

NATAN ROBERTO DE BARROS

## **EXTRAÇÃO DE LACTUCINA DAS FOLHAS E TALOS DE ALFACE**

Trabalho de conclusão do curso de Química Industrial apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação.

Orientador: Dr. Idécio Nogueira da Silva

Área de Concentração: Ciências Exatas e da Terra

Assis  
2013

## FICHA CATALOGRÁFICA

BARROS, Natan Roberto

Extração de Lactucina dos talos de alface / Natan Roberto de Barros. Fundação Educacional do Município de Assis – Assis, 2013.

22 p.

Orientador: Dr. Idécio Nogueira da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1.Lactucina. 2. Lactonas Sesquiterpênicas.

CDD:660

Biblioteca da FEMA

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial a minha mãe pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pelas grandes oportunidades, por estar sempre me iluminando e me dando força nos momentos de dificuldade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Idécio Nogueira da Silva, pela orientação durante toda a realização do trabalho, e por toda a sua paciência.

Á Ms. Patrícia Cavani Martins de Mello, por todo o apoio, não só na realização do trabalho, mas por tudo.

Á minha mãe, Angélica, ás minhas irmãs, aos meus avós e á minha noiva, pelo grande apoio e incentivo de todos, e em todos os momentos.

Aos meus docentes, por me proporcionarem todo o conteúdo teórico que me foi de muita importância durante toda a execução do trabalho.

Ao meu sócio Dyonathan, aos meus mais que amigos, e sim companheiros, Eduardo, Rafaela, Aline, Rodrigo, Lorena, Pablo, Walter, Gabriel, Filipe e todos os outros amigos de curso.

Ás estagiárias do laboratório, por toda a prestatividade e auxílio prestados.

E a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, na execução deste trabalho.

## RESUMO

A lactucina é um composto natural com propriedades calmantes e sedativas, presente em plantas do gênero *lactuca*, devido à presença de um anel lactônico em sua estrutura, mantém devidamente seu lugar, em meio à classe de moléculas pertencentes ao grupo das lactonas sesquiterpênicas, substâncias conhecidas pelas propriedades antitumorais, antimaláricas, calmantes, sedativas, entre outras. O objetivo deste trabalho foi separar a lactucina de folhas e talos de alface, planta pertencente ao gênero *lactuca*. A identificação e a separação desta substância, foram testadas em três distintos sistemas de solventes, Clorofórmio – Benzeno - Metanol (9:9:2 – v/v/v), Clorofórmio – Metanol (24:1 – v/v) e Acetato de Etila com auxílio de mais três métodos de revelação, câmara de Iodo, Resorcina 1% em Metanol – Ácido Fosfórico 5% em Metanol (1:1 – v/v) e Cloreto Férrico – Ácido Sulfúrico – Ácido Fosfórico (0,05:62,5:37,5 – m/m/m). Os ensaios foram realizados em placas de sílica, e a migração da lactucina observada por meio dos métodos de revelação utilizando como referência os valores dos  $R_f$ s descritos por B. Rees, 1985. Foram realizadas separações em cromatografia de coluna em sílica gel. Alíquotas foram separadas e avaliadas quanto à presença de lactucina. O método empregado não apresentou a eficácia esperada, supostamente devido às concentrações muito reduzidas do composto em estudo.

**Palavras-chave:** lactucina; lactonas sesquiterpênicas.

## ABSTRACT

The lactucin is a natural compound with sedative and calming properties, present in plants of the genus *lactuca*, due to the presence of a lactone ring in their structure, properly maintains its place among the class of molecules belonging to the group of sesquiterpene lactones, substances known the antitumor properties, antimalarial, tranquilizers, sedatives, among others. The aim of this study was to separate lactucin leaves and stalks of lettuce plant belonging to the genus *lactuca*. The separation and identification of this substance were tested in three different solvent systems, chloroform - benzene - methanol ( 9:9:2 - v/v/v) chloroform - methanol ( 24:1 - v/v ) and ethyl ethyl with the aid of three methods developing chamber Iodine , 1% resorcinol in methanol - 5 % phosphoric acid in methanol (1:1 - v/v) ferric chloride - sulfuric acid - phosphoric acid ( 0,05:62 , 5:37,5 - m/m/m). The tests were performed on silica plates, and the migration of lactucin observed by the methods of development using as reference  $R_f$ s values described by B. Rees, 1985. Separations were carried out on column chromatography on silica gel. Aliquots were separated and evaluated as to the presence of lactucin . The method did not provide expected efficacy, presumably due to very low concentrations of test compound.

Keywords : lactucin ; sesquiterpene lactones

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1.1 - Estruturas das principais lactonas sesquiterpênicas .....                                              | 16 |
| Figura 1.2 – Mecanismo de reação associados às atividades biológicas .....                                          | 18 |
| Figura 1.3 – Estrutura da lactona sesquiterpênicas Lactucina .....                                                  | 19 |
| Figura 1.4 - <i>Lactuca virosa</i> L. ....                                                                          | 20 |
| Figura 2.1 – Cromatografia em coluna sílica gel.....                                                                | 28 |
| Figura 2.2 – Alíquotas separadas em tubos de ensaio.....                                                            | 28 |
| Figura 2.3 – TLCs realizadas com as amostras 50, 53, 56 e 59.....                                                   | 29 |
| Figura 2.4 – TLCs das amostras 49 e 50 (revelação com cloreto férrico).....                                         | 29 |
| Figura 2.5 – TLCs das amostras 9 e 11 da segunda extração em coluna sílica gel (revelação com cloreto férrico)..... | 30 |
| Figura 3.1 - Testes dos sistemas de solventes e revelações em TLC.....                                              | 31 |

## SUMÁRIO

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                 | <b>11</b> |
| <b>2. BIBLIOGRAFIA .....</b>                               | <b>13</b> |
| 2.1. HISTÓRICO DE FITOTERÁPICOS.....                       | 13        |
| 2.2. ALFACE .....                                          | 14        |
| 2.2.1. VALOR NUTRICIONAL E USO MEDICINAL .....             | 14        |
| 2.2.2. PRODUÇÃO E CONSUMO .....                            | 15        |
| 2.3. LACTONAS SESQUITERPÊNICAS.....                        | 16        |
| 2.3.1. ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....                         | 17        |
| 2.4. LACTUCINA.....                                        | 19        |
| 2.4.1. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS .....                  | 19        |
| 2.4.2. HISTÓRICO .....                                     | 20        |
| <b>3. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO .....</b>                  | <b>22</b> |
| 3.1. O USO DE PRODUTOS NATURAIS NO ENSINO DA QUÍMICA<br>22 |           |
| 3.1.1. MATERIAIS E REAGENTES .....                         | 22        |
| 3.1.2. PROCEDIMENTOS .....                                 | 23        |
| <b>4. METODOLOGIA.....</b>                                 | <b>25</b> |
| 4.1. ORGANOGRAMA PARA A METODOLOGIA.....                   | 25        |
| 4.2. FLUXOGRAMA DO PROCESSO .....                          | 26        |
| 4.3. EXTRATO BRUTO .....                                   | 26        |
| 4.4. SISTEMA DE SOLVENTES .....                            | 27        |
| 4.5. REVELAÇÃO .....                                       | 27        |
| 4.6. CROMATOGRAFIA EM COLUNA SÍLICA GEL .....              | 27        |



