

PERFIL FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE UMA VARIEDADE DE *Cymbopogon citratus* CULTIVADA NO MUNICÍPIO DE PALMAS-TO.

Éber Eurípedes de Souza¹, Maria de Fátima Ribeiro², Ilamar Mendes Soares³, Layanni Ferreira Sodre⁴, Poliana Guerino Marson Ascêncio⁵, Sérgio Donizeti Ascêncio⁶.

¹ Mestrando em Agroenergia da UFT. E-mail: eber.bio@ibest.com.br

² Mestranda em Agroenergia e bolsista CAPES. E-mail: ftimaribeiro@yahoo.com.br.

³ Doutorando em Biotecnologia e Biodiversidade do programa BIONORTE/UFT. E-mail: ilsamarsoares@uft.edu.br

⁴ Mestranda em Agroenergia da UFT e bolsista CAPES. E-mail: farm.layanny@hotmail.com

⁵ Professora do curso de medicina da UFT. Doutoranda em Biotecnologia e Biodiversidade do programa BIONORTE/UFT.

⁶ Professor do Curso de Medicina e orientador no Programa de Mestrado em Agroenergia da UFT.

RESUMO: O *Cymbopogon citratus* é uma planta popularmente conhecida como capim-limão, uma gramínea perene espontânea, amplamente distribuída em todo o mundo. Esta planta possui uma constituição complexa de compostos de interesse farmacológico, incluindo compostos fenólicos, flavonóides, saponinas, fitoesteróis, alcalóides, óleos essenciais entre outros. A investigação fitoquímica com a planta *C. citratus* é vasta na atualidade, porém os metabólitos secundários se constituem substâncias produzidas pelas plantas em concentrações variáveis de acordo com o ambiente adjacente da mesma. Poucos trabalhos têm sido desenvolvidos com plantas desta espécie cultivadas no cerrado tocantinense, mesmo a planta sendo muito consumida pelas populações locais. Assim o presente trabalho objetivou determinar o perfil fitoquímico das folhas de *C. citratus* cultivado em uma residência de Palmas-TO. A planta em estudo teve a caracterização taxonômica realizada através de comparação com dados da literatura. As análises fitoquímicas foram realizadas com o pó das folhas secas e estabilizadas em estufa. O extrato bruto foi obtido pelo decócto de 2 g do pó em 20 mL de etanol 70 % seguido de filtragem em papel filtro. Avaliou-se a presença de constituintes químicos por testes de colorações e precipitações. Os dados obtidos revelaram a presença de antraquinonas reduzidas; flavonóis, flavonas e alcalóides. Os resultados reforçaram a importância de *C. citratus* para a saúde humana e sugerem a ampliação de pesquisas dos constituintes da planta.

PALAVRAS CHAVE: alcalóides, *Cymbopogon citratus*, flavonóides, metabólitos secundários, saponinas

1. INTRODUÇÃO

O *Cymbopogon citratus* é uma planta vulgarmente conhecida como capim-limão, uma gramínea perene espontânea, amplamente distribuída em todo o mundo, especialmente em países tropicais e subtropicais (THANGAM et al., 2014; RORIZ et al., 2014). *Cymbopogon citratus* foi descrita inicialmente como *Andropogon citratus* por De Candolle e re-classificado por Otto Stapf, pertence à Poaceae, uma das maiores famílias de plantas que engloba cerca de 500 gêneros e aproximadamente 8.000 espécies essencialmente herbáceas, denominadas genericamente de gramíneas (University, 2003). No Brasil, as folhas de capim-limão apresentam largo uso popular como sedativo, sudorífero, carminativo, febrífugo, diurético, antipirético e anti-reumático (FIGUEIREDO et al., 2002).

Esta planta possui uma constituição complexa de compostos de interesse farmacológico, incluindo compostos fenólicos, flavonóides, saponinas, fitoesteróis, e alcalóides, óleos essenciais entre outros (SILVA JUNIOR & VERONA, 1997).

