



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO QUÍMICO DE FOLHAS DE *Lippia thymoides*

Sara Leite Cerqueira da Silva¹; Angélica Maria Lucchese²; Acsa Oliveira Magalhães³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: saracerqueira513@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: angelica.lucchese@gmail.com
3. Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos/Lapron, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: acsomagalhaes@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Cromatografia; Fração em diclorometano; Flavonoides

INTRODUÇÃO

O gênero *Lippia* (Verbenaceae) destaca-se pela sua composição química rica em compostos fenólicos como os flavonoides, os quais possuem atividade antioxidante (FURANI, 2010; SUDHA; SRINIVASA, 2014). A maioria das espécies de *Lippia* são aromáticas, assim os estudos relacionados à fitoquímica desse gênero são principalmente dedicados à composição química dos óleos essenciais (CATALAN; LAMPASONA, 2002). Os óleos essenciais ou voláteis são produtos do metabolismo secundários das plantas, constituídos basicamente de compostos da classe dos terpenos, com predomínio dos monoterpenos e sesquiterpenos (SIMÕES et al., 2017). Para os constituintes fixos são relatados neste gênero metabólitos das classes dos iridoides, fenilpropanoides, naftoquinoides e flavonoides (CATALAN; LAMPASONA, 2002).

Dentre as espécies desse gênero, *Lippia thymoides* é popularmente conhecida como alecrim, alecrim do mato, alecrim do campo, alecrim de tabuleiro, sendo utilizada para o tratamento de feridas, febre, bronquite, reumatismo e dor de cabeça. Possui poucos relatos de estudos químicos ou farmacológicos na literatura, em sua maioria realizados pelo nosso grupo de pesquisa, com resultados de atividade antimicrobiana, antipirética, anti-diarréica, antioxidante, cicatrizante e espasmolítica de óleos essenciais, extratos e frações de caules e folhas já determinados (SILVA, 2012; PINTO et al, 2013; SILVA et al 2015; SILVA et al 2016; MENEZES et al, 2018). Recentemente alguns flavonoides com ação espasmolítica foram isolados da fração em diclorometano (MAGALHÃES, 2018) indicando a importância da continuidade deste estudo. Neste

sentido, é necessário investigar o perfil de compostos ativos presentes na espécie de *Lippia thymoides*, a fim de isolar e identificar possíveis constituintes com atividade farmacológica.

METODOLOGIA

1. Coleta

As folhas de *L. thymoides* foram coletadas no mês de novembro de 2018, na Unidade Experimental Horto Florestal (latitude de 12°16'07" Sul; longitude de 38°56'21" Oeste, elevação de 234 metros) na região do semiárido em Feira de Santana-BA.

2. Preparo do extrato metanólico

O extrato metanólico bruto (LTB) de *L. thymoides* foi obtido a partir das folhas secas à temperatura ambiente, protegidas da luz, para estabilizar o material, sendo posteriormente trituradas em moinho de facas. O material moído (2.958,85 g) foi submetido à extração, por três vezes consecutivas, por maceração com metanol, em balões de fundo chato. Os extratos brutos foram concentrados em rotaevaporador, sob pressão reduzida, em temperaturas entre 40 e 45°C. O excesso de solvente foi removido por evaporação em capela de exaustão e liofilização.

3. Partição líquido-líquido

O extrato metanólico (84,7 g) foi ressuspenso em metanol:água e submetido, à partição líquido-líquido utilizando-se solventes em ordem crescente de polaridade: hexano (metanol:água 8:2), diclorometano (metanol:água 7:3) e acetato de etila (metanol:água 6:4). As frações obtidas foram concentradas em rotaevaporador, sob pressão reduzida, em temperaturas entre 40 e 45°C. O resíduo de solvente foi retirado por evaporação em capela de exaustão. A massa bruta das frações em hexano (LTH), diclorometano (LTD) e acetato de etila (LTA), foram calculadas em relação ao LTB inicial.

4. Perfil cromatográfico por cromatografia em camada delgada

Foi realizada comparação da fração em diclorometano desta coleta (FD2018) com outra anteriormente coletada em novembro de 2015 (FD2015) (MAGALHÃES, 2018) por cromatografia em camada delgada, utilizando amostras anteriormente isoladas: mistura de estigmasterol e β -sitosterol; 5,7-di-hidroxi-6,3',4'-trimetoxiflavona; 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-4',7-dimetoxiflavanona e 3,5-di-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona e padrões de β -Sitosterol, quercetina e rutina. Foram utilizados dois sistemas de solvente: hexano:acetona 8:2 e hexano:acetona 1:1. Os cromatogramas foram revelados com os reagentes químicos anisaldeído/H⁺ (terpenos e esteroides), Dragendorff (alcaloides),

NP/PEG (flavonoides/ácidos fenólicos), KOH (cumarinas, antraquinonas e antronas) e vanilina fosfórica (terpenos, esteroides e lignanas).

