



Estudo fitoquímico dos extratos e frações obtidas a partir do extrato etanólico de *Citrus limonium*

Láiza Cristina Carlos Freire¹, Emanuel Isaias Mota Araújo², Francisca Ítala da Silva Paiva Valdevino³, Alídna Mosana Souza de Oliveira⁴, Luciana Medeiros Bertini⁵

¹ Graduanda do Curso de Licenciatura Plena em Química, IFRN-Câmpus Apodi. Bolsista CNPq. e-mail: laizacarlos@hotmail.com

² Graduando do Curso de Licenciatura Plena em Química, IFRN-Câmpus Apodi. Bolsista CNPq. e-mail: isaias_desbrava@hotmail.com

³ Graduanda do Curso de Licenciatura Plena em Química, IFRN-Câmpus Apodi. Bolsista IFRN. e-mail:itala_paiva@hotmail.com

⁴ Graduanda do Curso de Licenciatura em Química, IFRN-Câmpus Apodi. e-mail:mosana.souza@gmail.com

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Câmpus Apodi. e-mail: luciana.bertini@ifrn.edu.br

Resumo: O *Citrus limonium*, conhecido popularmente como limão, é uma árvore da família das rutáceas, podendo existir cerca de 70 variedades, sendo originário da região sudeste da Ásia. Na área de fitoterapia é utilizado em várias doenças, como infecções, febres, aterosclerose, hemoglobina, cicatrizações, entre outros. O trabalho teve como objetivo fracionar o extrato etanólico das folhas de *C. limonium* e realizar o estudo fitoquímico das frações obtidas. Para o presente trabalho foram estudadas 3 frações (hexânica, acetato de etila e metanólica) obtidas a partir do extrato etanólico das folhas do limão. Com essas frações foram realizados alguns testes fitoquímicos, como fenóis e taninos, flavonóides, esteróides e triterpenos (teste de Liberman-Buchard) e saponinas. A prospecção fitoquímica das frações apontou a presença de flavonas, flavonóis e xantonas, saponinas e esteroides livres.

Palavras-chave: *Citrus limonium*, fitoterapia, testes fitoquímicos

1. INTRODUÇÃO

Desde tempos remotos o uso de medicamentos naturais é utilizado, mas atualmente esse uso vem crescendo cada dia, trazendo muitos benefícios para a população que buscam esses produtos como alternativa de cura e/ou prevenção de doenças. Neste sentido sabe-se que o Brasil atualmente está se destacando neste campo por apresentar uma flora bastante ampla e diversificada, constituindo um vasto campo para o estudo farmacológico, como aponta os meios de comunicação através de documentários, reportagens e artigos científicos. Com isso, estudos de prospecção fitoquímica por meio de óleos essenciais e/ou extratos brutos ou fracionados, são de fundamental importância para a identificação de novas plantas medicinais, que despertem o interesse ou respaldem estudos químico-farmacológicos ou químico-biológicos.

O Brasil possui a maior diversidade genética em espécies de plantas no mundo, porém, menos de 10% foram avaliadas quanto as suas características biológicas e, menos de 5% foram submetidas a estudos fitoquímicos detalhados. Apesar de um recente aumento de pesquisas nesta área, as plantas ainda constituem uma fonte relativamente subutilizada e, potencialmente, muito valiosa para descoberta de novas substâncias biologicamente ativas (LUNA et al., 2005).

O interesse na diversidade molecular das plantas tem estimulado a busca pelo conhecimento do seu metabolismo secundário, o qual é responsável pela síntese de grande parte dos compostos vegetais com atividade biológica. Grupos de compostos de estruturas complexas como alcalóides, terpenóides e compostos fenólicos, bem como seus derivados tem sido alvo de investigação a respeito de suas propriedades medicinais, aromáticas e curativas. A diversidade, em termos de estruturas e propriedades químicas, na qual essas substâncias ocorrem na natureza, podem servir para o desenvolvimento de um grande número de produtos naturais de interesse comercial, principalmente fitofármacos (ALVES, 2001).

