

# ESTUDO QUÍMICO DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Zanthoxylum caribaeum* LAM

**Lara Amanda Rodrigues de Oliveira<sup>1</sup>; Carine Raissa Andrade Barbosa<sup>2</sup>; Diego Mota da Costa<sup>3</sup>; Hugo Neves Brandão<sup>4</sup>**

1. Bolsista PROBIC, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lara.amanda@live.com
2. Doutoranda do PPG/RGV, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: raica\_ba@hotmail.com
3. Bolsista CNPq, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: diegocost@live.com
4. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: hugo@uefs.br

**PALAVRAS-CHAVE:** CLAE-DAD. Metabólitos secundários. *Zanthoxylum caribaeum*.

## INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais se estende desde tempos remotos ao período contemporâneo, em que se observa no Brasil uma diversidade biológica pouco explorada. Logo, tendo-se em vista a intensa síntese de metabólitos secundários, aos quais se atribuem as atividades terapêuticas, pesquisas no ramo da fitoquímica tem apontado o valor de ensaios químicos e farmacológicos em espécies vegetais (SOUSA et al, 2010).

As técnicas de separação podem ser empregadas no processo de purificação, a exemplo da cromatografia em coluna (CC), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia Gasosa (CG), Cromatografia em Camada Delgada (CCD), dentre outras (OLIVEIRA, et al., 2002; MONTEIRO, 2012). Desta forma, o presente estudo visou realizar o estudo químico das folhas de *Zanthoxylum caribaeum*, bem como obter frações semi-purificadas ou substâncias isoladas através de técnicas cromatográficas, caracterizar, detectar e quantificar compostos fenólicos através de CLAE.

## METODOLOGIA

As folhas da espécie foram coletadas no município de Cruz das Almas – BA para preparo do extrato. A exsicata encontra-se depositada no Herbário da Universidade estadual de Feira de Santana (HUEFS) sob registro nº HUEFS 178575 e identificada pelo Especialista da família Dr Milton Groppo. Para a obtenção do extrato bruto, as folhas da espécie foram secas em estufas de circulação de ar a 40° C e pulverizadas em macromoinho no Laboratório de Extração de Produtos Naturais – LAEX, que está localizado na Unidade Experimental Horto Florestal (UEHF) – UEFS. O material pulverizado foi pesado em balança semianalítica para cálculo de rendimento.

Foi realizada a maceração da droga vegetal em metanol (MeOH) através de 5 extrações consecutivas no intervalo de 72h cada. Posteriormente, a solução foi concentrada em rotaevaporador acoplado com bomba a vácuo, sob temperatura constante de 60°C, para eliminação do solvente orgânico e obtenção do extrato seco (MOREIRA; TERRONES; SOUZA, 2008). O extrato bruto foi submetido a processo de

partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes (hexano, clorofórmio e acetato de etila) (CECHINEL FILHO, YUNES, 1998).

Para realização de Cromatografia em Coluna (CC) aberta, os extratos foram submetidos à coluna cromatográfica com gel de sílica 60H e eluídos com misturas de solventes em diferentes proporções em gradiente crescente de polaridade, como hexano, clorofórmio e acetato de etila. Para realização da CCD, as placas cromatográficas foram preparadas utilizando-se sílica gel Kieselgel 60 PF254. Dissolveu-se pequena quantidade do extrato em acetona e aplicou-se a amostra com o auxílio de um capilar na base da placa cromatográfica. Os spots das substâncias foram analisados em câmara com lâmpada UV com comprimentos de onda de 365 e 354nm e/ou câmara com iodo.

Os experimentos com cromatografia a líquidos de alta eficiência foram realizados com sistema HPLC EZChrom Elite, consistindo de bomba VRW HITACHI L-2130, equipado com auto-injetor e detector de arranjo de diodo (DAD) VRW HITACHI L-2455, e forno de colunas VRW HITACHI L-2300. As condições de análise foram desenvolvidas e validadas durante a execução do projeto comprovando que o método atende às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados, estando em conformidade com os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão (BRASIL, 2003).