Entre os principais constituintes de *C. citratus*, estão os compostos fenólicos e os alcalóides. O grupo de fenólicos mais citados para a planta, são os flavonóides, substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental (o núcleo flavan C6 -C3 -C6), constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de 3 carbonos entre elas (LOPES et al., 2000; PIETTA, 2000; ZUANAZZI; MONTANHA, 2003; THANGAM et al., 2014; RORIZ et al., 2014). Estes configuram-se entre os metabólitos secundários mais importantes e difundidos

no reino vegetal, concentrando-se principalmente nas partes aéreas das plantas. Dentre as principais funções biológicas destes compostos pode-se destacar a atração de polinizadores, proteção contra nocivos, colaboração com hormônios no processo de crescimento, inibição da ação de certas enzimas e proteção à radiação ultravioleta (SIMÕES, 2003; HUBER et al., 2008). Além disso, em decorrência do resultado de algumas propriedades atribuídas a alguns representantes da classe, esses compostos possuem também importância farmacológica, como antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, antiviral, entre outras (LI et al., 2009).

Os alcalóides são compostos azotados (nitrogênio amínico) complexos, de natureza básica (alcalina), com diversos efeitos fisiológicos sobre organismos diferentes do qual é produzido. Em sua maior parte, se caracterizam como venenos vegetais muito ativos, dotados de uma ação específica (BARRACA, 1999). Segundo Martins (1995), sua ocorrência no meio vegetal está entre 10 a 15 % das plantas conhecidas, sendo distribuídos em 15 grupos conforme sua origem bioquímica ou semelhança estrutural. Seu papel fisiológico na planta, não é bem definido, porém, acreditam-se que estes metabólitos, além de protegerem a planta contra insetos, se constituem como reservas para síntese de proteínas (BARRACA, 1999).

A investigação fitoquímica com a planta *C. citratus* é vasta na atualidade, porém os metabólitos secundários se constituem substâncias produzidas pelas plantas em concentrações variáveis de acordo com o ambiente adjacente da mesma (SIMÕES, 2003). Poucos trabalhos têm sido desenvolvidos com plantas desta espécie cultivadas no cerrado tocantinense, mesmo a planta sendo muito consumida pelas populações locais. Tendo em vista isto, avaliações da constituição fitoquímica de espécimes desta planta são importantes para o conhecimento dos metabólitos secundários de interesse humano produzidos pela mesma. Assim o presente trabalho teve como objetivo determinar o perfil fitoquímico das folhas de *C. citratus* cultivado em Palmas-TO.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Tocantins / Palmas, com uma variedade *C. citratus* proveniente do próprio município. A caracterização taxonômica foi realizada através de comparação com dados da literatura. Coletaram-se folhas, as quais foram submetidas à secagem em estufa e redução a pó em moinho de facas. O extrato bruto foi obtido pelo decócto de 2 g do pó em 20 mL de etanol 70 % seguido de filtração em papel filtro. Para investigação da presença de fenóis, flavonóides, e antraquinonas seguiu-se a metodologia descrita por Mouco et al. (2003), que consistiu em diferentes reações de colorações e precipitações, incluindo: reação com cloreto férrico, diluindo-se o extrato com água na proporção de 1:5 e adição de cloreto férrico 2%, observando o desenvolvimento de coloração ou precipitado indicando a presença de compostos fenólicos; reação de cloreto de alumínio, pingando algumas gotas do extrato sobre papel filtro, cobrindo-a posteriormente com uma gota de solução de cloreto de alumínio 5%, verificando o aspecto fluorescente da substância em oposição ao seu controle positivo frente à luz ultravioleta, que indicasse a presença de flavonóides; reação de Shinoda, misturando-se 5 mL do extrato com aparas de magnésio metálico e 1,0 mL de ácido clorídrico, observando-se o desenvolvimento de coloração rósea-avermelhada para a presença de flavonóides, violeta para flavanonas e laranja para flavonas; reação com hidróxido de sódio, misturando 5 mL do extrato diluído com 2 gotas de NaOH 5% e observando o desenvolvimento de coloração amarela intenso que indicasse a presença de flavonol. Para investigação de antraquinonas pingou-se hidróxido de sódio 0,5 % em 0,5 g da droga e esperou-se o desenvolvimento de uma coloração amarelada, que indicasse a presença de antraquinona na forma reduzida, ou de uma coloração avermelhada que indicasse a presença de antraquinona na forma oxidada.