Diante destes princípios é que surge o interesse em estudar as possíveis atividades farmacológicas do *Citrus limonium*, classificado dentro da família das rutáceas e gênero *Citrus*. A família das rutáceas apresenta cerca de 150 gêneros e 1600 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios. No Brasil, 29 gêneros e 182 espécies (BARROSO et al., 1986).



As rutáceas foram subdivididas por ENGLER (1931) em sete subfamílias, a saber: Rhabdodendroideae, Dictyolomatoideae, Toddalioideae, Flindersioideae, Rutoideae, Spathelioideae e Aurantioideae (Citroideae). Dessas subfamílias, Aurantioideae destaca-se por constituir um quadro estável e monofilético, representado, principalmente, pelos gêneros *Citrus* e *Fortunella* conhecidos pela importância econômica de seus frutos, além de *Poncirus* e *Eremocitrus*, notáveis plantas ornamentais e fontes de genes para o melhoramento de *Citrus*.

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo determinar as classes de metabólitos secundários presentes nas frações obtidas a partir do extrato etanólico através de testes fitoquímicos, com o intuito de identificar novas plantas com fins medicinais que despertem o interesse farmacológico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparação do Extrato Hexânico e Etanólico

As folhas de *Citrus limonium* foram coletadas na cidade de Apodi no Rio Grande do Norte. As mesmas foram picadas e em seguida colocadas em um recipiente de vidro com hexano deixando em contato por 3 dias. Após esse período o solvente foi filtrado e concentrado em um sistema de destilação simples, obtendo o extrato hexânico. Logo em seguida, o material vegetal foi extraído com etanol para a obtenção do extrato etanólico, por duas vezes, fazendo uso da mesma metodologia já descrita.

2.2. Fracionamento do Extrato Etanólico

Pegou-se 11,6361g do extrato etanólico e misturou-se com aproximadamente a mesma quantidade de sílica fazendo uso do almofariz e pistilo, em seguida foi acrescentando mais sílica até que formasse uma farofa bem homogênea. Com essa farofa foi feito um processo de filtração a vacuo com três solventes em ordem crescente de polaridade: hexano, acetato de etila e álcool metílico, após esse processo os solventes foram concentrados em rota evaporador.

2.3. Testes fitoquímicos dos extratos vegetais

Os testes fitoquímicos foram realizados segundo metodologia proposta por MATOS (1997). Os extratos e as frações obtidas a partir do extrato etanólico foram submetidos aos testes de: fenóis e taninos, flavonóides, esteróides e triterpenos (teste de Liberman-Buchard) e saponinas, como descrito nos próximos itens.

2.3.1. Teste para Fenóis e Taninos

Em um tubo de ensaio adicionou-se 3 gotas de solução alcoólica de FeCl_3 ao extrato, em seguida agitou-se bem e foi observada as variações na cor e na formação de precipitado.

2.3.2. Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides

Foram separados três tubos de ensaio e adicionado uma quantidade de extrato em cada um. O primeiro foi acidulado a pH 3, o segundo alcalinizado a pH 8,5 e o terceiro a pH 11.

2.3.3. Teste para Saponinas

Em um tubo de ensaio com extrato foi adicionado 5-10 mL de água para dissolvê-lo. Após esse processo o tubo foi agitado com a solução, fortemente, de dois a três minutos, observando-se a formação de espuma.

2.3.4. Teste para Esteroides e Triterpenóides (Lieberman-Burchard)

Tomou-se outro tubo com extrato e foi adicionado 1-2 mL de clorofórmio para a dissolução do mesmo. Após esse processo a solução clorofórmica foi filtrada em um pequeno funil fechado com uma pequena bolinha de algodão para um segundo tubo de ensaio. Foi adicionado 1 mL de anidrido acético, e agitou-se suavemente e acrescentado três gotas de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), tornou-se a agitar, observando-se o desenvolvimento de cores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 1,8841g do extrato hexânico (EHFCL) e 36,8715g do extrato etanólico (EEFCL) o que resultou em um rendimento de 0,42% e 8,19%, respectivamente. Esses extratos foram submetidos ao estudo fitoquímico para identificar as classes de metabólitos secundários e estes resultados podem ser observados na Tabela 1.



