



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Estudo Químico das Folhas de *Lantana macrophylla* Schauer  
(Verbenacea)**

**IAGO MACIEL DA SILVA**

**Ilhéus - BA  
Março de 2017**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**IAGO MACIEL DA SILVA**

**Estudo Químico das Folhas de *Lantana macrophylla* Schauer  
(Verbenacea)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Santa Cruz, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química.

Área de concentração: Recursos Naturais e Tecnologia.

Orientador:

Prof. Dr. Fernando Faustino de Oliveira

Coorientadora:

Prof<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosilene Aparecida de Oliveira

**Ilhéus - BA  
Março de 2017**

S586 Silva, Iago Maciel da.  
Estudo químico das folhas de *Lantana macrophylla* Shauer  
(Verbenaceae) / Iago Maciel da Silva. – Ilhéus : UESC, 2017.  
121f. : il.  
Orientador : Fernando Faustino de Oliveira.  
Coorientadora : Rosilene Aparecida de Oliveira.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa  
Cruz. Programa de Pós-graduação em Química.  
Inclui referências.

Plantas medicinais. 2. Fitoquímica. 3. Química farma-  
cêutica. 4. Óleos essenciais. 5. Verbenaceae. I. Oliveira, Fernan-  
do Faustino de. II. Oliveira, Rosilene Aparecida de. III. Título.

CDD – 581.634

IAGO MACIEL DA SILVA

ESTUDO QUÍMICO DAS FOLHAS DE *Lantana macrophylla*  
SCHAUER (VERBENACEAE)

Ilhéus-BA, Ilhéus, 10 de março de 2017.

COMISSÃO EXAMINADORA:



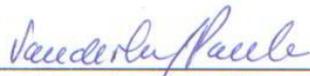
---

Prof(a). Dr. Fernando Faustino de Oliveira  
Doutor em Química - UFMG  
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC  
Orientador(a)



---

Prof(a). Dra. Carla Fernanda Fávaro (UESC)  
Doutora em Química - UFPR  
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC



---

Prof(a). Dra. Vanderlúcia Fonseca de Paula (UESB)  
Doutora em Ciências - UFMG  
Universidade do Sudoeste da Bahia - UESB

## RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico das folhas da espécie vegetal *Lantana macrophylla* (Verbenacea), endêmica nas regiões costeiras do sul da Bahia. O extrato etanólico das folhas de *L. macrophylla* foi obtido por maceração exaustiva com solvente orgânico e o óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. O extrato etanólico foi fracionado em coluna cromatográfica utilizando sílica-gel (60-200 mesh) e eluída com solventes de polaridade crescentes. O tratamento químico adequado aos grupos de frações obtidas permitiram o isolamento e identificação dos fitoesteróis  $\beta$ -sitosterol e  $\beta$ -sitosterol-O-D-glicosídeo, da flavona hispidulina (4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona), além de duas misturas de óleos, a primeira rica do monoterpene geraniol e a segunda do sesquiterpene (*E*)-nerolidol. A caracterização estrutural de todos os compostos isolados foi possível através da utilização das técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ultravioleta (UV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) uni e bidimensional. A análise por CG-EM do óleo essencial revelou a presença de mono (75,2%) e sesquiterpenos (22,9%) com rendimento médio de  $3,43 \pm 0,11\%$  (m/m). Dentre os nove constituintes identificados os majoritários foram os monoterpenos acetato de geranila (50,5%) e geraniol (18,5%) e o sesquiterpene (*E*)-nerolidol (20,2%). A avaliação de toxicidade frente à *Artemia salina* apresentou toxicidade moderada tanto para o extrato etanólico ( $CL_{50}$  399,66  $\mu$ g/mL) quanto para o óleo essencial ( $CL_{50}$  248,44  $\mu$ g/mL). No teste antimicrobiano realizado, o extrato etanólico e as substâncias isoladas geraniol e hispidulina apresentaram resultado positivo de inibição contra a bactéria *Staphylococcus epidermidis*.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus epidermidis*, fitoesteróis, óleos essenciais, hispidulina.

## ABSTRACT

This work presents the chemical study of the leaves of the plant species *L. macrophylla* (Verbenaceae) endemic in the coastland of southern Bahia. The ethanolic extract of *L. macrophylla* leaves was obtained by maceration with organic solvent and the essential oil was obtained by hydrodistillation using a Clevenger apparatus. The ethanolic extract was fractionated by chromatography column using silica gel (60-200 mesh) and eluted with increasing polarity solvents. The appropriate chemical treatment in the groups of fractions obtained led to isolation and identification of the phytosterols  $\beta$ -sitosterol and  $\beta$ -sitosterol-*O*-D-glucoside, the flavone hispidulin (4',5,7-trihydroxy-6-methoxyflavone), besides two mixtures of oils, the first one rich of the geraniol monoterpene and the second rich of the (*E*)-nerolidol sesquiterpene. The structural characterization of all the isolated compounds was possible using the spectroscopy techniques of infrared (IR), ultraviolet (UV/Vis) and single and bi dimensional Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The essential oil analyzed by GC-MS, revealed the presence of mono (75,2%) and sesquiterpenes (22,9%) with a yield of  $3,43 \pm 0,11\%$  (m/m). Among the nine identified constituents, the majority ones were the monoterpenes geranyl acetate (48,5 %) and geraniol (18,5%) and the sesquiterpene (*E*)-nerolidol (20,2%). The Brine shrimp toxicity assay presented moderate toxicity for both ethanolic extract ( $LC_{50}$  399,66  $\mu$ g/mL) and essential oil ( $LC_{50}$  248,44  $\mu$ g/mL). In the antimicrobial assay, the ethanolic extract and the isolated substances geraniol and hispidulin presented positive inhibition results against the bacteria *Staphylococcus epidermidis*.

**Keywords:** *Staphylococcus epidermidis*, phytosterols, essential oils, hispidulin.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade da vida.

À minha família, especialmente aos meus pais Maria Delza e Silvano Silva pelo incondicional apoio e pela educação;

Ao Prof. Dr. Fernando Faustino de Oliveira pela orientação, paciência, disponibilidade e ensinamentos que permitiram a concretização deste trabalho;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosilene Aparecida de Oliveira pela co-orientação e apoio na elaboração deste trabalho;

A Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, pela infraestrutura e todo suporte técnico e científico disponibilizados;

Ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQUIM) por viabilizar a execução da pesquisa;

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos;

Aos professores de graduação que marcaram a minha formação inicial: Jane Geralda, Wendel Menezes, Daniel Vieira (*in memoriam*), Daniel Magalhães e Francineide Jesus;

Aos colegas do Laboratório de Produtos Naturais e Síntese Orgânica da UESC (LPPNS): Rândilla Cordeiro, Gabriel Amaral, Wellington Lima, Hemerson Dantas, Manoel Linhares, Luhyris Nascimento, Thiago França e Rafaela Oliveira.

Aos amigos Ednailton Santos, Analu Reis, Analu Rocha e Ronaldo Carvalho por todo apoio e atenção durante essa caminhada;

À Dr.<sup>a</sup> Ivana Silva Lula do Laboratório de RMN de Alta Resolução (LAREMAR) do Instituto de Química da Universidade Federal de Minas Gerais pela obtenção dos espectros de RMN;

Ao Laboratório de Biologia de Fungos (LBF) e ao Laboratório de Pesquisa do Grupo Bioenergia e Meio Ambiente (BIOMA) pelas análises no infravermelho;

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Aline Oliveira Conceição do Laboratório de Micologia da UESC pelo apoio na realização de testes biológicos.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1. Plantas medicinais e aspectos fitoquímicos.....	16
2.2. Família Verbenacea.....	18
2.3. O gênero <i>Lantana</i> .....	20
2.4. Óleos essenciais.....	27
2.4.1. Óleos essenciais de espécies do gênero <i>Lantana</i> .....	29
3. OBJETIVOS.....	31
3.1. Objetivo geral.....	31
3.2. Objetivos específicos.....	31
4. METODOLOGIA.....	32
4.1. Materiais.....	32
4.1.1. Solventes.....	32
4.1.2. Suporte para cromatografia.....	32
4.1.3. Reveladores empregados.....	32
4.1.4. Reações e caracterização de reagentes e produtos.....	32
4.2. Equipamentos.....	33
4.3. Coleta e identificação do material vegetal.....	33
4.4. Obtenção do óleo essencial das folhas secas de <i>L. macrophylla</i> .....	34
4.5. Análise da composição química do óleo essencial.....	35
4.6. Isolamento de metabólitos secundários de <i>L. macrophylla</i> .....	35
4.6.1. Preparo e fracionamento do extrato etanólico das folhas.....	35
4.6.2. Agrupamento de frações e estudo químico dos grupos.....	36
i. Grupos LmFE-1 a 3 (frações 01-14).....	37
ii. Grupos LmFE-4 e LmFE-6 (frações 15-23).....	37
iii. Grupo LmFE-7 (frações 24-26).....	37
iv. Grupo LmFE-8 (frações 27-29).....	38
v. Grupo LmFE-14 (frações 54 e 60).....	38
vi. Grupo LmFE-15 (frações 61-66).....	39
4.6.3. Procedimento de transesterificação dos grupos LmFE-1 a 3.....	41
4.7. Testes biológicos.....	42

4.7.1. Teste de letalidade utilizando <i>Artemia salina</i> .....	42
4.7.2. Avaliação atividade antibacteriana frente à <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	42
4.7.3. Determinação da atividade antioxidante .....	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
5.1. Composição química do óleo essencial de <i>L. macrophylla</i> .....	45
5.2. Atividade antioxidante do extrato etanólico LmFE.....	48
5.3. Testes biológicos.....	49
5.3.1. Teste de letalidade utilizando <i>Artemia salina</i> .....	49
i. Extrato etanólico LmFE.....	49
ii. Óleo essencial .....	49
5.3.2. Atividade antibacteriana frente à <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	50
5.4. Ácidos graxos identificados nos grupos LmFE-1 a 3.....	50
5.4.1. LmFE-1 (frações 01-04).....	50
5.4.2. LmFE-2 (frações 05-11).....	52
5.4.3. LmFE-3 (frações 12-14).....	54
5.5. Identificação dos compostos isolados de <i>L. macrophylla</i> .....	56
5.5.1. LmFE-4.1: Mistura de óleos rica em ( <i>E</i> )-nerolidol .....	56
5.5.2. LmFE-6.1: Mistura de óleos rica em geraniol.....	64
5.5.3. LmFE-7.1: Ácido graxo de cadeia saturada .....	71
5.5.4. LmFE-7.2: $\beta$ -sitosterol.....	76
5.5.5. LmFE-14.1: hispidulina (4',5,7-trihidroxí-6-metoxiflavona) .....	86
5.5.6. LmFE-15,1: $\beta$ -sitosterol-O- $\beta$ -D-glicosídeo.....	100
5.6. Constantes físicas e dados espectroscópicos das substâncias isoladas de <i>L. macrophylla</i> .....	111
6. CONCLUSÕES.....	114
7. REFERÊNCIAS .....	115

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica da família Verbenacea no mundo.....	18
Figura 2. Distribuição geográfica da família Verbenacea no Brasil.....	19
Figura 3. Inflorescências da espécie <i>Lantana camara</i> . ....	20
Figura 4. Distribuição geográfica do gênero <i>Lantana</i> no Brasil. ....	21
Figura 5. Fórmulas estruturais dos metabólitos comumente encontrados majoritariamente nas folhas de espécies do gênero <i>Lantana</i> . ....	30
Figura 6. Inflorescências de <i>L. macrophylla</i> . ....	34
Figura 7. Local de coleta (Fonte: Google Maps) e inflorescências de <i>L. macrophylla</i> . ....	34
Figura 8. Cromatograma (CG-DIC) do óleo essencial de <i>L. macrophylla</i> . ....	45
Figura 9. Fórmulas estruturais dos componentes identificados no óleo essencial de <i>L. macrophylla</i> . ....	47
Figura 10. Atividade de sequestro de radicais livres (% SRL) entre o DPPH e o extrato LmFE. ....	48
Figura 11. Espectro de infravermelho (KBr) obtido de LmFE-1. ....	51
Figura 12. Cromatograma (DIC) dos ésteres metílicos obtidos após transesterificação de LmFE-1. ....	52
Figura 13. Espectro na região do infravermelho (filme líquido) obtido de LmFE-2. ....	53
Figura 14. Cromatograma (DIC) dos ésteres metílicos obtidos após transesterificação de LmFE-2. ....	54
Figura 15. Espectro na região do infravermelho (KBr) obtido de LmFE-3. ....	55
Figura 16. Cromatograma (CG-DIC) de LmFE-4.1. ....	56
Figura 17. Estrutura do ( <i>E</i> )-nerolidol. ....	58
Figura 18. Espectro na região do infravermelho de LmFE-4.1 (em KBr). ....	59
Figura 19. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-4.1. ....	60
Figura 20. Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-4.1 na faixa δ 5.3 - 5,0 ppm. ....	61
Figura 21. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-4.1. ....	62
Figura 22. Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT-135 (100MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-4.1. ....	63

Figura 23. Cromatograma (CG-DIC) de LmFE-6.1.....	64
Figura 24. Estrutura do geraniol.....	65
Figura 25. Espectro na região do infravermelho de LmFE-6.1 (em KBr). ....	66
Figura 26. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-6.1. ....	67
Figura 27. Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H de LmFE-6.1 na região δ 5.56-4.03 ppm. ....	68
Figura 28. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-6.1.....	69
Figura 29. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-6.1.....	70
Figura 30. Espectro na região do infravermelho de LmFE-7.1 (em KBr). ....	72
Figura 31. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-7.1.....	73
Figura 32. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-7.1. ....	74
Figura 33. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , CDCl <sub>3</sub> ) de LmFE-7.1.....	75
Figura 34. Correlações <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C observadas no espectro HMBC de LmFE-7.2. ....	77
Figura 35. Estrutura do β-sitosterol. ....	77
Figura 36. Espectro na região do infravermelho de LmFE-7.2 (em KBr). ....	79
Figura 37. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> CDCl <sub>3</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-7.2.80	
Figura 38. Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , CDCl <sub>3</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-7.2. .....	81
Figura 39. Ampliação do espectro de RMN de <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , CDCl <sub>3</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-7.2 na região δ 74 a 6 ppm.....	82
Figura 40. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , CDCl <sub>3</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-7.2.....	83
Figura 41. Espectro de RMN HSQC da correlação <sup>1</sup> H - <sup>13</sup> C de LmFE-7.2.....	84
Figura 42. Espectro de RMN HMBC da correlação <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C de LmFE-7.2. ....	85
Figura 43. Correlações <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C HMBC ( → ) e COSY ( — ) de LmFE-14.1. ....	87
Figura 44. Estrutura da 4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona (hispidulina).....	88
Figura 45. Espectro na região do infravermelho (KBr) de LmFE-14.1. ....	89
Figura 46. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1 em MeOH.....	90
Figura 47. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1. Curva vermelha: Espectro em MeOH; Curva rosa: Espectro em MeOH + NaOH; Curva azul: Espectro em MeOH + NaOH + HCl.	90

Figura 48. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1. Curva vermelha: Espectro em MeOH; Curva rosa: Espectro em MeOH + AcONa; Curva azul: Espectro em MeOH + AcONa + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> . .....	91
Figura 49. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1. Curva vermelha: Espectro em MeOH; Curva rosa: Espectro em MeOH + AlCl <sub>3</sub> ; Curva azul: Espectro em MeOH + AlCl <sub>3</sub> + HCl. ....	91
Figura 50. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de LmFE-14.1. ....	92
Figura 51. Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de LmFE-14.1 na região δ 8,01-6,45 ppm.....	93
Figura 52. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de LmFE-14.1.....	94
Figura 53. Ampliação do espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de LmFE-14.1 na região δ 169,0 - 88,5 ppm.....	95
Figura 54. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de LmFE-14.1. ....	96
Figura 55. Espectro de RMN HSQC da correlação <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C de LmFE-14.1.....	97
Figura 56. Espectro de RMN HMBC da correlação <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C de LmFE-14.1.....	98
Figura 57. Espectro de RMN COSY da correlação <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H de LmFE-14.1. ....	99
Figura 58. Correlações <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C HMBC ( → ) e COSY ( — ) de LmFE-15.1. ....	101
Figura 59. Estrutura do β-sitosterol-O-β-D-glicosídeo. ....	101
Figura 60. Espectro na região do infravermelho (em KBr) de LmFE-15.1 .....	103
Figura 61. Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-15.1.....	104
Figura 62. Espectro do espectro de RMN de <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de LmFE-15.1.....	105
Figura 63. Ampliação do espectro de RMN de <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-15.1.....	106
Figura 64. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> e piridina- <i>d</i> <sub>5</sub> ) de LmFE-15.1. ....	107
Figura 65. Espectro de RMN HSQC da correlação <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C de LmFE-15.1.....	108
Figura 66. Espectro de RMN HMBC da correlação <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C de LmFE-15.1.....	109
Figura 67. Espectro de RMN COSY da correlação <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H de LmFE-15.1. ....	110

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais constituintes fixos isolados ou identificados em espécies do gênero <i>Lantana</i> publicados nos últimos dez anos.....	22
Tabela 2. Eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico de extrato etanólico (LmFE) e frações coletadas.....	36
Tabela 3. Grupos obtidos após análise por CCD de frações provenientes de LmFE. ....	37
Tabela 4. Sistema de gradiente de solventes utilizado na separação cromatográfica da subfração de LmFE-14. ....	38
Tabela 5. Composição química dos componentes do óleo essencial de <i>L. macrophylla</i> . ....	46
Tabela 6. Fragmentos obtidos por CG-EM para componentes do óleo essencial de <i>Lantana macrophylla</i> . ....	47
Tabela 7. Correlação entre os padrões de ésteres metílicos com aqueles obtidos da amostra de LmFE-1.....	52
Tabela 8. Correlação entre os padrões de ésteres metílicos com aqueles obtidos da amostra de LmFE-2.....	54
Tabela 9. Atribuição dos sinais do espectro de RMN <sup>13</sup> C de LmFE-4.1 em comparação com os dados descritos na literatura. ....	58
Tabela 10. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de <sup>13</sup> C de LmFE-6.1 em comparação com os dados descritos na literatura.....	66
Tabela 11. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de <sup>13</sup> C de LmFE-7.2 em comparação com os dados descritos na literatura.....	78
Tabela 12. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de <sup>13</sup> C de LmFE-14.1 em comparação com os dados descritos na literatura.....	88
Tabela 13. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de <sup>13</sup> C de LmFE-15.1 em comparação com os dados descritos na literatura.....	102

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>AcONa</b>	Acetato de sódio
<b>BHI</b>	<i>Brain heart infusion</i>
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio deuterado
<b>CG-DIC</b>	Cromatografia Gasosa Acoplada ao Detector de Ionização em Chama
<b>COSY</b>	Correlation Spectroscopy
<b>d</b>	Dupleto
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
<b>δ</b>	Deslocamento químico
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Correlation
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IAA</b>	Índice de Atividade Antioxidantes
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>J</b>	Constante de acoplamento
<b>KBr</b>	Brometo de potássio
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>P.F</b>	Ponto de fusão
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>R<sub>f</sub></b>	Fator de retenção
<b>RMN</b>	Ressonância magnética nuclear
<b>s</b>	Simpleto
<b>t</b>	Tripleto
<b>TTC</b>	2,3,5-trifeniltetrazólio
<b>UFC</b>	Unidades Formadoras de Colônia

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o surgimento da humanidade o homem utiliza de variadas formas os recursos oferecidos pela natureza, com a finalidade de buscar meios para melhorar as suas condições de sobrevivência. Desta forma, o estudo das plantas fez parte dos primeiros conhecimentos do ser humano que necessitava selecionar raízes, caule, folhas, frutos e sementes destinados à alimentação, vestuário, construção e remédios. Neste último aspecto destaca-se o uso de plantas medicinais e fitoterápicas (CHASSOT, A., 2004; OLIVEIRA & AKISUE, 1997).

O isolamento e estudo de substâncias naturais têm sido uma preocupação central das ciências químicas e biológicas por mais de 200 anos. É fato que o estudo químico de espécies vegetais possui uma relevância indiscutível, tanto no sentido da produção de novos conhecimentos quanto pela utilização dos produtos naturais isolados e identificados com fins práticos.

Com o desenvolvimento de novas técnicas espectrométricas os pesquisadores da área de Produtos Naturais têm conseguido elucidar, com maior rapidez e precisão, as estruturas moleculares das substâncias isoladas. Tal fato possibilita que, cada vez mais, sejam relatadas na literatura novas moléculas, além de permitir a avaliação da composição química de misturas complexas e de extratos orgânicos.

O desenvolvimento das técnicas de purificação de substâncias tem possibilitado o isolamento de substâncias de origem natural em quantidades suficientes para a realização de testes biológicos, possibilitando a verificação da ocorrência de atividade farmacológica para tais substâncias bem como de seus extratos de origem. Assim torna-se importante mencionar que as plantas, além do seu uso na medicina popular, têm contribuído ao longo dos anos para a obtenção de vários fármacos elaborados a partir de moléculas de origem natural (YUNES; CECHINEL, 2009)

Para além da medicina, os produtos naturais vêm sendo empregados também na agricultura, onde várias substâncias de origem vegetal apresentam grande interesse como agentes no controle de pragas (PINTO, *et al.*, 2002). Para a indústria alimentícia, estudos apontam metabólitos secundários capazes de atuar aumentando o caráter nutritivo de algumas espécies alimentícias, como relatado por Pui-Yee, J. Y., *et al* (1995). Por esse aspecto a química de produtos naturais cumpre

um de seus mais nobres objetivos: elucidar e disponibilizar modelos químicos que posteriormente poderão ser modificados e adequados às suas aplicações prática.

A família Verbenacea consiste de plantas arbóreas, arbustivas e herbáceas floridas, comumente encontradas em regiões tropicais. Esta família inclui cerca de 35 gêneros e 1200 espécies (RAHMATULLAH *et al.*, 2011). As plantas são conhecidas pelo seu uso como fitoterápicos em sistemas de saúde de vários países, incluindo a região do Mar Mediterrâneo e centro da Ásia (RAHMATULLAH *et al.*, 2011; CARRIÓ e VALLÈS, 2012). No Brasil, espécies desta família são popularmente utilizadas principalmente na forma de chás e infusões contra cefaleias, distúrbios digestivos, distúrbios renais dentre outras finalidades (BLANCO *et al.*, 2013).

Dentre as várias espécies estudadas do ponto de vista químico na família Verbenacea, destacam-se as do gênero *Lantana*, no qual algumas espécies possuem resistência à ataques herbívoros devido à presença de metabólitos secundários tóxicos presentes nas folhas (KOHLLI, *et al.*, 2006). Além disso, na literatura as plantas do gênero *Lantana* são conhecidas pelas suas propriedades antireumáticas, anti-inflamatorias, sedativa, analgésicas e antipiréticas, tanto dos extratos orgânicos quanto em substâncias isoladas - as quais compreendem diversas classes como terpenos, fenóis e alcaloides (SOUSA e COSTA, 2012). No Brasil, espécies do gênero *Lantana* são comumente encontradas nas regiões costeiras e tem sido largamente utilizadas na medicina popular da região nordeste do país (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Baseado em estudos prévios e guiados pelos precedentes da composição química de plantas do gênero *Lantana*, este trabalho teve como objetivo o estudo químico e avaliação biológica do extrato orgânico e dos constituintes isolados presentes nas folhas de *L. macrophylla* o qual compreende isolamento, purificação e determinação estrutural de constituintes fixos, além de obtenção e análise da composição química do óleo essencial das folhas secas.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Plantas medicinais e aspectos fitoquímicos

Ao longo da história da humanidade, o uso de plantas medicinais como recurso terapêutico tem evoluído tecnologicamente no âmbito dos estudos químicos e farmacológicos. Enquanto algumas espécies vegetais são empregadas diretamente na terapêutica, outras são utilizadas como matéria prima a ser manipulada e outras ainda possuem princípios ativos precursores para a produção de fármacos onde podem ser estruturalmente modificadas buscando potencializar os efeitos no organismo. A morfina, componente majoritário isolado de *Papaver somniferum* em 1804, representa um alcaloide precursor no desenvolvimento de potentes fármacos analgésicos. Além disso, diversos fármacos foram produzidos a partir de matrizes vegetais como vincristina (anticâncer), sildenafil (antidisfunção erétil), reserpina (antiarrítmico) e quinina (antimalárico) (BARREIRO e FRAGA, 2008).

