



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

LETÍCIA DE OLIVEIRA CARVALHO

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE
Eplingiella fruticosa HARLEY & PASTORE (LAMIACEAE) PERTENCENTE À FLORA
SERGIPANA

São Cristovão-SE
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

LETÍCIA DE OLIVEIRA CARVALHO

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE
Eplingiella fruticosa (HARLEY & PASTORE) LAMIACEAE PERTENCENTE À FLORA
SERGIPANA

Monografia apresentada no curso de
graduação à Universidade Federal de Sergipe,
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
Curso de Farmácia para conclusão do curso de
Farmácia.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientação: Prof. Dr. Marcelo Cavalcante
Duarte

São Cristovão-SE
2021

LETÍCIA DE OLIVEIRA CARVALHO

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE
Eplingiella fruticosa (HARLEY & PASTORE) LAMIACEAE PERTENCENTE À FLORA
SERGIPANA

Área de concentração: Ciências da Saúde/Farmácia.

Data da defesa: 05/07/2021

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Marcelo Cavalcante Duarte
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. _____

Tiago Branquinho Oliveira
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. _____

Vicente Carlos de Oliveira Costa
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. _____

Sumário

1. INTRODUÇÃO	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
2.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA LAMIACEAE	8
2.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO <i>Eplingiella</i> e ESPÉCIE <i>Eplingiella fruticosa</i>	9
3. OBJETIVOS.....	11
3.1. OBJETIVO GERAL	11
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
4. METODOLOGIA.....	12
4.1. ESTUDO FITOQUÍMICO	12
4.1.1. MATERIAL.....	12
4.1.2. PREPARAÇÃO DO EXTRATO	12
4.1.3. FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE <i>Eplingiella fruticosa</i>	12
4.1.4. FRACIONAMENTO EM COLUNA CROMATOGRÁFICA DE SÍLICA-GEL	13
4.2. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS	14
4.2.1. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	14
4.2.2. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
6. CONCLUSÃO	17
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluoxograma referente a obtenção do extrato etanólico bruto e seu fracionamento	13
Figura 2: Espectro de RMN – ^1H das frações 34-35 da fase clorofórmica em CDCl_3	16
Figura 3: Expansão do espectro de RMN - ^1H das frações 34-35 da fase clorofórmica em CDCl_3 na região de 0,5 a 1,45 ppm e estrutura química básica dos triterpenos.	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frações da fase clorofórmica obtidas pela mistura binária Hexano/AcoEt	14
Tabela 2: Frações da fase clorofórmica obtidas pela mistura binária AcoEt/MeOH	14

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcoEt – Acetato de etila

Ca²⁺ - Cálcio iônico

CC – Cromatografia em Coluna

CCDA – Cromatografia em Camada Delgada Analítica

C₆H₁₄ – Hexano

CDCl₃ - Clorofórmio deuterado

CHCl₃ - Clorofórmio

EEB – Extrato Etanólico Bruto

EM – Espectrometria de Massas

¹H - Hidrogênio

H₂O – Água

IV - Infravermelho

MeOH – Metanol

Na₂SO₄ – Sulfato de Sódio

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

UV – Ultravioleta

R.f. – Fator de retenção

RESUMO

É conhecida a relevância da fitoterapia na medicina popular, a comunidade utiliza-se de diversas espécies vegetais em preparações caseiras como infusões e decocções para atender suas necessidades terapêuticas. No estado de Sergipe, sabe-se da importância da espécie *Eplingiella fruticosa*, conhecida popularmente como “alecrim-do-campo” ou “alecrim-de-tabuleiro” no combate a dor. Tendo em vista o uso popular, há relatos na literatura comprovando atividades farmacológicas utilizando-se diferentes tipos de extratos do caule, folhas ou raízes dessa espécie, e do isolamento de duas novas substâncias utilizando-se técnicas espectroscópicas. A partir disso, o objetivo do estudo foi isolar e identificar os constituintes químicos das folhas de *E. fruticosa* presentes no extrato etanólico. Para isso, a partir da coleta e identificação do material vegetal, obteve-se o extrato etanólico bruto das folhas de *Eplingiella fruticosa*, para em seguida realizar o fracionamento obtendo-se as fases hexânica, clorofórmica e acetato de etila. A fase clorofórmica foi submetida ao fracionamento cromatográfico em coluna cromatográfica de Silica-Gel e as frações obtidas foram analisadas através de Ressonância Magnética Nuclear. No espectro das frações 34-35 da fase clorofórmica foi possível observar sinais característicos de esqueleto triterpênico que se confirma com um envelope de sinais na região de expansão em 0,5 a 1,45 ppm. Ao analisar os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio da fração selecionada, detectou-se a presença de moléculas do grupo dos triterpenos.

Palavras-chave: *Eplingiella fruticosa*; fracionamento; isolamento.

