamento.

3BB- Mistura das fracções 2 e 3 com três manchas separadas, também isoláveis uma da outra.

3CC- Mistura das fracções 4 a 8 com duas manchas separadas, também isoláveis uma da outra.

3DD- Mancha solitária, componente isolado

3EE- Mancha solitária, componente isolado

Pelas características do grupo 3AA, verifica-se ser oportuno isolar o componente de baixo valor  $R_f$ .

Para isso, montou-se uma pequena coluna para remover a mancha de maior valor  $R_f$ . Para enchimento da coluna usou-se sílica-gel 60 (230-400 mesh ASTM). Como fase móvel usaram-se os eluentes na seguinte ordem crescente de polaridade:

-n-Hexano para remover a mancha de maior  $R_f$ .

A medida que ia-se recolhendo os eluidos, procedia-se ao controle através de cromatografias de camada fina usando tolueno como fase móvel. Foram recolhidas 14 fracções (1 a 14).

-Tolueno para separar a mancha de baixo valor de  $R_f$  (mancha de interesse).

Com este eluente foram recolhidas 12 fracções assinaladas de 15T a 26T. Também ia-se procedendo ao controle das fracções recolhidas em pequenos tubos através de cromatografias de camada fina usando a mesma fase móvel, o tolueno.

-Mistura tolueno/clorofórmio.

Apenas foram recolhidas duas fracções, a 27TC e 28TC.

Nota: No cromatograma de camada fina TLC-4, as fracções de 1 a 14 são os eluidos de n-hexano; de 15T a 26T são os eluidos de tolueno; de 27TC e 28TC são os eluidos da mistura tolueno/clorofórmio (1:1).

## 2. Cromatografia TLC-4

Após concentrar todas as fracções obtidas na última coluna, fez-se a cromatografia de camada fina TLC-4 em duas placas por causa do tamanho das fracções.