Difundidas na cultura popular de várias regiões do Brasil, algumas espécies vegetais são utilizadas como fonte de recurso terapêutico mesmo sem embasamento científico relacionado à eficácia e/ou toxicidade. Tais informações etnobotânica frequentemente proporcionam orientação para estudos químicos de espécies vegetais frente a grande biodiversidade micromolecular nos vários biomas brasileiros.

As constantes descobertas de substâncias com atividades biológicas comprovadas incentivam o aumento de pesquisas utilizando moléculas provenientes de vegetais como modelo ou matéria prima para síntese de novos medicamentos. Um fator que influencia na realização de pesquisas nesta área é a complexidade no processo de descoberta de novas drogas, que leva em média de sete a dez anos para desenvolvimento completo, estabelecendo um processo que requer muitos recursos e tecnologias. Por esse motivo, atualmente os países considerados de primeiro mundo são os que se encontram mais envolvidos nessas pesquisas.

Na área da química medicinal, as pesquisas com produtos naturais evidenciam novas perspectivas na busca de fármacos a partir da síntese ou da biossíntese, tendo como principais caminhos a síntese orientada pelo alvo molecular

e a orientada pelo alvo estrutural. No primeiro caso temos como base uma substância com estrutura e atividades conhecidas; no segundo caso temos protótipos baseados em estruturas e mecanismo de ação farmacológica.

Até o início do século XX o ramo terapêutico da medicina estava intimamente ligado ao uso de plantas medicinais, de forma que o uso de seus princípios ativos era guiado de acordo ao saber popular. Essa concepção levou na época ao isolamento de substâncias como a codeína, a efedrina, a quinina, a morfina e a atropina, que são usados até hoje na terapêutica atual. No entanto, em meio ao processo de industrialização do século XIX com grandes avanços científicos na área de síntese química, Hoffman<sup>1</sup> sintetizou o ácido acetilsalicílico (Aspirina<sup>®</sup>) ao conseguir acetilar o grupo hidroxila do ácido salicílico. Reforça-se então, um paradigma ocidental de medicamento como substância pura, geralmente oriunda de síntese. Seguindo essa ideologia, outras substâncias foram sintetizadas até meados do século XX, deixando de lado o uso de produtos naturais até 1940, quando estes voltaram a ser largamente utilizados na produção de antibióticos (YUNES e CECHINEL FILHO, 2009).

Ainda de acordo a esses autores, as sínteses e os testes biológicos seguiam um parâmetro de química combinatória para avaliação de muitas substâncias num processo que produzia uma mistura de compostos a partir de diversas combinações de reações com um determinado composto. Apesar de possibilitar a síntese de milhares de substâncias, essa metodologia se mostrava dispendiosa e propensa a erros e falso-positivo, já que a análise de atividade biológica de uma mistura é geralmente de complexa decodificação.

Ao longo do tempo outras metodologias foram desenvolvidas na otimização dessas análises, como a química combinatória seletiva que selecionava grupos de substâncias de acordo a determinadas propriedades, proporcionando uma triagem apenas com substâncias desejadas (EVERETT et al., 2001 *apud* YUNES e CECHINEL FILHO, 2009). No início do século XXI, novas metodologias são utilizadas e contam com aparatos biotecnológico no preparo e identificação de proteínas bem como triagem de alta quantidade de itens, o *HTS (High-throughput screening)*, capaz de promover em um único dia testes de atividade biológica de até

---

<sup>1</sup>Felix Hoffmann foi um químico alemão conhecido por sintetizar as moléculas de heroína e de ácido acetilsalicílico (AAS) em 1887.

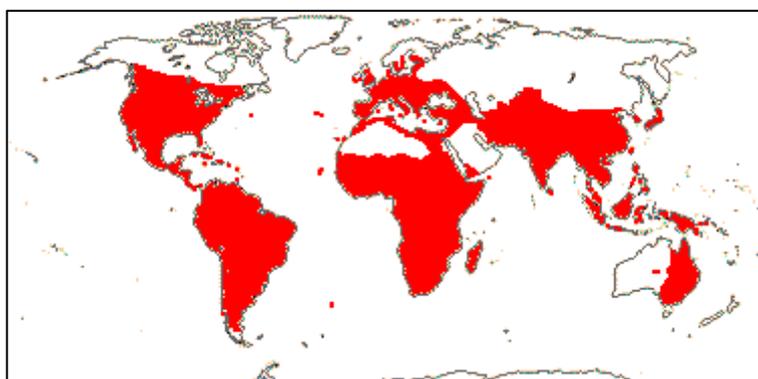
100 mil compostos. Além dessas, o *screening virtual* é outra técnica moderna que testa computacionalmente uma coleção de moléculas a fim de identificar atividades biológicas em análise de subestrutura de duas dimensões, similaridade topológica e análise tridimensional do sítio ativo em um alvo molecular (VIEGAS, *et al.*, 2006; BARREIRO e FRAGA, 2008).

## 2.2. Família Verbenacea

A família Verbenacea compreende 35 gêneros e cerca de 1200 espécies. Distribuídas principalmente nas Américas, África tropical e Ásia (Figura 1), esses vegetais se apresentam como ervas, árvores, arbustos e lianas (RAHMATULLAH *et al.*, 2011). A literatura apresenta um grande número de trabalhos envolvendo o estudo químico dos constituintes fixos e voláteis de vários espécimes da família Verbenacea.

Nesses trabalhos são relatados isolamento e caracterização de seus constituintes químicos, dos quais predominam compostos da classe dos iridóides (MACIEL *et al.*, 2014), esteroides (POUR e SASIDHARAN, 2011), triterpenos (MOHAMED *et al.*, 2016; BEGUM *et al.*, 2014), flavonoides (MALDONADO *et al.*, 2016; SOMWONG, *et al.*, 2015) e glicosídeos (THIRUMURUGAN *et al.*, 2010), além da avaliação da potencialidade biológica dos extratos orgânicos (CONCEIÇÃO, *et al.*, 2012; KALITA *et al.*, 2012).

**Figura 1. Distribuição geográfica da família Verbenacea no mundo.**



**Fonte: website do Missouri Botanical Garden (STEVENS, 2012).**

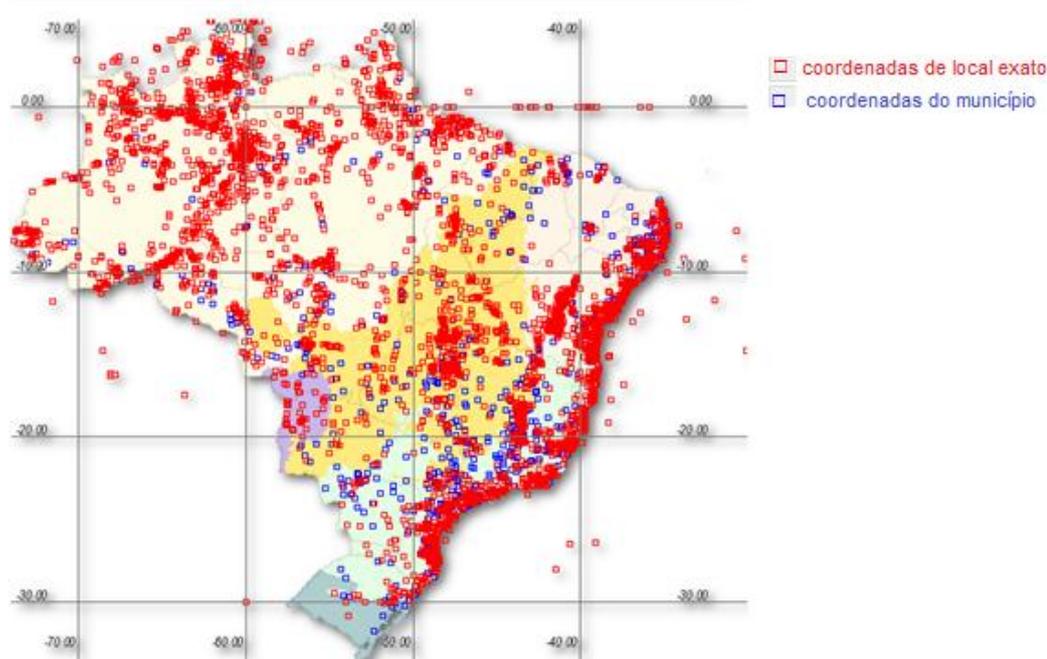
Na literatura, a família Verbenacea possui diversos estudos do ponto de vista biológico, relacionados à compostos isolados e à extratos orgânicos, onde são

apontadas predominantemente atividades anti-inflamatória (BALAKRISHNAN *et al.*, 2010), antibacteriana (DUBHEY e PADHY, 2013), anti-viral (BEHBAHANI, 2014), antiplasmódica (KOPA *et al.*, 2014), antileishmanial (MALDONADO *et al.*, 2016), antinociceptivo (PARVEEN *et al.*, 2010), larvicida (NIKKON *et al.*, 2010) dentre outras.

Em relação aos óleos essenciais estudados de espécies vegetais da família, as avaliações biológicas disponíveis na literatura relatam atividades antiparasíticas (SOARES, *et al.*, 2017), antitumoral (GARCIA, *et al.*, 2017), antibiótica (AGUIAR *et al.*, 2015), antimicrobiana (SARRAZIN *et al.*, 2012), larvicida (ZOUBIRI *et al.*, 2012) etc.

No Brasil a ocorrência de vegetais da família Verbenaceae é restrita a cerca de 17 gêneros e aproximadamente 250 espécies e são utilizadas pela medicina popular principalmente na forma de chás e infusões contra cefaleias, distúrbios digestivos, distúrbios renais dentre outras finalidades (BLANCO *et al.*, 2013). Dentre as espécies utilizadas, destacam-se as plantas do gênero *Lantana*, largamente estudadas em relação aos seus constituintes fixos e voláteis (ABENA *et al.*, 2003; PASCUAL *et al.*, 2001). A Figura 2 apresenta a distribuição geográfica da família Verbenaceae no território brasileiro.

**Figura 2. Distribuição geográfica da família Verbenaceae no Brasil.**



Fonte: website do Herbário INCT (INCT, 2016).

### 2.3.O gênero *Lantana*

*Lantana* é um gênero da família Verbenaceae descrito por Linnaeus em 1753, o qual possui cerca de 530 espécies de plantas perenes. Nativas da América do Sul e de algumas localidades da África, o gênero inclui plantas herbáceas e arbustivas que podem atingir até dois metros de altura sendo frequentemente utilizadas como plantas ornamentais (Figura 3) devido a beleza de suas flores coloridas (MUNIR, 1996; JOLY, 1993).

Figura 3. Inflorescências da espécie *Lantana camara*.



Fonte: website “Views from the Garden”<sup>2</sup>

O gênero *Lantana* recebeu divisão taxonômica em três seções: *Lantana Callioreas*, *Rhytidocamara* e *Sarcolippia*, a partir de características florais e carpológicas (SCHAUER, 1847; BRIQUET, 1904 *apud* SENA FILHO *et al.*, 2012). Contudo, este gênero possui difícil classificação taxonômica já que hibridizações são muito comuns e sua inflorescência muda de acordo com a idade e a maturidade da planta (GHISALBERTI, 2000).

Em algumas áreas do Brasil, Austrália, África e Ásia, algumas espécies do gênero, por crescerem rapidamente, invadem pastos e plantações, além de serem consideradas ervas daninhas. Na literatura estão registrados relatos de intoxicações de bovinos em pastos pela ingestão de folhas de espécies tóxicas como *L. camara* e *L. glutinosa* (RIET-CORREA, 1984).

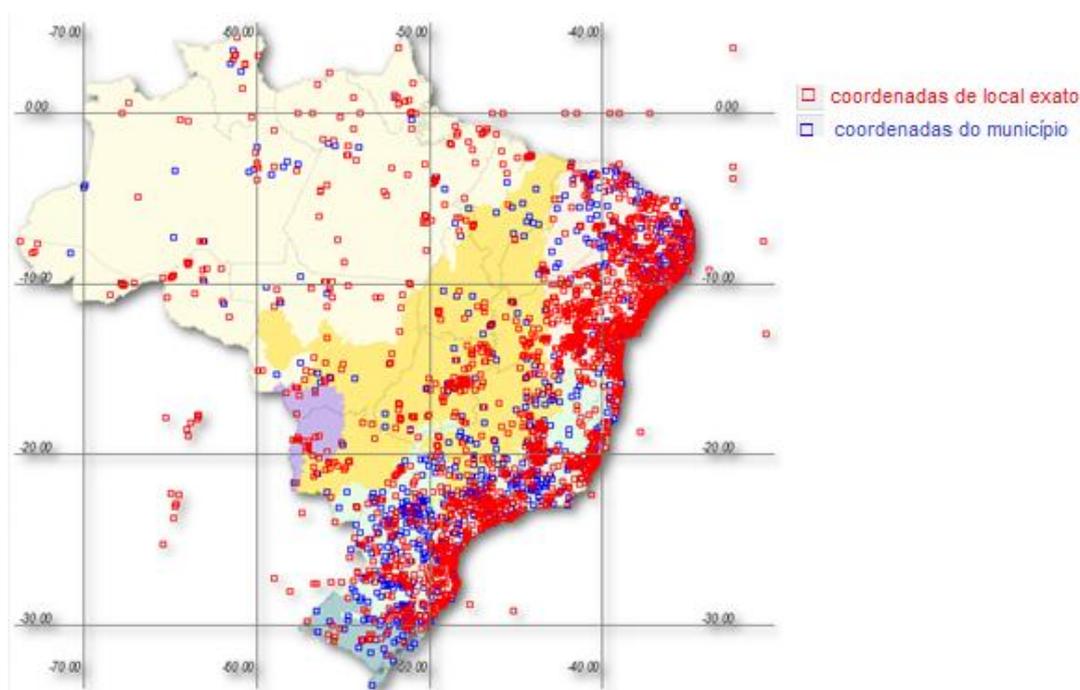
De acordo com Sharma *et al.* (1988) o efeito tóxico é, dentre outros, atribuído aos lantadenos (triterpenos pentacíclicos), de modo que tais propriedades tóxicas,

<sup>2</sup> VIEWS FROM THE GARDEN. *Lantana (Lantana camara)*. 2007. 2 fotografias. Disponível em : <http://www.viewsfromthegarden.com/2011/08/lantana-drought-tolerant-bushy.html>. Acessado em 28/09/2016.

enquanto característica das espécies do gênero *Lantana*, as conferem uma alta resistência a ataques herbívoros (KOHLI *et al.*, 2006).

No Brasil, espécies do gênero *Lantana* são comumente encontradas nas regiões costeiras (Figura 4) e algumas têm sido largamente utilizadas pela medicina popular na região nordeste do país (ALMEIDA *et al.*, 2006). Comumente indicadas para o tratamento contra febres, dores de ouvido, coqueluche, reumatismo e espasmos, espécies como *L. camara* (RIBEIRO *et al.*, 2014) e *L. canescens* (MATOS *et al.*, 1996) e *L. lilacina* (SOUZA e FELFILI, 2006) são preparadas nas formas de chás, infusões, tinturas e xaropes, a partir de folhas e talos dos vegetais.

**Figura 4. Distribuição geográfica do gênero *Lantana* no Brasil.**

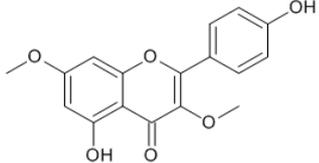
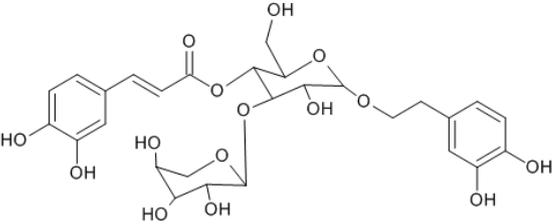
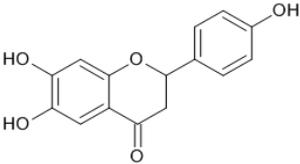
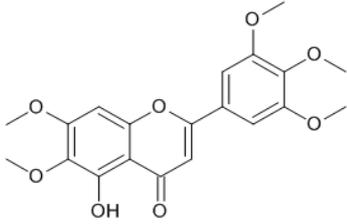
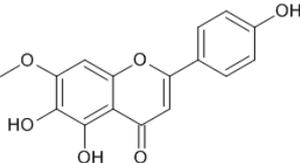


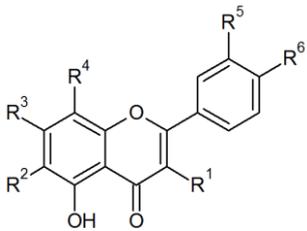
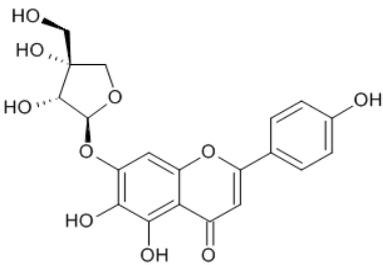
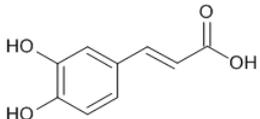
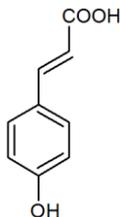
Fonte: website do Herbário INCT (INCT, 2016).

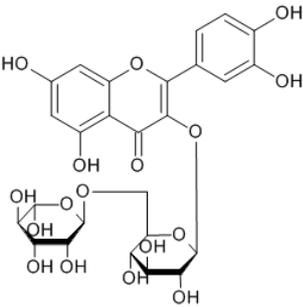
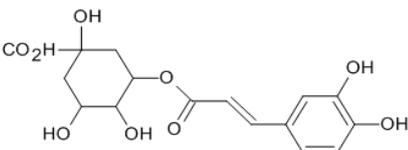
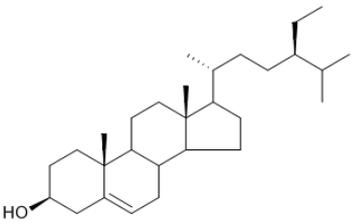
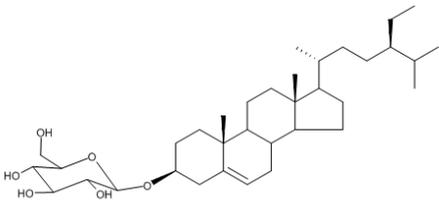
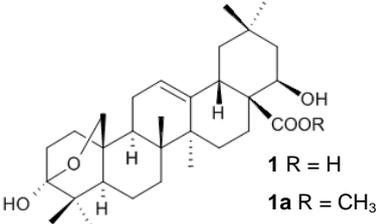
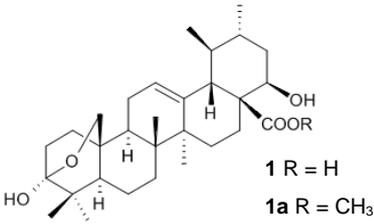
A busca por metabólitos secundários de interesse terapêutico e comercial no gênero *Lantana* tem levado ao isolamento de compostos cujos padrões estruturais revelam terpenóides, flavonóides, glicosídeos feniletanóides, furanonaftaquinonas, além de glicosídeos iridóides e esteroides (SOUZA, 2012).

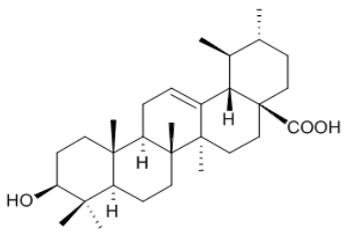
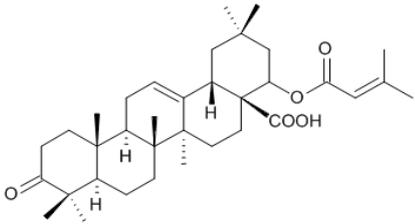
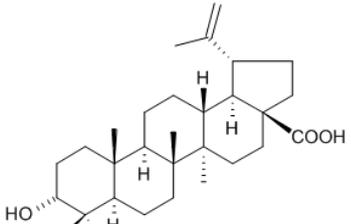
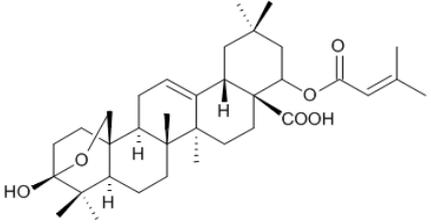
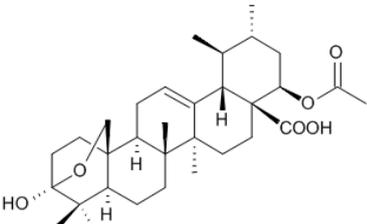
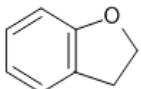
Na Tabela 1 (p. 22) estão apresentados dados de pesquisas realizadas nos últimos dez anos com espécies do gênero *Lantana* visando principalmente o isolamento de constituintes fixos.