ABSTRACT

The relevance of phytotherapy in the folk medicine is well known, the community uses many vegetal species at their home preparations as infusions and decoctions in order to assist their therapeutic needs. In the state of Sergipe, it's known the importance of the species *Eplingiella fruticosa*, popularly known as "alecrim-do-campo" or "alecrim-de-tabuleiro", at the pain treatment. Owing to the popular use of this species, there are reports in the literature that testifies pharmacological activities related to different types of stem, leaf and roots extracts, and also that demonstrates the isolation of two new molecules using spectroscopic techniques. Owing to that, the objective of this work was to isolate and to identify the chemical constituents of the leaves of *E. fruticosa* present in its ethanol extract. To achieve that, from the collection and identification of the plant material, the ethanol extract of *E. fruticosa* was obtained, then, the chemical fractionation was performed and the hexane, chloroform and ethyl acetate phases were obtained. The chloroform phase was submitted to the chromatographic fractionation at silica gel chromatographic column and the fractions obtained were analyzed using Nuclear Magnetic Resonance. In the fractions 34-35 of the chloroform phase's spectrum was observed characteristic signs belonging to the triterpenes class, which were confirmed at the extension in the region of 0,5 to 1,45 ppm. Analyzing the nuclear magnetic resonance spectrums of the selected fractions it was detected the presence of triterpenes.

Key-words: *Eplingiella fruticosa*; fractionation; isolation.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais pelo ser humano para o tratamento de doenças remete ao período pré-histórico. O homem pré-histórico foi capaz de perceber o valor curativo, assim como o tóxico, das plantas através da observação do comportamento dos animais (Alves & Silva, 2003). Desde então, a utilização das plantas medicinais acompanha o desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental. O desenvolvimento da Medicina Tradicional Chinesa contribuiu amplamente na compreensão das propriedades terapêuticas das plantas, assim como, nos mecanismos de seus princípios ativos (Viegas *et al.*, 2006). Ao redor do mundo, a medicina tradicional continua sendo de grande importância. Segundo a OMS, em países em desenvolvimento, esta consiste em uma forma de tratamento acessível para a maior parte da população (Agra *et al.*, 2008).

No Brasil, a utilização de ervas medicinais é um costume amplamente utilizado principalmente pelas comunidades rurais. Tal costume é uma herança traçada pela história do país, onde o conhecimento tradicional indígena de utilização de plantas para fins medicinais, estéticos e religiosos foi mesclado às tradições trazidas pelos colonizadores europeus e população africana. Esse conhecimento é de valiosa importância para as mais diversas pesquisas na área de produtos naturais, sendo o ponto de partida para a descoberta das atividades biológicas dos compostos presentes nas plantas, assim como, para o isolamento e elucidação estrutural de tais compostos (Pio, *et al.*, 2019) (Viegas *et al.*, 2006).

A subárea da química orgânica que se dedica ao estudo de substâncias provenientes de plantas, microrganismos e animais marinhos é chamada de química de produtos naturais. Historicamente, um marco importante na busca pela utilização de produtos naturais na sua forma pura foi o isolamento da morfina, constituinte majoritário do ópio, em 1804, por Armand Séquin, na França. Sendo seguido em 1820, por Pelletier e Caventou, que isolaram a quinina, composto antimalárico, a partir de espécies de *Cinchona*. A partir de então diversos compostos de importância farmacológica foram isolados a partir das plantas. Entretanto, as substâncias naturais também podem ser utilizadas no processo de desenvolvimento de fármacos sintéticos. O principal marco foi a síntese do ácido acetilsalicílico a partir do ácido salicílico extraído da espécie *Salix alba* (Viegas *et al.*, 2006).

É conhecido que as comunidades pertencentes ao nordeste brasileiro, possuem uma vasta utilização de produtos naturais. Em estudo realizado por Agra *et al.*, na região Nordeste, foram encontradas 650 espécies, 407 gêneros e 111 famílias conhecidas pelos seus usos medicinais. Entretanto, a maior parte dessas espécies nunca foram estudadas, demonstrando uma vasta fonte de novas moléculas bioativas a serem descobertas (Agra *et al.*, 2008).

Uma das espécies catalogadas no estudo supracitado é a *Eplingiella fruticosa* (Harley & Pastore), pertencente à família Lamiaceae. Sendo conhecida no estado de Sergipe como alecrim do campo ou alecrim de vaqueiro, possui um uso popular bastante vasto, sendo a infusão de suas folhas

utilizadas pelas atividades analgésica, anti-inflamatória e anticonvulsivante (Franco *et al.*, 2011). Entretanto, estudos relacionados a composição química desta espécie são escassos.

Diante do exposto, o estudo tem como o objetivo a elucidação da composição química das folhas de *Eplingiella fruticosa* pertencente à flora sergipana, de forma a contribuir na classificação quimiotaxonômica da mesma e na descoberta de novas moléculas bioativas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA LAMIACEAE

Lamiaceae é a maior das famílias pertencentes à ordem Lamiales, possuindo cerca de 236 gêneros e 7.200 espécies, de distribuição quase cosmopolita. Possui ocorrência principalmente em savanas abertas e regiões montanhosas de clima temperado ao tropical (Harley *et al.* 2004) (SOUZA; LORENZI, 2012). Está dividida em 12 subfamílias: Ajugoideae Kostel, Lamioideae Harley, Nepetoideae (Dumort.) Luer., Prostantheroideae Luer., Scutellarioideae (Dumort.) Caruel, Symphorematoideae Briq., Viticoideae Briq., Callicarpoidae Bo Li & R.G. Olmstead e Tectonoideae Bo Li & R.G. Olmstead, Premnoideae Bo Li, Olmstead & Cantino, Peronematoideae Bo Li, Olmstead & Cantino e Cymaroideae Bo Li, Olmstead & Cantino (Li *et al.*, 2016) (Li e Olmstead, 2017). A maior delas é a Nepetoideae (Dumort.) Luer., a qual contém quase 50% dos gêneros e espécies da família Lamiaceae (Li *et al.*, 2016) (Li e Olmstead, 2017). No Brasil, estão presentes 46 gêneros e 597 espécies, dos quais 6 gêneros e 343 espécies são endêmicos (BFG, 2018).

