

# INVESTIGAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA *HYPTIS LEUCOCEPHALA* CULTIVADA

**Lorena Assis Silva<sup>1</sup> ; Tereza Simonne Mascarenhas Santos<sup>2</sup> ; Angélica Maria Lucchese<sup>3</sup>**

1. Universidade Estadual de Feira de Santana - Bolsista FAPESB - Graduando em Ciências Farmacêuticas, e-mail: [lorenassis@hotmail.com](mailto:lorenassis@hotmail.com)
2. Universidade Estadual de Feira de Santana- Orientador- Departamento de Exatas- e-mail: [Tereza.simonne@gmail.com](mailto:Tereza.simonne@gmail.com)
3. Universidade Estadual de Feira de Santana- Co-orientador- Departamento de Exatas- e-mail: [angélica.lucchese@gmail.com](mailto:angélica.lucchese@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** composição química, antioxidante, compostos fenólicos.

## INTRODUÇÃO

A *Hyptis leucocephala* é uma espécie endêmica do bioma caatinga, sendo um arbusto aromático que cresce em solos seco na região do semi-árido (BAUER; KIRB, 1966 apud CASTANHA, et al, 2009). A família Lamiaceae, a qual pertence a espécie em estudo, apresenta uma grande variedade de classes de micromoléculas, com representantes da via do ácido acético, ácido chiquímico e de biossíntese mista (MENEZES, 1994).

Atualmente o interesse no estudo desses compostos tem aumentado muito, devido principalmente à habilidade destas em sequestrar radicais livres, os quais são prejudiciais a saúde humana (DORMAN et al., 2003). Os radicais de oxigênio e o ânion superóxido têm um papel importante nas reações bioquímicas do corpo humano, no entanto, se houver produção excessiva desses radicais durante os processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais e não existirem antioxidantes disponíveis *in vivo*, podem ocorrer doenças e danos em tecidos. Nos últimos anos evidências têm indicado o papel desses radicais na indução de doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais (ATOUI et al., 2005).

Antioxidantes naturais têm ganhado crescente interesse entre os consumidores e a comunidade científica (OLIVEIRA, 2005). Os flavonóides constituem o maior grupo dentro dos compostos fenólicos e são importantes pelas diversas atividades sobre o sistema biológico, em particular sobre o sistema cardiovascular e pela ação antioxidante (ARAÚJO et al., 2005). Zuanazzi e Montanha (2004) descrevem que alguns medicamentos são elaborados a partir de flavonóides, em particular para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator da vitamina C. Outros flavonóides são responsáveis por uma ação antitumoral considerável, podendo agir como antivirais, anti-hemorrágicos, hormonais, antiinflamatórios, antimicrobianos e antioxidante.

Desta forma, esta pesquisa baseia-se no potencial terapêutico do gênero *Hyptis* já descrito na literatura, buscando analisar sua atividade antioxidante através de fundamentos teórico e técnicas laboratoriais. A determinação da composição química desta espécie, bem como a verificação de suas atividades biológicas, poderão levar a indicação de uma alternativa terapêutica contribuindo para a saúde da população, além de possuir elevado potencial econômico para a região do semi-árido.

## METODOLOGIA

a) Preparação dos extratos metanólicos - A espécie foi cultivada no Horto da UEFS, sob condições controladas, coletada e seca à temperatura ambiente. Após a colheita, a parte aérea da planta foi triturada e sofreu maceração usando-se o metanol como solvente, o qual foi removido por destilação a pressão reduzida com auxílio de um evaporador rotatório, a 40-45 ° C para obtenção dos extratos metanólicos brutos.

b) Preparação das frações em hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol - Realizou-se a técnica de partição líquido-líquido com o extrato metanólico obtido e ressuspenso em metanol e água, usando-se 4 solventes distintos de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol).

c) Análise por cromatografia em camada delgada – A presença dos constituintes foi detectada através de perfis cromatográficos, utilizando cromatoplasmas com indicador de fluorescência ativadas em estufa, que foram eluídas em cubas cromatográficas, secas e visualizadas em luz UV-254 nm, posteriormente sendo reveladas com Reagente Anisalaldeído-Ácido Sulfúrico, Reagente Dragendorff com Ácido Clorídrico, Reagente Liebermann-Burchard, Reagente Hidróxido de Potássio e Reagente Produtos Naturais-Polietilenoglicol .

d) Determinação do conteúdo de Fenólicos Totais: usou-se o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Para tal, construiu-se uma curva de analítica usando-se o ácido gálico como padrão, em diferentes concentrações a partir de uma solução metanólica.