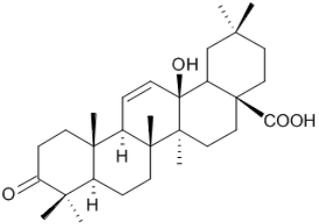
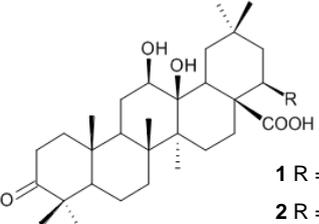
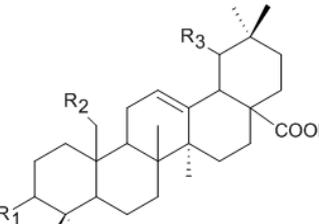
**Tabela 1. Principais constituintes fixos isolados ou identificados em espécies do gênero *Lantana* publicados nos últimos dez anos.**

Substância isolada	Parte da planta	Espécie	Referências
 <p>4',5-dihidroxi-3,7-dimetoxiflavonol</p>	Folhas	<i>L. trifolia</i>	IMBENZI <i>et al.</i> , 2014
 <p>verbascosídeo</p>	Folhas	<i>L. trifolia</i>	IMBENZI <i>et al.</i> , 2014
 <p>apigenina</p>	Folhas	<i>L. trifolia</i>	IMBENZI <i>et al.</i> , 2014
 <p>umuhengerina</p>	Folhas	<i>L. trifolia</i>	IMBENZI <i>et al.</i> , 2014
 <p>Ladanetina</p>	Folhas	<i>L. trifolia</i>	IMBENZI <i>et al.</i> , 2014

 <p> <b>1</b> <math>R^1=R^2=H</math>; <math>R^3=R^5=R^6=OH</math>; <math>R^4=OCH_3</math>  <b>2</b> <math>R^1=R^2=H</math>; <math>R^3=R^5=OCH_3</math>; <math>R^4=R^6=OH</math>  <b>3</b> <math>R^1=R^3=R^5=R^6=OH</math>; <math>R^2=R^4=H</math>  <b>4</b> <math>R^1=R^4=H</math>; <math>R^2=R^5=OCH_3</math>; <math>R^3=R^6=OH</math>  <b>5</b> <math>R^1=R^2=H</math>; <math>R^3=R^4=R^5=R^6=OH</math> </p> <p> <b>1</b> onopordina  <b>2</b> 5,8,4-trihidroxi-7,3-dimetoxiflavona  <b>3</b> quercetina  <b>4</b> jaceosidina  <b>5</b> 8-hidroxiluteolina </p>	Folhas e flores	<i>L. balansae</i>	(MALDONADO <i>et al.</i> , 2016)
 <p>scutelareína-7-O-β-D-apiofuranosídeo</p>	Folhas	<i>L. trifolia</i>	IMBENZI <i>et al.</i> , 2014; JULIÃO <i>et al.</i> , 2010
 <p>ácido caféico</p>	Folhas e raízes	<i>L. montevidensis</i>	SOUSA <i>et al.</i> , 2015
 <p>ácido 4-hidroxicinâmico</p>	Folhas e flores	<i>L. balansae</i>	(MALDONADO <i>et al.</i> , 2016)

 <p style="text-align: center;">rutina</p>	Folhas e raízes	<i>L. montevidensis</i>	SOUSA <i>et al.</i> , 2015
 <p style="text-align: center;">ácido clorogênico</p>	Folhas e raízes	<i>L. montevidensis</i>	SOUSA <i>et al.</i> , 2015
 <p style="text-align: center;"><math>\beta</math>-sitosterol</p>	Folhas	<i>L. montevidensis</i>	MOHAMED <i>et al.</i> , 2016
 <p style="text-align: center;"><math>\beta</math>-sitosterol-O-<math>\beta</math>-D-glicosídeo</p>	Folhas	<i>L. montevidensis</i> <sup>1</sup> <i>L. hispida</i> <sup>2</sup>	MOHAMED <i>et al.</i> , 2016 <sup>1</sup> (JIMENEZ-ARELLANES <i>et al.</i> , 2007) <sup>2</sup>
 <p style="text-align: center;">ácido lantanílico</p> <p style="text-align: center;"><b>1</b> R = H <b>1a</b> R = CH<sub>3</sub></p>	Folhas	<i>L. camara</i>	BEGUM <i>et al.</i> , 2014
 <p style="text-align: center;">ácido lantóico</p> <p style="text-align: center;"><b>1</b> R = H <b>1a</b> R = CH<sub>3</sub></p>	Folhas	<i>L. camara</i>	BEGUM <i>et al.</i> , 2014

 <p>ácido ursólico</p>	Folhas	<i>L. macrophylla</i> <sup>1</sup> ; <i>L. camara</i> <sup>2</sup>	CONCEIÇÃO <i>et al.</i> , 2012 <sup>1</sup> ; BEGUM <i>et al.</i> , 2014 <sup>2</sup>
 <p>lantadeno</p>	Raízes	<i>L. trifolia</i>	MOHAMED <i>et al.</i> , 2016
 <p>ácido betulínico</p>	Folhas	<i>L. camara</i>	BEGUM <i>et al.</i> , 2014
 <p>ácido lantanílico</p>	Folhas	<i>L. camara</i>	BEGUM <i>et al.</i> , 2014
 <p>ácido camarínico</p>	Folhas	<i>L. camara</i>	BEGUM <i>et al.</i> , 2008
 <p>coumaran</p>	Folhas	<i>L. camara</i>	RAJASHEKAR, 2013

 <p>ácido 13β-hidroxi-3-oxo-olean-11-en-28-óico</p>	Raízes	<i>L. trifolia</i>	MOHAMED <i>et al.</i> , 2016																									
 <p>1 ácido 12β,13β-dihidroxiolean-3-oxo-28-óico 2 ácido 12β,13β, 22 β-trihidroxiolean-3-oxo-28-óico</p>	Raízes	<i>L. trifolia</i>	MOHAMED <i>et al.</i> , 2016																									
 <table border="1" data-bbox="225 1361 863 1659"> <thead> <tr> <th></th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>ácido oleanônico</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> <td>ácido oleanólico<sup>1</sup></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>OH</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>ácido 3β,25β-dihidroxi-olean-12-en-28-óico<sup>2</sup></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>OH</td> <td>H</td> <td>OH</td> <td>19α-hidroxi-3-oxo-olean-12-en-28-óico<sup>2</sup></td> </tr> </tbody> </table>		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>		1	H	H	H	ácido oleanônico	2	OH	H	H	ácido oleanólico <sup>1</sup>	3	OH	OH	H	ácido 3β,25β-dihidroxi-olean-12-en-28-óico <sup>2</sup>	4	OH	H	OH	19α-hidroxi-3-oxo-olean-12-en-28-óico <sup>2</sup>	Folhas; Raízes <sup>1, 2</sup>	<i>L. macrophylla</i> ; <i>L. camara</i> <sup>1</sup> ; <i>L. trifolia</i> <sup>2</sup>	CONCEIÇÃO <i>et al.</i> , 2012; VYAS e ARGAL, 2012 <sup>1</sup> ; MOHAMED <i>et al.</i> , 2016 <sup>2</sup>
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>																									
1	H	H	H	ácido oleanônico																								
2	OH	H	H	ácido oleanólico <sup>1</sup>																								
3	OH	OH	H	ácido 3β,25β-dihidroxi-olean-12-en-28-óico <sup>2</sup>																								
4	OH	H	OH	19α-hidroxi-3-oxo-olean-12-en-28-óico <sup>2</sup>																								

## 2.4. Óleos essenciais

O uso de substâncias químicas de ocorrência natural em plantas e ervas garantiu grandes benefícios ao homem ao longo de sua história, principalmente através de seu uso para fins terapêuticos. Compostos olfativamente estimulantes em vegetais guiaram a associação feita entre seus componentes e suas atividades biológicas, além do uso no preparo de alimentos e em cerimônias religiosas desde as civilizações mais primitivas. Associadas com purificação e espiritualidade, o uso de plantas aromáticas conta com registros que datam de até 5000 a.C. onde foram encontradas em túmulos com função de envolver e conservar cadáveres (CUNHA *et al.*, 2007).

Com exceção do metano, estima-se que fontes biológicas possuam emissão anual na ordem de quilo toneladas de carbono em forma de compostos orgânicos voláteis (VOC's) (GOLDENSTEIN e GALBALLY, 2007). Dentre a infinidade de compostos orgânicos voláteis, os produzidos pelas plantas são tidos como uma categoria composta por terpenos (classe majoritária), hidrocarbonetos, ésteres, álcoois, ácidos orgânicos, aldeídos, cetonas, dentre outros.

Para além de outras funções fisiológicas, as plantas emitem providencialmente certos VOC's como forma de comunicação a fim de minimizar danos de possíveis insetos predadores a uma determinada população de indivíduos de mesma espécie. Estudos realizados por biólogos na década de 80 e 90 comprovaram que as plantas utilizam os VOC's como forma de sinal químico, de maneira que ao ser atacada por insetos, libera compostos voláteis que estimulam outras próximas à liberação de substâncias impalatáveis aos insetos (RUSSEL, 2002). Nesse mesmo contexto, algumas espécies como o tabaco (*Nicotiana rustica*), por exemplo, liberam também compostos que atraem predadores aos insetos (SUTHERLAND, 2010).

Na forma de loções, óleos essenciais ou pela combustão, os compostos voláteis isolados de plantas aromáticas foram e são utilizados para perfumar o corpo e os ambientes. Métodos rudimentares de extração de óleos essenciais já eram conhecidos no Egito há pelo menos 3000 anos a.C., mas foi em aproximadamente 1000 d.C que o filósofo Avicena introduziu um sistema de arrefecimento ao aparato de destilação, o que garantiu melhor pureza e eficiência no processo (CUNHA, *et al.* 2007).

Trazido ao mundo ocidental no tempo das Cruzadas, os óleos essenciais contam com registros de uso enquanto recurso terapêutico já durante a praga europeia do século XIV. A partir do século XVI essa consciência científica para tal prática se difundiu no Brasil através do padre jesuíta José de Anchieta, que relata medicamentos utilizados por indígenas em forma de óleos e bálsamos de propriedades antissépticas e cicatrizantes de plantas nativas tupiniquins (CUNHA, *et al.* 2007). No século XIX, experimentos científicos constataram atividade antibacteriana de óleos essenciais começando assim a se esclarecer as propriedades químicas e o potencial de cura dos óleos. Inicia-se uma busca pelo princípio ativo no intuito de isolamento e síntese dessas substâncias (CUNHA, *et al.* 2007).

O recorrente aparecimento de mecanismos de resistência de micróbios frente aos recursos terapêuticos atualmente disponíveis, tem incentivado o empenho de laboratórios e centros de pesquisa no estudo de compostos que possuam maior eficácia e menores riscos de toxicidade bem como menores efeitos colaterais. Os óleos essenciais por serem provenientes de fontes naturais e por apresentarem notória atividade antimicrobiana, apresentam-se como promissora matéria de estudos visto que, além de efeitos antibióticos, possuem efeito conservante destacando potencial uso na indústria de alimentos e como herbicida natural na agricultura (SILVA, 2010).

Do século XIX até datas atuais, vários métodos foram empregados para isolamento e análise química de óleos voláteis de modo geral. Dentre eles destaca-se o uso da destilação e da hidrodestilação, extração por arraste a vapor, extração com solventes orgânicos, extração com dióxido de carbono líquido ou supercrítico e, para fins analíticos, extração e micro extração em fase sólida.

Das extrações à pressão atmosférica que utilizam calor, sabe-se que há certa perda por degradação de compostos minoritários que atuam como coadjuvantes no perfil aromático para análises sensoriais, apesar de estes representarem um método barato e simples. Os extratos provenientes de solventes orgânicos como hexano e etanol, por exemplo, possuem diferentes composições em relação aos da hidrodestilação devido a diferença de seletividade do método, não sendo considerado como óleo essencial, mas como um concentrado oleoso de compostos voláteis (LAWRENCE, 2002). Apesar do custo mais elevado e operação mais complexa, a extração utilizando dióxido de carbono líquido ou supercrítico garante a

integridade da composição característica do óleo essencial desejado já que o extrato final é livre de solventes e, à altas pressões, modulações no potencial químico de extração do dióxido de carbono podem ser adquiridas com pequenas variações de temperatura. Já a extração e micro extração em fase sólida garante a integridade da amostra uma vez que não utiliza de temperaturas elevadas, apenas um fluxo dos compostos volatilizados que passa por um adsorvente em uma coluna. (SHIMODA *et al.*, 1996).

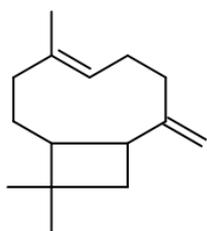
Levando em conta as tecnologias disponíveis para obtenção de extratos dos componentes voláteis, no Brasil pode ser considerada ilimitada a pesquisa no ramo de produtos naturais visando óleos essenciais devido a grande biodiversidade a que se dispõe. Como um manancial biológico, os biomas brasileiros requerem estudos sistemáticos das propriedades químicas da flora, além da formação e capacitação de recursos humanos para o desenvolvimento da pesquisa fitoquímica.

#### **2.4.1. Óleos essenciais de espécies do gênero *Lantana***

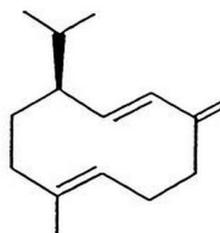
Em relação aos constituintes voláteis de espécies vegetais do gênero *Lantana*, estudos mostram a predominância de mono e sesquiterpenos (SOUSA *et al.*, 2010; NGASSOUM *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 1999; MISRA & LAATSCH, 2000; ALITONOU *et al.*, 2004; HERNÁNDEZ *et al.*, 2005; SONIBARE e EFFIONG, 2008). Além disso, a literatura reúne pesquisas que apontam atividade antibacteriana (HERNÁNDEZ, T. *et al.*, 2005), antifumigantes (ZOUBIRI e BAALIOUAMER, 2012); (ZANDI-SOHANI *et al.*, 2012), antifúngica (MEDEIROS *et al.*, 2012) e antileishmanial (MACHADO *et al.*, 2012).

Entre os vários compostos estudados nos óleos essenciais deste gênero, destacam-se monoterpênicos e sesquiterpenos de ocorrência majoritária como: (*E*)-cariofileno, óxido de cariofileno, germacreno e biciclogermacreno, (SILVA, 2010; KHAN *et al.*, 2015.) cujas fórmulas estruturais estão representadas na Figura 5 (p. 30).

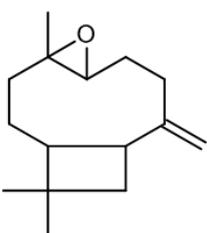
Figura 5. Fórmulas estruturais dos metabólitos comumente encontrados majoritariamente nas folhas de espécies do gênero *Lantana*.



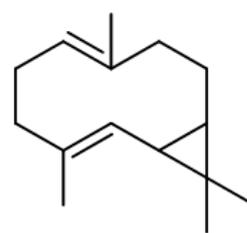
(E)-cariofileno



germacreno D



óxido de cariofileno



biciclogermacreno

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Realizar estudo químico dos constituintes fixos e voláteis das folhas de *Lantana macrophylla* (Verbenacea) existente na região sul e extremo sul da Bahia visando, principalmente, o isolamento e a caracterização de substâncias com ação biológica utilizando metodologias específicas.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico das folhas de *L. macrophylla* e estudá-lo quimicamente;
- Obter o óleo essencial das folhas de *L. macrophylla*, quantificá-lo e caracterizá-lo quimicamente;
- Avaliar a toxicidade do extrato etanólico das folhas e do óleo essencial frente à *Artemia salina*;
- Avaliar a atividade antibacteriana do extrato etanólico das folhas e das substâncias isoladas de *L. macrophylla* frente à *Staphylococcus epidermidis*;
- Avaliar atividade antioxidante do extrato etanólico pelo método de sequestro de radicais livres (DPPH);
- Identificar e caracterizar os compostos químicos isolados utilizando técnicas espectrométricas no infravermelho (IV), ultravioleta (UV), espectrometria de massas (EM) e ressonância magnética nuclear (RMN) uni e bidimensional de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Materiais

#### 4.1.1. Solventes

- **Grau PA:** solventes orgânicos hexano (Vetec<sup>®</sup>), diclorometano (Vetec<sup>®</sup>), acetato de etila (Neon<sup>®</sup>), clorofórmio (Synth<sup>®</sup>), acetona (Dinâmica<sup>®</sup>), e metanol (Quimica Moderna<sup>®</sup>).
- **Solventes deuterados:** clorofórmio, piridina, acetona e dimetilsulfóxido da marca Sigma<sup>®</sup>.

#### 4.1.2. Suporte para cromatografia

- **Cromatografia em coluna:** sílica-gel Merck<sup>®</sup> 60 (60– 200 µm);
- **Cromatografia em camada delgada (CCD):** sílica-gel Vetec<sup>®</sup> 60-G (5-40 µm).

#### 4.1.3. Reveladores empregados

- Solução preparada de vanilina sulfúrica (MATOS, 1997);
- Vapores de iodo sublimado.

#### 4.1.4. Reações e caracterização de reagentes e produtos

- **Reação de Liebermann-Burchard para esteroides e triterpenos:** de acordo com a metodologia proposta por Matos (1997), adicionou-se à amostra 1 mL de clorofórmio e em seguida 1 mL de anidrido acético. A mistura foi agitada suavemente e adicionou-se três gotas de ácido sulfúrico concentrado. O material foi novamente agitado e observado o aparecimento de cores. A coloração azul evanescente seguida de verde permanente indica a presença

de esteroides livres e a formação de cor parda até vermelha indica triterpenoides pentacíclicos livres.

#### **4.2. Equipamentos**

- Evaporador rotativo Fisatom<sup>®</sup>;
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Avance<sup>®</sup> III HD (Bruker);
- Espectrômetro de Infravermelho Perkin Elmer<sup>®</sup> 400;
- Espectrofotômetro NOVA<sup>®</sup>;
- Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas Varian<sup>®</sup> Saturnm 3800;
- Fusiômetro Fisatom<sup>®</sup>.

#### **4.3. Coleta e identificação do material vegetal**

A espécie vegetal *L. macrophylla* (Figura 6, p. 34) foi coletada na manhã do dia 29 do mês de agosto de 2015 no município de Itacaré/BA, em região de mata litorânea com solo arenoso, próximo ao limite entre os municípios de Itacaré e Maraú (Figura 7, p. 34). Do indivíduo foram destacados galhos e folhas desenvolvidas e em desenvolvimento, acondicionados em sacos plásticos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPNS) na Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Após coletado, a exsiccata do material vegetal foi confeccionada e registrada no herbário da UESC, sob o número 21829 cuja identificação taxonômica foi realizada com a colaboração do Prof. Dr. Luiz Alberto de Matos, curador do Herbário da UESC (HUESC).

**Figura 6. Inflorescências de *L. macrophylla*.**



Fonte: elaborada pelo autor.

**Figura 7. Local de coleta (Fonte: Google Maps) e inflorescências de *L. macrophylla*.**



Fonte: elaborada pelo autor.

#### **4.4. Obtenção do óleo essencial das folhas secas de *L. macrophylla***

As folhas de *L. macrophylla* foram secas em estufa (SOLAB, SL-102) de ventilação forçada a 40 °C até massa constante. Um total de 40 g de folhas foi submetido à hidrodestilação em aparelho Clevenger durante 4 horas. O material volátil foi separado do hidrolato com diclorometano através de extração líquido-líquido e, posteriormente, submetido à secagem com sulfato de sódio anidro e concentrado.

O teor do óleo essencial nas folhas secas foi determinado pela massa média do óleo obtido em triplicata, usando balança analítica e expresso em porcentagem (m/m) (g de óleo por 100 g de matéria vegetal).

#### 4.5. Análise da composição química do óleo essencial

A composição química quantitativa foi avaliada através da cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (CG-DIC) usando um cromatógrafo à gás Varian Saturn 3800 equipado com coluna capilar de sílica fundida VF5-ms (30 m X 0,25 mm) com fase estacionária 5% fenil-95% dimetilpolisiloxano (0,25 µm de espessura de filme), tendo hélio 5.0 como gás arraste e fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup> (10 psi). As temperaturas do injetor e detector foram de 250 °C e 280 °C, respectivamente. Foi injetado 1,0 µL de solução em CHCl<sub>3</sub> à 10 % no modo *split* (1:10). A temperatura da coluna teve início a 50 °C, sendo mantida nessa temperatura por 2 minutos, acrescida de 8 °C/min. até 260 °C, sendo mantida nessa temperatura por 3 minutos, totalizando 31,25 minutos. A quantificação dos componentes foi obtida por integração eletrônica dos picos detectados no DIC por normalização das áreas obtidas em triplicata.

A análise qualitativa foi realizada com o detector de espectrometria de massas Varian Saturno 2000, usando o modo de operação por impacto eletrônico a 70 eV, velocidade scan 1/s na faixa de 40 a 450 Da, sendo a temperatura da transferline 250 °C, manifold 60 °C e trap 150 °C. A coluna e as condições de temperaturas foram idênticas às usadas na análise por CG-DIC.

A identificação dos componentes do óleo foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação observado nos espectros de massa adquiridos, tendo sido confirmada por comparação com aqueles presentes na base de dados fornecidos pelo equipamento (NIST 08), bem como através da comparação dos seus índices de retenção com os compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C<sub>8</sub> – C<sub>26</sub> (SIGMA<sup>®</sup> – USA).

#### 4.6. Isolamento de metabólitos secundários de *L. macrophylla*

##### 4.6.1. Preparo e fracionamento do extrato etanólico das folhas

Após coletado, o material vegetal foi encaminhado para secagem sob abrigo do sol e posteriormente para estufa com ar circulante à 40 °C até massa constante. O material seco (3200 g) foi pulverizado em moinho de facas e em seguida

submetido à extração exaustiva por maceração em presença de etanol (99%) por 48 h, sendo o sobrenadante filtrado e posteriormente concentrado pela eliminação do solvente em rota-evaporador à pressão reduzida, permitindo a obtenção de 130,0 g do extrato etanólico designado por (**LmFE**).

A massa de 76 g do extrato etanólico das folhas, **LmFE**, foi submetida ao fracionamento em coluna cromatográfica com 2000 g de sílica gel (60-200 mesh). Os eluentes utilizados foram hexano, diclorometano e acetato de etila, puros e em misturas com polaridade crescente (Tabela 2). Foram coletadas 88 frações de 1200 mL cada.

**Tabela 2. Eluentes utilizados no fracionamento cromatográfico de extrato etanólico (LmFE) e frações coletadas.**

<b>Eluente</b>	<b>%</b>	<b>Frações coletadas</b>
Hexano	100	1 - 15
Hexano/diclorometano	90/10	16 - 23
Hexano/diclorometano	50/50	24 - 40
Diclorometano	100	41 - 50
Diclorometano/acetato de etila	50/50	51 - 59
Acetato de etila	100	60 - 88

#### **4.6.2. Agrupamento de frações e estudo químico dos grupos**

As frações coletadas foram concentradas individualmente em rotaevaporador sob pressão reduzida e analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD). As cromatoplasmas foram reveladas em cuba de iodo e vanilina sulfúrica (3%). As frações foram agrupadas de acordo com a semelhança no perfil cromatográfico (Tabela 3, p. 37).

Tabela 3. Grupos obtidos após análise por CCD de frações provenientes de LmFE.

Frações	Grupos	Frações	Grupos
1 - 4	LmFE-1	34 - 39	LmFE-11
5 - 11	LmFE-2	40 - 43	LmFE-12
12 - 14	LmFE-3	44 - 53	LmFE-13
15 - 17	LmFE-4	54 - 60	LmFE-14
18 - 19	LmFE-5	61 - 66	LmFE-15
20 - 23	LmFE-6	67 - 80	LmFE-16
24 - 26	LmFE-7	81	LmFE-17
27 - 29	LmFE-8	82	LmFE-18
30 - 33	LmFE-9	83 e 84	LmFE-19

#### i. Grupos LmFE-1 a 3 (frações 01-14)

Estes grupos se apresentaram como um óleo amarelo. O material dos grupos de 1 a 3 foram analisados por IV e submetidos à reação de transesterificação (item 4.6.3, p. 41) para identificação dos ésteres de ácidos graxos presentes através de análise em CG-DIC.

#### ii. Grupos LmFE-4 e LmFE-6 (frações 15-23)

Estes grupos se apresentaram com consistência oleosa e cor alaranjada. Amostras dos grupos 4 a 6 foram analisadas por IV, CG-DIC e RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135.

#### iii. Grupo LmFE-7 (frações 24-26)

Este grupo apresentou-se como um material de consistência oleosa, cor verde escura e massa 3,52 g. 1,5 g desse material foi submetido à lavagem com acetona. A filtração revelou um sólido branco amorfo (5,4 mg) com faixa de fusão 80-81 °C denominado **LmFE-7.1**. O filtrado após evaporação do solvente resultou em um sólido escuro que foi novamente lavado em acetona. Deste procedimento foi possível obter outro sólido amorfo branco (23,0 mg) com faixa de fusão 134-136 °C designado **LmFE-7.2**. Ambas as substâncias isoladas deste grupo foram analisadas por IV e RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135.

iv. **Grupo LmFE-8 (frações 27-29)**

Este grupo mostrou-se como um material sólido de cor verde escura e massa 1,67 g. O material foi submetido à sucessivas lavagens com acetona, resultando em uma suspensão cuja filtração permitiu a obtenção de um sólido amorfo levemente amarelado (11,0 mg) com faixa de fusão 80-81 °C denominado **LmFE-8.1** cuja elucidação estrutural foi realizada a partir de análise por IV e RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135.

v. **Grupo LmFE-14 (frações 54 e 60)**

Este grupo de massa 11,0 g, apresentou-se como um material pastoso de cor escura. Quando submetido à lavagem com clorofórmio, obteve-se um sólido amorfo (340,0 mg) de cor verde claro, cuja análise por CCD mostrou tratar-se de uma mistura de duas substâncias. Tal sólido foi então cromatografado em coluna clássica utilizando 17,0 g de sílica-gel. A eluição com um gradiente de polaridade crescente de clorofórmio 100 % ao acetato de etila 100 %, levou a obtenção de 52 frações conforme a Tabela 4.