|           |                                                    |           |
|-----------|----------------------------------------------------|-----------|
| <b>5.</b> | <b>RESULTADO E DISCUSSÃO .....</b>                 | <b>31</b> |
| 5.1.      | SISTEMAS DE SOLVENTES E MÉTODOS DE REVELAÇÃO<br>31 |           |
| 5.2.      | ESCOLHA DAS ALÍQUOTAS .....                        | 31        |
| 5.3.      | CONFIABILIDADE DO MÉTODO .....                     | 32        |
| <b>6.</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>                             | <b>33</b> |
|           | <b>REFERÊNCIAS .....</b>                           | <b>34</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A busca constante por medicamentos, substâncias naturais, com o intuito de desvendar os mistérios da natureza data desde os mais antigos tempos, onde podemos citar, por exemplo, os alquimistas. A natureza nos proporciona uma infinita gama de possibilidades químicas e biológicas. Os estudos em busca de alternativas farmacológicas procuram um melhor aproveitamento de todo este arsenal.

A humanidade tem utilizado das plantas para fins medicinais, um fato que justifica o impacto que as plantas exerceram sobre nosso atual entendimento sobre as drogas de uso medicinal ou não. Ainda hoje as plantas medicinais, são utilizadas de forma extremamente significativa pela população. A utilização de produtos naturais é claramente uma das estratégias mais bem sucedidas na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. A natureza, de forma geral, tem nos fornecido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. O reino vegetal parece uma fonte inesgotável de novas entidades químicas. Estima-se que haja cerca de 250.000 espécies de plantas superiores em todo o mundo, das quais apenas uma parcela muito pequena foi estudada fitoquimicamente, e uma parcela ainda menor foi submetida a qualquer ensaio farmacológico (PIORNEDO, 2010).

As lactonas sesquiterpênicas são compostos de grande ocorrência na natureza, com seus pertencentes aos guaianolídeos que representam um dos mais extensos grupos de lactonas sesquiterpênicas com aproximadamente quinhentos compostos naturais já conhecidos, onde entre estas substâncias encontramos a lactucina, um composto orgânico que em seu estado puro se encontra na forma de cristais brancos. Em conjunto com seus derivados são os principais responsáveis pelo amargor característico de *Lactuca* e alguns outros membros da tribo lactuceae da família Asteraceae. A lactucina foi observada pela primeira vez em meados do século XIX. Analgésicos, antitússicos e propriedades sedativas do ópio de alface, utilizados em toda a Europa, durante séculos, haviam sido atribuídos devido à presença de lactucina e seu éster lactucopicrin. Antes mesmo de suas estruturas serem conhecidas (UNPACKED, 2008).

A Lactucina e seus derivados foram avaliados quanto às características analgésicas e sedativas em ratos. Os compostos mostraram efeito semelhante ao do ibuprofeno, utilizada como droga padrão (Wu *et al*, 2007).

Assim, o presente trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de um método para a extração da lactucina, a partir dos talos de alface. Utilizando de uma literatura reconhecida, será desenvolvido um método para a extração e quantificação da lactucina. Um dos principais focos será testar diversos solventes orgânicos, para a extração por métodos cromatográficos.

## 2. BIBLIOGRAFIA

### 2.1. HISTÓRICO DE FITOTERÁPICOS

Desde os tempos mais remotos a humanidade tem utilizado das plantas para fins medicinais. Um fato que justifica, de certa forma, o impacto que as plantas medicinais exerceram sobre nosso atual entendimento sobre as drogas (termo usado para nomear qualquer substância química, de uso terapêutico ou não) é a origem da palavra droga, do francês “drogue”, que significa erva seca. Ainda hoje as plantas medicinais, são utilizadas de forma extremamente significativa pela população. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), devido à pobreza e a falta de acesso aos medicamentos industrializados, 80% da população, principalmente em países subdesenvolvidos, faz uso de plantas medicinais no combate primário as doenças (PIORNEDO, 2010).

A utilização de produtos naturais é claramente uma das estratégias mais bem sucedidas na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, dado comprovado pela maioria das inovações produzidas pelas grandes indústrias farmacêuticas nos últimos 50 anos. A natureza, de forma geral, tem nos fornecido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. A investigação com plantas medicinais é o que tem contribuído de forma mais expressiva para fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de elevado valor agregado, devido às suas aplicações como medicamento, cosméticos, alimentos e agroquímicos. A grande variedade química das plantas faz delas a fonte de escolha para o isolamento de diversos metabólitos farmacologicamente relevantes. Aproximadamente 25% das drogas prescritas em todo o mundo são derivadas de plantas, enquanto 11% das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS derivam exclusivamente de plantas (PIORNEDO, 2010).

Em alguns casos a droga isolada de determinada planta não é utilizada diretamente como um fármaco, mas é útil como matéria prima para o desenvolvimento, ou seja, é

utilizado como ponto de partida para a obtenção de um derivado terapeuticamente relevante. Em outras ocasiões, uma droga de origem natural pode ser modificada quimicamente para obtenção de derivados com características superiores.

O reino vegetal parece uma fonte inesgotável de novas entidades químicas e novas drogas. Estima-se que haja cerca de 250.000 espécies de plantas superiores em todo o mundo, das quais apenas uma parcela muito pequena foi estudada fitoquimicamente, uma parcela ainda menor foi submetida a qualquer ensaio farmacológico. Aproximadamente 70% das espécies de plantas superiores estão distribuídas em 12 países incluindo o Brasil. Assim podemos afirmar que, o Brasil, devido à imensa biodiversidade, possui um gigantesco potencial para o desenvolvimento de programas para a descoberta de novas drogas a partir de plantas (PIORNEDO, 2010).

## 2.2. ALFACE

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça folhosa, com caule pequeno, ao qual se prendem folhas, lisas ou crespas, fechando ou não a cabeça conforme a variedade, resistente a temperaturas baixas e geadas leves. Conhecida e consumida pelos Persas desde 1.500 a.C. chegando ao Brasil no século XVI trazida pelos portugueses. Hoje, mundialmente cultivada e consumida (SILVA, 2005).