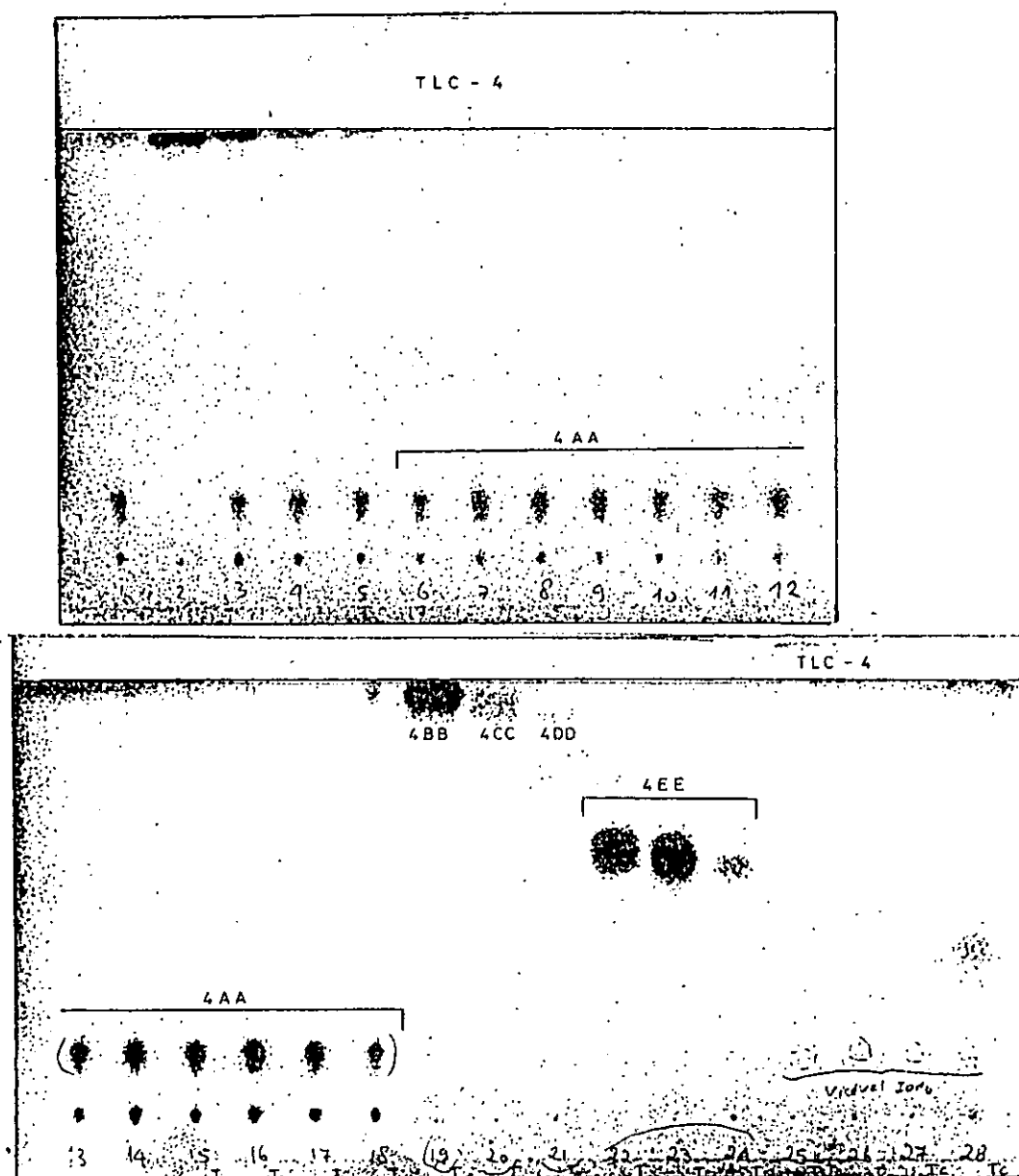


Figura 13. Cronatograma TLC-4.

fase móvel: tolueno

fase estacionária: sílica-gel 60 F<sub>254</sub> adsorvida em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.

Deste cromatograma se conclui que foram isolados cinco componentes:

- A fracção 4AA resultado da mistura das fracções 6 a 18T.
- A fracção 4BB resultado da fracção 19T.
- A fracção 4CC resultado da fracção 20T.
- A fracção 4DD resultado da fracção 21T.
- A fracção 4EE resultado da mistura das fracções 22T a 24T com um valor  $R_f$  aproximado à mancha da fracção 3AA que se propôs isolar em c)1.

### 3. Cromatografia TLC-5

fase móvel: clorofórmio

fase estacionária: sílica-gel F<sub>254</sub> em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.

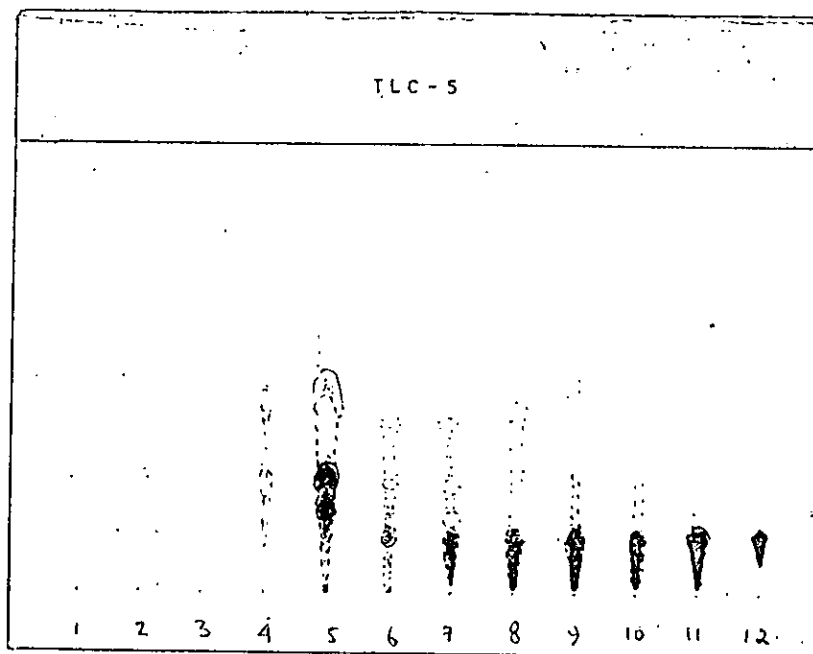


Figura 14. Cromatograma TLC-5

As fracções 6 a 12 relacionadas com o cromatograma TLC-5, iam cristalizando durante a concentração das mesmas. Nesta base, houve necessidade de purificar os cristais fazendo lavagens sucessivas com n-hexano.

Em seguida fez-se a cromatografia TLC-6.

### 3.1 Cromatograma TLC-6

fase móvel: clorofórmio

fase estacionária: sílica-gel F<sub>254</sub> em placa de alumínio. A espessura da camada é de 0,2 mm.

revelação: câmara de iodo, vanilina-ácido sulfúrico.