Tabela 1: Identificação dos metabólitos secundários presentes nos extratos hexânicos e etanólicos de *C. limonium*

METABÓLICOS SECUNDÁRIOS	EHFCL	EEFCL
Fenóis e Taninos	(-)	Taninos (+)
Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides	Presença de flavonas, flavonóis e xantonas	Presença de flavonas, flavonóis e xantonas.
Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas	(-)	(-)
Saponinas	(-)	(+)
Esteroides e Triterpenóides	Presença de triterpenóides pentacíclicos livres	Presença de esteróides livres

Na análise fitoquímica, os testes para o extrato etanólico demonstraram a presença de taninos flabobênicos, saponinas e esteróides livres, não sendo encontrados flavonóis, flavanonóis, e/ou xantonas. Já no extrato hexânico houve o aparecimento de triterpenóides pentacíclicos livres, não aparecendo saponinas, fenóis e taninos e flavonóis, flavanonóis e/ou xantonas. Os resultados dos testes para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides foram os mesmos para ambos os extratos, indicando apenas a presença de flavonas, flavonóis e xantonas.

No fracionamento do extrato etanólico as massas das frações podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2: Rendimentos das frações obtidas a partir do extrato etanólico

Fração	Massa	Rendimento	Código
Hexânica	0,0145g	0,12%	FHEEFCL
Acetato de etila	0,4669g	4,01%	FAEEFCL
Metanólica	6,4004g	55,00%	FMEEFCL

A fim de verificar as classes de metabólitos secundários nas frações obtidas foram realizados os testes fitoquímicos como descrito nos item 2.3. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3: Identificação dos metabólitos secundários presentes nas frações obtidas do extrato etanólicos de *C. limonium*

METABÓLICOS SECUNDÁRIOS	FHEEFCL	FAEEFCL	FMEEFCL
Fenóis e Taninos	(-)	(-)	(-)
Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides	(-)	flavonas, flavonóis e xantonas	flavonas, flavonóis e xantonas
Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas		(-)	(-)
Saponinas	(+)	(+)	(+)
Esteroides e Triterpenóides	(-)	Esteroides livres	Esteroides livres

6. CONCLUSÕES

Mediante estudos, observações e experimentos constatou-se como resultados a presença de flavonas, flavonóis e xantonas, esteroides livres e saponinas, que se caracterizam por serem os constituintes secundários presentes nas frações não apresentando diferença entre o extrato etanólico e as frações acetato de etila e metanólica.



Vale salientar que apenas os testes fitoquímicos não são suficientes para validar uma espécie como terapêutica, é necessário realizar testes biológicos como, por exemplo, toxicidade e antioxidante, testes esses que serão realizados posteriormente para uma melhor avaliação de *Citrus limonium*.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e ao IFRN campus Apodi pela aquisição das bolsas de pesquisas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, H.M. **Plantas como fonte de fitofármacos**. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola. n° 3, p. 01-06. 2001.
- BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L. & LIMA, H. C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.2. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1986.
- ENGLER, A. **Rutaceae**. In: ENGLER, A. & PRANTL, K. (Ed.). Die Natürlichen Pflanzenfamilien, 2 ed. Leipzig: Engelmann, v.19a, p. 187-359, 1931.
- GOBBO, L. N.; LOPES, N. P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Quim. Nova, Vol. 30, No. 2, 374-381, 2007.
- LUNA J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.A.C.; BIEBER, L.W.; SANT'ANA, A.E.G. **A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil**. Journal of Ethnopharmacology, 97: 199-206. 2005.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3 ed. – Fortaleza: Edições UFC, p. 47-54, 2009.