Para detecção da presença de compostos pertencentes às diferentes classes de flavonóides transferiu-se o extrato diluído para três tubos de ensaio, 3 mL da solução para cada tubo. Acidulou-se um dos tubos a pH 1 – 3 e alcalinizou-se os dois restantes a pH 8,5 e 11 verificando a mudança de coloração das soluções frente à mudança de pH. Os resultados foram comparados com os dados da Tabela 1 (BARBOSA, 2001; MATOS, 2009).

Tabela 1: Dados para detecção da presença de compostos pertencentes a diferentes classes de flavonóides pela técnica de acidificação e alcalinização.

CONSTITUINTES	ÁCIDO - pH 3	ALCALINO - pH 8.5	ALCALINO - pH 11
Antocianinas e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul púrpura
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	-----	-----	Amarela
Chaconas e Auronas	Vermelha	-----	Vermelho-Púrpura
Flavonóis	-----	-----	Vermelho-Laranja

Para detecção de compostos pertencentes a diferentes subclasses de flavonoides, adicionou-se em dois tubos 3 mL da solução preparada anteriormente, acidulou-se o primeiro com solução de HCl a pH 1 – 3 e alcalinizou-se o outro a pH 11 com solução de NaOH. Estes foram cuidadosamente aquecidos com auxílio de uma lamparina de álcool durante 2 – 3 minutos. Observaram-se modificações na coloração, comparando com os tubos utilizados no teste anterior e com a Tabela 2 (BARBOSA, 2001; MATOS, 2009).

Tabela 2: Dados para detecção da presença de Subclasses de Flavonóides pela técnica de acidificação, alcalinização e aquecimento.

CONSTITUINTES	COLORAÇÃO EM MEIO	
	ÁCIDO	ALCALINO
Leucoantocianidinas	Vermelha	-----
Catequinas (taninos catéquicos)	Pardo-amarelada	-----
Flavanonas	-----	Vermelho-alaranjado

Para detecção da presença de alcalóides, utilizou-se a metodologia descrita por Mouco et al (2003): realizou-se um decócto de 10g do pó da folha em 10 mL de ácido acético (5%), após filtragem, a mistura foi alcalinizada a pH 11 com NaOH (10%) e transferida para funil de separação. A extração de alcalóides foi realizada pela adição de 20 mL de clorofórmio ao funil, seguido de agitação e repouso, ocasionando a formação de duas fases. A fase clorofórmica foi coletada e submetida a exaustão para evaporação do solvente. O resíduo foi solubilizado em ácido clorídrico (1%) e colocado sobre uma lâmina de vidro paralelo a uma gota do reagente dragendorff, misturando os dois aos poucos e observando se formaria precipitado indicativo da presença de alcalóides.

Foi realizada também uma análise por cromatografia em camada delgada (CCD) de acordo com o método descrito por Rodrigues et al. (2004), com poucas modificações. Com o auxílio de tubos capilares de vidro, o extrato, foi aplicado em placas de sílica gel 0,20 mm kiesegel 60 ALUGRAM® SIL G. (MACHEREY-NAGEL) de dimensões 10 x 10 cm, formando manchas regulares. Para fins de identificação utilizou-se os seguintes padrões: quercetina, rutina, morina, ácido elágico, naringina, ácido tânico e galato de epigallocatequina. A eluição ocorreu em cuba de vidro previamente saturada por um sistema eluente constituído por solução de 88 mL de hexano: 68 mL de Acetato de Etila: 10 mL de Ácido Acético. Após a corrida

cromatográfica as placas foram secas com auxílio de secador de fluxo contínuo de ar e em estufa a 45° C, posteriormente reveladas com revelador NEU (2-amil difenilborinate 1% e Polietileno glicol 5%), sob a luz UV em 255 nm. As mesmas foram fotografadas e tiveram seus fatores de retenção (RF) calculados.