As espécies dessa família se apresentam na forma de ervas, arbustos e subarbustos, sendo grande parte delas ricas em óleos essenciais e componentes aromáticos (SOUZA; LORENZI, 2012). Tais propriedades conferem importância econômica a estas espécies, sendo exploradas pelas indústrias de alimentos e cosméticos (Zellner *et al.*, 2009). São encontradas, também, na família, árvores madeireiras, como as do gênero *Tectona*, além de espécies cujo o néctar é responsável pela produção de mel de altíssima qualidade (Harley, 2012).

Popularmente, as espécies da família Lamiaceae possuem um vasto uso tanto na culinária como por suas propriedades medicinais. Algumas das espécies e gêneros de importância cultural no Brasil são: *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha* L. spp., *Thymus vulgaris* L., *Origanum* L. spp., *Satureja hortensis* L., *Monarda* L. spp., *Melissa officinalis* L., *Lavandula* L. spp., *Aeollanthus suaveolens* Mart. ex Spreng. (Harley, 2012).

Além do vasto uso popular, estudos farmacológicos demonstram o grande potencial terapêutico das espécies dessa família. Em revisão publicada por Chinsebu, Lamiaceae demonstrou ser a família com maior número de espécies com potencial inibidor da replicação do HIV-1 (Chinsebu, 2019). Por serem ricas em compostos fenólicos, tais como flavonas, foi demonstrado o potencial anti-Alzheimer das espécies *Origanum onites*, *Mentha piperita*,

Origanum majorana, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Melissa officinalis*, *Lavandula angustifolia* através da inibição da enzima glicogênio sintase quinase-3 β (Gürbüz *et al.*, 2019).

2.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO *Eplingiella* e ESPÉCIE *Eplingiella fruticosa*

O gênero *Eplingiella* Harley & Pastore é um novo gênero, o qual possui apenas 3 espécies descritas. Tais espécies possuem características arbustivas, com folhas pequenas e ligeiro xeromorfismo. *E. cuniloides* está restrita a habitats secos, geralmente arenosos e rochosos rasos do município de Morro do Chapéu, Bahia. *E. brightoniae*, espécie fortemente aromática, cresce em habitats secos, montanhosos e remotos dos municípios de Umburanas e Sento Sé, no norte da Bahia (Harley, 2014) (Harley *et al.*, 2017).

A espécie *Eplingiella fruticosa*, conhecida popularmente como “alecrim do campo” ou “alecrim de vaqueiro” no estado de Sergipe é um subarbusto não-cultivado, o qual cresce cerca 1,5 m, encontrado principalmente na costa do nordeste brasileiro (Santos *et al.*, 2007). Essa planta é vastamente comercializada em feiras livres dos municípios de Sergipe, onde a população utiliza a infusão de suas folhas como anti-inflamatório, analgésico e anticonvulsivante (Franco *et al.*, 2011).

Por ser uma espécie aromática são descritos estudos químicos e farmacológicos com o óleo essencial de *E. fruticosa*. Farmacologicamente, foram comprovadas as atividades: antinociceptiva periférica (Menezes *et al.*, 2007) e discreta antinocicepção central (Franco *et al.*, 2011), anti-hipertensiva, sendo sugerido o provável mecanismo de inibição de canais de Ca⁺² dependente de voltagem (Santos *et al.*, 2007), anti-hiperalgésica em modelo animal de dor muscular crônica não inflamatória, sendo esta atividade aumentada através da complexação do óleo com β -ciclodextrina (Melo *et al.*, 2020). Já foi descrita, também, importante atividade larvicida no controle de larvas do *Aedes aegypti* (Silva *et al.*, 2008), assim como, atividade formicida para a espécie *Acromyrmex balzani*, a qual é considerada bastante prejudicial para culturas agrícolas e de pastagem (Silva *et al.*, 2019). Em estudo referente à diversidade química do óleo essencial de diferentes amostras de *E. fruticosa* dos municípios de Sergipe, foi encontrada diferença significativa no teor de óleo essencial das amostras, sendo esta variabilidade relacionada a diferenças genéticas e ambientais. Assim como, os compostos: ciclogermacreno, espatulenol, β -cariofileno, 1,8-cineol, α -pineno, cânfora e óxido de cariofileno foram detectados como constituintes majoritários nas plantas provenientes dos municípios de Sergipe (Silva *et al.*, 2018).