- Protocolo para a leitura da absorbância: tomou-se uma alíquota de 100 µL e transferiu-se para um balão volumétrico de 5 mL. Adicionou-se 1 mL de água ultra-pura e posteriormente 200 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. O conteúdo do balão foi homogeneizado e deixado em repouso por 5 minutos. Passado o período colocou-se na mistura 600 µL de uma solução de carbonato de sódio a 20% (p/v) e homogeneizou-se novamente. O volume final da solução foi ajustado para 5 mL com água ultra-pura.

A leitura da absorbância das amostras foi feita 90 minutos depois de terem sido preparadas, a 750 nm, em espectrofotômetro. A curva foi feita com o auxílio do programa Excel 2010, o qual possibilitou a obtenção da equação da reta e o coeficiente de correlação.

e) Determinação do teor de flavonóides totais: usou-se a espectrofotometria no UV-VIS, utilizando-se o cloreto de alumínio para possibilitar a quantificação e quercetina tri-hidratada como padrão. A solução padrão de quercetina teve concentração de 1000 µg/mL. A partir desta solução, foram feitas outras soluções em diferentes concentrações, para construir a curva analítica. As concentrações usadas foram: 1,5 µg/mL, 3 µg/mL, 6 µg/mL, 9 µg/mL, 12 µg/mL, 15 µg/mL e 18 µg/mL.

- Protocolo para a leitura das absorbâncias: usou-se uma alíquota de 1,5 mL de cada solução e transferiu-a para um balão volumétrico de 5 mL. Em seguida adicionou-se 100 µL de solução metanólica de cloreto de alumínio 5%, e ajustou-se o volume do balão com solução de ácido acético 5%. Decorrido 30 minutos, foi feita a leitura da absorbância a 425nm. O gráfico foi feito com o auxílio do programa Excel 2010, o qual possibilitou o ajuste linear dos pontos da curva, bem como a equação da reta e o coeficiente de correlação.

Para cada extrato tomaram-se 3 amostras de 0,01 g, visto que o ensaio foi realizado em triplicata e seguiu-se o mesmo protocolo para a leitura das

amostras do padrão de quercetina. Os resultados obtidos foram expressos por mg de EQ (equivalente de quercetina) por g de extrato (mg EQ/g).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa do material coletado e triturado obtido foi 2,6 kg, o qual resultou em 120,1 g de extrato metanólico, ou seja, um teor extrativo de 4,6%. Para realizar-se a partição líquido-líquido utilizou-se 68,4 g do extrato metanólico. De acordo com esta técnica obtiveram-se amostras para avaliação da sua composição, como exposto na tabela abaixo:

**Tabela 01-** Rendimento dos extratos provenientes da partição

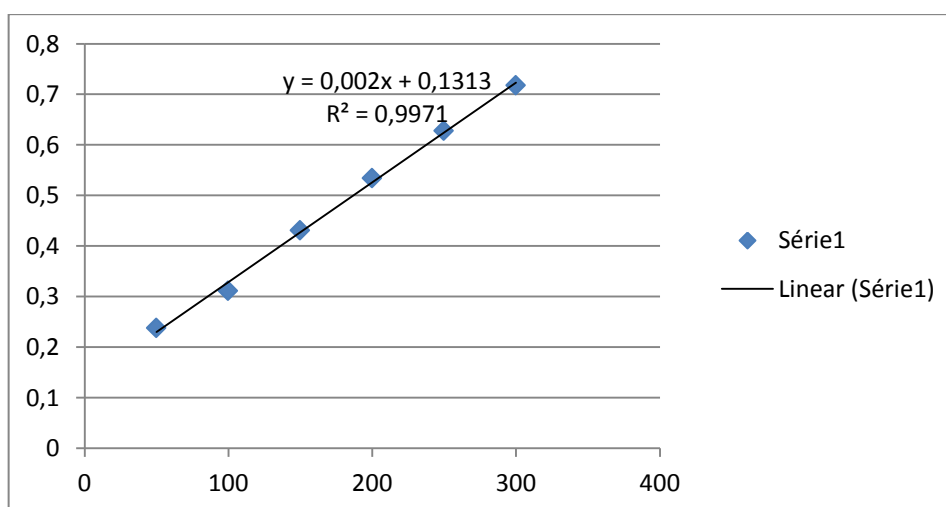
Solvente usado na partição	Massa do extrato obtido (g)	Teor de extrativos
Hexano	7,57	11,06%
Diclorometano	8,06	11,78%
Acetato de etila	2,79	4,07%
Butanol	1,21	1,76%
Fração aquosa <sup>1</sup>	--	--

<sup>1</sup> Amostra aguardando processo de liofilização.