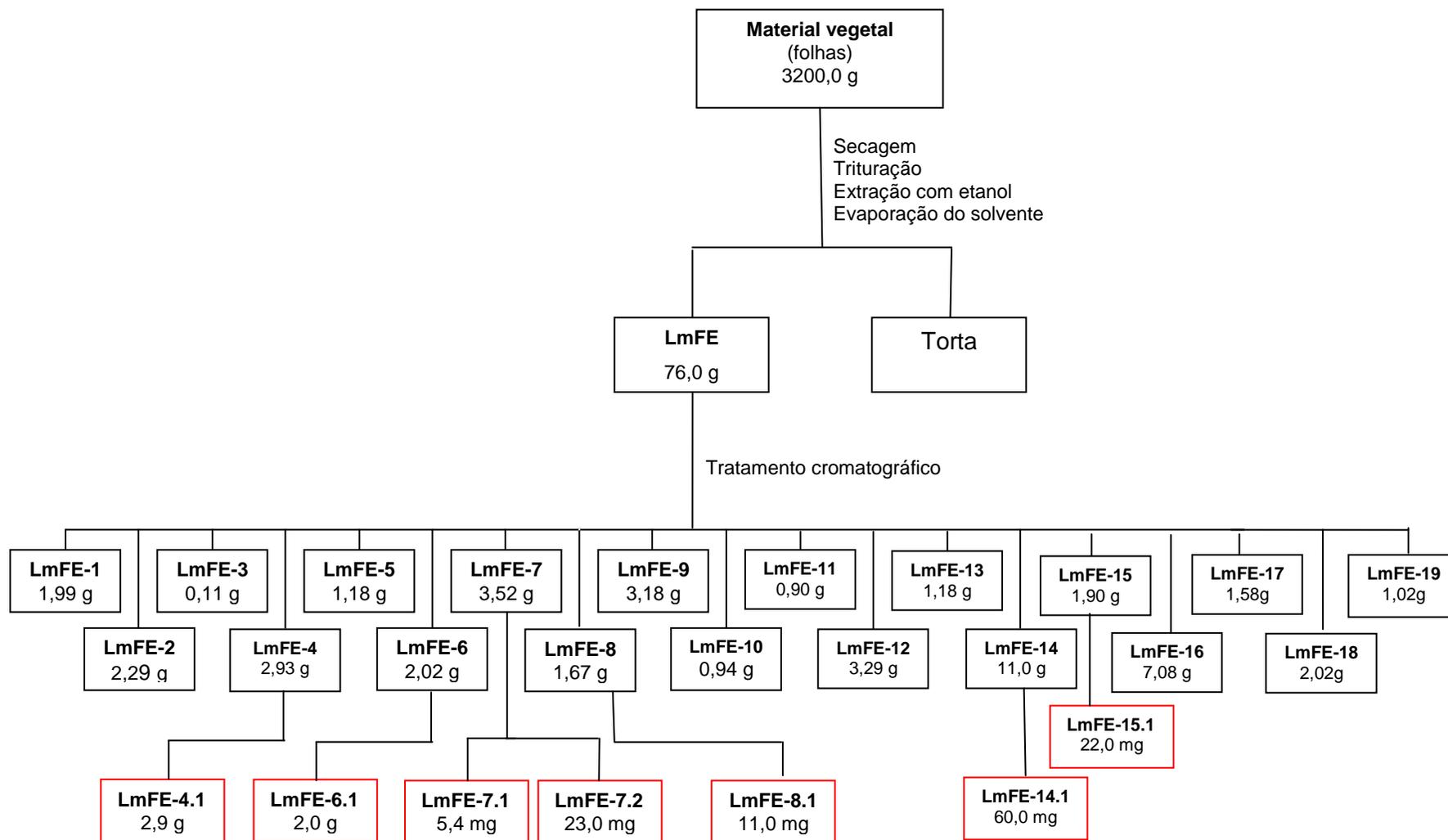
**Tabela 4. Sistema de gradiente de solventes utilizado na separação cromatográfica da subfração de LmFE-14.**

Eluente	%	Frações eluídas
Clorofórmio	100	1 – 09
Clorofórmio/acetato de etila	95/5	10 – 17
Clorofórmio/acetato de etila	80/20	18 – 27
Clorofórmio/acetato de etila	50/50	28 – 38
Clorofórmio/acetato de etila	30/70	39 - 46
Acetato de etila	100	47 - 52

As frações 24 a 32 mostraram-se puras em análise por CCD e foram agrupadas, resultando em um sólido amorfo amarelo (60,0 mg) com faixa de fusão 268 - 270 °C denominado **LmFE-14.1** cuja elucidação estrutural foi realizada a partir de análise por IV, RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135. O estudo químico das demais frações não permitiram o isolamento de nenhuma substância pura.

**vi. Grupo LmFE-15 (frações 61-66)**

Este grupo apresentou-se como um sólido de cor verde escura de massa 1,9 g, o material foi lavado com acetona e permitiu a obtenção de um sólido amarelado com indícios de impureza pela análise por CCD. Após tentativa de recristalização em acetona e sucessivas lavagens, foi possível a obtenção de um sólido amorfo branco (22,0 mg) de ponto de fusão na faixa 285-290 °C denominado **LmFE-15.1** cuja elucidação estrutural foi realizada a partir de análise por IV e RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135.



Esquema 1. Obtenção e fracionamento do extrato etanólico das folhas de *L. macrophylla*.

#### 4.6.3. Procedimento de transesterificação dos grupos LmFE-1 a 3

A extração e transesterificação dos ésteres de ácidos graxos presentes em amostras dos grupos LmFE-1 a 3 foram feitas de acordo à metodologia de HARTMAN & LAGO (1973). Inicialmente 50 mg do material da fração foi solubilizado em 3 mL de hexano e então adicionado 4 mL de solução aquosa de NaOH (0,5 mol/L). Em sistema de refluxo, a mistura foi mantida sob agitação à temperatura 65 °C por 5 minutos e posteriormente resfriada. Foi adicionado 5 mL de solução transesterificante<sup>3</sup> e agitado por 5 minutos à temperatura 65 °C. Após resfriado foi adicionado 4 mL de solução aquosa saturada de NaCl e a fase orgânica foi recolhida utilizando funil de separação.

A composição dos ésteres obtidos foi avaliada através de cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama (GC-DIC) usando o cromatógrafo a gás Varian Saturnm 3800 equipado com coluna capilar de sílica fundida Carbowax (30 m X 0,25 mm) com fase estacionária polietilenoglicol (0,25 µm de espessura de filme), tendo hélio 5.0 como gás arraste e fluxo de 1,0 mL/min (10 psi). As temperaturas do injetor e detector foram de 220 °C e 240 °C, respectivamente. Injetou-se 1,0 µL de solução (10%) da amostra em hexano no modo *split* (1:10). A temperatura da coluna teve início a 60 °C, acrescida de 5°C/min. até 200 °C, sendo mantida nessa temperatura por 5 minutos.

Uma solução padrão contendo mistura de ésteres metílicos de ácido graxo (EMAG) variando de 8 a 22 carbonos, certificada (Supelco – USA; catalogo 47801-Lot: LC00126), foi utilizado para identificar por comparação dos tempos de retenção, a composição dos ésteres metílicos dos ácidos graxos presentes na amostra após a transesterificação. A composição relativa dos ésteres metílicos foi obtida por integração eletrônica dos picos detectados no DIC (detector por ionização em chama) por normatização, conforme a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

---

<sup>3</sup>Solução obtida pela mistura de 10,0 g de NH<sub>4</sub>Cl em 300 mL de metanol e 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

## 4.7. Testes biológicos

### 4.7.1. Teste de letalidade utilizando *Artemia salina*

Em um recipiente com divisória escura, os cistos de *A. salina* (50 mg) (MARAMAR<sup>®</sup>), foram incubados em água do mar natural sob iluminação artificial, utilizando uma lâmpada de 40W durante 48 horas de acordo à metodologia de Mayer *et al.* (1982) com modificações.

Para avaliação do extrato etanólico (**LmFE**) frente ao crustáceo, uma solução de concentração 400 µg/L foi preparada em água do mar utilizando tween (5% v/v) para garantir a solubilização. Em tubos de ensaio foram preparadas diluições em triplicata nas concentrações 25, 50, 100, 200 e 400 µg/mL com volume final 5 mL cada. Para avaliação do óleo essencial de *L. macrophylla*, uma solução de concentração 500 µg/mL foi preparada em água do mar utilizando tween (5% v/v). Em tubos de ensaio foram preparadas diluições em triplicata para 62,5, 125, 250 e 500 µg/mL com volume final 5 mL cada, além do controle negativo contendo apenas água do mar e o solvente tween.

Em cada tubo de ensaio contendo as amostras, foram colocadas dez larvas de *A. salina*. Após 24 horas em iluminação artificial foi realizada a contagem de indivíduos mortos – sendo as larvas consideradas mortas na ausência de movimento durante dez segundos de observação.

O resultado do grau de letalidade foi expresso em Concentração Letal Média (CL<sub>50</sub>), calculado graficamente através de curva com a relação entre indivíduos mortos relacionados e as concentrações testadas (DAVID *et al.*, 2001).

### 4.7.2. Avaliação atividade antibacteriana frente à *Staphylococcus epidermidis*

O teste para o potencial antibacteriano foi realizado pelo método de bioautografia em CCD com o objetivo de detectar e identificar substâncias bioativas frente à bactéria *S. epidermidis* utilizando metodologia descrita por Hamburguer e Cordell (1987) com modificações. As amostras utilizadas foram o extrato etanólico (**LmFE**) e as substâncias isoladas **LmFE-6.1**, **LmFE-14.1**, **LmFE-7.1**, **LmFE-15.1**.

As amostras do extrato etanólico **LmFE** e das substâncias isoladas foram preparadas aplicando-as em duas placas de sílica-gel de 0,25 mm espessura e eluindo-as com a mistura diclorometano/hexano na razão 1:1 (v/v). Uma das placas reveladas com vapores de iodo foi utilizada como referência do deslocamento da substância na cromatoplaça. A outra placa foi recoberta com *S. epidermidis* em solução, para avaliação da atividade biológica.

Os testes foram realizados utilizando cepas comerciais dos microrganismos *S. epidermidis* (ATCC 12.228) da coleção de micro-organismos de referência em vigilância sanitária – CMRVS, FIOCRUZ-INCQ, Rio de Janeiro, RJ. Primeiramente, inoculou-se as bactérias em 2 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) a aproximadamente  $10^6$  UFC/mL, padronizado através da análise da turbidez até o valor mínimo de 0,5 de acordo com a escala de Mc Farland. Em seguida, adicionou-se os 2 mL do inóculo em 20 mL de Ágar Nutriente ainda em seu estado líquido ( $50 \pm 5^\circ\text{C}$ ) e, por fim, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de solução aquosa 1% do corante cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) .

A solução foi homogeneizada e disposta com o auxílio de uma micropipeta (1000  $\mu\text{L}$ ) nas cromatoplaças de sílica previamente preparadas, contendo as substâncias eluídas. As placas foram acondicionadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 h. Como controle positivo, utilizou-se a substância ceftriaxona. O critério utilizado para interpretação dos resultados foi o aparecimento de zonas claras em torno das substâncias na placa de CCD, que indica a atividade antibacteriana pela inibição.

#### 4.7.3. Determinação da atividade antioxidante

O extrato etanólico (**LmFE**) de *L. macrophylla* foi submetido ao teste de atividade antioxidante *in vitro*, utilizando metodologia adaptada baseada no sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (RUFINO *et al.*, 2007). A atividade antioxidante da amostra foi expressa como Índice de Atividade Antioxidante (IAA), calculado a partir da equação abaixo:

$$\text{IAA} = (\text{Concentração final de DPPH } (\mu\text{g/ml})) / (\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL}))$$

Considerando a massa da amostra avaliada e a massa do DPPH utilizado na reação, obtem-se um valor constante de IAA independente da concentração da

amostra ou da concentração da solução de DPPH utilizada (SCHERER e GODOY, 2009), padronizando assim os resultados para que possam ser comparados com outras amostras.

Como parâmetro para representar a concentração mínima de extrato que promove a inibição de 50% do sequestro de radicais livres de DPPH, calculou-se o valor de  $IC_{50}$  graficamente a partir da equação da reta obtida pela distribuição dos pontos relativos às concentrações da amostra (SCHERER e GODOY, 2009).

Inicialmente foi determinado o tempo de reação adicionando em tubos de ensaio 0,1 mL de solução metanólica do extrato analisado nas concentrações 2,5, 10,0 e 40,0  $\mu\text{g/mL}$  e em cada tubo, 3,9 mL de solução metanólica de DPPH 0,06 mM. As reações foram monitoradas a cada 5 minutos com espectrofotômetro a 517 nm, até que as absorvâncias se mantiveram constantes no tempo de 40 minutos.

Para quantificação da atividade antioxidante, foram adicionados em triplicata em tubos de ensaio 0,1 mL de cada uma das diluições (2,5, 5,0, 10,0, 20,0, 40,0  $\mu\text{g/mL}$ ) provenientes da solução metanólica do extrato etanólico. Em ambiente escuro, transferiu-se para cada tubo de ensaio 3,9 mL da solução metanólica de DPPH 0,06 mM. As leituras das absorvâncias em espectrofotômetro à 517 nm foram feitas após o tempo de reação previamente determinado.

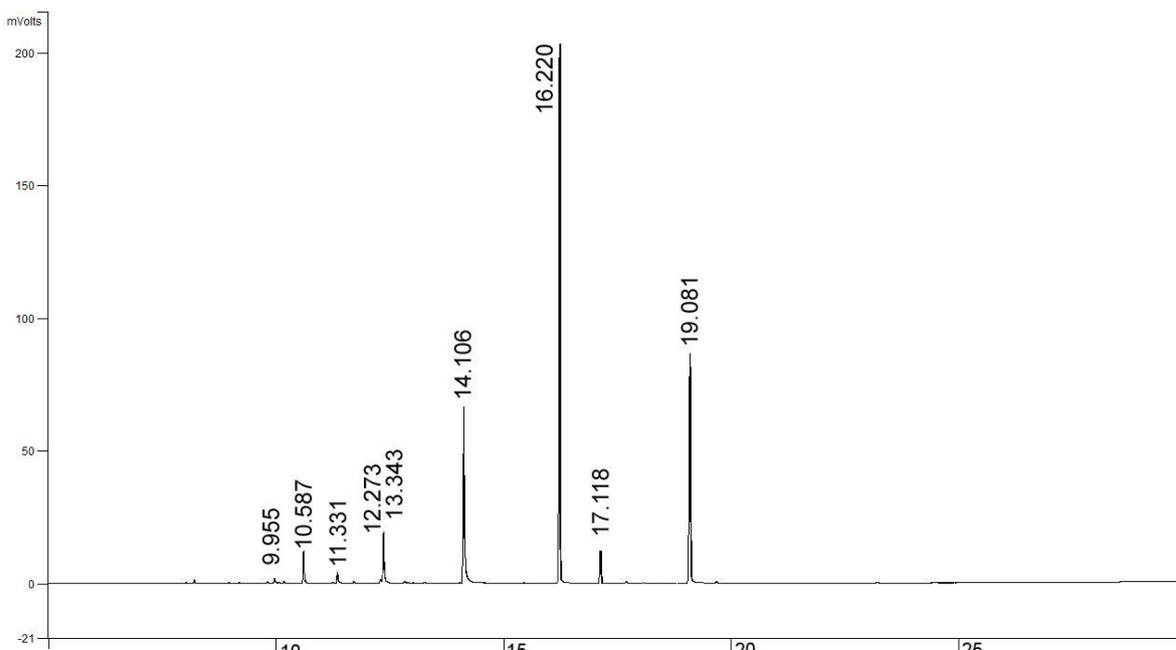
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Composição química do óleo essencial de *L. macrophylla*

O tempo mínimo de extração de maior quantidade do óleo foi determinado em 150 minutos, momento a partir do qual o volume de óleo obtido se mostrou constante. O teor médio calculado para a extração realizada foi de  $3,42 \pm 0,11\%$  (m/m). Comparado com rendimentos disponíveis na literatura<sup>4</sup> para óleos essenciais obtidos de folhas de espécies do gênero *Lantana*, o percentual de óleo essencial nas folhas de *L. macrophylla* mostrou-se consideravelmente maior, uma vez que os teores relatados se apresentam na faixa de 0,3 a 2,6% (m/m).

A análise cromatográfica dos constituintes químicos do óleo essencial permitiu a identificação de nove componentes, perfazendo a identificação total de 98,1% e revelando a presença de mono e sesquiterpenos. O cromatograma na Figura 8 e os dados reunidos na Tabela 5 (p. 46) mostram a composição química do óleo essencial. As fórmulas estruturais dos compostos identificados no óleo essencial de *L. macrophylla* estão apresentadas na Figura 9 (p. 47).

**Figura 8. Cromatograma (CG-DIC) do óleo essencial de *L. macrophylla*.**



<sup>4</sup> Dados de teores disponíveis na literatura dos últimos dez anos para *L. camara* (KHAN *et al.*, 2015; ZOUBIRI e BAALIOUAM, 2012; MEDEIROS *et al.*, 2012), *L. achyranthifolia* (HERNANDEZ, T.; CANALES, M.; AVILA, J. G., 2004), *L. caatinguensis* (AGUIAR *et al.*, 2015) e *L. fucata* (SILVA *et al.*, 2010).

Tabela 5. Composição química dos componentes do óleo essencial de *L. macrophylla*.

Nº	Componente	IK <sub>experimental</sub>	IK <sub>literatura</sub>	Área relativa (%)
1	$\gamma$ -terpineno	1061	1060	0,4 $\pm$ 0,1
2	terpinoleno	1066	1088	2,2 $\pm$ 0,9
3	linalol	1092	1098	1,3 $\pm$ 0,2
4	<i>p</i> -menta-1,3,8-trieno	1109	1111	0,4 $\pm$ 0,1
5	<i>trans</i> - verbenol	1140	1144	3,7 $\pm$ 1,6
6	geraniol	1256	1258	18,5 $\pm$ 2,8
7	acetato de geranila	1383	1381	48,5 $\pm$ 3,8
8	(E)-cariofileno	1428	1418	2,6 $\pm$ 0,2
9	nerolidol	1561	1564	20,2 $\pm$ 4,2
Monoterpenos não oxigenados				3,1
Monoterpenos oxigenados				72,1
Sesquiterpenos não oxigenados				2,7
Sesquiterpenos oxigenados				20,2

IK índice Kovats calculado pela análise em coluna não-polar HP5-MS; IK literatura obtido de Adams (2007); área relativa (%) obtida por integração eletrônica dos picos ( $n=3$ ).

Dentre os constituintes identificados, os majoritários foram os monoterpenos acetato de geranila (48,5%) e geraniol (18,5%), seguido pelo sesquiterpeno nerolidol (20,2%), cujos principais fragmentos na Tabela 6 (p. 47).

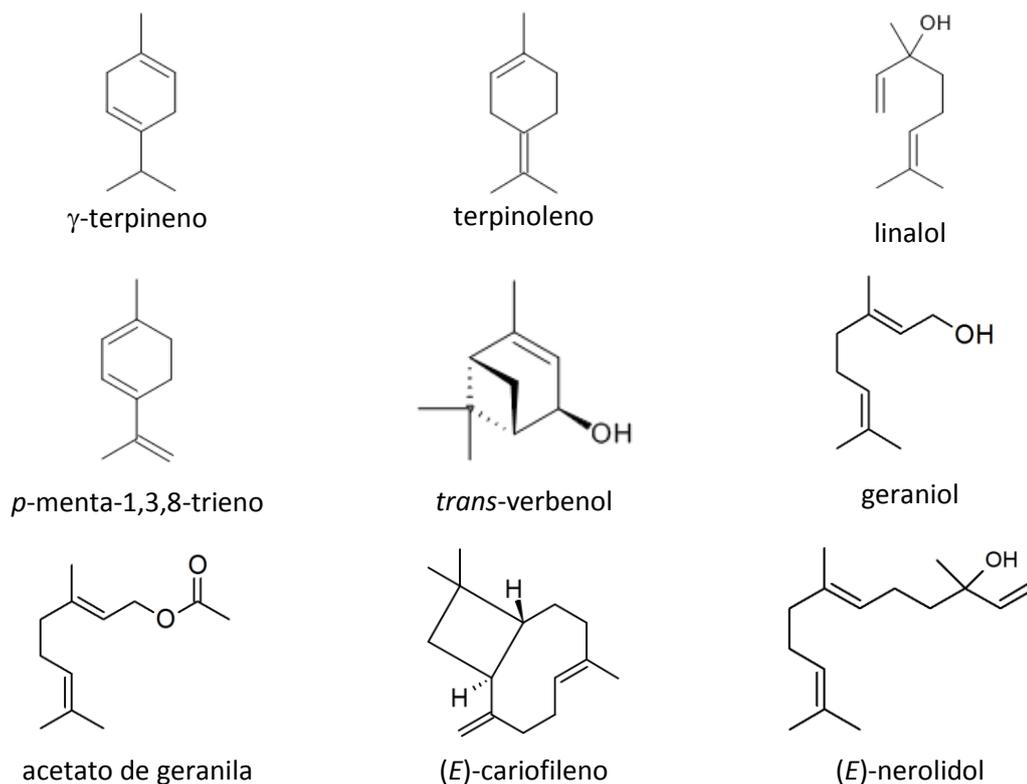
O acetato de geranila, já foi relatado para *L. camara* (DEENA e THOPPIL, 2000), e destacado por Gonçalves *et al.* (2012) por suas atividades antifúngica e anti-inflamatória.

O geraniol tem ocorrência relatada nos óleos essenciais extraídos de flores, frutos e partes aéreas de *L. camara* (ANDRESSON *et al.*, 2002; KHAN *et al.*, 2003). O linalol já foi relatado para *L. camara* (RANDRIANALIJAONA *et al.*, 2005), é conhecido por apresentar atividade antinociceptiva (PEANA *et al.*, 2006) e antimicrobiana (ALVIANO *et al.*, 2005) além de ser largamente utilizado comercialmente em cosméticos e odorantes.

Os dois sesquiterpenos presentes são o (E)-nerolidol e (E)-cariofileno. O nerolidol foi relatado na literatura em óleos essenciais extraídos das folhas de *L. radula* (PASSOS *et al.*, 2012), *L. camara* (SATYAL *et al.*, 2016; ZOUBIRI *et al.*, 2012) sendo apontado por Krist *et al.* (2015) como antibacteriano. O (E)-cariofileno, foi relatado por Zoubiri *et al.* (2012) para *L. camara*, é considerado como anti-

inflamatório (GERTSCH *et al.*, 2008) e antinociceptivo de acordo com Katsuyama *et al.* (2013).

**Figura 9. Fórmulas estruturais dos componentes identificados no óleo essencial de *L. macrophylla*.**



**Tabela 6. Fragmentos obtidos por CG-EM para componentes do óleo essencial de *Lantana macrophylla*.**

Pico	Componente	Massa molecular	Ion molecular ( $M^+$ )	Pico-base	Fragmentos %, m/z
1	γ-terpineno	136,2	135,9	121,0	<b>121</b> (30%; $M^+$ -15), <b>103</b> (95%; $M^+$ -31)
2	terpinoleno	136,2	135,9	121,0	<b>121</b> (30%; $M^+$ -15), <b>103</b> (95%; $M^+$ -31)
3	linalol	154,2	n/a	43,1	<b>136</b> (10%; $M^+$ -18), <b>121</b> (35%; $M^+$ -33)
4	p-menta-1,3,8-trieno	134,2	133,8	91,1	<b>119</b> (40%; $M^+$ -15), <b>107</b> (15%; $M^+$ -27)
5	trans-verbenol	152,2	n/a	91,1	<b>137</b> (10%; $M^+$ -15), <b>119</b> (55%; $M^+$ -33)
6	geraniol	154,2	n/a	81,0	<b>137</b> (15%; $M^+$ -17), <b>123</b> (20%; $M^+$ -31)
7	acetato de geranila	194,2	n/a	81,2	<b>137</b> (55%; $M^+$ -57), <b>121</b> (45%; $M^+$ -73)
8	(E)-cariofileno	204,3	203,8	91,2	<b>189</b> (25%; $M^+$ -15), <b>175</b> (10%; $M^+$ -28)
9	nerolidol	222,3	n/a	81,1	<b>205</b> (25%; $M^+$ -15), <b>189</b> (20%; $M^+$ -33)

n/a – não apresentou pico do íon molecular.