Diversos estudos farmacológicos já foram feitos utilizando diferentes tipos de extratos de *Eplingiella fruticosa*. O efeito antinociceptivo visceral foi comprovado através do teste de contorções abdominais utilizando-se o extrato aquoso da espécie (Silva *et al.*, 2006). Já a atividade antinociceptiva sobre a dor orofacial relacionada ao mecanismo da inibição da via do glutamato, associada ao antagonismo de receptores do tipo vanilóides, assim como a capacidade de inibição do processo inflamatório pela neutralização de espécies reativas de oxigênio foi comprovada em estudo utilizando o extrato hidroalcóolico de *E. fruticosa*, onde foi detectada a presença de

compostos fenólicos e terpenos (Lima *et al.*, 2013). Em estudo utilizando o extrato etanólico da espécie, assim como suas fases $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$, AcoEt e MeOH/H₂O demonstrou a atividade anti-inflamatória dos mesmos através da inibição do edema de pata e migração celular induzidos por carragenina (Andrade *et al.*, 2010). Já o efeito vasorelaxante, pelo provável mecanismo de inibição de canais de Ca^{+2} dependentes de voltagem, foi comprovado em estudo utilizando o extrato de diclorometano (Moreira *et al.*, 2010). Existem poucos estudos químicos relacionados à espécie *E. fruticosa*, entretanto, foram isolados dois compostos do seu extrato metanólico: um diterpeno quinona 14-Metoxitaxodiona (MARLETTI *et al.*, 1976) e novo diterpeno denominado “Hyptol” (DELLE-MONACHE *et al.*, 1977) através da utilização de técnicas espectroscópicas, tais como Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Infravermelho (IV), Ultravioleta (UV) e espectrometria de massas (EM).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Isolar e identificar os constituintes químicos presentes no extrato etanólico das folhas de *Eplingiella fruticosa*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar constituintes químicos presentes no extrato etanólico das folhas de *E. fruticosa*;
- Identificar e elucidar as estruturas químicas dos compostos isolados, por técnicas espectroscópicas;
- Disponibilizar extrato, fases e frações para estudos farmacológicos;

4. METODOLOGIA

4.1. ESTUDO FITOQUÍMICO

4.1.1. MATERIAL VEGETAL

Folhas de *Eplingiella fruticosa* foram coletadas em 25/09/2017 no povoado Feijão, município de São Cristóvão, Sergipe (lat: -11.014722 long: -37.206389 WGS84 Altitude: 47m). A espécie foi identificada pela Profa. Dra. Marla Ibrahim Uehbe de Oliveira, botânica do Departamento de Biologia, Universidade Federal de Sergipe (DBI-UFS). Uma amostra voucher foi depositada no Herbário do DBI-UFS sob o número de registro ASE 39138. A espécie foi cadastrada no SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado), sob o número de cadastro A7E0EEF.

4.1.2. PREPARAÇÃO DO EXTRATO

As folhas foram secas à temperatura ambiente e trituradas em um moinho mecânico de facas tipo Willey, obtendo-se o pó seco (1,8 kg), o qual foi sujeito à extração por maceração com etanol 99,8% (7 litros) por um período de 72h, repetindo-se o ciclo 5 vezes. A solução extrativa obtida foi filtrada e concentrada em rotaevaporador, sob pressão reduzida, a uma temperatura média de 40 °C, obtendo-se o extrato bruto.

4.1.3. FRACIONAMENTO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE *Eplingiella fruticosa*

O extrato etanólico bruto foi suspenso em uma solução de Metanol/Água (7:3 v/v) e homogeneizado sob agitação mecânica à solubilização. A respectiva solução hidrometanólica foi submetida a uma partição líquido/líquido, em um funil de separação, sob agitação mecânica, utilizando solventes de polaridades crescentes, hexano, clorofórmio e acetato de etila, respectivamente, obtendo-se as fases: hexânica, clorofórmica e acetato de etila. As soluções obtidas nos processos de partição foram tratadas com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e filtradas. Após esse processo, os solventes foram concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40 °C.