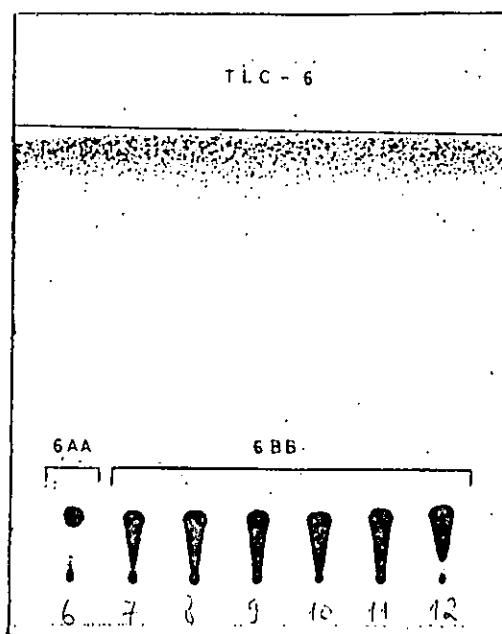


Figura 15. Cromatograma TLC-6

Deste cromatograma, considerou-se a mancha 6 como componente com característica diferente das restantes fracções 7 a 12.

Mas como as manchas das fracções 7 a 12 apresentavam duas cores na sua constituição, escolheu-se ao acaso a fracção 9 e juntamente com a fracção 6,

submeteram-se à cromatografia de camada fina TLC-7, tendo-se usado como fase móvel a mistura de 11 ml de clorofórmio e 0,25 ml de metanol. Como resultado desta cromatografia apenas subiu o valor  $R_f$  mas as duas cores não se separaram. Daí que se pode concluir trata-se de dois componentes não separáveis através de cromatografia de camada fina, o que exige portanto métodos mais refinados para a sua resolução.

Assim, a cromatografia TLC-6 apresenta os componentes 6AA (componente isolado) e 6BB (mistura das fracções 7 a 12).

Segue-se o cromatograma (TLC-7) ilustrativo:



Figura 16. Cromatograma TLC-7.



### 3. RESULTADOS

Como resultados das experiências realizadas, obtiveram-se:

a) Sobre teste para esteróides e triterpenóides (Liebermann-Burchard), não se formou nenhuma coloração.

b) Sobre o teste para saponinas:  
Formou-se espuma na superfície do líquido.

c) Sobre a confirmação da presença de saponinas nos extractos:  
Em todos extractos formou-se precipitado.

O precipitado é aglicona (sapogenina), o que indica existirem saponinas nos extractos porque estas contém duas partes na molécula uma das quais precipita e é solúvel em clorofórmio ou qualquer outro solvente de baixa polaridade e a outra (a parte açucarada) mantém-se em solução.

d) Sobre a capacidade lavadora dos extractos, os resultados são mostrados na tabela.

tubo de ensaio 1	tubo de ensaio 2	tubo de ensaio 3
não há emulsão	há ligeira emulsão	há emulsão

e) Sobre a separação e o isolamento dos componentes da planta, o resultado é mostrado pelos  cromatogramas TLC-5 do extracto não hidrolisado; TLC-4 e TLC-7 do extracto hidrolisado, falta o registo de espectros para a identificação e outros testes complementares.

#### **4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS**

A falta de dados de referência para comparação dos resultados nas condições padrão não oferece nenhuma informação sobre componentes isolados nesta planta.

Contudo, sem confirmar uma vez que não se fizeram registros de espectros, que desses compostos podemos ter:[11]

1.-Álcoois de alto peso molecular, cetonas, ácidos-biliares e esteróides porque as manchas de componentes nos cromatogramas têm coloração azul-esverdeadas quando reveladas com vanilina-ácido sulfúrico.

2.-Ácidos gordos insaturados porque formam manchas amarelas a castanhas quando reveladas com iodo.

A presença de insaturação num composto é indicada pela coloração da mancha. O iodo forma compostos saturados.

3.-Ácidos fenólicos porque produzem fluorescência azul, verde, roxa ou amarela quando reveladas com luz U.V. a  $\lambda=360\text{nm}$ .

Neste caso deve-se fazer testes químicos especiais adicionais.

Na realização prática do trabalho tinha à disposição meios e condições mínimas para o efeito.

Na fase de isolamento, a deposição da amostra na forma de banda foi manual, o que criava muitas possibilidades de contaminação das zonas demarcadas por causa da ondulação das bandas, dificultando assim a separação das zonas a isolar.

O teste para esteróides e triterpenóides (Liebermann-Burchard) foi negativo.

## 5. CONCLUSÕES

O estudo desta planta foi positivo porque os objectivos foram alcançados.