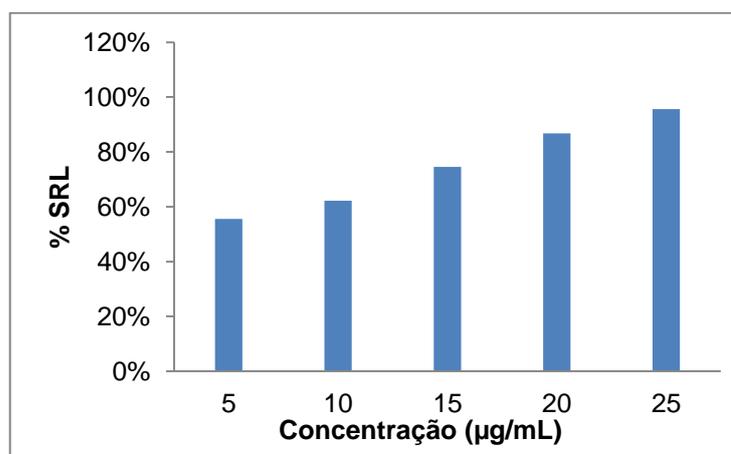
## 5.2. Atividade antioxidante do extrato etanólico LmFE

Neste método, a capacidade antioxidante da substância é avaliada a partir da reação que se baseia na redução do radical livre DPPH ao receber um átomo de hidrogênio proveniente de um composto antioxidante. O DPPH é um radical estável, porém sensível à luz, ao oxigênio, ao pH e aos solventes utilizados (OZCELIK, LEE e MIN, 2003).

O DPPH em solução metanólica possui coloração púrpura, absorvendo energia num comprimento de onda máximo de aproximadamente 517 nm, que quando reduzido, forma o difenil-picril-hidrazina de coloração amarela. Esta reação se caracteriza por um decréscimo da absorbância nesse comprimento de onda. A relação entre as concentrações utilizadas e as absorbâncias de cada amostra permite a determinação do índice de atividade antioxidante (IAA) (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

O extrato etanólico **LmFE** apresentou atividade antioxidante expressa pela concentração mínima necessária para inibição de 50 % de oxidação radicalar ( $IC_{50}$ ) com valor de 3,22  $\mu\text{g/mL}$  calculado através da equação ( $y = 0,019x + 0,4359$ ) gerada por meia da curva obtida ( $r^2 = 0,9910$ ) e índice de atividade antioxidante (IAA) calculado em 9,79. A atividade de sequestro de radicais livres do DPPH mostrou-se aumentar com o aumento das concentrações analisadas (Figura 10).

Figura 10. Atividade de sequestro de radicais livres (% SRL) entre o DPPH e o extrato LmFE.



O potencial antioxidante de extratos brutos de espécies do gênero *Lantana* são relatados na literatura. Para quatro extratos das folhas da espécie *L. trifolia*,

Imbezi *et al.*, (2014) aponta valores de IC<sub>50</sub> de 4,94 (em acetato de etila) e 79,74 µg/mL (em éter de petróleo) utilizando o método DPPH. Para o extrato etanólico de *L. trifolia* o valor de IC<sub>50</sub> apontado por Mensor *et al.* (2001) foi de 25,84 µg/mL. Para os de *L. camara* e *L. montevidensis*, Sousa *et al.* (2012) apresenta valores de IC<sub>50</sub> de 7,57 e 2,55 µg/mL respectivamente.

### 5.3. Testes biológicos

#### 5.3.1. Teste de letalidade utilizando *Artemia salina*

##### i. Extrato etanólico LmFE

O extrato etanólico LmFE mostrou atividade letal moderada frente à *A. salina*, apresentando CL<sub>50</sub> 330,88 µg/ml, calculado a partir da equação da reta  $y = 0,0098x + 1,0833$  com  $r^2 = 0,9679$ . Estes resultados corroboram com Mayer *et al.* (1982) que afirma que valores menores que 1000 µg/mL e maiores que 100 µg/mL são considerados moderadamente ativos.

A *A. salina* foi utilizada para estudar a toxicidade de extrato de folhas de *L. camara* e *L. trifolia* apresentando valores CL<sub>50</sub> menor que 1000 (POUR e SASIDHARAN, 2011) e CL<sub>50</sub> 32,2 µg/mL (MOSHI *et al.*, 2010) respectivamente.

##### ii. Óleo essencial

O óleo essencial mostrou atividade letal moderada frente à *A. salina*, apresentando CL<sub>50</sub> 248,45 µg/ml, calculado a partir da equação da reta  $y = 0,0182x + 0,4783$  com  $r^2 = 0,9627$ . Estes resultados corroboram com Mayer *et al.* (1982) que afirma que valores menores que 1000 µg/mL e maiores que 100 µg/mL são considerados moderadamente ativos.

Na literatura há relatos de ensaio de toxicidade utilizando *A. salina* para óleos essenciais do gênero *Lantana*, com CL<sub>50</sub> 62,5 µg/mL para *L. camara* (AGUIAR *et al.*, 2015) e CL<sub>50</sub> 13,0 µg/mL para *L. montevidensis* (COSTA *et al.*, 2010).

### 5.3.2. Atividade antibacteriana frente à *Staphylococcus epidermidis*

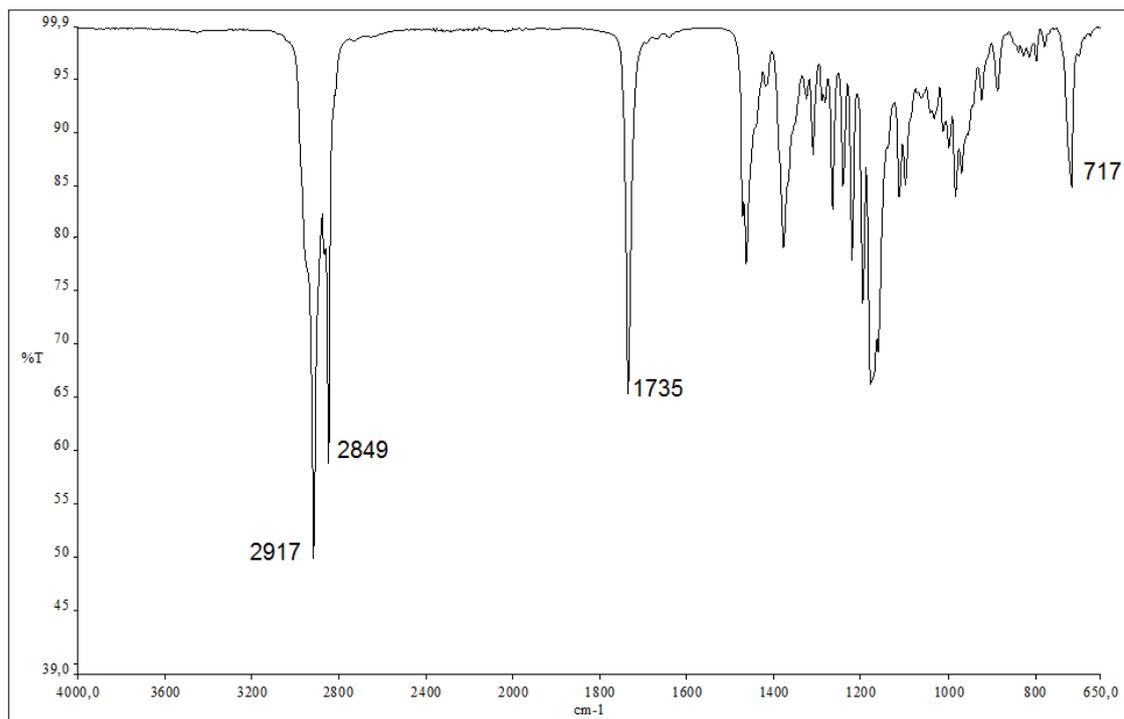
O inóculo de *S. epidermidis* foi utilizado neste ensaio biocromatográfico como um teste preliminar a fim de verificar uma possível ação antibacteriana do extrato **LmFE** e das substâncias isoladas, de modo que considerou-se como positivo as substâncias que apresentaram halo de inibição de crescimento, independentemente do tamanho.

O cromatograma (CCD) da placa de referência obtido pela eluição do extrato etanólico **LmFE** apresentou uma mancha contínua, sugerindo se tratar de mistura complexa quando revelado em vapores de iodo. A placa correspondente submetida à bactéria *S. epidermidis* apresentou zonas de inibição descontínuas no cromatograma, revelando no extrato a presença de compostos com atividade antibacteriana. As substâncias puras **LmFE-6.1** e **LmFE-14.1** também apresentaram zonas de inibição com  $R_f$  correspondentes às respectivas placas de referência, mostrando que a mistura rica em geraniol e a hispidulina possuem atividade antibacteriana.

## 5.4. Ácidos graxos identificados nos grupos LmFE-1 a 3

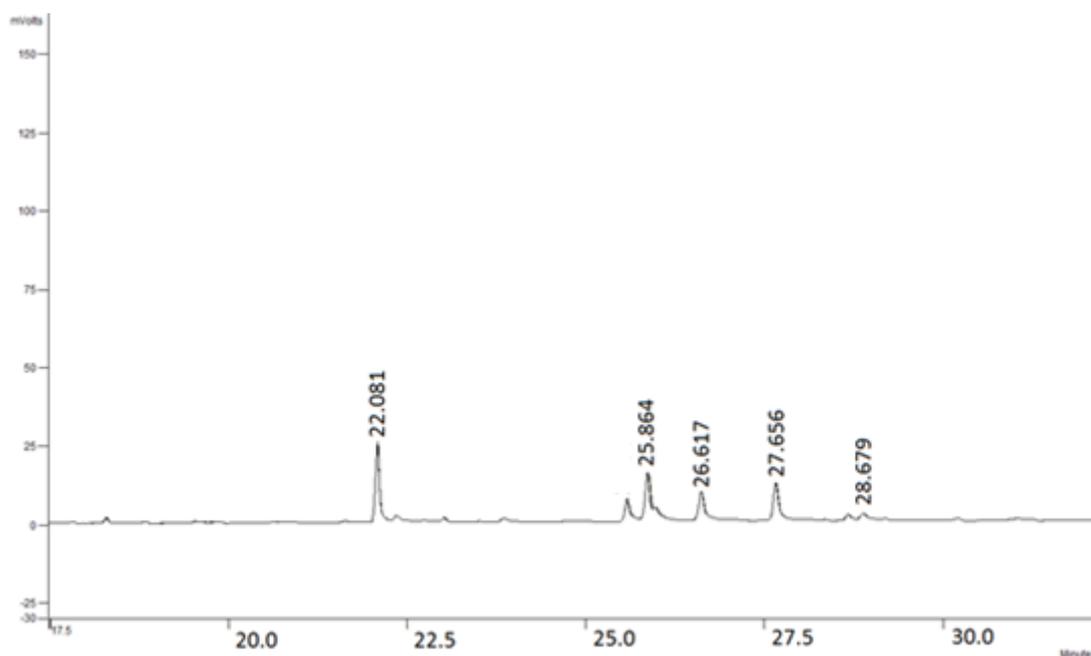
### 5.4.1. LmFE-1 (frações 01-04)

O grupo LmFE-1 mostrou-se como um material de consistência oleosa de cor alaranjada. Na análise do espectro no infravermelho de LmFE-1 (Figura 11, p. 51) mostrou bandas intensas em 2917 e 2849  $\text{cm}^{-1}$  características de estiramento de ligação CH de carbonos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  sugerindo o caráter alifático das substâncias presentes. As bandas em 1735 e 1180  $\text{cm}^{-1}$  são compatíveis com a presença de carbonila de ésteres. A banda em 717  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à deformação angular de cadeias  $-(\text{CH}_2)_n-$  para  $n > 3$  (PAVIA *et al.*, 2012).

**Figura 11. Espectro de infravermelho (KBr) obtido de LmFE-1.**

Os dados de IV sugerem tratar-se de mistura de ésteres alifáticos de cadeia longa. Na tentativa de identificar os vários constituintes da mistura, a fração foi submetida a reação de transesterificação. A partir da análise em CG-DIC foi obtido o cromatograma (Figura 11, p. 51), correspondentes ácidos graxos transesterificados, que por comparação com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos foi possível identificar na amostra transesterificada de LmFE-1 a presença dos ésteres dos ácidos palmitoleico (C16:1 $\Delta^9$ ), oleico (C18:1 $\Delta^9$ ), linoleico (C:18:2 $\Delta^{9-12}$ ), araquídico (C20:0) e eicosanoico (C20:1 $\Delta^{11}$ ). A Tabela 7 (p. 52) apresenta o percentual de cada ácido graxo encontrado na mistura analisada.

**Figura 12. Cromatograma (DIC) dos ésteres metílicos obtidos após transesterificação de LmFE-1.**



**Tabela 7. Correlação entre os padrões de ésteres metílicos com aqueles obtidos da amostra de LmFE-1.**

Padrões / TR (min)		LmFE-1	
		TR	área (%)
Palmitoleico	22,081	22,080	27,2
Oleico	25,864	25,865	20,4
Linoleico	26,617	26,613	7,3
Araquídico	27,656	27,652	13,4
Eicosanoico	28,679	28,680	17,6

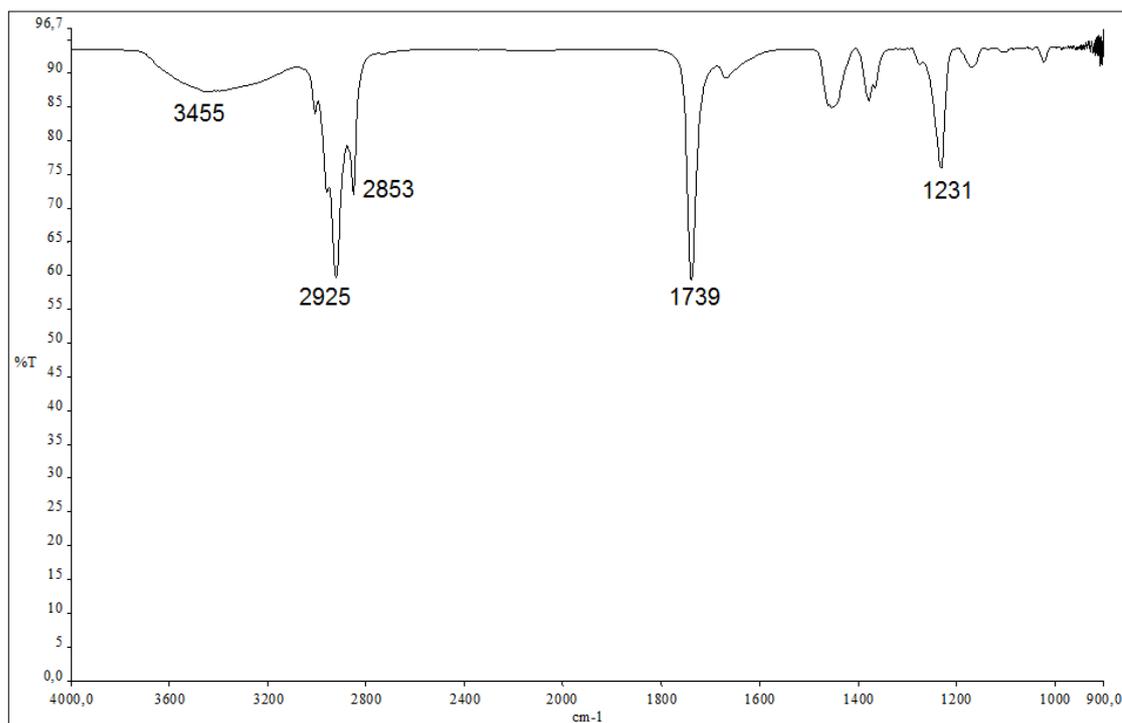
TR como tempo de retenção em minutos; área (%) de cada amostra obtida por integração eletrônica dos picos.

#### 5.4.2. LmFE-2 (frações 05-11)

O grupo LmFE-2 mostrou-se como um líquido alaranjado de consistência oleosa. Na análise do espectro no infravermelho da fração (Figura 13), as bandas em 3455 e 1231  $\text{cm}^{-1}$  são características de estiramento de ligação O-H e

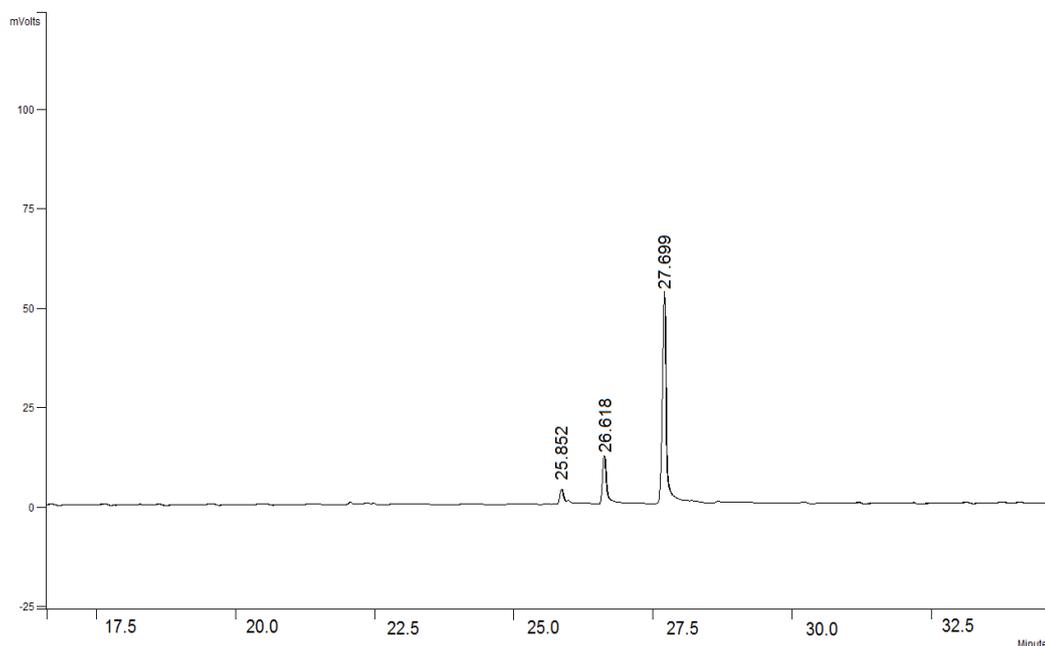
estiramento de ligação C-O respectivamente. As bandas em 2925 e 2853  $\text{cm}^{-1}$  são características de estiramento C-H de grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , sugerindo um carácter alifático aos compostos presentes na amostra. A banda em 1739  $\text{cm}^{-1}$  é compatível com estiramento de ligação C=O de ácidos carboxílicos.

**Figura 13. Espectro na região do infravermelho (filme líquido) obtido de LmFE-2.**



A partir do cromatograma (Figura 14, p. 54), comparando os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos aos correspondentes ácidos graxos esterificados, constatou-se na amostra esterificada de LmFE-2 ésteres correspondentes aos ácidos oleico ( $\text{C18:1}\Delta^9$ ), linoleico ( $\text{C18:2}\Delta^{9-12}$ ) e araquídico ( $\text{C20:0}$ ). A Tabela 8, p. 54) mostra o percentual de cada ácido graxo presente na amostra.

**Figura 14. Cromatograma (DIC) dos ésteres metílicos obtidos após transesterificação de LmFE-2.**



**Tabela 8. Correlação entre os padrões de ésteres metílicos com aqueles obtidos da amostra de LmFE-2.**

Padrões / TR (min)		LmFE-2	
		TR	área (%)
Palmitoleico	22,081	-	-
Elaidico	25,569	-	-
Oleico	25,864	25,852	5,5
Linoleico	26,617	26,618	17,9
Araquídico	27,656	27,699	76,6
Eicosanoico	28,679	-	-

TR como tempo de retenção em minutos; área (%) de cada amostra obtida por integração eletrônica dos picos.

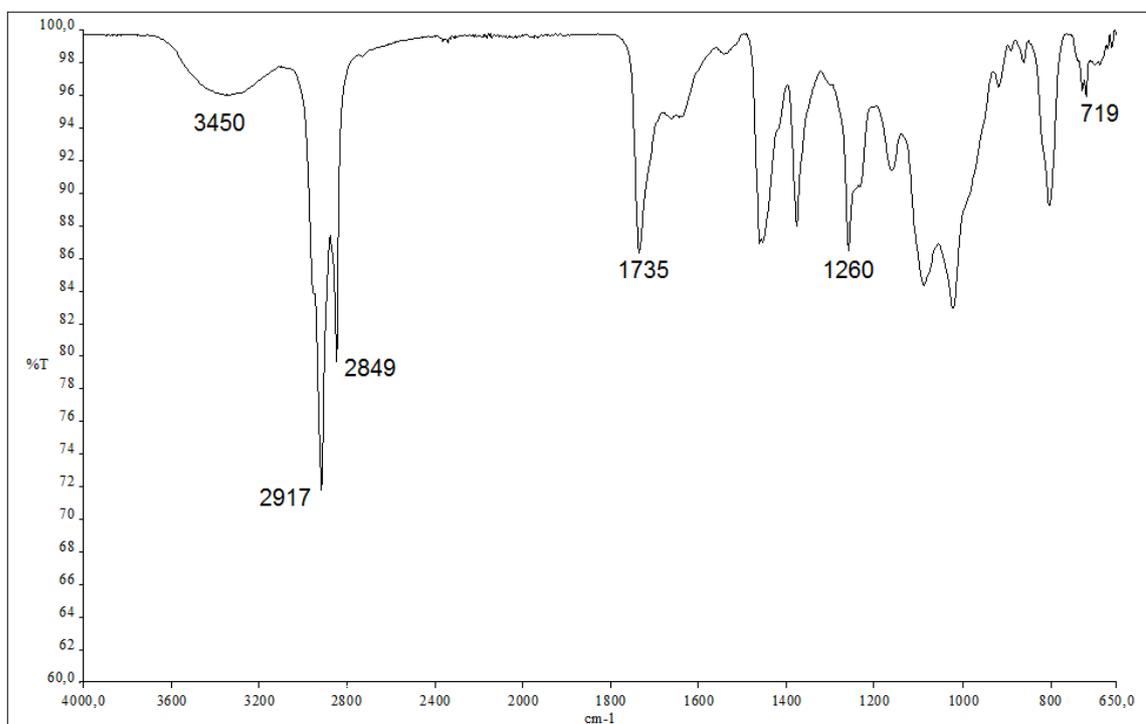
#### 5.4.3. LmFE-3 (frações 12-14)

O grupo LmFE-3 apresentou-se como aspecto oleoso e cor alaranjada. O espectro de infravermelho de LmFE-3 (Figura 15) mostrou bandas intensas em 2917 e 2849  $\text{cm}^{-1}$  decorrentes de estiramento de ligação C-H de carbonos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  denotando um caráter alifático às substâncias presentes. As absorções em 1735 e

1260  $\text{cm}^{-1}$ , características de estiramento de ligação C=O e estiramento C-O respectivamente, evidenciaram a presença do grupo carboxila. A banda em 719  $\text{cm}^{-1}$  é correspondente à deformação angular de cadeia  $(\text{CH}_2)_n$  para  $n > 3$ .