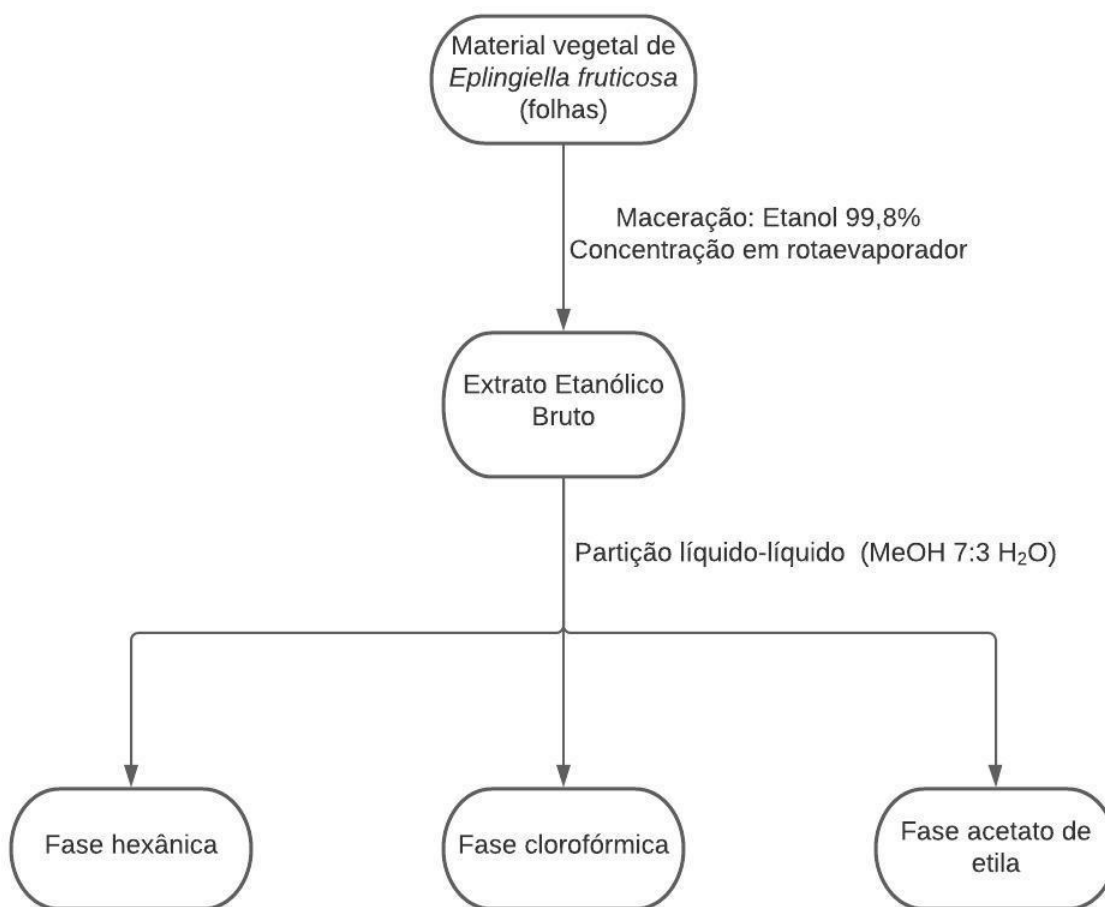


Figura 1. Fluorograma referente a obtenção do extrato etanólico bruto e seu fracionamento

4.1.4. FRACIONAMENTO EM COLUNA CROMATOGRÁFICA DE SÍLICA-GEL

A fase clorofórmica foi submetida à Cromatografia em Coluna. Para isso utilizou-se como fase estacionária sílica gel (ART 7734 da MERCK de partículas com dimensões entre 0,063 – 0,200 mm e 70 – 230 mesh). As amostras foram acondicionadas sobre o topo da coluna, procedendo-se então a eluição com os solventes comerciais hexano, AcoEt e MeOH puros ou em misturas binárias obtendo-se 77 frações da fase clorofórmica (Tabela 1), elas foram analisadas em cromatografia de camada delgada analítica (CCDA) e reunidas de acordo com os seus respectivos fatores de retenção (R.f).

Tabela 1. Frações da fase clorofórmica obtidas pela mistura binária Hexano/AcoEt

Hexano / AcoEt	Frações
100% / 0%	1 – 2
99% / 1%	3 – 5
97% / 3%	6 – 10
95% / 5%	11 – 15
90% / 10%	16 – 22
85% / 15%	23 – 29
80% / 20%	30 – 31
75% / 25%	32 – 36
70% / 30%	37 – 41
65% / 35%	42 – 46
60 % / 40%	47 – 49
50% / 50%	50 – 52
40% / 60%	53 – 56
30% / 70%	57 – 60
20% / 80%	61 – 65
10% / 90%	66 – 68
0% / 100%	69 – 71

Tabela 2. Frações da fase clorofórmica obtidas pela mistura binária AcoEt/MeOH

AcoEt / MeOH	Frações
100% / 0%	69 – 71
90% / 10%	72 – 74
80% / 20%	75 – 77

4.2. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

4.2.1. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

A Cromatografia em Camada Delgada Analítica foi empregada para análise das frações obtidas por CC. Para isto, foram usadas placas de vidro (10,0 x 20,0 cm e 20,0 x 20,0 cm) preparadas com uma suspensão de sílica gel PF₂₅₄ (ART 7749 da MERCK) em água destilada (1:2 m/v) distribuída sobre a placa de vidro com ajuda de um espalhador mecânico tipo *quick fit*, seguindo técnica descrita por Matos (1997). As cromatoplasas obtidas foram secas ao ar livre e ativadas em estufa a 100,0 °C durante duas horas.

A revelação das substâncias em CCDA foi executada pela exposição das cromatoplaças à lâmpada de radiação ultravioleta (UV) sob dois comprimentos de ondas, 254 e 365 nm, em aparelho MINERALIGHT (modelo UVGL-58).

Por CCDA, eram reunidas a partir da observação de fatores de retenção (R.f.) semelhantes. O grau de pureza foi determinado quando observada apenas uma mancha após revelação da cromatoplaça.

4.2.2. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em espectrômetros VARIAN modelo System operando a 500 MHz para hidrogênio (^1H). O solvente utilizado para dissolver as amostras foi clorofórmio deuterado (CDCl_3). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos sinais em RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duploduplete) e m (multiplete).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da extração do material vegetal pulverizado com etanol, obteve-se um rendimento de 16,78% de Extrato Etanólico Bruto (EEB). No espectro de RMN- ^1H das frações 34-35 da fase clorofórmica (Figura 2, pág. 16) foi possível observar sinais característicos de esqueleto triterpênico que se confirma com um envelope de sinais na região de expansão em 0,5 a 1,45 ppm (Figura 5, pág. 17).