A partir dos dados espectrais, comparação do tempo de retenção da amostra com o de padrões comerciais, identificou-se os compostos fenólicos. Para a quantificação dos teores dos compostos fenólicos utilizou-se as curvas de calibração obtidas através da relação das áreas dos picos dos padrões e suas respectivas concentrações.

## RESULTADOS

Partindo-se das frações semipurificadas, deu-se continuidade ao processo de purificação, em que novas CCs foram realizadas, optando-se sempre pelas frações que demonstrassem melhor resolução na cromatografia em camada delgada (CCD) e rendimento (Tabela 1). Deste modo, obteve-se a partir da fração 36 do extrato hexânico, o isolamento da substância FH36.6, na forma de sólido cristalino, posteriormente identificada como aurapteno. Da mesma forma, foi obtido através da fração 19 do extrato clorofórmico, um sólido que se apresenta com forma cristalina (Figura 1), identificado como sesamina.

**Tabela 1-** Massas (g) e rendimentos (%) dos extratos resultantes da partição do extrato metanólico de folhas de *Z. caribaeum* Lam.

Extratos	Massa (g)	Rendimento %
Metanólico Bruto	318,21	5,58
Hexânico	94,67	30,71
Clorofórmico	64,27	20,85
Acetato de etila	7,49	2,43

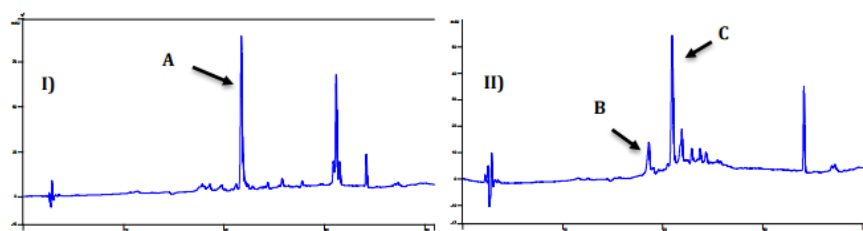
As substâncias isoladas, identificadas como aurapteno e a sesamina são pertencentes à classe das cumarinas e lignina, respectivamente. Apesar destas substâncias já serem conhecidas, são inéditas para a espécie em questão, corroborando com o conhecimento da composição química da *Z. caribaeum*.



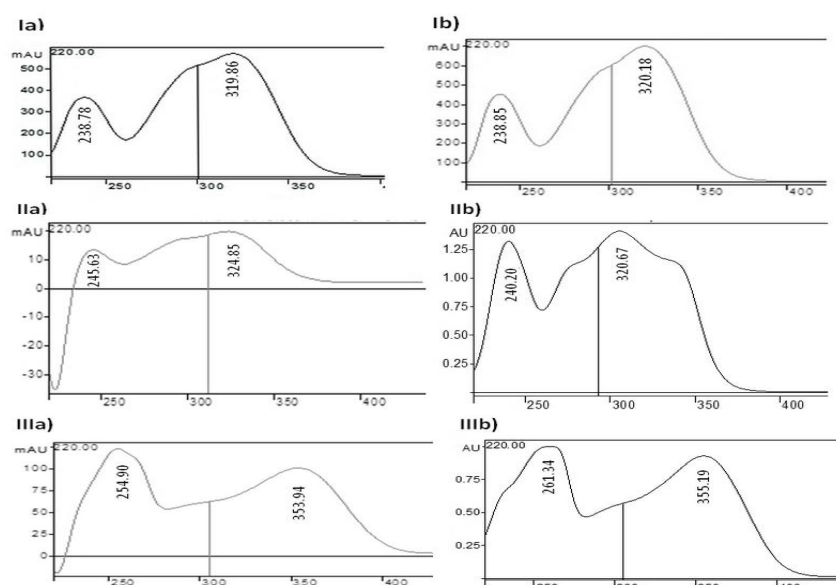
**Figura 1** – Substâncias Isoladas – (A) Aurapteno; (B) Sesamina.