-Todos os ensaios qualitativos (testes preliminares) foram positivos excepto para os esteróides e triterpenóides ao que se supõe a causa ser a baixa concentração dos extractos (0,006-0,021g/ml).

Estes testes confirmam a existência de saponinas, o que se manifesta pela formação de espuma, de precipitados e de emulsão.

Isso constitui uma indicação de que a planta apresenta um comportamento que justifica a sua utilização como substituto do sabão.

-Os resultados obtidos foram com base na cromatografia de camada fina como técnica de separação recomendada na bibliografia.

-Dos componentes isolados, dois foram no extracto etanólico não hidrolisado do caule-P.S/EtOH e Seis no extracto etanólico hidrolisado de Folhas-P.S/EtOH.

-A falta de informação bibliográfica limita as conclusões sobre os componentes isolados nas condições padrão.

## 6. Bibliografia

1. Brewster, R.Q. et al, (1965). Curso prático de Química Orgânica, 3ª edição, 352 pp. Madrid, Alhambra, S.A.
2. Elworthy, P.H. et al, (1968). Solubilization by Surface-active Agents, 1st. edition, 335 pp. London, Chapman and Hall Ltd.
3. Finar, I.L. (1975). Organic Chemistry, volume 2, 5th edition, 942 pp., Singapore, Longman Singapore Publishers(Pte) Ltd.
4. Harborne, J.B. Triterpenoids and Steroids. In: Chapman and Hall. Phytochemical Methods, pp 120-124. London, Chapman and Hall Ltd.
5. Harborne, J.B. Methods of extraction and isolation; Methods of separation; Methods of identification. In: Chapman and Hall. Phytochemical Methods, pp. 4-28. London, Chapman and Hall.
6. Harborne, J.B. The Triterpenoids. In: Chapman and Hall. Phytochemical Methods, pp 100-103. London, Chapman and Hall Ltd.
7. Lange, N.A. (1961). Handbook of Chemistry and Physics, 10th. edition, 1968 pp. London, McGraw-Hill Book Company, Inc.
8. Launert, E. (1988). Flora Zambesiaca. 118 pp. London, E. Launert.
9. Morrison, R.T., R.N. Boyd (1978). Química Orgânica, 6ª edição, 1394 pp. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
10. Sousa, V.J. (1994). Avaliação da Produção Tradicional do Detergente com base na *Dicerocaryum spec.* 35 pp. Faculdade de Ciências Naturais e Matemática. Instituto Superior Pedagógico.
11. Touchstone, J.C., M.F. Dobbins (1982). Practice of Thin Layer Chromatography, 2nd. edition, 405 pp. USA, John Wiley and Sons, Inc.

- 
12. Turrill, W.B., E.Melne (1953). *Dicerocaryum*. In: Turrill, W.B. e E.Melne. Flora of Tropical East Africa. pp 10-11. London, Westminster.
  
  13. Wagner, H., S.Bladt e E.M.Zgainski (1984). Plant Drug Analysis, 320 pp. Germany, Springer-Verlay Berlin Heidelberg.



---

## ANEXOS

### I. Reagentes e solventes usados

- .Éter de petróleo
- .n-hexano
- .Tolueno
- .Clorofórmio
- .Acetona
- .Metanol
- .Etanol
- .Vanilina
- .Ácido sulfúrico concentrado
- .Ácido sulfúrico 0,5 molar
- .Amônia 3 molar
- .Hidróxido de sódio 1 molar
- .Cristais de iodo
- .Ácido clorídrico 1 molar
- .Anidrido acético
- .Alumina básica (atividade I), 80-200 mesh
- .Sulfato de sódio anidro

---

## II. Material usado

- .Balões volumétricos de fundo chato de 500ml de capacidade
- .Balões volumétricos 100ml de capacidade
- .Provetas graduadas de diferentes capacidades
- .Copos de diferentes capacidades
- .Funis simples, funis de Büchner, funis com placas filtrantes
- .Varetas
- .Pipetas de diferentes graduações e capacidades
- .Pipetas de Pasteur
- .Tubos capilares
- .Bomba de vácuo
- .Compressor
- .Placas de cromatografia de camada fina de alumínio revestidas de sílica-gel 60 F<sub>254</sub> com 0,2mm de espessura da camada
- .Placas de cromatografia de camada fina de vidro revestidas de sílica-gel G com 0,5mm de espessura da camada
- .Tanque de desenvolvimento de cromatografia de camada fina, sem torneira
- .Estufa de 120°C
- .Pulverizador
- .Luz ultra-violeta de comprimento de onda de 254 a 366nm
- .Tesoura
- .Balões erlenmeyer com boca esmerilada
- .Pipetas doseadoras
- .Rotavapor acoplado a um recirculador de água com regulador de temperatura
- .Manta de aquecimento
- .Condensador de serpentina
- .Cartucho de soxhlet
- .Condensador
- .Coluna de média pressão
- .Tubos de ensaio pequenos colectores de fracções
- .Coluna de Cromatografia por gravidade