### 2.2.1. VALOR NUTRICIONAL E USO MEDICINAL

A alface possui sabor refrescante e agradável, e é considerada de grande importância nutricional justo a sua presença regular na dieta, principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil (BLISKA, 1998). Além de ser excelente fonte de vitamina A, também demonstra vantagem ao possuir baixo valor energético (16 kcal / 100g), motivo pelo qual é frequentemente indicada na dieta de convalescentes e idosos na forma de saladas, na tabela 1.1 a composição nutricional média da alface está relacionada (SILVA, 2005).

| <b>Nutriente</b> | <b>Quantidade</b> |
|------------------|-------------------|
| Glicídios        | 2,3 g             |
| Proteínas        | 1,2 g             |
| Lipídios         | 0,2 g             |
| Cálcio           | 38 mg             |
| Fósforo          | 42 mg             |
| Ferro            | 1,1 mg            |
| Vitamina A       | 4250 UI           |
| Tiamina (B1)     | 110 µg            |
| Riboflavina (B2) | 60 µg             |
| Niacina (B5)     | 0,23 mg           |
| Vitamina C       | 7,6 mg            |

**Tabela 1.1 - Composição nutricional média em 100g de alface. (In: SILVA, 2005, p. 5)**

Não só as folhas, mas o talo, também é utilizado como alimento em alguns países, como por exemplo, o Egito e a China. Antes da folha de alface ser utilizada como alimento, os egípcios extraíam óleo das sementes, que é rico em ácidos oleico e inoléico. A alface é considerada medicinal apresentando propriedades laxante, diurética, depurativa e calmante, entre outras. O talo da alface contém a lactucina, que possui propriedades hipnóticas e soníferas, podendo assim, ser considerada um sedativo natural do sistema nervoso central (SILVA, 2005).

### 2.2.2. PRODUÇÃO E CONSUMO

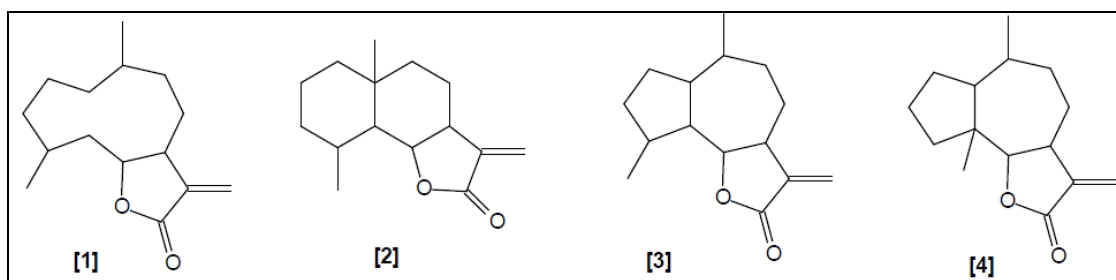
As espécies do gênero *Lactuca* são cultivadas na maioria das zonas temperadas e subtropicais do mundo. Facilmente cultivadas em estações basicamente frias a temperaturas moderadas. No Brasil a alface é a 4ª hortaliça de maior importância. Os Estados Unidos é o maior produtor de alface no mundo. Produzindo 3,9 milhões de toneladas e gerando uma renda em torno de 1,6 bilhões de dólares. A produção brasileira no ano de 1996 era relativamente baixa (312 mil toneladas) em

comparação com outros países como Espanha, Itália, França, Holanda, Alemanha e Israel. Em virtude de sua perecibilidade e baixa resistência ao transporte, a alface é cultivada próxima aos grandes centros consumidores. O estado de São Paulo é o maior produtor nacional. No Brasil, o consumo de alface tem crescido não só pelo aumento da população, mas pela tendência de mudança do hábito alimentar brasileiro. Em 2002, a alface ocupava o primeiro lugar em relação às hortaliças folhosas mais consumidas, com consumo médio per capita brasileiro de 1,2 Kg por ano, considerado baixo pela Organização Mundial da Saúde (SILVA, 2005).

### 2.3. LACTONAS SESQUITERPÊNICAS

As Lactonas sesquiterpênicas são compostos de grande ocorrência na natureza, e representam um importante grupo de metabólitos secundários da família Asteraceae, também conhecida por Compositae ou compostas, conhecidos não só por suas várias atividades biológicas, algumas como, antiinflamatória, fitotóxica, antimicrobiana e citotóxica contra diferentes linhagens tumorais. Também por possuírem uma expressiva complexidade estrutural (ARANTES, 2010), (FARIA, 1998).

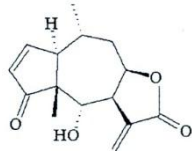
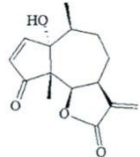
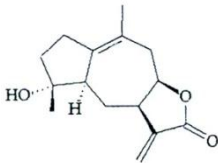
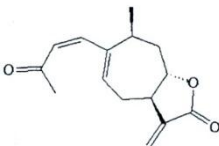
Os principais grupos de lactonas sesquiterpênicas são: germacrolídeos [1], eudesmanolídeos [2], guaianolídeos [3] e pseudoguaianolídeos [4], cujos esqueletos carbônicos estão representados na figura 1.1.



**Figura 1.1 – Estruturas das principais lactonas sesquiterpênicas. (In: ARANTES, 2010, p. 4)**

### 2.3.1. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

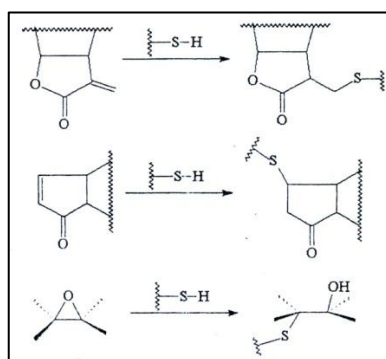
Devido ao seu amplo espectro de atividade biológica, as lactonas sesquiterpênicas constituem uma classe de substâncias com grande potencial para aplicação na medicina, destacam-se as atividades citotóxica, antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatória, esquistossomicida, antimalárica, inseticida, antiulcerogênica e antifúngica (ARANTES, 2007), (FARIA, 1998). Na tabela 2.1 Estão relacionadas algumas lactonas sesquiterpênicas que apresentam estas atividades biológicas.

| Sesquiterpeno                                                                                            | Atividade Biológica |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
|  <p>Helenalina</p>     | Antitumoral         |
|  <p>Partenina</p>     | Inseticida          |
|  <p>Pseudoivalina</p> | Fungicida           |
|  <p>Xantatina</p>     | Bactericida         |

**Tabela 2.1 – Relação de Algumas Lactonas Sesquiterpênicas que apresentam atividades biológicas. (In: FARIA, 1998, p. 3)**



Apesar do alto número de lactonas sesquiterpênicas descritas e das suas atividades biológicas, poucos estudos têm sido realizados sobre a correlação estrutura-atividade biológica das mesmas e também sobre os modos de ação nas plantas (COSTA, 2008). Porém, estudos visando uma correlação estrutura-atividade, mostram que as atividades biológicas representadas pelas lactonas sesquiterpênicas são decorrentes da reação entre grupos eletrofílicos presentes na estrutura destes compostos naturais. Estes estudos demonstram ainda, que outros grupos eletrofílicos podem estar proporcionando aos sesquiterpenos atividade biológica, uma vez que algumas substâncias que não contém o grupo lactônico saturado, apresentam, uma ou mais das atividades citadas anteriormente. A figura 1.2 representa os mecanismos de reação associados às atividades biológicas (FARIA, 1998).