O cromatograma dos derivados de LmFE-3 não apresentou resolução satisfatória devido ao baixo rendimento na transesterificação do ácidos graxos presentes na amostra, assim não foi possível relacionar o resultado da reação de transesterificação com os padrões de ésteres metílicos. Dessa forma a fração LmFE-3 foi designada como uma mistura de ésteres de ácidos graxos de cadeia longa.

**Figura 15. Espectro na região do infravermelho (KBr) obtido de LmFE-3.**

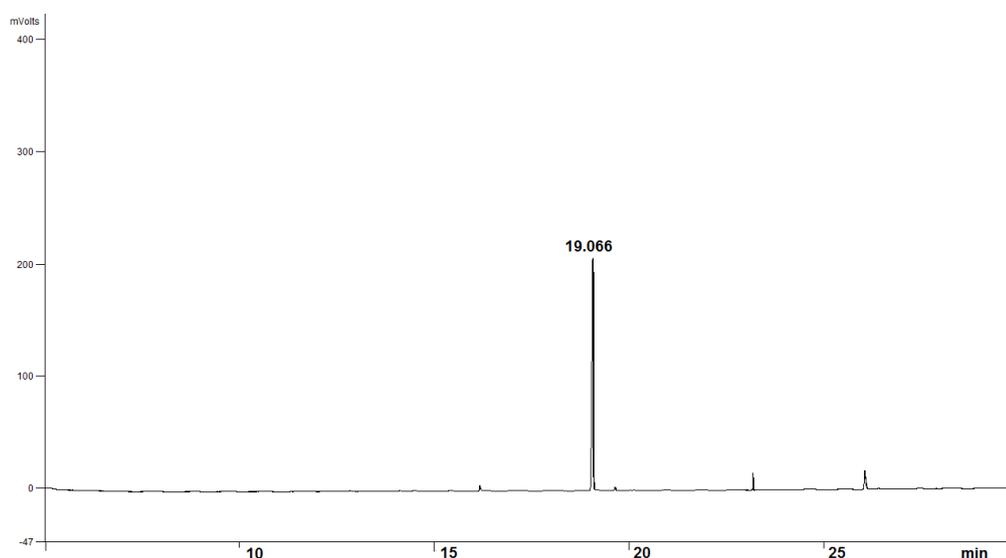


## 5.5. Identificação dos compostos isolados de *L. macrophylla*

### 5.5.1. LmFE-4.1: Mistura de óleos rica em (*E*)-nerolidol

Da análise de **LmFE-4.1** em CG-DIC sob as mesmas condições estabelecidas para o óleo essencial, foi possível a obtenção do cromatograma (Figura 16) que indicou a presença de um pico com tempo de retenção em 19,066 minutos, que corresponde ao tempo de retenção do sesquiterpeno (***E***)-nerolidol, identificado no óleo essencial das folhas de *L. macrophylla* (item 5.1, p. 45).

Figura 16. Cromatograma (CG-DIC) de LmFE-4.1.



A análise do espectro na região do infravermelho de **LmFE-4.1** (Figura 18, p. 59) indicou banda com máximos de absorção em  $3421\text{ cm}^{-1}$ , característica de estiramento da ligação O-H de grupo hidroxila. Os máximos de absorção em  $2964$ ,  $2924$  e  $2853\text{ cm}^{-1}$  evidenciam a presença de carbonos alifáticos ( $\text{sp}^3$ ) pelo estiramento da ligação C-H de carbonos metílicos e metilênicos. A banda em  $1653\text{ cm}^{-1}$  sugere a presença ligação dupla de grupos olefina na estrutura molecular, além das bandas com máximos em  $1450$  e  $1376\text{ cm}^{-1}$  características de deformação angular de cadeia alifática (PAVIA *et al.*, 2012).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **LmFE-4.1** (Figura 19, p. 60), apresentou sinais entre  $\delta$  5,06 – 5,97 ppm, com constantes acoplamento  $J=17,3$ , de 10,8 e 1,06 Hz

ncaracterísticas de hidrogênios vinílicos de um grupo metilênico terminal. Os sinais de ressonância em  $\delta$  5,23 ppm (dd), com integral relativa a 1H, apresentam constantes de acoplamento  $J= 17,3$  e  $1,0$  Hz características de hidrogênios olefínicos acoplados em *trans* e geminal. Outro sinal, em  $\delta$  5,07 ppm (1H, dd), apresentou constantes de acoplamentos  $J= 10,8$  e  $1,0$  Hz, características de acoplamento *cis* e geminal. Estes sinais foram atribuídos aos hidrogênio diastereotópico H-1a e H-1b de um grupo metilênico terminal. O sinal em  $\delta$  5,93 ppm (1H, dd,  $J= 17,3, 1,0$  Hz) caraterístico de hidrogênio olefínico, apresenta acoplamento *cis* e *trans* em relação aos hidrogênios H-1a e H-1b, sendo compatível com o hidrogênio H-2 da estrutura do nerolidol (HOLZBACH, 2011). Os sinais de singletos em  $\delta$  1,70 ppm (3H, s), 1,62 ppm (6H, s) e 1,30 ppm (3H, s) foram atribuídos aos hidrogênios metílicos H-12, H-13 junto à H-14 e H-15 respectivamente (Figura 22, p. 63).

O estudo do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de **LmFE-4.1** (Figura 21, p. 62) juntamente com o experimento de DEPT-135 (Figura 22, p. 63), permitiram a identificação de quinze linhas espectrais sendo destas, três de carbonos não-hidrogenados, três de carbonos metínicos, cinco de metilênicos e quatro de metílicos. Os sinais em  $\delta$  111,63 (CH<sub>2</sub>) e  $\delta$  145,10 ppm (CH) característicos de carbonos olefínicos foram atribuídos aos respectivos carbono terminal C-1 e ao carbono C-2. Os sinais em  $\delta$  124,23 (CH), 135,53 (C), 124,26 (CH) e 131,38 ppm (C) foram atribuídos respectivamente aos outros dois pares de carbonos insturados C-6 com C-7 e C-10 com C-11 compatíveis com os dados relatados na literatura para o (**E**)-nerolidol (HOLZBACH, 2011).

O sinais referentes aos pares de carbonos metilênicos adjacentes C-4 e C-5 bem como C-8 e C-9, foram respectivamente atribuídos aos deslocamentos em  $\delta$  42,09, 22,71, 39,69 e 26,66. O deslocamento atribuído ao carbono C-8 ( $\delta$  39,69 ppm) é característico do isômero (*E*) em comparação ao C-8 do isômero (*Z*) cuja ressonância possui maior deslocamento com uma diferença de 7,5 ppm (MACHADO, *et al.*, 1998). Os carbonos metílicos em  $\delta$  25,65, 17,65, 15,99 e 27,84 ppm foram correspondentes aos carbonos C-12, C-13, C-14 e C-15. O carbono C-14 adjacente ao carbono olefínico possui deslocamento característico do isômero (*E*), sendo 7,5 ppm maior em comparação ao do isômero (*Z*) (MACHADO, *et al.*, 1998).

Os dados espectroscópicos e cromatográficos adquiridos, em comparação com os da literatura (MACHADO, *et al.*, 1998 e HOLZBACH, 2011), permitiram

atribuir para **LmFE-4.1** a estrutura do sesquiterpeno oxigenado (**E**)-nerolidol (Figura 17, p. 58).

O aspecto oleoso e a coloração avermelhada do material de **LmFE-4.1** indicaram se tratar de uma mistura rica em (**E**)-nerolidol, já que este composto puro é um óleo transparente e levemente amarelado.

Figura 17. Estrutura do (**E**)-nerolidol.

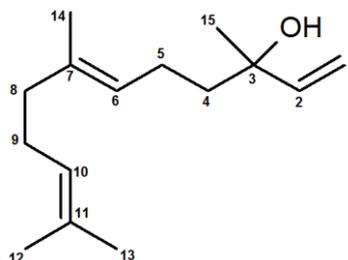


Tabela 9. Atribuição dos sinais do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de LmFE-4.1 em comparação com os dados descritos na literatura.

nº C	DEPT-135	$\delta$ C (ppm)		$\delta$ H (ppm)	
		LmFE-4.1 <sup>1</sup>	Lit. (HOLZBACH, 2011) <sup>1</sup>	LmFE-4.1 <sup>1</sup>	Lit. (HOLZBACH, 2011) <sup>1</sup>
1	CH <sub>2</sub>	111,63	111,6	5,23 (H-1a, dd, 17,3 e 1,0 Hz) 5,07 (H-1b, dd, 10,8 e 1,0 Hz)	5,15/5,00
2	CH	145,10	145,0	5,93 (dd, 17,3 e 10,8)	5,86
3	C	73,46	73,5	---	---
4	CH <sub>2</sub>	42,09	42,0	n/a	1,62 - 1,45
5	CH <sub>2</sub>	22,71	22,7	2,0 - 1,15, m	2,10 - 1,09
6	CH	124,23	124,2	5,15 - 5,10, m	5,27 - 5,04
7	C	135,53	135,5	---	---
8	CH <sub>2</sub>	39,69	39,6	2,0 - 1,95, m	2,10 - 1,90
9	CH <sub>2</sub>	26,66	26,6	2,0 - 1,95, m	2,10 - 1,90
10	CH	124,26	124,2	5,15 - 5,10, m	5,24 - 5,04
11	C	131,38	131,4	---	---
12	CH <sub>3</sub>	17,65	17,7	1,62 (6H, s)	1,60
13	CH <sub>3</sub>	25,65	25,7	1,70 (3H, s)	1,68
14	CH <sub>3</sub>	15,99	16,0	1,62 (6H, s)	1,60
15	CH <sub>3</sub>	27,84	27,8	1,30 (3H, s)	1,22

<sup>1</sup>Espectro adquirido utilizando  $\text{CDCl}_3$  como solvente.  
n/a - não disponível

Figura 18. Espectro na região do infravermelho de LmFE-4.1 (em KBr).

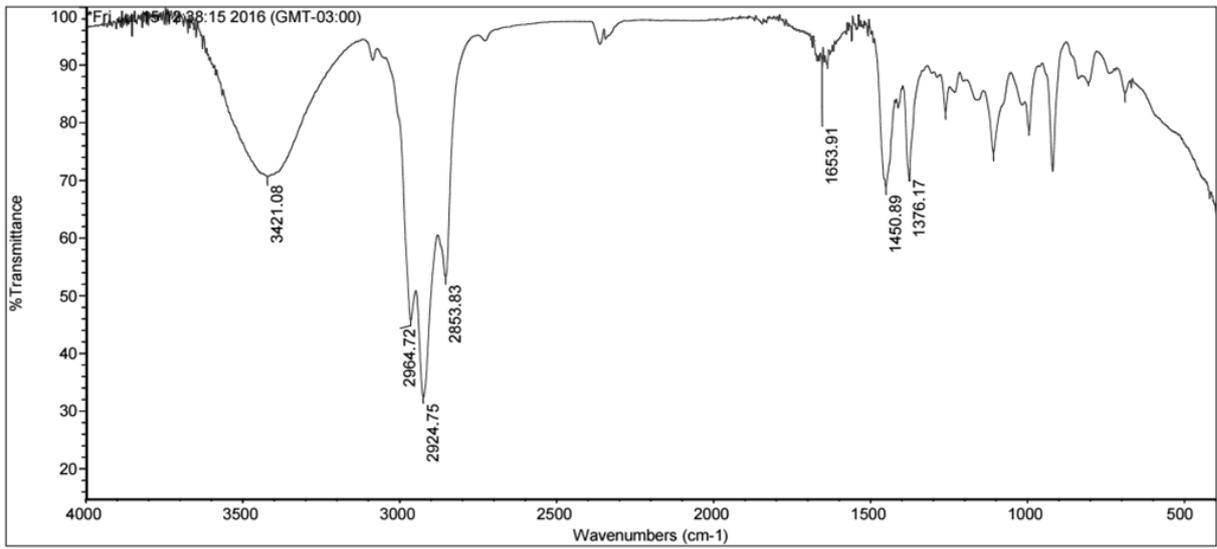


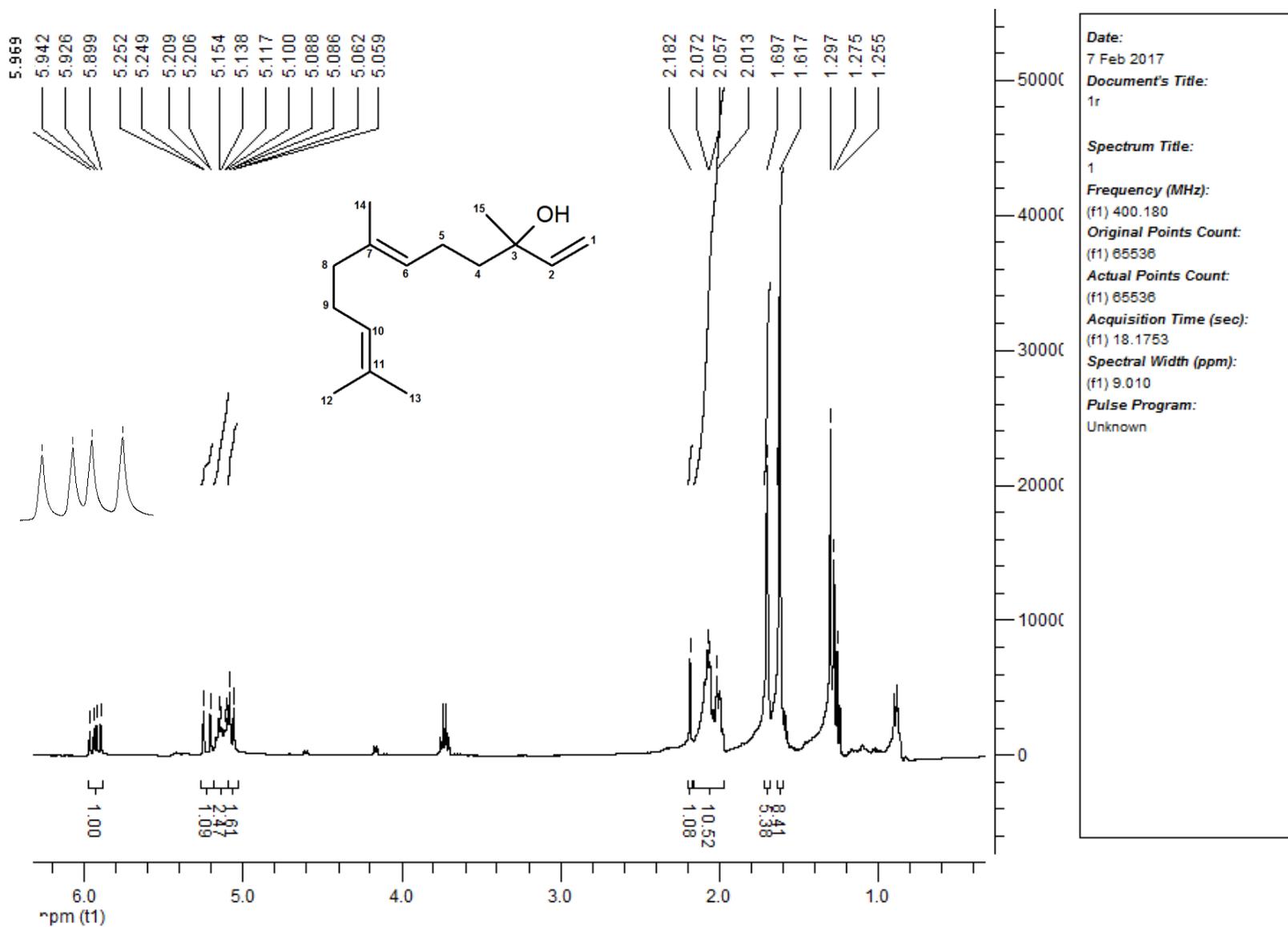
Figura 19. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-4.1.

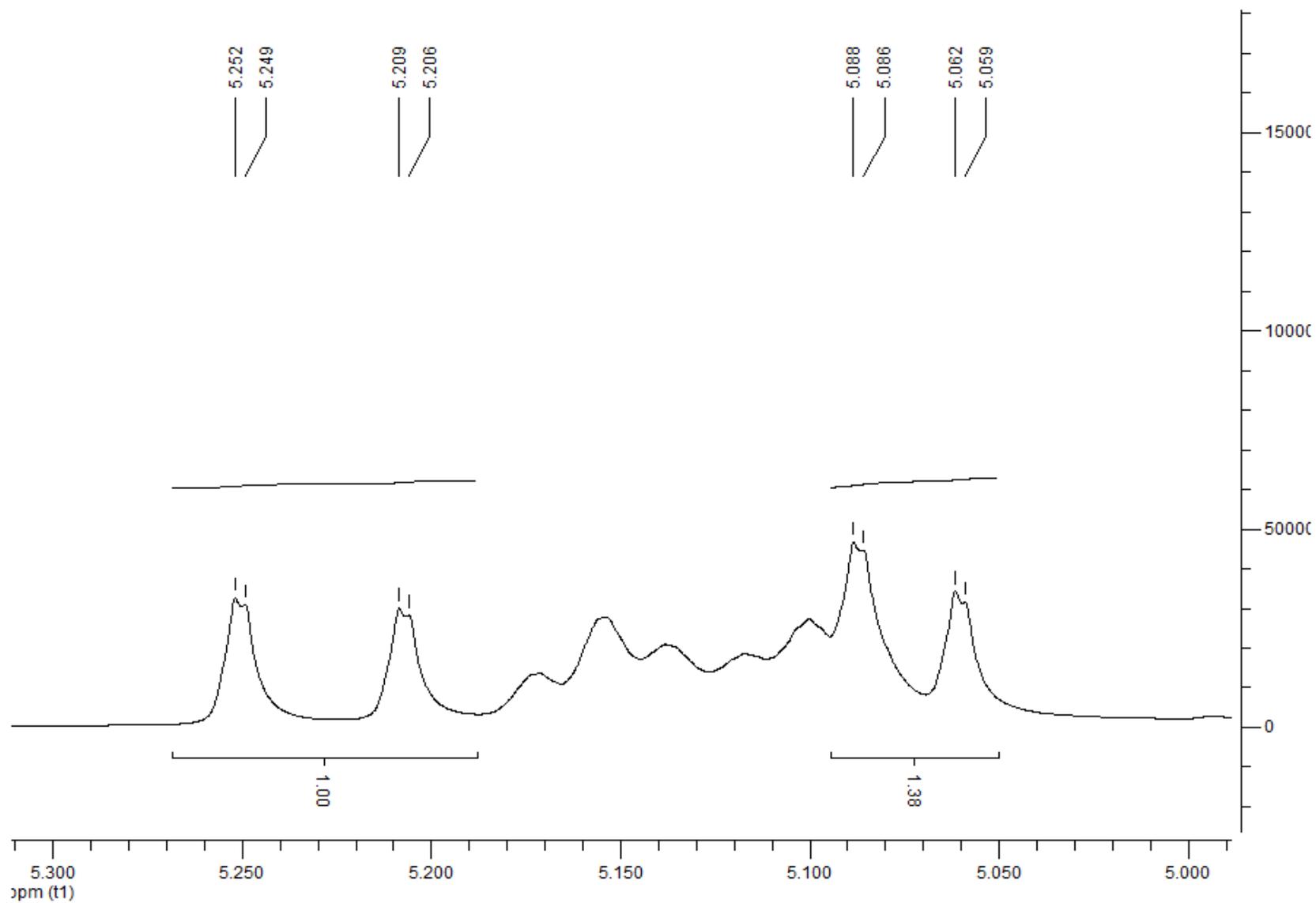
Figura 20. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-4.1 na faixa  $\delta$  5.3 - 5,0 ppm.