5. Purificação da fração em diclorometano

A fração em diclorometano (20 g) foi submetida a cromatografia em coluna para isolamento de metabolitos secundários, utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e misturas de eluentes (fase móvel) de polaridade crescente (hexano/acetona/metanol).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato metanólico bruto de *L. thymoides* - LTB (243,89 g) foi obtido com rendimento de 8,24%. Após a partição líquido-líquido deste extrato (84,7 g) obteve-se a fração em hexano (1,42 g) com rendimento de 1,71%, em acetato de etila (6,69 g) com 7,98% de rendimento e em diclorometano (3,97 g) com 4,82% de rendimento. Em comparação com estudo anterior, realizados em nosso grupo de pesquisa com uma coleta no mesmo local, o qual obteve o extrato bruto da folha de *L. thymoides* com rendimento de 12,07% (MAGALHÃES, 2018), pôde-se observar que o rendimento do extrato bruto da folha de *L. thymoides* foi inferior. Essa variação no rendimento pode estar associada a diferença entre a metodologia empregada para obter o extrato metanólico, pois o material vegetal de Magalhães (2018) foi submetido à extração, cinco vezes consecutivas, por maceração assistida por ultrassom. A extração assistida por ultrassom apresenta maior eficácia na extração dos compostos vegetais ativos, demonstrando vantagens frente aos métodos convencionais como menor consumo de solvente e tempos de extração (TABARAKI et al., 2012), justificando assim o rendimento superior se comparado ao LTB que foi apenas por maceração simples.

Considerando que fatores abióticos como o clima e sazonalidade podem interferir na natureza e quantidade produzida de metabólitos secundários (GOBBONETO, LOPES, 2007) comparou-se o perfil cromatográfico através de Cromatografia em Camada Delgada entre frações em diclorometano de *L. thymoides* provenientes de coletas realizadas em diferentes datas: FD2018 e FD2015 ((MAGALHÃES, 2018). Foi observado que ambas as frações em diclorometano possuíam o mesmo perfil cromatográfico, devido a semelhança entre as bandas e os fatores de retenção. Pela resposta positiva aos reveladores anisaldeído-ácido sulfúrico (terpenos e esteroides), NP/PEG (flavonoides/ácidos fenólicos), KOH (cumarinas, antraquinonas e antronas) e vanilina fosfórica (terpenos, esteroides e lignanas) foi possível sugerir a presença destas classes de metabólitos. Nas placas reveladas com Dragendorff não houve aparecimento de manchas alaranjadas que indicam a presença de alcaloides. Pela comparação entre os

valores de Rf correspondentes aos flavonoides quercetina, 3,5-di-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona, 5,7-di-hidroxi-6,3',4'-trimetoxiflavona e 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-4',7-dimetoxiflavanona, bem como dos esteróides β -sitosterol e estigmasterol pode-se indicar a presença destas substâncias nesta fração.

A fração em diclorometano foi também submetida a separação por cromatografia em coluna e foram obtidas 88 frações (100 mL). Estas frações estão em processo de análise por cromatografia em camada delgada para futura identificação das estruturas das substâncias isoladas e realização de ensaios biológicos.

REFERÊNCIAS

- CATALAN, C. A. N.; LAMPASONA, M. E. P. The chemistry of the genus *Lippia* (Verbenaceae). In: KINTZIOS, S. E. **Oregano: the genera *Origanum* and *Lippia***. Londres: Taylor & Francis, 2002. p. 127-149.
- GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química. Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2007.
- MAGALHÃES, Acsa Oliveira. **Isolamento e identificação de substâncias com ação espasmolítica de folhas de *Lippia thymoides* Mart. & Schauer (Verbenaceae)**. 2018. 123 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, Feira de Santana, 2018.
- MENEZES P.M.N. et al Spasmolytic and antidiarrheal activities of *Lippia thymoides* (Verbenaceae) essential oil. **Natural Product Research**, 2018.
- PINTO, C. P. et al. Antimicrobial activity of *Lippia* species from the Brazilian semiarid region traditionally used as antiseptic and anti-infective agents. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, vol. 2013, 2013.
- SILVA, F. S. 2012. **Estudo fitoquímico e farmacológico de *Lippia thymoides* Mart. e Schauer (Verbenaceae)**. Tese de Doutorado (Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia. 143 f.
- SILVA, F.S. et al. Pharmacological Basis for Traditional Use of the *Lippia thymoides*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, vol. 2015, 2015.
- SILVA, F.S. et al. Chemical composition and pharmacological properties of the essential oils obtained seasonally from *Lippia thymoides*. **Pharmaceutical Biology**, p. 1-10, 2016.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SUDHA, A.; SRINIVASA, P. Bioassay-guided isolation and antioxidant evaluation of flavonoid compound from aerial parts of *Lippia nodiflora* L. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, p. 1-10, 2014.
- TABARAKI, R., HEIDARIZADI, E., BENVIDI, A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 98, pp. 16–23, 2012.
- WAGNER, Hildebert; BLADT, Sabine. **Plant Drugs Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. Editora Springer, 2ª edição. Berlim, 2001, 368 p.