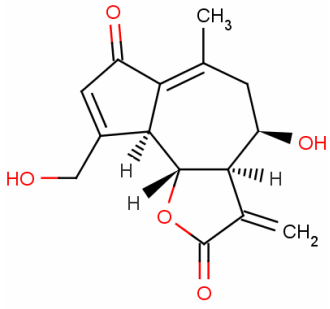
**Figura 1.2 – Mecanismo de reação associados às atividades biológicas. (In: FARIA, 1998, p. 4)**

Outros fatores, além da existência desses grupos eletrofílicos na estrutura das moléculas ativas biologicamente, devem ser considerados. A conformação que a molécula adota preferencialmente define o acesso de grupos enzimáticos aos grupos eletrofílicos. Assim, a posição e/ou a configuração de outros grupos funcionais ligados ao esqueleto carbônico podem intensificar, reduzir ou mesmo conferir ao composto inatividade biológica (FARIA, 1998).

Os compostos pertencentes aos guaianolídeos representam um dos mais extensos grupos de lactonas sesquiterpênicas com aproximadamente quinhentos compostos naturais já conhecidos, e entre eles encontramos a lactucina (ARANTES, 2010).

## 2.4. LACTUCINA

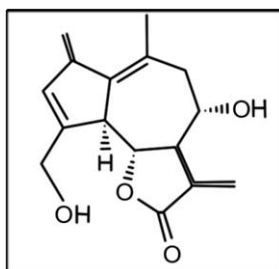
### 2.4.1. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

|                        |                                                                                                                                                           |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nome                   | Lactucina                                                                                                                                                 |
| Sinônimos              | Azuleno (4,5-b)-furano-2, 7-diona, 3,3 a, 4,5,9 a, 9b-hexa-hidro-4-hidroxi-9-(hidroximetil)-6-metil-3-metileno- , (3aR-(3aalpha, 4beta, 9aalpha, 9bbeta)) |
| Fórmula Molecular      | C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>                                                                                                            |
| Peso molecular         | 276.2845                                                                                                                                                  |
| Número de registro CAS | 1891-29-8                                                                                                                                                 |
| Estrutura Molecular    |                                                                        |
| Densidade              | 1.39 g/cm <sup>3</sup>                                                                                                                                    |
| Ponto de ebulição      | 575,6°C a 760 mmHg                                                                                                                                        |
| Índice de refração     | 1,611                                                                                                                                                     |
| Ponto de centelha      | 221,7°C                                                                                                                                                   |
| Pressão de vapor       | 1.2E-15 mmHg a 25°C                                                                                                                                       |

**Tabela 2.2 – Propriedades físico-químicas do composto lactucina. (In: CAS, 2012).**

### 2.4.2. HISTÓRICO

A lactucina (Figura 1.3) é um composto orgânico, que em seu estado puro se encontra na forma de cristais brancos e de forma romboide, de sabor amargo, inodoro e neutro. Em conjunto com seus derivados são os principais responsáveis pelo amargor característico de *Lactuca*, espécies *Intybus* e alguns outros membros da família *Asteraceae*. A lactucina foi observada pela primeira vez no látex de alface brava (*Lactuca virosa* L.), representada na figura 1.4, em meados do século XIX. O látex excretado a partir de folhas e hastes danificadas de plantas com flores, quando deixados a céu aberto, desidratavam em um produto gomoso e castanho conhecido como lactucárium ou ópio de alface. Analgésicos, antitússicos e propriedades sedativas do ópio de alface, utilizados em toda a Europa, durante séculos, tinham sido atribuídos devido à presença de lactucina e seu éster lactucopicrin. Antes mesmo de suas estruturas serem conhecidas (UNPACKED, 2008).



**Figura 1.3 – Estrutura da lactona sesquiterpênicas Lactucina**  
(In: mindunpacked.com)

A planta mais utilizada para extrair o lactucárium, como mencionado, é a alface brava, uma planta de tipo muito comum, que cresce principalmente em locais secos e de cascalho. Pode atingir alturas consideráveis, ainda mais de um metro a crescer em uma única vara. Ela possui um fluído branco pegajoso e amargo tanto em suas hastes quanto nas folhas que, uma vez secas, podem ser utilizadas para fins medicinais (UNPACKED, 2008).



**Figura 1.4 - *Lactuca virosa* L.**  
(In: [plantali.blogspot.com.br](http://plantali.blogspot.com.br))

A Lactucina e seus derivados lactucopicrin e 11 $\beta$ , 13-dihydrolactucin, extraídos de raízes de Chicória, foram avaliados quanto às características analgésicas e sedativas em ratos. Os compostos mostraram efeito analgésico em doses de 15 e 30 mg/kg no teste de placa quente semelhante ao do ibuprofeno, utilizada como droga padrão, a uma dose de 30 mg/kg. As atividades analgésicas dos compostos, numa dose de 30 mg/kg no teste de retirada da cauda foi comparável à do ibuprofeno administrado numa dose de 60 mg/kg. Lactucopicrin demonstrou ser o analgésico mais potente dos três compostos testados, Lactucina e lactucopicrin, mas não 11  $\beta$ ,13-dihydrolactucin, mostraram também propriedades sedativas no teste de atividade locomotora espontânea (WO et al, 2007).

### 3. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

#### 3.1. O USO DE PRODUTOS NATURAIS NO ENSINO DA QUÍMICA

A cromatografia com pigmentos naturais proporciona uma abordagem didática e interessante para o aluno do Ensino Médio, pois permite o acompanhamento de uma separação pela simples observação das cores dos pigmentos e possibilita uma correlação direta entre a Química e o cotidiano.

A páprica é um condimento de cor vermelho-intenso preparado a partir do pimentão vermelho (*Capsicum annuum*) seco e moído, sendo utilizado tanto na culinária como na agroindústria. Os principais pigmentos isolados da páprica são o  $\beta$ -caroteno e a capsantina.

Esta prática utiliza esse condimento para apresentar uma metodologia didática e econômica de separação de pigmentos por cromatografia. A separação dos pigmentos da páprica pode ser realizada em colunas cromatográficas com fases estacionárias diferentes como a sílica gel, o giz, o talco e o açúcar refinado. O experimento permite a abordagem em sala de aula de vários tópicos e conceitos correlacionados: estrutura dos compostos, reações químicas, polaridade, interações moleculares e solubilidade.

O desenvolvimento da técnica em laboratório é simples e envolve também conceitos de extração, separação e purificação de misturas.