Para a detecção de saponinas agitou-se energeticamente com movimentos succionais por 3 minutos um tubo contendo extrato e água destilada, deixando-os em repouso por trinta minutos. Mediu-se a altura do anel de espuma, formado logo após agitação e decorrido trinta minutos. Reação positiva é indicada com desenvolvimento de espuma com altura superior a um centímetro e persistente após o repouso (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997)

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A prospecção química de produtos naturais tem por objetivo imediato o esclarecimento e registro dos constituintes resultantes do metabolismo secundário dos seres vivos segundo (MATOS, 1997).

As classes de flavonóides detectadas para os extratos secos de folhas de *C. citratus*, estão mostrados na Tabela 3. Como é possível observar, foram detectadas quatro classes de flavonóides: Antraquinonas, Flavonóis, Flavonas e Xantonas, estando em consonância com alguns resultados na literatura científica (GOMES et al., 2011).

Tabela 3. Resultados da prospecção fitoquímica de extratos de folhas de *C. citratus*

CLASSES QUÍMICAS	<i>Cymbopogon citratus</i>
Antocianinas e antocianidinas	-
Antraquinonas reduzidas	+
Flavonóis	+
Flavonas	+
Flavononas	-
Leucoantocianinas	-
Xantonas	+

Como mostrado na Figura 1 a formação de precipitado indicou a presença de alcalóides no extrato das folhas de *C. citratus*. Soares et al. (2013) e Gomes et al. (2011) também relataram a presença deste metabólito para esta espécie. Segundo Soares et al. (2013) a presença deste composto na planta pode lhe conferir algum tipo de toxicidade, que deve ser caracterizada e monitorada.

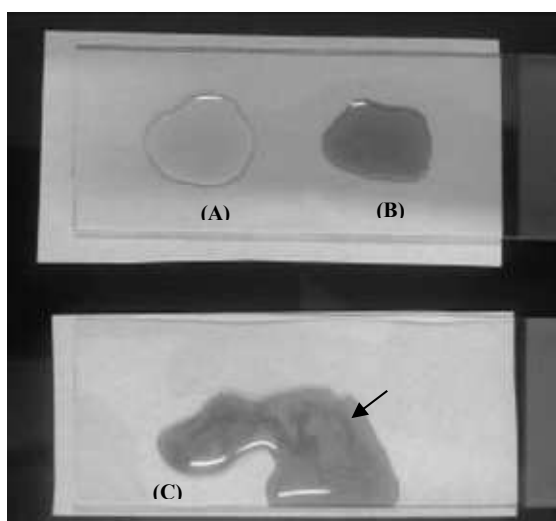


Figura 1. Reação para detecção de alcalóides em extrato de *C. citraus*. (A) Solução do extrato em HCl; (B) Reagente Dargendorff; (C) Mistura de A e B formando precipitado (seta) indicando a presença de alcalóides.

O teste para saponinas indicou resultado fortemente positivo para esta classe de metabólitos secundários, pela formação de espuma abundante e persistente (Figura 2). Este dado reforça o potencial farmacológico da planta em estudo, pois substâncias dessa classe, possuem propriedades anti-inflamatórias, larvicidas, hipocolesterolemiantes, expectorantes, ventrópicas e cicatrizantes (PELAH, 2002)

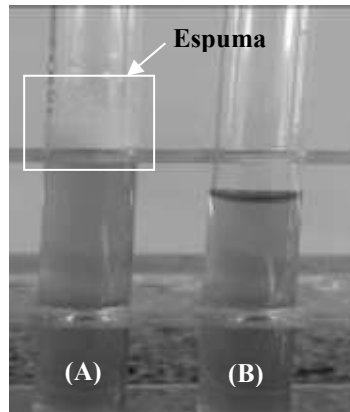


Figura 2. Reação para detecção de saponinas. (A) com o teste de espuma; (B) solução controle.