A classe de compostos encontradas nesse estudo estão de acordo com o descrito na literatura para a mesma espécie, onde além de flavonóides em geral e triterpenos são descritos fenóis em geral, flavonas, flavononóis, taninos, saponinas, esteróides e xantonas (Lima *et al.*, 2013).

A detecção de triterpeno na fase clorofórmica está em consonância com a presença bem descrita de terpenóides na espécie. Os dois compostos já isolados a partir do extrato metanólico das raízes de *E. fruticosa* são, ambos, terpenóides: um diterpeno quinona, 14-Metoxitaxodiona (MARLETTI *et al.*, 1976) e um outro diterpeno denominado “Hyptol” (DELLE-MONACHE *et al.*, 1977).

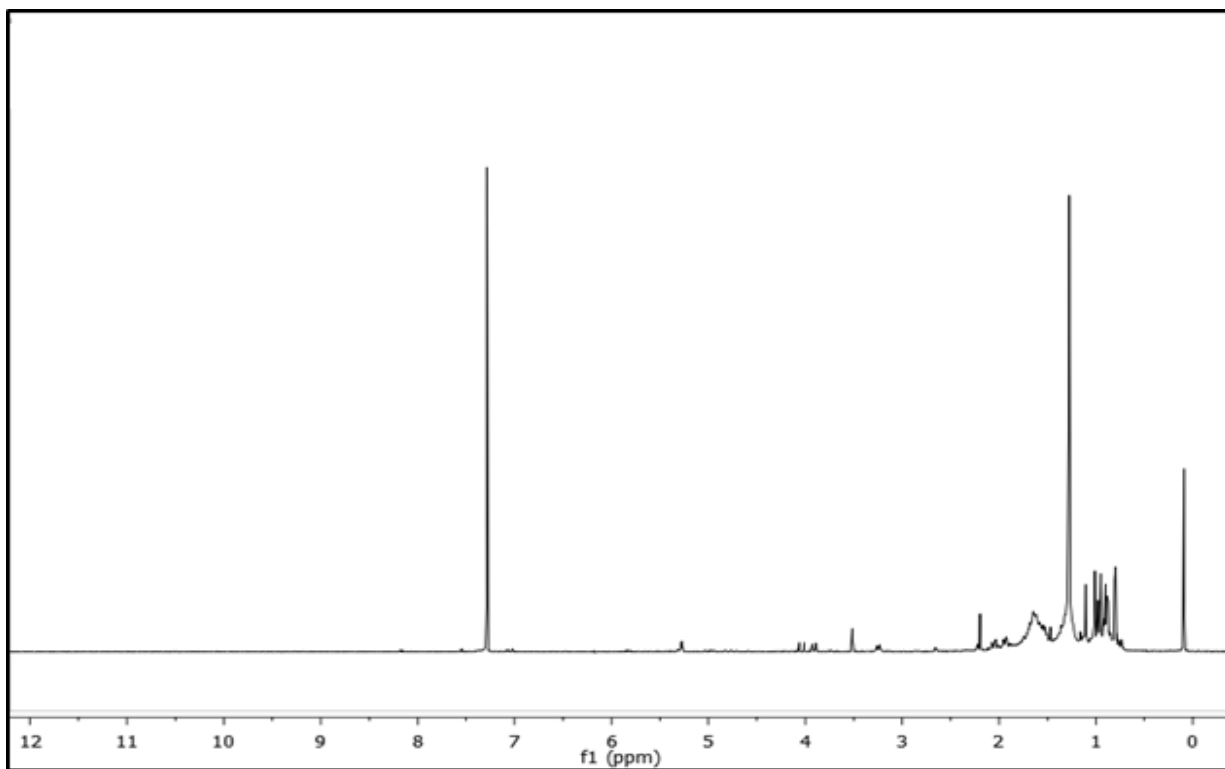


Figura 2. Espectro de RMN – ^1H das frações 34-35 da fase clorofórmica em CDCl_3

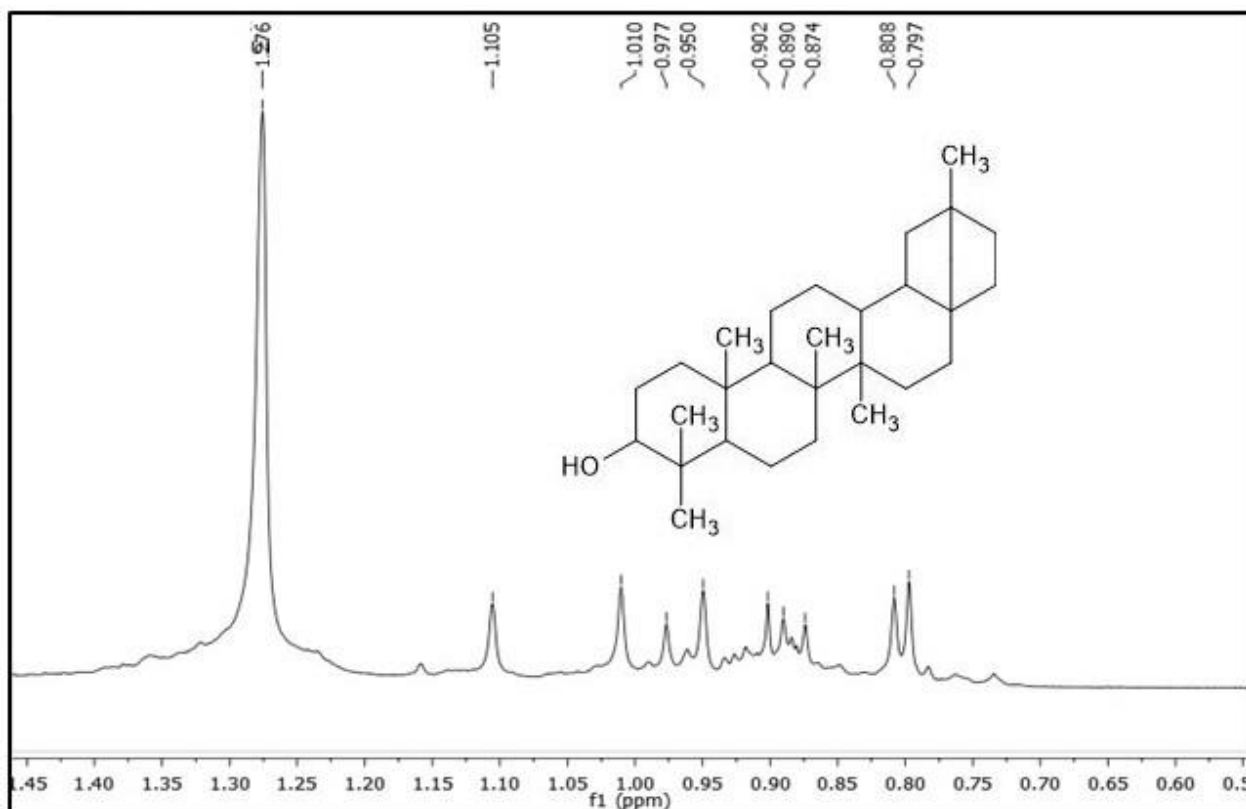


Figura 3. Expansão do espectro de RMN ^{-1}H das frações 34-35 da fase clorofórmica em CDCl_3 na região de 0,5 a 1,45 ppm e estrutura química básica dos triterpenos.

6. CONCLUSÃO

A partir da análise em Cromatografia em Camada Delgada Analítica das frações obtidas por Cromatografia em Coluna das fases clorofórmica e acetato de etila, pôde-se observar a partir dos R.f. obtidos um maior nível de pureza nas frações 34-35 da fase clorofórmica. Ao analisar os espectros de RMN ^{-1}H da mesma, detectou-se a presença de moléculas do grupo dos triterpenos.

A presença dessa classe de compostos na espécie estudada promove um direcionamento para futuros estudos farmacológicos *in vivo* ou *in vitro* utilizando o extrato etanólico bruto, fases, frações e compostos isolados. Além disso, fica-se a perspectiva para continuação do trabalho de isolamento e identificação dos constituintes químicos presentes na espécie, de forma a contribuir para a sua classificação quimiotaxonômica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, Maria de Fátima et al. Survey of medicinal plants used in the region northeast of Brazil. **Revista Brasileira De Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 478-508, set. 2008.