##### 3.1.1. MATERIAIS E REAGENTES

- Béquero (100 ml)
- Funil e papel filtro
- Provetas (50 ml)
- Chapa de aquecimento
- Solução de KOH 30% em álcool etílico

- Páprica
- Açúcar refinado ou sílica gel
- Éter de petróleo
- Acetona
- Coluna de vidro
- Tubos de ensaio
- Conta-gotas
- Reagente de Jones: 5 g de  $\text{CrO}_3$  em 5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado.

Adicionar com cuidado esta solução a 15 ml de água.

### 3.1.2. PROCEDIMENTOS

#### **Extrato de páprica**

Extraia o pó de páprica (1,5 g) com 15 ml de éter de petróleo, deixe 5 min a 40 °C e 1,5 horas a temperatura ambiente e filtre. Adicione ao sobrenadante 1,5 ml de KOH 30% em álcool etílico, deixando a mistura em repouso por mais 1,5 h. Concentre a solução a 1 ml em chapa de aquecimento a 40-50 °C por aproximadamente 5 min.

#### **Separação em coluna cromatográfica**

Utilize coluna cromatográfica de vidro com uma das seguintes fases estacionárias: açúcar refinado (40 g), talco (20 g), sílica gel (23 g) ou pó de giz (20 g), empacotando-a com éter de petróleo. Adicione à coluna o total de extrato obtido, conforme descrito acima. Elua com éter de petróleo (separação da banda amarela de  $\beta$ -caroteno), seguido de mistura 1:1 de éter de petróleo-acetona e finalmente acetona (separação da banda vermelha da capsantina). Recolha frações de 10 ml cada.

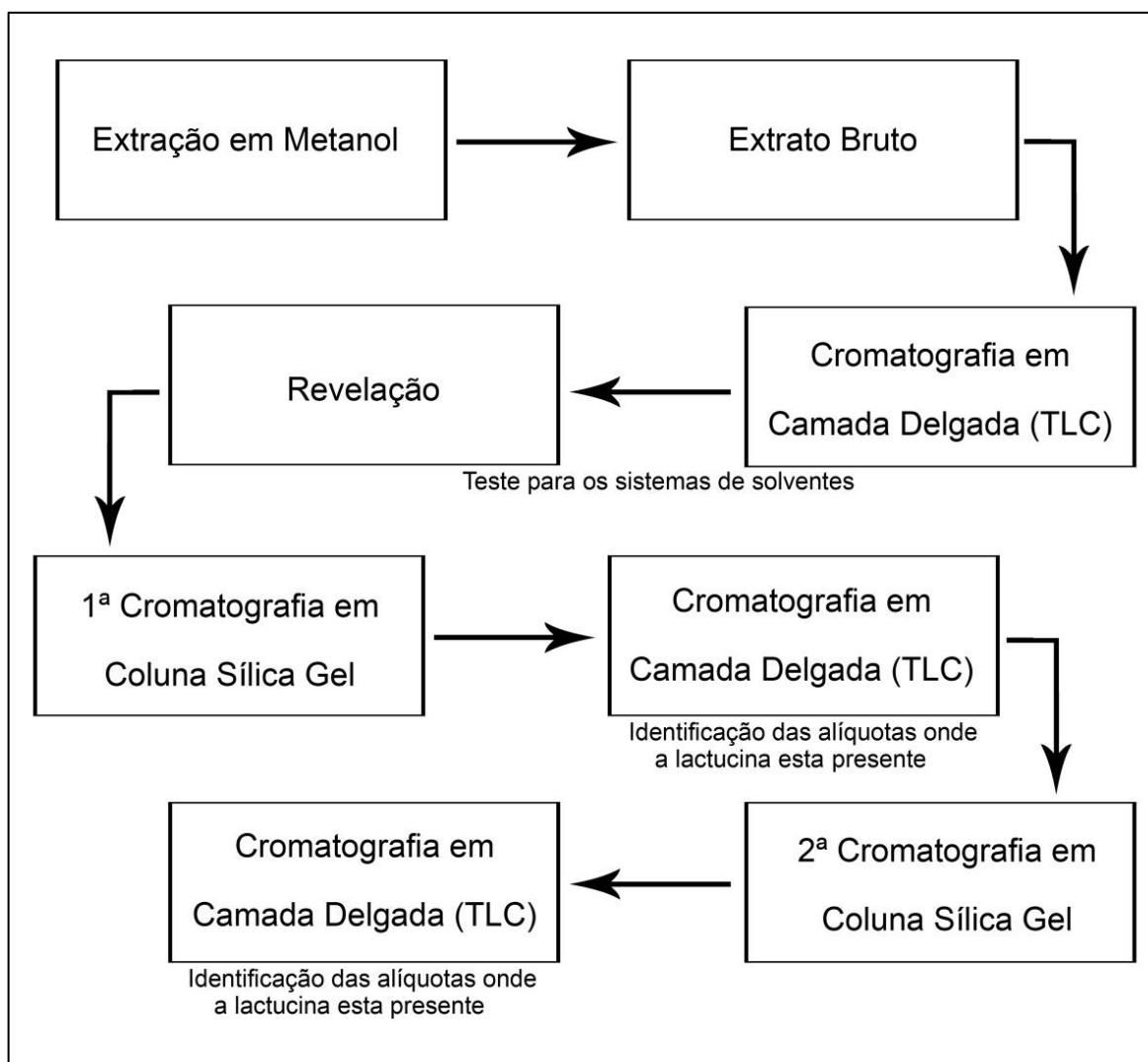
#### **Teste de identificação de grupos funcionais**

Em 1 ml de cada fração obtida da coluna, adicione 5 gotas do reagente de Jones. As

amostras de capsantina podem ser identificadas pelo aparecimento de um precipitado verde de  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  (SILVA *et al*, 2006).