Com os extratos das respectivas frações, para se verificar o perfil químico, e visando estudos posteriores de isolamento dos constituintes, a determinação das classes de metabólitos presentes nas mesmas foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando-se reveladores

A presença de flavonóides, terpenos e esteróides foi detectada em todas as frações, mas em nenhuma das amostras metabólitos das classes de cumarinas e alcaloides foram verificados. Com a presença de flavonóides e compostos fenólicos em todas as frações realizadas, foram iniciados testes para a determinação do teor de tais compostos nas frações e no extrato bruto da *Hyptis leucocephala*, visando a caracterização deste extrato e frações.

Para obter-se a equação da reta e o coeficiente de correlação, e assim calcular o teor de tais componentes nos extratos em análise, fizeram-se curvas de calibração de diferentes concentrações de padrão.



**Figura 01-** Curva padrão de ácido gálico

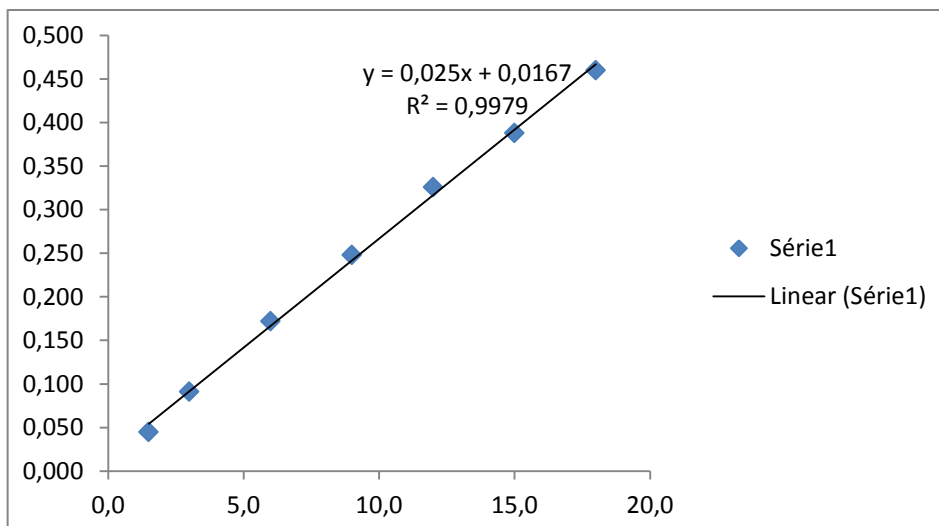


Figura 02- Curva padrão para flavonóides (quercetina)

O conteúdo total de flavonoides foi calculado a partir das curvas de calibração e os seguintes valores foram obtidos para cada uma das repetições: 11,70 µg EA/g extrato, 12,20 µg EA/g extrato e 12,12 µg EA/g extrato, com média de  $12,2 \pm 0,27$ . O desvio padrão calculado entre as amostras foi 0,27, tratando-se de um valor relativamente baixo, indicando uma pequena variação na amostragem realizada.

A análise para as soluções das frações em hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol estão em andamento, bem como análise de fenólicos.

Considerando que substâncias como os compostos fenólicos podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra os riscos de muitos processos patológicos e exercem atividade antioxidante, os resultados obtidos estimulam a continuidade dos estudos para avaliar a ação antioxidante dos extratos, frações e substâncias isoladas da espécie em estudo. Esta investigação pode também colaborar com a valorização do bioma caatinga e conservação do mesmo, já que a *H. leucocephala* é endêmica do semi-árido.

## REFERÊNCIAS

- ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89, p. 27-36, 2005.
- CASTANHA, RF et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Hyptis leucocephala*. VI Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, Embrapa Meio Ambiente, São Paulo, 2009.
- DORMAN, HJD et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extract from *Mentha* species, Hybrids, Varieties and Cultivars. **Journal of Agricultural and food Chemistry**. Washington, 2003.
- MENEZES, F. S. Base química de tendências filogenéticas em Lamiiflorae. Tese de Mestrado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1994.
- OLIVEIRA, F; AKISUE, G. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- ZUANAZZI, J.A.S., MONTANHA, J.A., 2004. Flavonóides. In: Simões C.M.O., Schenkel E.P., Gosmann G., Melo J.C.P., Mentz L.A., Petrovick P.R. (orgs). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, p. 577-614.