- ALVES, A. R.; SILVA, M. J. P. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. **Revista Escola De Enfermagem Da USP**, v. 37, n. 4, p. 85-91, jan. 2003.
- ANDRADE, A. M.; OLIVEIRA, J. P. R.; SANTOS, A. L. L. M.; FRANCO, C. R. P.; ANTONIOLLI, Â. R.; ESTEVAM, C. S.; THOMAZZI, S. M. Preliminary study on the anti-inflammatory and antioxidant activities of the leave extract of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 962–968, 2010.
- BFG. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 1513–1527, 2018.
- CHINSEMBU, K. C. Chemical diversity and activity profiles of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors from plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 4, p. 504–528, 2019.
- DELLE-MONACHE, F. et al. Diterpenoids of *Hyptis fruticosa* (Labiatae). II. *Hyptol*. *Gaz Chim Ital*, 1977.
- FRANCO, C. R. P. *et al.* Bioassay-guided evaluation of antinociceptive properties and chemical variability of the essential oil of *Hyptis fruticosa*. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 11, p. 1693–1699, 2011.
- GÜRBÜZ, P.; MARTINEZ, A.; PÉREZ, C.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, L.; GÖGER, F.; AYRAN, İ. Potential anti-Alzheimer effects of selected Lamiaceae plants through polypharmacology on glycogen synthase kinase-3 β , β -secretase, and casein kinase 1 δ . **Industrial Crops and Products**, v. 138, n. December 2018, 2019.
- HARLEY, R. M. Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon Abstract A checklist and keys are provided for Lamiaceae native to Brazilian Amazonia (eight genera and 42 species), excluding the genera *Vitex* , *Volkameria* , *Aegiphila* and. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 129–144, 2012.
- HARLEY, R. M. *Eplingiella brightoniae*, a new species of Hyptidinae (Lamiaceae: Ocimeae) from Northern Bahia, Brazil. **Kew Bulletin**, v. 69, n. 4, p. 1–5, 2014.
- HARLEY, R. M.; GIULIETTI, A. M.; ABREU, I. S.; BITENCOURT, C.; OLIVEIRA, F. F. DE; ENDRESS, P. K. Resupinate dimorphy, a novel pollination strategy in twolipped flowers of *eplingiella* (Lamiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 1, p. 102–107, 2017.