## 4. METODOLOGIA

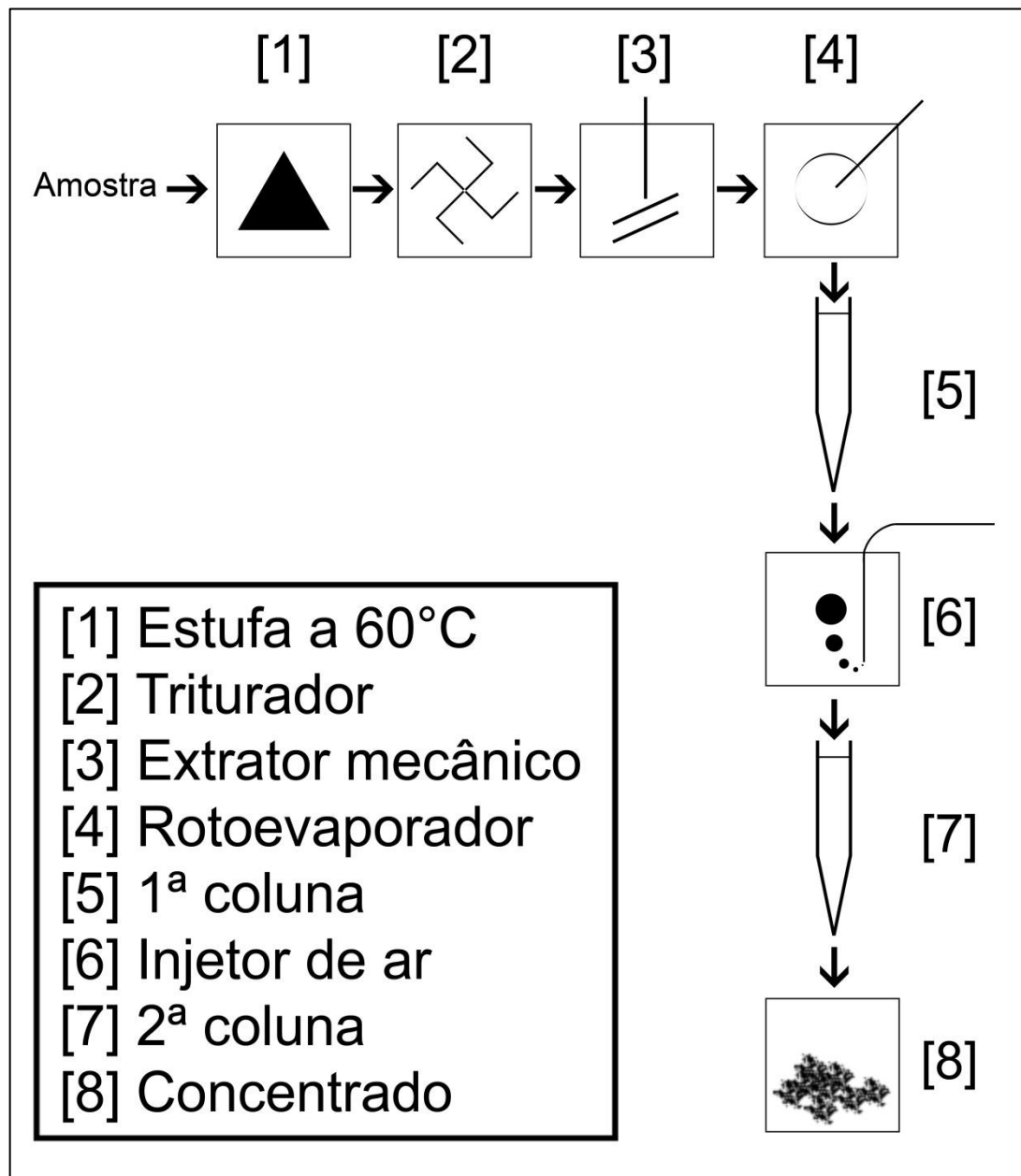
### 4.1. ORGANOGRAMA PARA A METODOLOGIA



**Organograma 1.1 – Organograma das etapas para a realização do método.**



#### 4.2. FLUXOGRAMA DO PROCESSO



**Fluxograma 1.1 – Fluxograma do processo.**

#### 4.3. EXTRATO BRUTO

O extrato foi obtido conforme a metodologia proposta por Kisiel e Zielinska, 2001. Folhas e talos de Alface lisa foram desidratados a 60°C, a amostra seca foi então

triturada e submetida á extração exaustiva em Etanol na temperatura ambiente. O extrato teve seu solvente evaporado em pressão reduzida a 45°C até o volume de 5,0 ml.

#### 4.4. SISTEMAS DE SOLVENTES

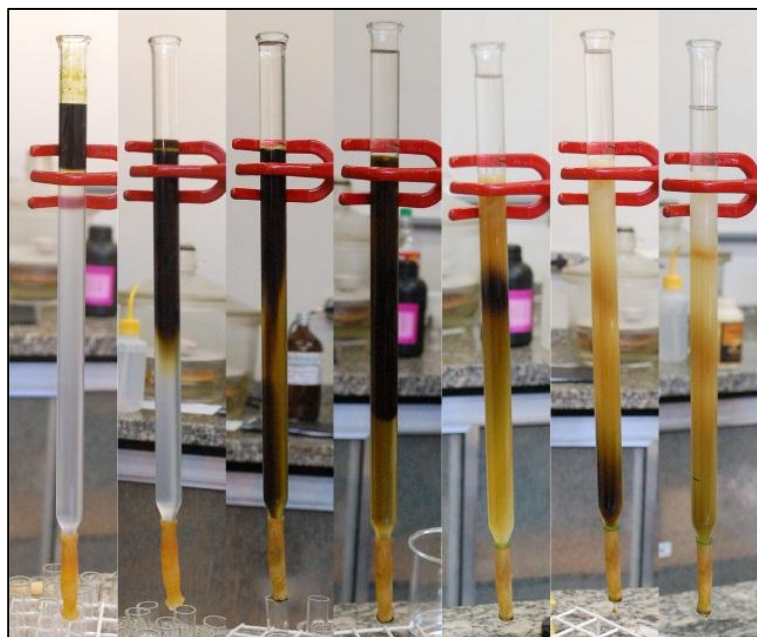
Foram testados três sistemas de solventes propostos por B. Rees e B. Harborne: (1) Clorofórmio – Benzeno - Metanol (9:9:2 – v/v/v), (2) Clorofórmio – Metanol (24:1 – v/v) e (3) Acetato de Etila.

#### 4.5. REVELAÇÃO

Para os métodos de revelação foram utilizados os métodos propostos por B. Drozd e E. Bloszyk, 1978. Foram utilizados três métodos para revelação das TLCs, câmara de Iodo, Resorcina 1% em Metanol – Ácido Fosfórico 5% em Metanol (1:1 – v/v) e Cloreto Férrico – Ácido Sulfúrico – Ácido Fosfórico (0,05:62,5:37,5 – m/m/m) (Figura 3.1).

#### 4.6. CROMATOGRAFIA EM COLUNA SÍLICA GEL

A cromatografia em coluna foi realizada utilizando como fase estacionária sílica gel e fase móvel o sistema de solventes (2). Foram separadas alíquotas em tubos de ensaio nos volumes de 3,0 ml para os tubos 1–21 e 6,0 ml para os tubos 22–70. Foi decidido aumentar a polaridade do solvente devido a uma maior retenção das substâncias pela fase estacionária, desta forma foi utilizado para os tubos 43-70 o sistema de solventes (4) Clorofórmio – Metanol (20:5 v/v) figura 2.1 e 2.2.