A caracterização de fenóis por CCD (Figura 3) permitiu a pré-identificação de 03 possíveis compostos. Uma mancha característica do extrato ($R_f = 0,84$) coincide com o da substância padrão quercetina ($R_f = 0,84$). Outra mancha do extrato ($R_f = 0,93$) coincide com a distância do padrão morina ($R_f = 0,93$) e por último, outra mancha do extrato ($R_f = 0,18$) foi coincidente com o padrão do ácido elágico ($R_f = 0,18$). Outras manchas foram detectadas no extrato de *C. citratus*, indicando a necessidade da utilização de mais padrões de referência e/ou outros tipos de eluentes no desenvolvimento da técnica.

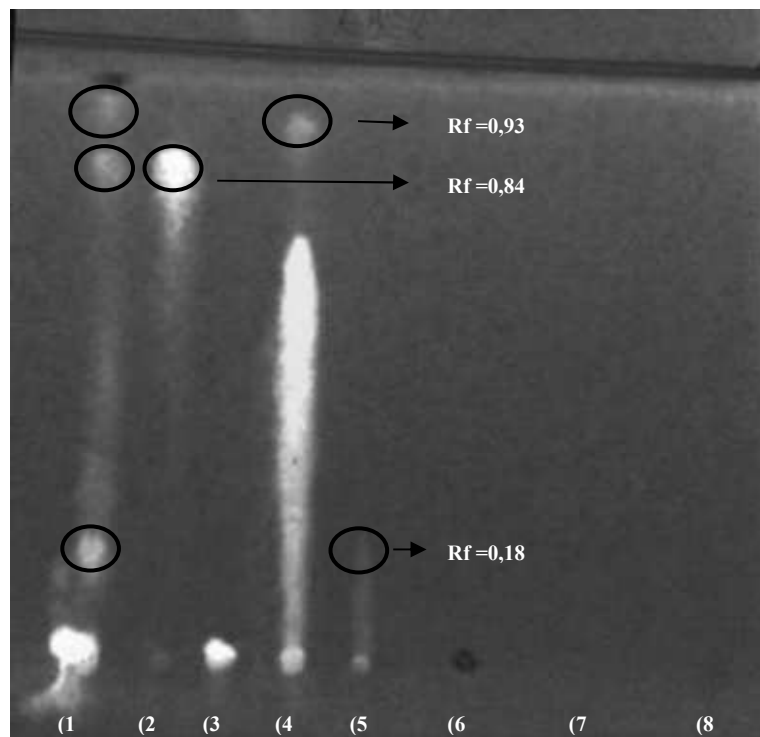


Figura 3. Cromatograma (CCD) da solução extrativa de *C. citratus*; (1) Extrato, (2) Padrão Quercetina, (3) Padrão Rutina, (4) Padrão Morina, (5) Padrão Ácido Elágico, (6) Padrão Naringina, (7) Padrão Ácido Tânico e (8) Padrão Galato de Epigalocatequina.

4. CONCLUSÕES

Os testes preliminares qualitativos realizados com extratos das folhas de *C. citratus* demonstraram que esta planta é uma excelente fonte metabólitos secundários de grande importância para a saúde humana, tais como flavonóides, antraquinonas, alcalóides e saponinas.

Os resultados obtidos sugerem a continuidade de pesquisas com a planta, incluindo quantificações dos compostos detectados e análise de outros constituintes, já que a planta se constitui uma matéria prima abundante pelo seu fácil cultivo.

REFERENCIAS

BARBOSA, W.L.R. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. Revista Científica da UFPA v. 4, p. 12-18, 2001.

BARRACA, S. A. **Manejo e Produção de Plantas Mediciniais e Aromáticas**. Relatório do Estágio Supervisionado Produção Vegetal-II - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz. Departamento de Produção. São Paulo, p 48, Out 1999.

FIGUEIREDO, R. O. de; DELACHIAVE, M. E. A.; MING, L. C. **Effect of growth regulators in citral content in lemongrass in different seasons**. *Acta Horticulturae*, Amsterdam, v. 569, n. 22, p. 47-49, Nov. 2002.