LI, B.; CANTINO, P. D.; OLMSTEAD, R. G.; BRAMLEY, G. L. C.; XIANG, C.; MA, Z.; TAN, Y.; ZHANG, D. A large-scale chloroplast phylogeny of the Lamiaceae sheds new light on its subfamilial classification. **Scientific Reports**, v. 6, n. 34343, p. 1–18, 2016.

LI, B. O.; OLMSTEAD, R. G. Two new subfamilies in Lamiaceae. **Phytotaxa**, v. 313, n. July, p. 222–226, 2017.

LIMA, A. C. B. D. *et al.* Orofacial antinociceptive effect and antioxidant properties of the hydroethanol extract of *Hyptis fruticosa* salmz ex Benth. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 1, p. 192–197, 2013.

MARLETTI, F. *et al.* Diterpenoid quinones of *Hyptis fruticosa* (Labiatae). *Gaz Chim Ital*, 1976.

MELO, A. J. O.; HEIMARTH, L.; CARVALHO, A. M. S.; QUINTANS, J. S. S.; SERAFINI, M. R.; ANTUNES, A. S. A.; ALVES, P. B.; RIBEIRO, A. M.; SHANMUGAM, S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; DUARTE, M.C. Eplingiella fruticosa (Lamiaceae) essential oil complexed with β -cyclodextrin improves its anti-hyperalgesic effect in a chronic widespread non-inflammatory muscle pain animal model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, n. September 2019, p. 3–9, 2020.

MENEZES, I. A. C.; MARQUES, M. S.; SANTOS, T. C.; DIAS, K. S.; SILVA, A. B. L.; MELLO, I. C. M.; LISBOA, A. C. C. D.; ALVES, P. B.; CAVALCANTI, S. C. H.; MARÇAL, R. M.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* in mice. **Fitoterapia**, v. 78, n. 3, p. 192–195, 2007.

MOREIRA, Í. J. A.; MORENO, M. P. N.; FERNANDES, M. F. G.; FERNANDES, J. B.; MOREIRA, F. V.; ANTONIOLLI, Â. R.; SANTOS, M. R. V. Vasorelaxant effect of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae, dichloromethane extract on rat mesenteric artery. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 762–765, 2010.

PIO, I. D.S.L. *et al.* Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the são francisco river, brazil and preliminary analysis of *rhapidodon echinus* (Lamiaceae). **Brazilian Journal Of Biology**, v. 79, n. 1, p. 87-99, fev. 2019

R.M., Harley. Libiatae. Flowering plants · dicotyledons. the families and genera of vascular plants. Springer, Berlin, Heidelberg, 2004. p. 167-275.

SANTOS, M. R. V.; CARVALHO, A. A.; MEDEIROS, I. A.; ALVES, P. B.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A. R. Cardiovascular effects of *Hyptis fruticosa* essential oil in rats. **Fitoterapia**, v. 78, n. 3, p. 186–191, 2007.

SILVA, A. B. L.; DIAS, K. S.; MARQUES, M. S.; MENEZES, I. A. C.; SANTOS, T. C.; MELLO, I. C. M.; LISBOA, A. C. C. D.; CAVALCANTI, S. C. H.; MARÇAL, R. M.; ANTONIOLLI, A.

R. Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso da *Hyptis fruticosa* Salmz. ex Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 475–479, 2006.

SILVA, D. C.; ARRIGONI-BLANK, M. DE F.; BACCI, L.; BLANK, A. F.; NUNES FARO, R. R.; OLIVEIRA PINTO, J. A.; GARCIA PEREIRA, K. L. Toxicity and behavioral alterations of essential oils of *Eplingiella fruticosa* genotypes and their major compounds to *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 116, n. November 2018, p. 181–187, 2019.

SILVA, D. C.; BLANK, A. F.; NIZIO, A. D. C.; SAMPAIO, T. S.; CESAR, P. Chemical diversity of essential oils from native populations of *Eplingiella fruticosa* Plant material. p. 205–214, 2018.

SILVA, W. J.; DÓRIA, G. A. A.; MAIA, R. T.; NUNES, R. S.; CARVALHO, G. A.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. H. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 8, p. 3251–3255, 2008.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil em APG III**. 3º Ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2012. 644 p. ISBN 978-85-86714-39-9.

VIEGAS, C.; BOLZANI, S.; QUÍMICA, I. DE; ESTADUAL, U.; JULIO, P.; FILHO, D. M.; SP, A.; BARREIRO, E. J. OS PRODUTOS NATURAIS E A QUÍMICA MEDICINAL MODERNA. v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.

ZELLNER, B. D.; AMORIM, A. C. L.; MIRANDA, A. L. P. DE; ALVES, R. J. V.; BARBOSA, J. P.; COSTA, G. L. DA; REZENDE, C. M. Screening of the odour-activity and bioactivity of the essential oils of leaves and flowers of *Hyptis passerina* Mart. from the Brazilian Cerrado. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 322–332, 2009.