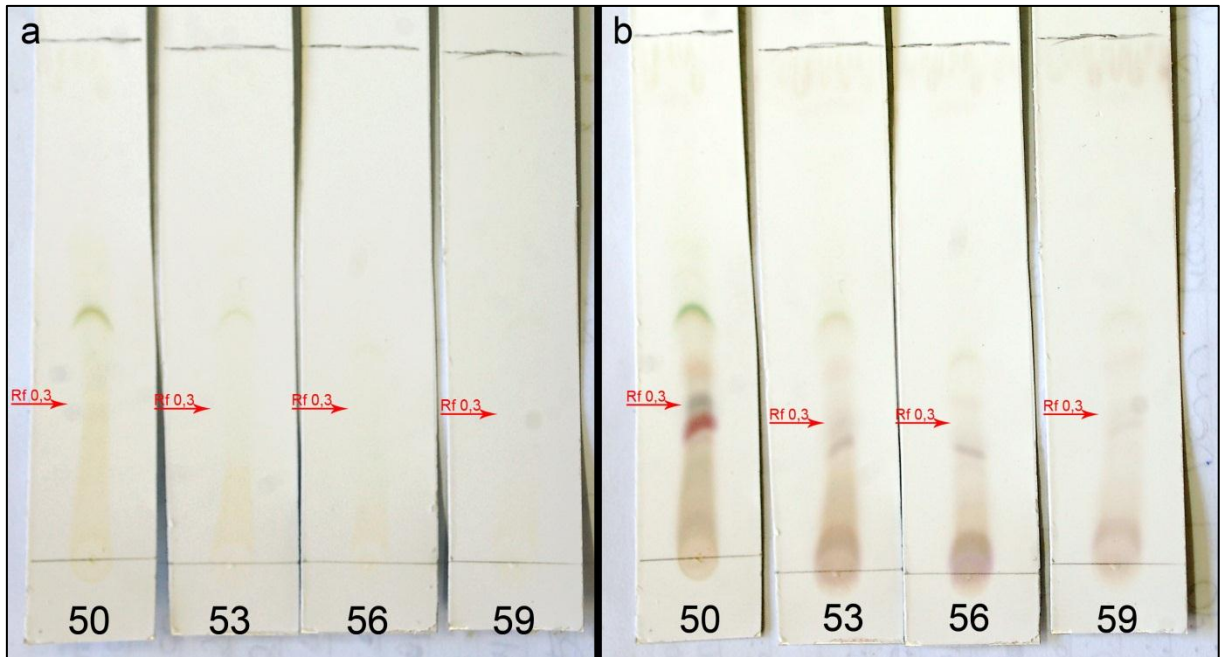


**Figura 2.1 – Cromatografia em coluna sílica gel.**

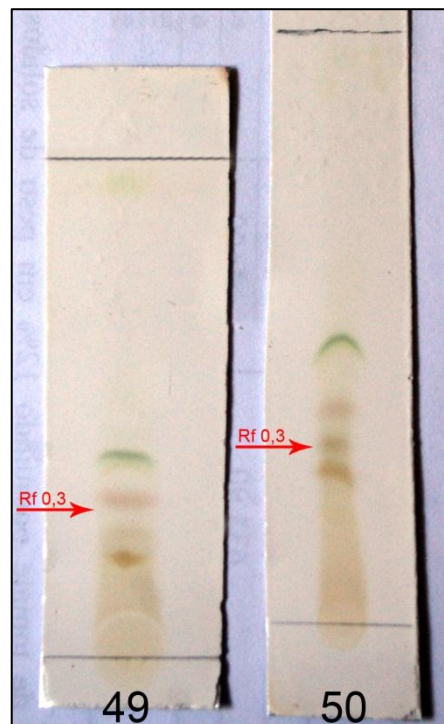


**Figura 2.2 – Alíquotas separadas em tubos de ensaio.**

Na figura 2.3 (b-50) ficou de fácil visualização a mancha de  $R_f$  0,30 que indica a presença da lactucina. O que tornou possível a escolha das alíquotas 49 e 50 (Figura 2.4), que foram somadas e concentradas até o volume de 0,5 ml.

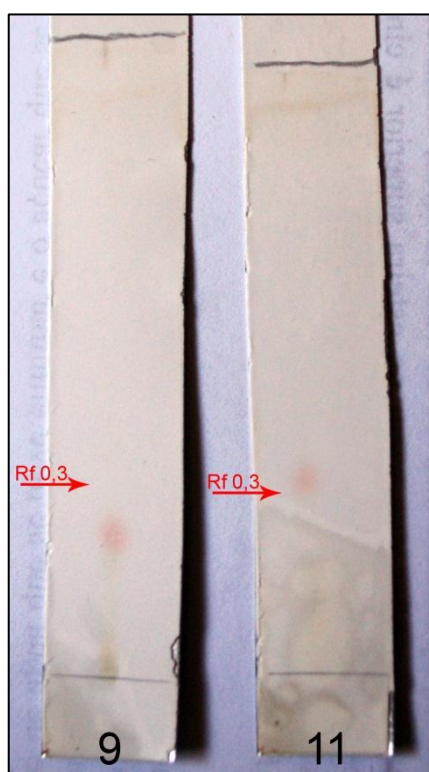


**Figura 2.3 – TLCs realizadas com as amostras 50, 53, 56 e 59. a) Sem revelação. b) Revelação com cloreto férrico. Rf 0,30 (lactucina)**



**Figura 2.4 – TLCs das amostras 49 e 50 (revelação com cloreto férrico).**

Uma nova cromatografia de coluna sílica gel foi realizada, com os mesmos sistemas de solventes, foram separadas desta vez alíquotas de 0,8 ml em tubos de ensaio 1-25. As alíquotas 9 e 11 foram concentradas evaporando o solvente por injeção de ar, analisadas qualitativamente em TLCs utilizando o sistema de solventes (2) e revelados com solução ácida de Cloreto Férrico á 100°C, após, os valores de  $R_f$  0,30 foram novamente conferidos (Figura 2.5).