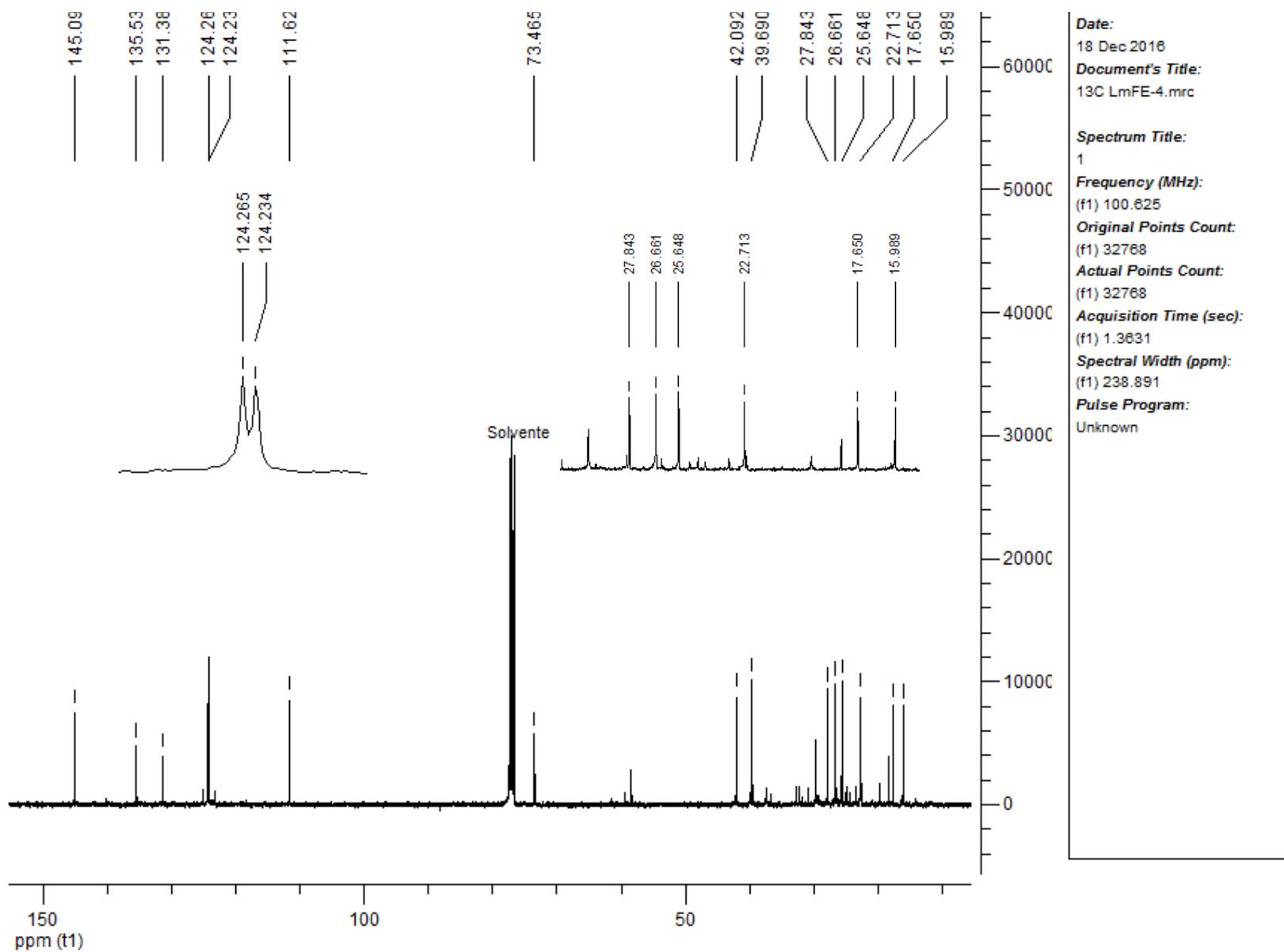
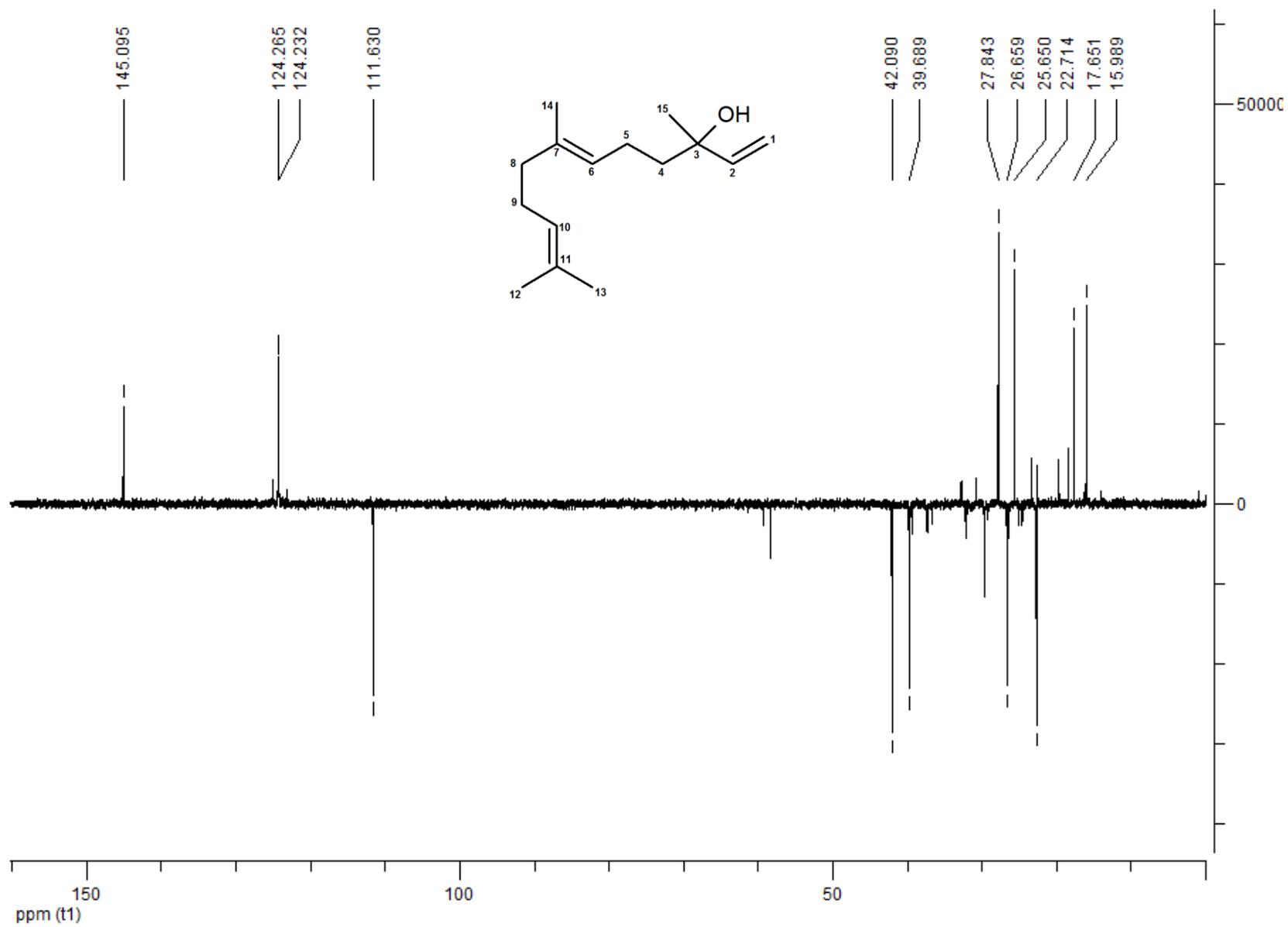
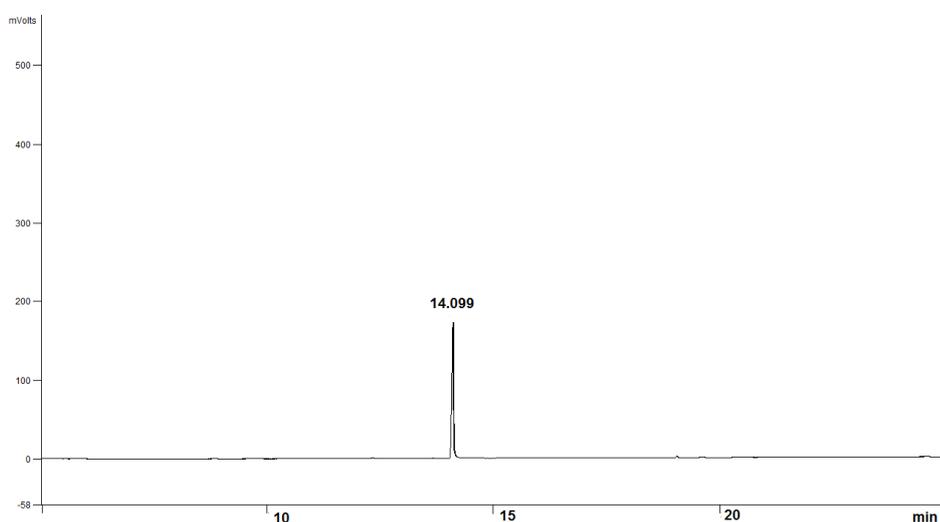
Figura 21. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-4.1.

Figura 22. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-4.1.

### 5.5.2. LmFE-6.1: Mistura de óleos rica em geraniol

A análise de **LmFE-6.1** em CG-DIC sob as mesmas condições estabelecidas para o óleo essencial, permitiu a obtenção de um cromatograma (Figura 23) que indicou a presença de um pico com tempo de retenção em 14,099 minutos, que corresponde ao tempo de retenção do geraniol (Figura 8, p. 45), identificado na análise de óleo das folhas de *L. macrophylla*.

Figura 23. Cromatograma (CG-DIC) de LmFE-6.1.



O espectro na região do infravermelho de **LmFE-6.1** (Figura 25, p. 66) apresentou banda larga como máximo de absorção em  $3346\text{ cm}^{-1}$  característica de estiramento O-H de hidroxila em ligação de hidrogênio intermolecular (SILVERSTEIN *et al.*, 2005). As bandas intensas com absorções em  $2924$  e  $2856\text{ cm}^{-1}$  correspondem ao estiramento de ligações C-H de CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> sugerindo um caráter alifático à estrutura. A presença da banda em  $1669\text{ cm}^{-1}$  é característica de estiramento de ligação C=C de olefina.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H de **LmFE-6.1** (Figura 26, p.67) apresentou sete sinais, sendo os dois tripletos em  $\delta$  5,43 ( $J= 6,37\text{ Hz}$ ) e  $\delta$  5,11 ( $J= 6,60\text{ Hz}$ ) correspondentes à hidrogênios olefínicos (Figura 29, p. 70). O duplete em  $\delta$  4,16 ( $J=6,88\text{ Hz}$ ) com integral dois foi atribuído à hidrogênios ligados à carbono oxigenado. Os multipletos com sinais em  $\delta$  2,11 e  $\delta$  2,05 são compatíveis com os

hidrogênios metilênicos vicinais H-4 e H-5 em comparação com a literatura (JEON *et al.*, 2008) para a estrutura do geraniol.

A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 28, p. 69) e DEPT-135 (Figura 29, p. 70) de **LmFE-6.1** possibilitou a identificação de dez sinais de carbonos, sendo destes dois carbonos não-hidrogenados, dois carbonos metínicos, três carbonos metilênicos e três carbonos metílicos. O sinal em  $\delta$  59,4 ppm ( $\text{CH}_2$ ) apresentou deslocamento característico de carbono oxigenado, sendo atribuído ao carbono C-1 hidroxilado. Os sinais de carbonos não hidrogenados em  $\delta$  139,7 e 131,7 ppm são característicos de carbono olefínicos. Os sinais em  $\delta$  123,9 ppm (CH) e  $\delta$  123,4 ppm (CH) também são característicos de carbonos olefínicos hidrogenados, revelando a presença de dois sistemas olefínicos trissubstituídos na estrutura.

Os dados obtidos da análise CG-DIC juntamente com os dados espectroscópicos obtidos e a comparação com dados da literatura levaram a identificar **LmFE-6.1** como sendo uma mistura de óleos que possui como composto majoritário o monoterpreno oxigenado **geraniol** (Figura 24).

Figura 24. Estrutura do geraniol.

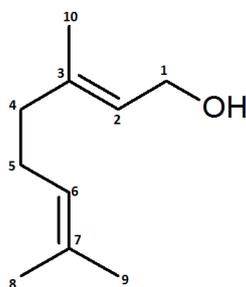


Tabela 10. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de LmFE-6.1 em comparação com os dados descritos na literatura.

nº C	DEPT-135	$\delta\text{C}$ (ppm)		$\delta\text{H}$ (ppm)
		LmFE-6.1 <sup>1</sup>	Lit. (JEON <i>et al.</i> , 2008) <sup>1</sup>	
1	CH <sub>2</sub>	59,4	59,3	4,16 (d, $J=6,88$ Hz)
2	CH	123,9	123,9	5,43 (t, $J=6,37$ Hz)
3	C	139,7	139,7	---
4	CH <sub>2</sub>	39,5	39,5	2,11, m
5	CH <sub>2</sub>	26,4	26,4	2,05, m
6	CH	123,4	123,3	5,11 (t, $J=6,60$ Hz)
7	C	131,7	131,7	---
8	CH <sub>3</sub>	25,6	25,6	1,69, s
9	CH <sub>3</sub>	17,6	17,6	1,62, s
10	CH <sub>3</sub>	16,2	16,2	1,69, s

<sup>1</sup>Espectro adquirido utilizando  $\text{CDCl}_3$  como solvente.

Figura 25. Espectro na região do infravermelho de LmFE-6.1 (em KBr).

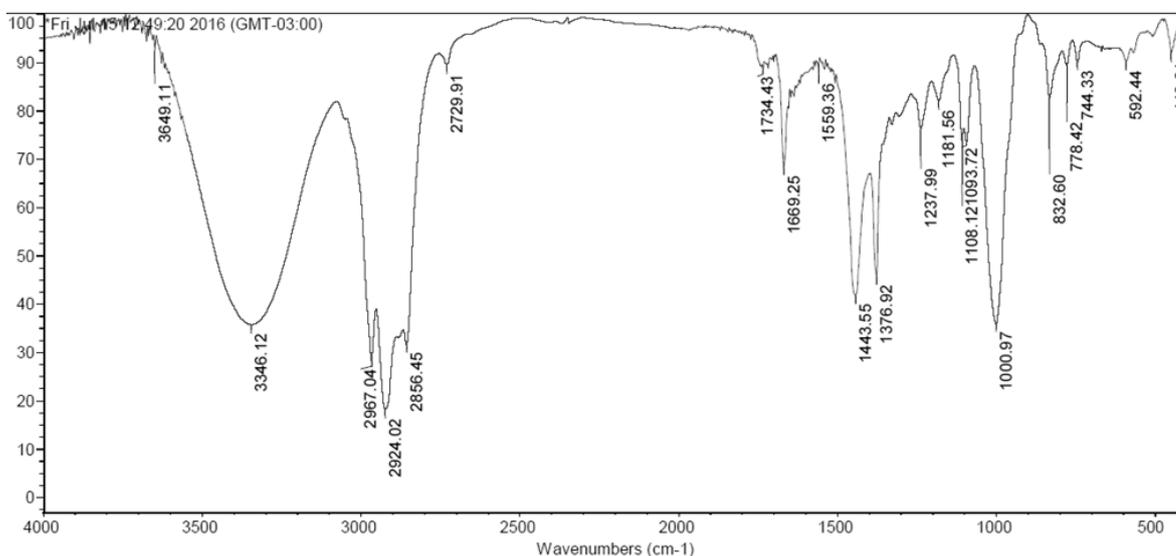


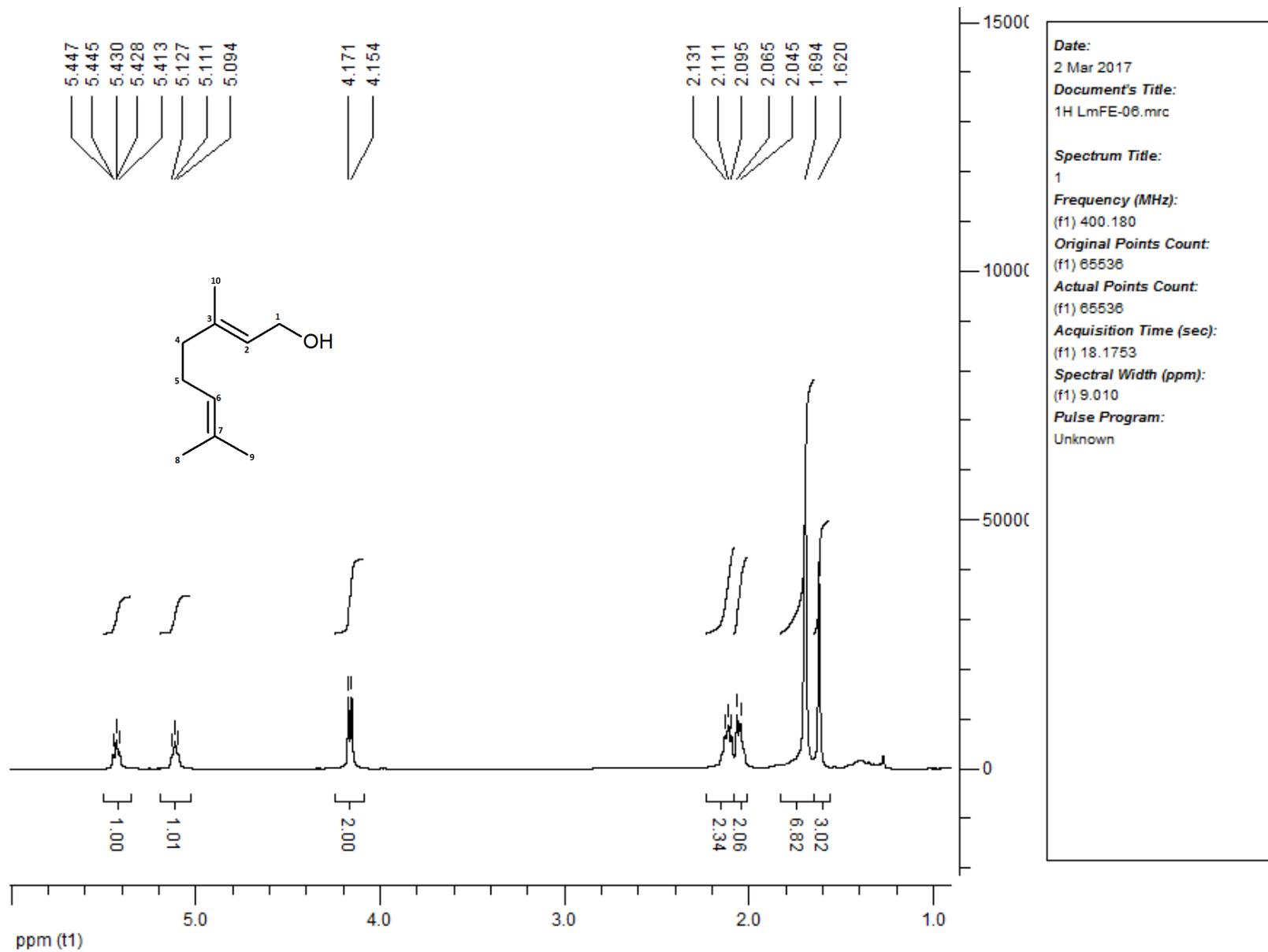
Figura 26. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-6.1.

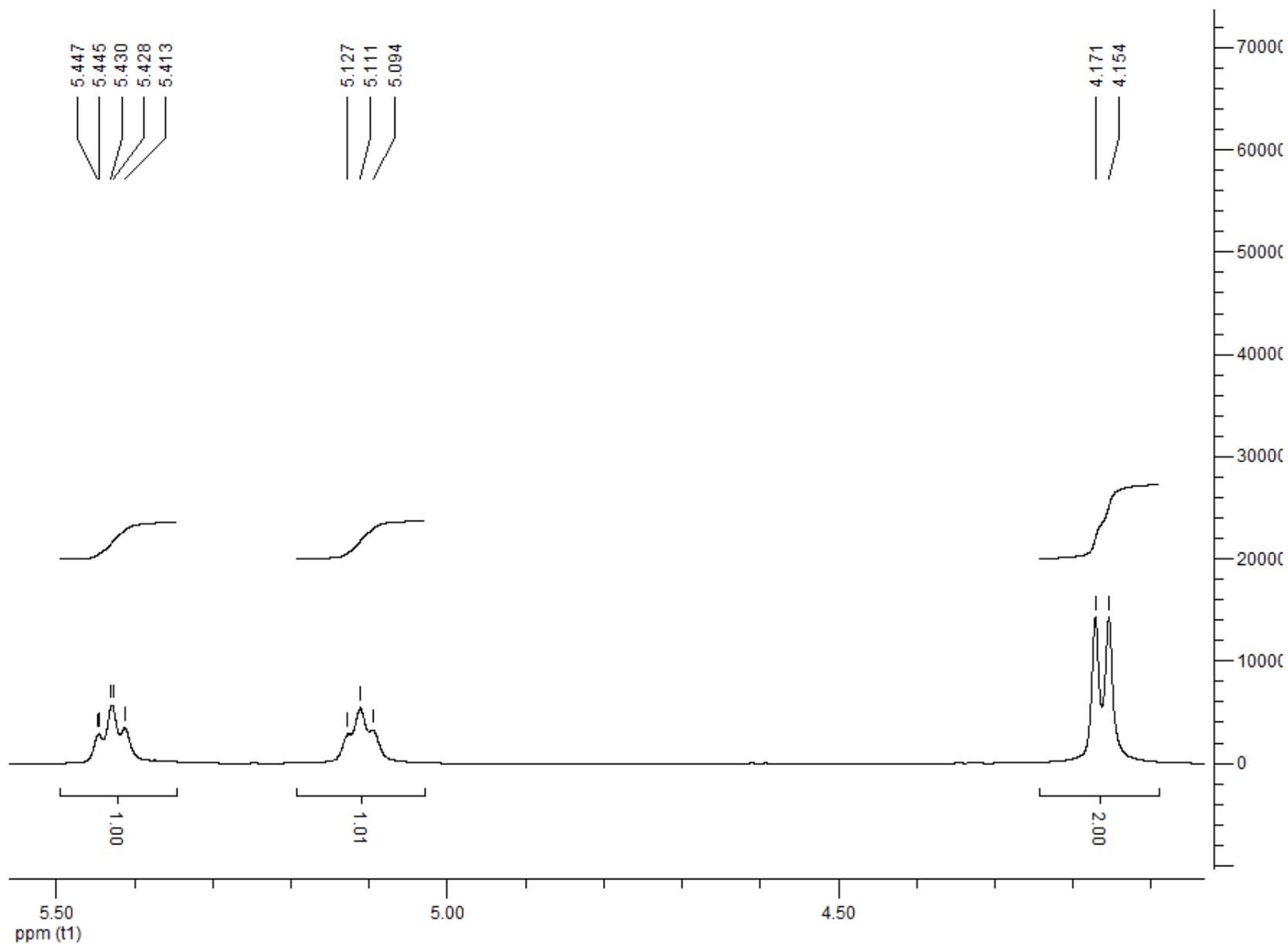
Figura 27. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de LmFE-6.1 na região  $\delta$  5.56-4.03 ppm.

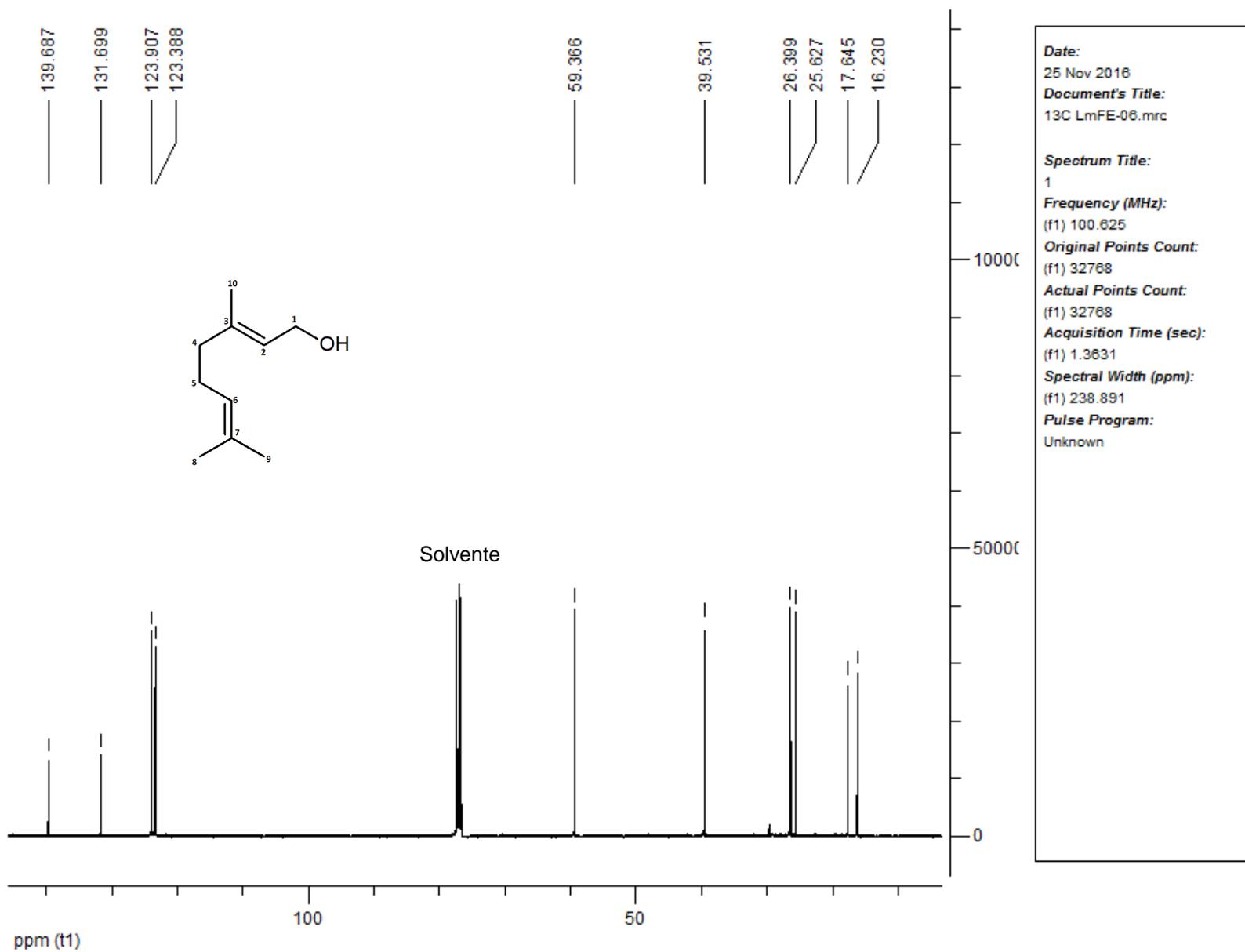
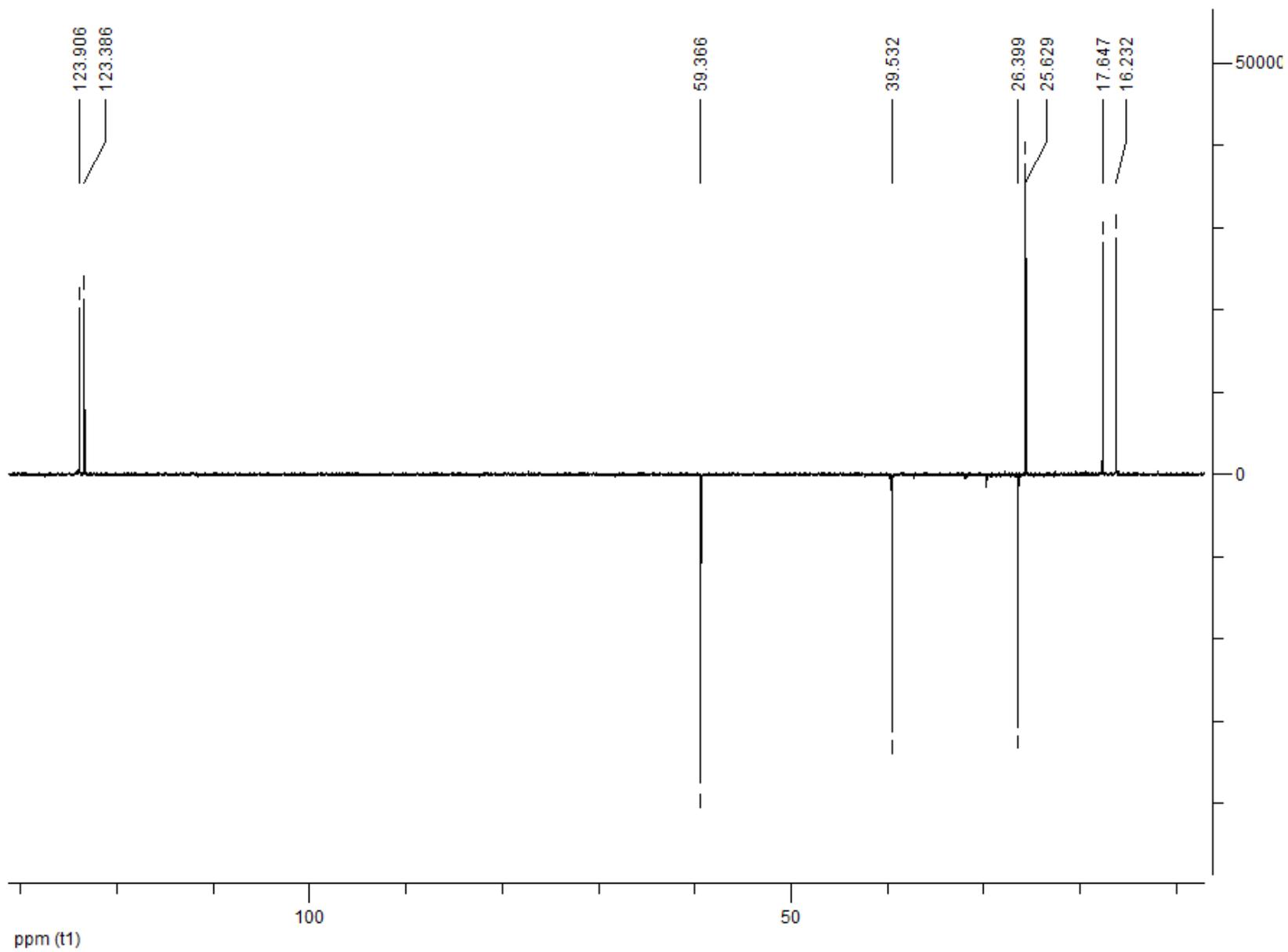
Figura 28. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-6.1.