GOMES, R. V. R. S; VILELA, V. L. R; GOMES, E. N; MAIA, A. J; ATHAYDE, A. C. R. Análise fitoquímica de extratos botânicos utilizados no tratamento de helmintoses gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Revista Caatinga**, Mossoro, v. 24, n. 4, p. 172-177, out.-dez., 2011

HUBER, L. S.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. **Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos**. *Alim. Nutr. Araraquara*, v.19, n.1, p. 97-108, jan./mar. 2008.

LI, F.; LI, Q.; GAO, D.; PENG, Y. **The optimal extraction parameters and anti-diabetic activity of flavonoids from ipomoea batatas leaf**. *Afr. J. Trad. CAM* (2009) 6 (2): p.195 – 202.

LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S. **Flavonóides: farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais**. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, n. 17, p. 18-22, nov./dez. 2000.

MARTINS, ERNANE RONIE... [et al] . **Plantas Mediciniais**. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais. 1995. 220p.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Edições. Fortaleza,UFC, 2009.

MATOS, F. J. A., **Introdução à fitoquímica experimental**. Edições. Fortaleza, UFC, 141 p. 1997.

MOUCO, G.; BERNADINO, M. J. e CORNELIO, M. L. **Controle de qualidade de ervas medicinais**. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, n. 31, p. 18-22, julho./dez. 2003.

POCHAPSKI, M. T.; FOSQUIERA, E. C.; ESMERINO, L. A.; SANTOS, E. B.; FRANGO, P. V.; SANTOS, F. A. E GROppo, F. C. Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activities of the crude leaves' extract from *Ipomoea batatas* (L.) Lam. **Short Communication**. (2011), v. 7, p. 1665 a 170.

PELAH, D.; **The use of commercial saponin from *Quillaga saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens***. *J. Ethnopharmacol.*, v.81, p. 407-409, 2002.

PIETTA, P. G. Flavonoids as Antioxidants. **J. Nat. Prod.** v. 63, p.1035- 1042, 2000.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiocologia**. São Paulo: Premier, p.159, 1997.

RODRIGUES, P. O.; GONÇALVES, T. C. E SILVA, W. B. Influência de Diferentes Sistemas de Solventes no Processo de Extração de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Acta Farm. Bonaerense**. (2004), v. 23 n.1, p. 27-31.

RORIZ, C. L.; BARROS, L.; CARVALHO, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. *Pterospartum tridentatum*, *Gomphrena globosa* and *Cymbopogon citratus*: A phytochemical study focused on antioxidant compounds. *Food Research International*, 62 (2014) 684–693.

SILVA JUNIOR, A. A.; VERONA, M. L. F. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí, SC: Ministério de Meio Ambiente, Fundo Nacional do Meio Ambiente, 1997. 456 p.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 5ª ed. Editora da UFSG. Porto Alegre, RS, 2003.

SOARES, M. O.; ALVES, R. C.; PIRES, P. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; Vinha, A. F. Angolan *Cymbopogon citratus* used for therapeutic benefits: Nutritional composition and influence of solvents in phytochemicals content and antioxidant activity of leaf extracts. **Food and Chemical Toxicology**, 60 (2013) 413–418.

THANGAMA, R.; SATHUVANC, M.; POONGODI, A. SURESHE, V.; PAZHANICHAMY, K.; SIVASUBRAMANIANB, S.; KANIPANDIANG, N.; GANESAND, N.; RENGASAMY, R.; THIRUMURUGANG, R.; KANNANA, S. Activation of intrinsic apoptotic signaling pathway in cancer cells by *Cymbopogon citratus* polysaccharide fractions. **Carbohydrate Polymers**, 107 (2014) 138–150.

UNIVERSITY of Hawaii. Botany Department. **Poaceae** (Gramineae). Disponível em: <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/po.htm>. Acesso em: 09 set. 2015.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / editora da UFSC, 2003, p. 577- 614.