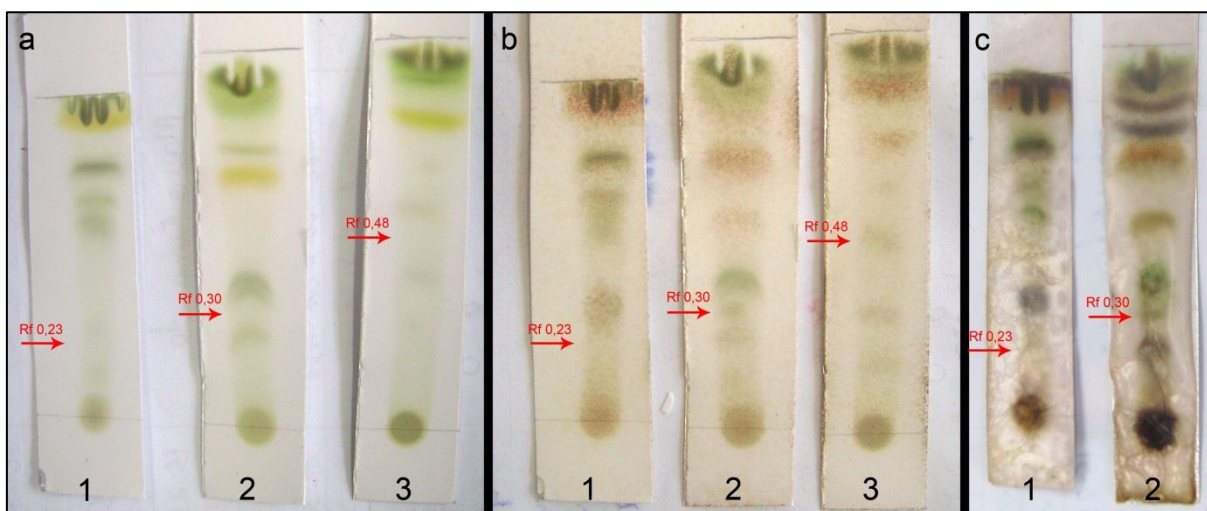


**Figura 2.5 – TLCs das amostras 9 e 11 da segunda extração em coluna sílica gel (revelação com cloreto férrico).**

## 5. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1. SISTEMA DE SOLVENTES E MÉTODO DE REVELAÇÃO

O sistema de solventes (2) apresentou maior eficiência na separação das substâncias presentes na amostra, assim como o método de revelação por solução ácida de Cloreto Férrico a 100°C provou a presença de um maior número de substâncias, quando comparado aos outros métodos de revelação (Figura 3.1).



**Figura 3.1 – Testes dos sistemas de solventes e revelações em TLC. a) Cromatografias sem revelação. b) Cromatografias reveladas por resorcina. c) Cromatografias reveladas cloreto férrico.**

### 5.2. ESCOLHA DAS ALÍQUOTAS

Com base nas TLCs realizadas com o extrato bruto (Figura 3.1) foram escolhidas as alíquotas 50, 53, 56 e 59, e realizadas novas análises qualitativas (Figura 2.3) utilizando o sistema de solventes (2) e comparados com o valor de Rf 0,30 para o sistema de solventes mencionado por B. Rees, 1985. Notamos uma relevante diferença na migração das substâncias comparando as placas 9 e 11, o que deve ter

ocorrido devido algumas deformações existentes nas placas. Além de a inexistência das manchas características para lactucina, ao que pode indicar retenção pela fase estacionária na segunda cromatografia de coluna, concentrações muito reduzidas do composto ou até mesmo a escolha errada das alíquotas.

### 5.3. CONFIABILIDADE DO MÉTODO

O que poderia ser feito para melhorar a confiabilidade dos resultados seriam análises qualitativas em todas as alíquotas retiradas não só na primeira cromatografia de coluna, mas também na segunda. Desta forma a presença ou não da lactucina em todas as alíquotas seria uma informação concreta e indiscutível para a escolha das frações e reprodução do método, desta vez com um custo reduzido.

## 6. CONCLUSÃO

Segundo as avaliações realizadas por B. Rees e B. Harborne, 1985. As concentrações de lactucina em plantas do gênero *Lactuca* podem variar entre 0,00% á 0,14% em matéria seca. Devido ás baixas concentrações do composto em estudo, concluímos que o método empregado não pode obter resultados satisfatórios, mostrando a necessidade do estudo em diferentes métodos de separação, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, realizada por Sprenger Institute, 1983. Que por sua vez, mostrou ser eficiente na separação e purificação de lactonas sesquiterpênicas, com elevado grau de pureza.



## REFERÊNCIAS

ARANTES, Francisco Frederico Pelinson. **Síntese e avaliação da fitotoxicidade de novas lactonas sesquiterpênicas**. 2007. 147p. Dissertação de Pós-graduação. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, 2007 .

ARANTES, Francisco Frederico Pelinson. **Síntese, citotoxicidade e estudo da relação estrutura-atividade de novas lactonas sesquiterpênicas derivadas da  $\alpha$ -santonina**. 2010. 200p. Dissertação de Pós-graduação. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, 2010.

B. DROZDZ; E. Bloszyk. **Selective Detection of Sesquiterpene Lactones by TLC**. 1978. 6p. Planta Medica – Journal of Medicinal Plant Research. Vol. 33. pp. 379-384. Poznan, Poland, 1978.

B. REES, Sara ; B. Harborne, Jeffrey. **The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant**, 1985. 7p. Phytochemistry, Vol. 24, No. 10, pp. 2225-2231, Great Britain, 1985.

BLISKA, Antonio Jn. **Alface (*Lactuca sativa* L.): distintos sistemas de produção, conservação e avaliação pós-colheita**. 1998. 103p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1998.

CAS, Chemnet. **1891-29-8**. Cas.chemnet.com. 2012. Disponível em: <<http://www.chemnet.com/cas>>. Acesso em: 3 abril. 2012.

COSTA, Adilson Vidal. **Atribuição inequívoca dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  do Glaucolídeo B, síntese de seus derivados e síntese de 2-fenil-6,7-exo-isopropilidenodioxi-8-oxabicyclo[3.2.1] oct-2-eno, visando à obtenção de novos herbicidas.** 2008. 185p. Dissertação de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.

FARIA, Mary Leiva. **Síntese de sesquiterpenos do tipo guaiano e de alcaloides sesquiterpênicos.** 1998. 273p. Dissertação de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 1998.

KISIEL, Wanda; Zielinska, Klaudia. **Guaianolides From *Cichorium intybus* and structure revision of *Cichorium* sesquiterpene lactones.** 2001. 5p. Phytochemistry Vol. 57. Pp. 523-527.

PIORNEDO, Rene dos Reis. **Atividade antiinflamatória de *Gochnatia polymorpha* ssp. *Floccosa* em camundongos.** 2010. 71p. Dissertação de Pós-graduação. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2010.

SILVA, Letícia; Alles, Irene; Morel, Ademir; Dalcol, Ionara. **Produtos Naturais no Ensino de Química: Experimentação para o Isolamento dos Pigmentos do Extrato de Páprica.** 2006. Química Nova na Escola, Nº 23 Pp. 52-53.

SILVA, Rosselei Caiél. **Comparação entre métodos cromatográficos, empregando GC-ECD, GC-FPD e GC-MS, e espectrofotométrico para determinação de ditiocarbamatos em alface.** 2005. 118p. Dissertação de Mestrado. Universidade federal de Santa Maria. Santa Maria, 2005.

UNPACKED, Mind. **Lactucina e lactucárium**. Mind Umpacked. 2008. Disponível em: <<http://mindunpacked.com/2008/lactucina-e-lactucarium>>. Acesso em: 10 outubro. 2012.

WU, Hankui; Su, Zhen; Yang, Yi; Ba, Hang; Aisa, Haji Akber. **Isolation of three sesquiterpene lactones from the roots of *Cichorium glandulosum* Boiss. Et Huet. By high-speed counter-current chromatography**. 2007. 6p. *Journal of Chromatography A*, 1176 (2007) 217-222. in: *ScienceDirect*. 2007.