---

### III. Tabela de concentração e percentagem da extracção da planta

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
A.	22,967	Etanol	2	48	22,3	0,021	2,039
A.	22,967	Etanol/ soxhlet	1	até descorar	45,0	0,006	1,176
B.	22,712	Etanol	2	120	23,5	0,015	1,552

- (1) Parte da planta  
(2) Peso da amostra(g)  
(3) Solvente  
(4) número de extracções  
(5) Tempo de extracção(horas)  
(6) Volume final(ml)  
(7) Concentração(g/ml)  
(8) Percentagem de extracção

A- Folhas-P.S

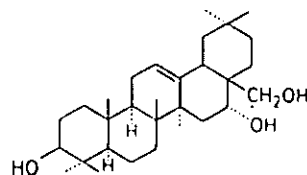
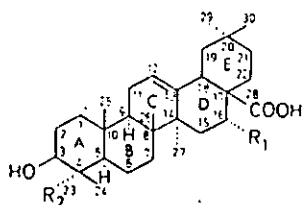
B- Caule-P.S

P.S-(Planta seca)



## IV. Fórmulas estruturais de algumas saponinas

### 1. Saponinas triterpenoidais



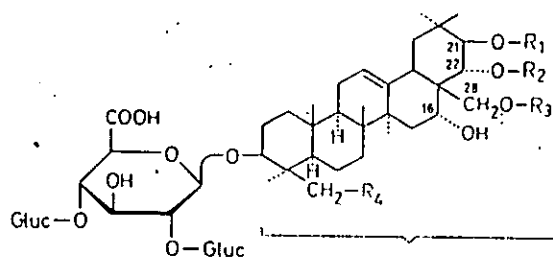
Primulagenina A

Ácido oleanólico: R<sub>1</sub>=H; R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>

Ácido quillaja: R<sub>1</sub>=OH; R<sub>2</sub>=CHO

Gipsogenina: R<sub>1</sub>=H; R<sub>2</sub>=CHO

Hederagenina: R<sub>1</sub>=H; R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>OH



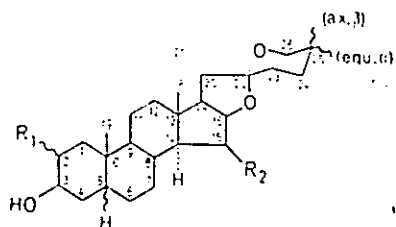
Protoaescigenina: R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H; R<sub>4</sub>=OH

Barringtogenol: R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H

Aescina: R<sub>1</sub>=resíduos isobutiril, α-metilbutiril

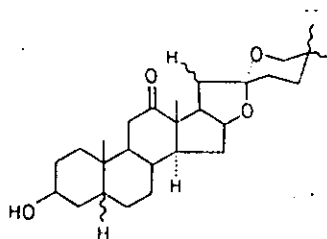
R<sub>2</sub>=acetil; R<sub>3</sub>=H; R<sub>4</sub>=H(OH)

## 2. Saponinas esteroidais

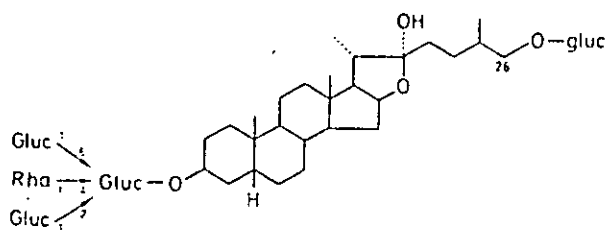


Sarsasapogenina: R ≠ H; R ≠ H; 5B, 25B

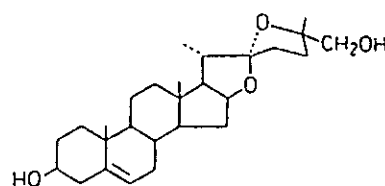
Sailagenina: R ≠ H; R ≠ H; 5B, 25a



Hecogenina: 5a, 20B, 25a



Sarsaparilosido



Nuatigenina

Gluc = Ácido glucurónico

Rh = Rannose