A obtenção do perfil químico dos extratos de *Zanthoxylum caribaeum* (RUTACEAE), foi realizada através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, em que foram submetidas a comprimentos de onda diferentes, em que o extrato bruto (EBZC), clorofórmico (ECZC) e acetato de etila (EAZC) apresentaram melhor resolução no comprimento de 280nm e o extrato hexânico (EHZC). Desta forma, identificou-se nestas amostras o ácido *trans*-ferúlico, ácido cafeico e rutina, conforme demonstrado na Figura 2, sendo realizada a validação do método para estas substâncias em questão

Durante o processo de caracterização foram analisadas as frações 21 (FAC21) e 33 (FAC33) de acetato de etila, sendo identificados compostos fenólicos através do tempo de retenção e da comparação dos espectros de absorvância dos picos da amostra com o dos padrões (Figura 3).



**Figura 4** - Cromatogramas a 280nm das frações acetato de etila das folhas de *Zanthoxylum caribaeum* e dos padrões analisados por CLAE-DAD. Cromatograma I – FAC33; Cromatograma II – FAC21. (A) ácido transferulico, (B) ácido cafeico, (C) rutina



**Figura 3** – Comparação dos espectros de UV das amostras e dos padrões. Ia - pico A do extrato FAC21; Ib – pico padrão ácido transferulico; IIa – pico B do extrato FAC33; IIb - pico padrão ácido transferulico; IIIa – pico C do extrato FAC33; IIIb - pico padrão rutina.

As concentrações do ácido cafeico, ácido *trans*-ferúlico e rutina em cada amostra foram calculadas a partir da curva de calibração dos padrões comerciais e área do pico destes compostos nas amostras FAC21 e FAC33, de forma que os resultados podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 - Conteúdo das substâncias em frações do extrato acetato de etila de *Z. caribaeum*

Amostras	Ácido cafeico (µg/mL)	Ácido <i>trans</i> -ferúlico (µg/mL)	Rutina (µg/mL)
FAC 21	124,44	-	-
FAC 33	-	488,90	413,85

## CONCLUSÃO

O processo de purificação permitiu trazer informações inéditas sobre a caracterização química da espécie, em que se identificou o aurapteno e a sesamina, substâncias nunca mencionadas na composição da *Z. caribaeum*. Da mesma forma, os resultados obtidos através de CLAE auxiliam na elucidação do perfil químico da espécie, em que foi realizada a identificação compostos fenólicos, tais como ácido cafeico, ácido *trans*-ferúlico e rutina, assim como a quantificação dos mesmos nas frações FAC21 e FAC33 submetidas à análise.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução, Agência Nacional de Vigilância Sanitária nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.2 n. 1, p. 99-105, 1998.
- MONTEIRO, E. G. **Estudo comparativo entre metodologias de cromatografia planar para controle radioquímico de radiofármacos de tecnécio -99m**. São Paulo. Dissertação de mestrado. Instituto de pesquisas Energéticas e Nucleares – Universidade São Paulo. 99 p. 2012.
- MOREIRA, P. F. S. D.; SOUZA, D. R.; TERRONES, M. G. H. Avaliação do potencial alelopático do extrato metanólico obtido das folhas de *Caryocar brasiliense* camb. (pequi) na inibição do desenvolvimento da raiz em sementes de *Panicum maximum*. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 1, p. 74-79, 2008.
- OLIVEIRA, E. L. et al. Estudo fitoquímico de *Zanthoxylumstelligerum*(Turcz). **Revista brasileira de farmacognosia**, vol.12, suppl.1, pp. 29-30, 2002.
- SOUSA, Francisca C. F. et al. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 18, n. 4, p.642-654,2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2008000400023>.