Figura 29. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de LmFE-6.1.

### 5.5.3. LmFE-7.1: Ácido graxo de cadeia saturada

Na análise do espectro no infravermelho de **LmFE-7.1** (Figura 30, p. 72), foi possível sugerir a presença de hidroxila a partir do máximo de absorção observado em  $3440\text{ cm}^{-1}$ , característica de estiramento O-H. Bandas intensas em  $2917$  e  $2849\text{ cm}^{-1}$  são características de estiramento de ligação C-H de cadeias de grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  de cadeias alifáticas. O máximo de absorção exibido em  $1708\text{ cm}^{-1}$  sugere a presença de uma carbonila de ácidos carboxílicos. As absorções em  $1473$  e  $1463\text{ cm}^{-1}$  características de deformação angular da ligação CH de alifáticos, juntamente com as absorções em  $729$  e  $719\text{ cm}^{-1}$  características de deformação angular de cadeias  $(\text{CH}_2)_n$  ( $n > 3$ ) (PAVIA *et al.*, 2012), corroboram a natureza alifática atribuída ao composto, indicando se tratar de um composto carbonilado de cadeia longa.

O teste de Liebermann-Burchard para esteroides e triterpenos realizado para **LmFE-7.1** não apresentou nenhuma coloração positiva (MATOS, 1997).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **LmFE-7.1** (Figura 31, p. 73) apresentou sinais característicos de átomos de hidrogênio de um ácido carboxílico alifático. O tripleto em  $\delta$  0,8 ppm (3H,  $J= 6,32\text{ Hz}$ ), foi atribuído à hidrogênios de uma metila terminal. O sinal em  $\delta$  1,48 ppm (2H) representa um tripleto ( $J= 6,80\text{ Hz}$ ) atribuído aos hidrogênios metilênicos do carbono C-3 da cadeia principal. O sinal de um tripleto em  $\delta$  2,14 ppm (2H,  $J= 7,33\text{ Hz}$ ), é compatível com hidrogênios do carbono C-2.

A análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 32, p. 74) e DEPT-135 (Figura 33, p. 75) possibilitou atribuição de seis linhas espectrais característicos de um ácido carboxílico, sendo o sinal em  $\delta$  174,8 ppm referente à carbonila. O sinal intenso em  $\delta$  1,2 ppm é característico de carbonos metilênicos de cadeia longa. O sinal em  $\delta$  14,2 ppm foi atribuído ao carbono metílico terminal. Os sinais em  $\delta$  25,0 e 22,5 ppm correspondem respectivamente ao carbono C-3 e ao penúltimo carbono da cadeia. Os sinais em  $\delta$  34,2 e 31,7 ppm são compatíveis com os carbonos C-2 e o antepenúltimo da cadeia alifática.

A ausência de sinais entre  $\delta$  120-150 ppm, correspondentes à carbonos olefínicos, a faixa de fusão  $80\text{-}81\text{ }^\circ\text{C}$  e os dados espectroscópicos sugerem que **LmFE-7.1** trata-se de um ácido graxo de cadeia longa e saturada.

A comparação do espectro de infravermelho de **LmFE-8.1**, bem como faixa de fusão e  $R_f$  iguais em análise por CCD, permitem sugerir que **LmFE-8.1** trata-se de quantidade adicional da substância **LmFE-7.1**.

**Figura 30. Espectro na região do infravermelho de LmFE-7.1 (em KBr).**

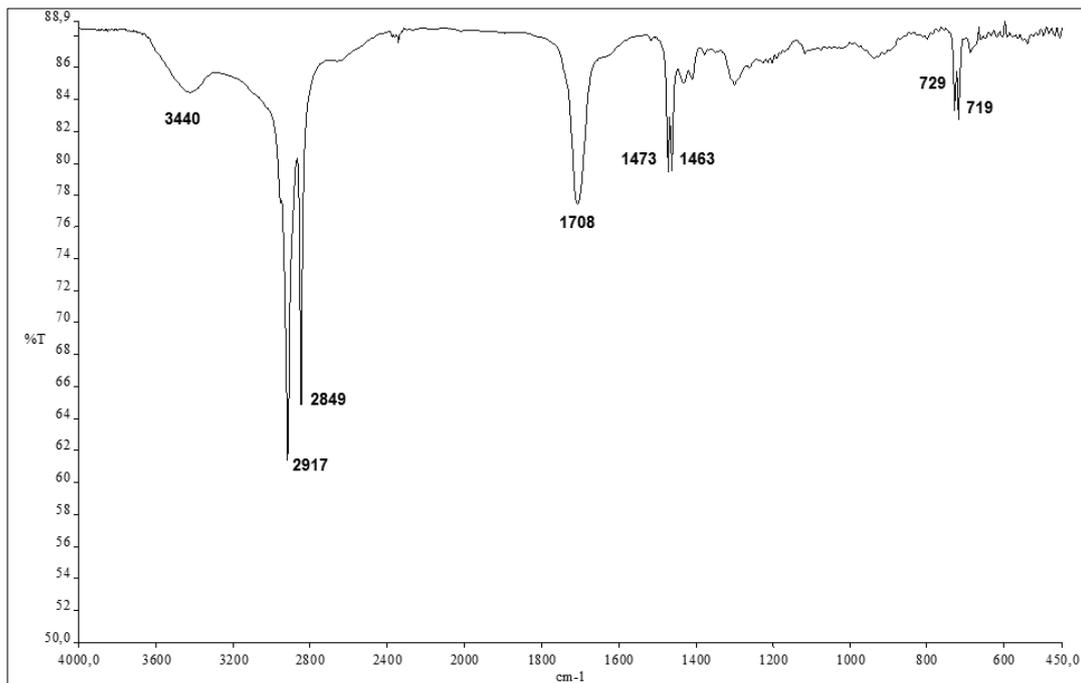
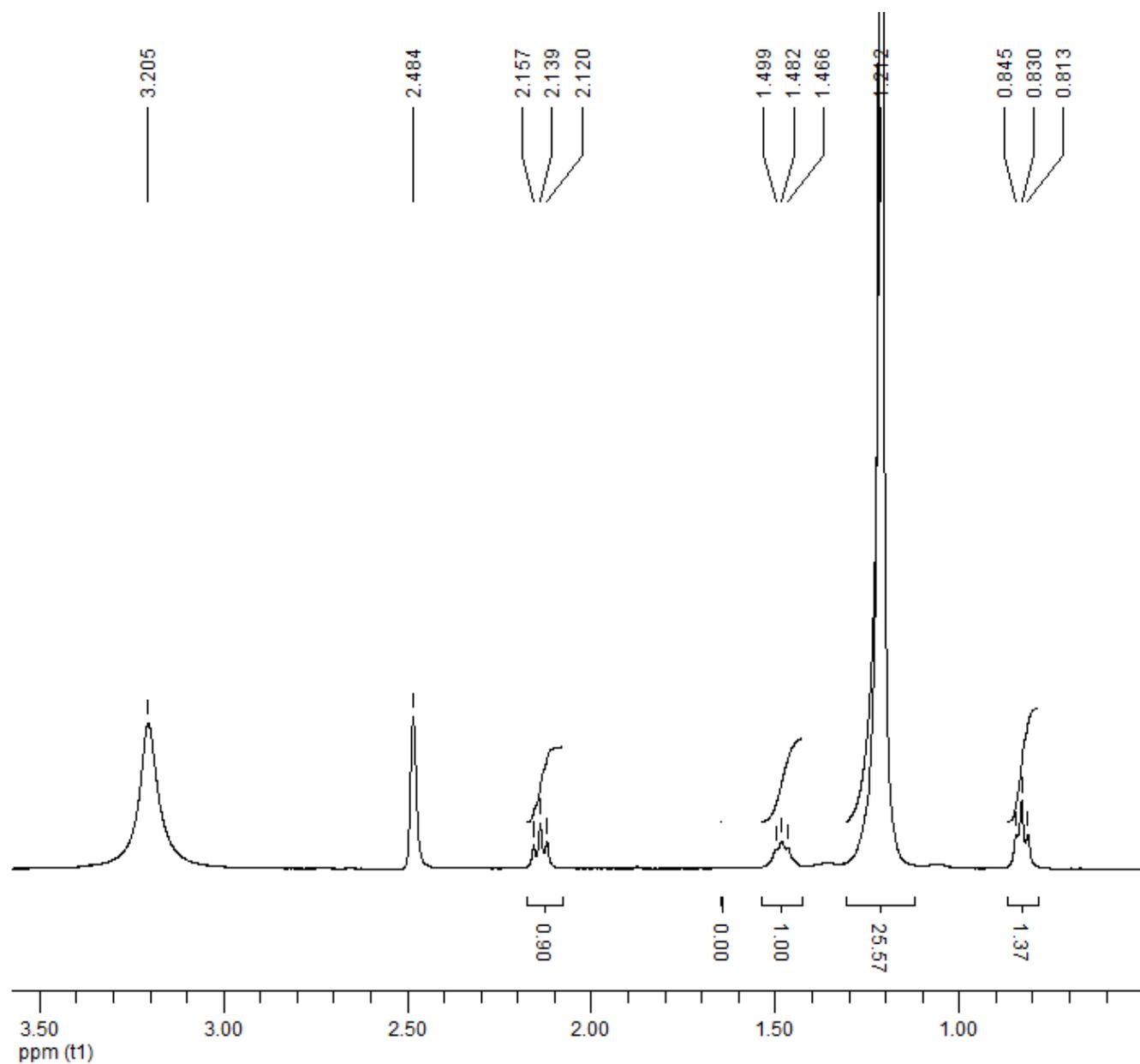


Figura 31. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-7.1.



**Date:**  
13 Feb 2017

**Document's Title:**  
1H LmFE G8.mrc

**Spectrum Title:**  
espectro obtenido a 50 C

**Frequency (MHz):**  
(f1) 400.180

**Original Points Count:**  
(f1) 65536

**Actual Points Count:**  
(f1) 65536

**Acquisition Time (sec):**  
(f1) 5.4526

**Spectral Width (ppm):**  
(f1) 30.035

**Pulse Program:**  
Unknown

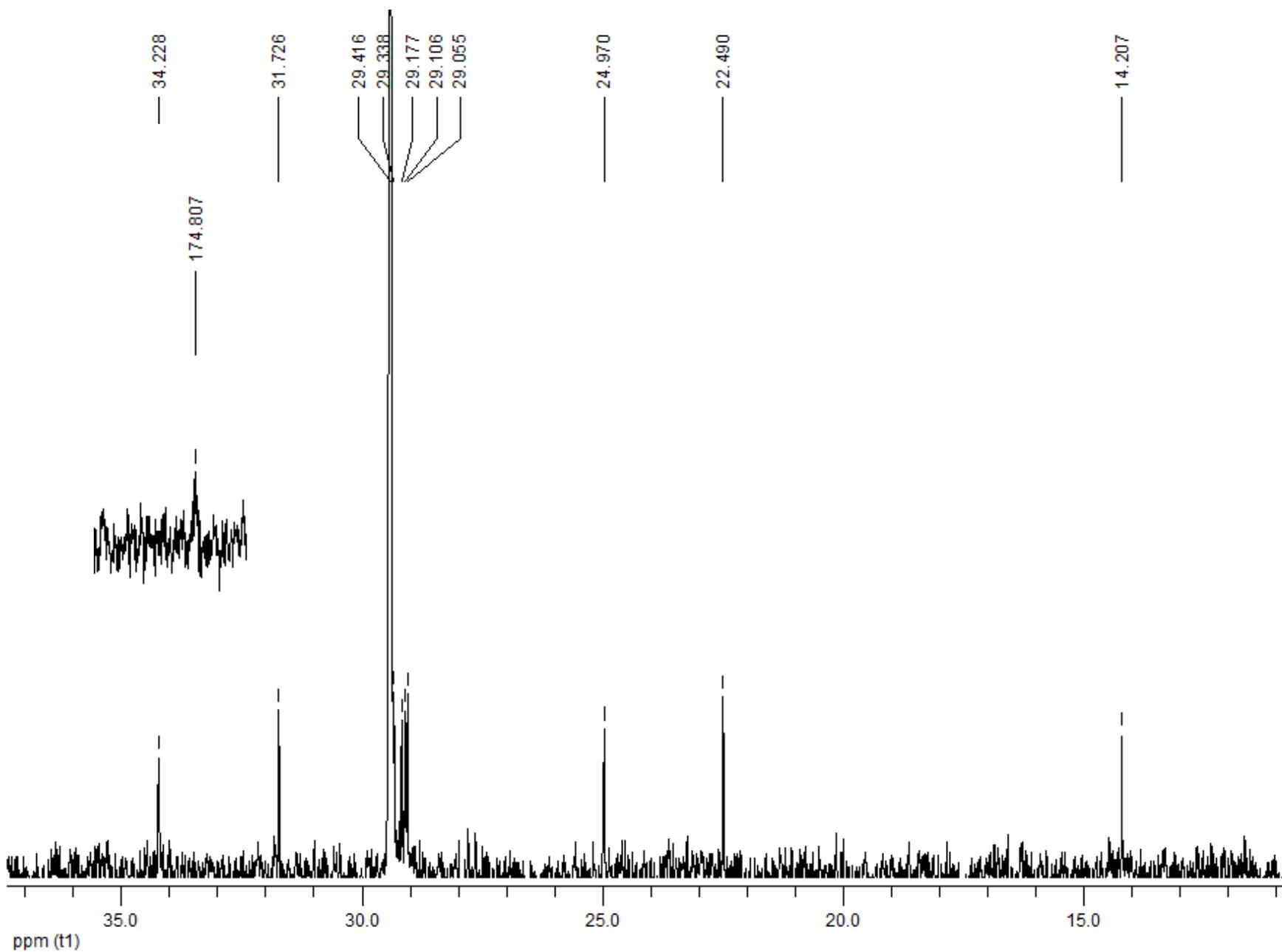
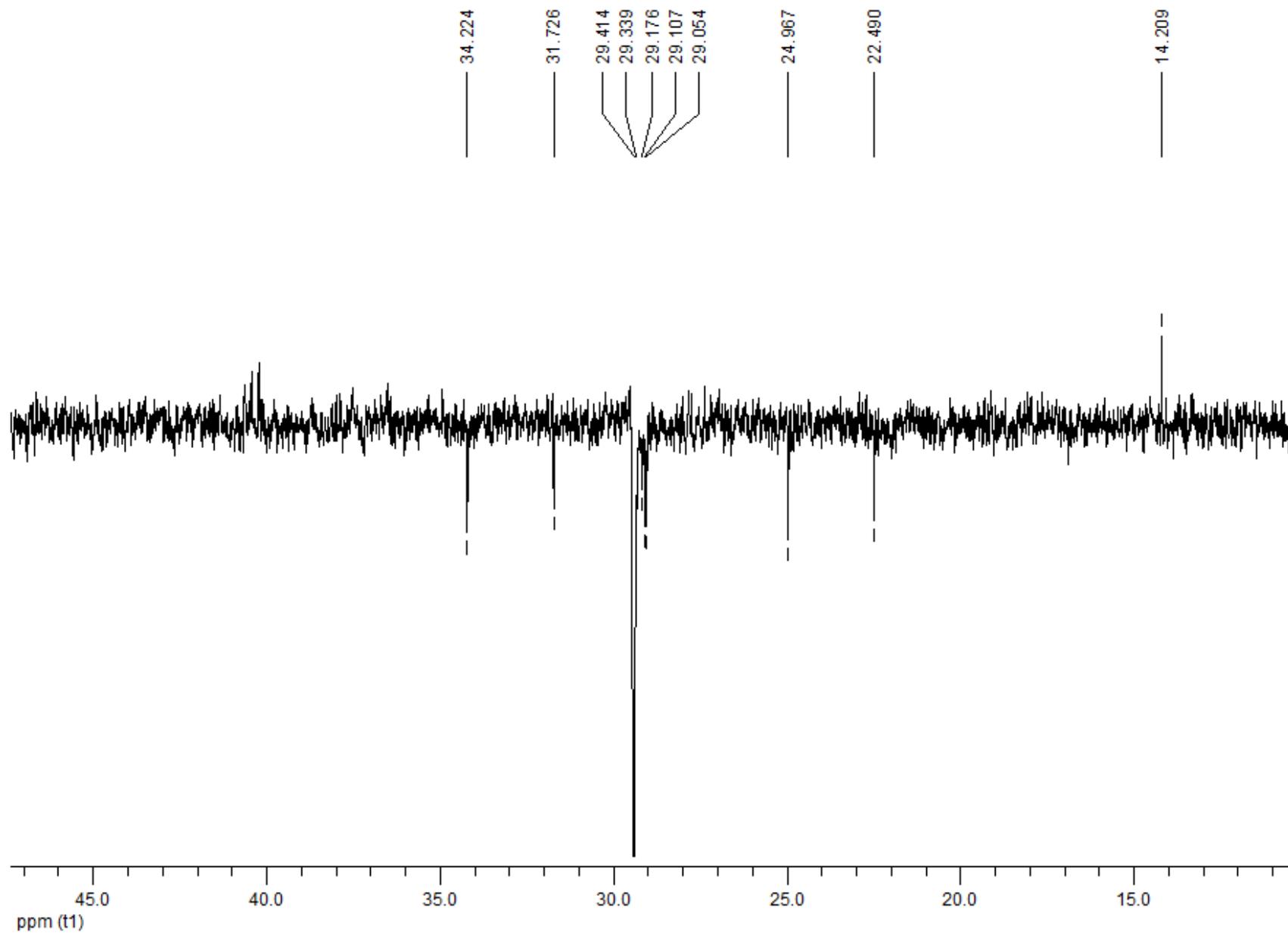
Figura 32. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) de LmFE-7.1.

Figura 33. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub>) de LmFE-7.1.



#### 5.5.4. LmFE-7.2: $\beta$ -sitosterol

A análise do espectro no infravermelho de **LmFE-7.2** (Figura 36, p. 79) apresentou máximos de absorções em 2935 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  características de estiramento assimétrico de ligação C-H (de grupo  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ ), denotando uma estrutura alifática. A banda intensa com máximo de absorção em 3432  $\text{cm}^{-1}$  compatível com estiramento da ligação O-H, indicando a presença de grupo hidroxila na molécula. Já o máximo de absorção em 1630  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuído ao estiramento de ligação C=C de grupo olefínico.

O teste de Liebermann-Burchard para **LmFE-7.2** apresentou como resultado uma coloração verde persistente, sugerindo resultado positivo para esteroide (MATOS, 1997).

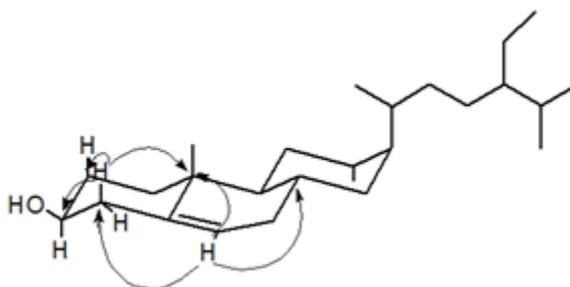
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 37, p. 80), os sinais múltiplos entre  $\delta$  0,61 – 2,17 ppm, são característicos de hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos compatíveis com uma estrutura alifática esteroidal. O singleto observado em  $\delta$  0,62 ppm (3H) é característico dos hidrogênios da metila C-18 de um esteroide. Em  $\delta$  5,23 ppm ( $J=5,07$  Hz) é observado um sinal duplo, atribuído ao hidrogênio olefínico H-6, e o multipletto em  $\delta$  3,33 ppm (1H) típico de hidrogênio carbinólico.

Na análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (, p. 81) e DEPT-135 (Figura, p. 83), foi possível atribuir vinte e nove sinais sendo destes onze carbonos metilênicos, nove carbonos metínicos e seis carbonos metílicos, de modo que tais dados mostram-se compatíveis com uma estrutura esteroidal. Foram observados sinais característicos de carbonos olefínicos em  $\delta$  141,78 (C) e  $\delta$  120,77 (CH) além do carbono oxigenado em  $\delta$  70,65 (CH) foram atribuídos respectivamente aos carbonos C-5, C-6 e C-3 do núcleo esteroidal (Tabela 5).

O mapa da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC (Figura 41, p. 84) exibiu correlação entre o sinal de hidrogênio  $\delta$  3,33 ppm com o de carbono em  $\delta$  70,65 ppm (CH), hidrogênio carbinólico H-3 (1H). A correlação observada entre o dubleto em  $\delta$  5,23 ppm com de carbono em  $\delta$  120,77 ppm (CH), possibilitou caracteriza-lo como o hidrogênio olefínico H-6. A correlação apresentada entre o singleto em  $\delta$  0,62 ppm com o sinal do carbono metílico C-18 contribuiu para corroborar a proposta estrutural do esqueleto esteroidal.

O espectro bidimensional da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC (Figura 42, p. 85) apresentou correlações entre o duplete correspondente ao hidrogênio olefínico H-6 em  $\delta$  5,23 ppm com os carbonos C-8 ( $\delta$  32,01 ppm), C-10 ( $\delta$  36,58 ppm) e C-4 ( $\delta$  42,7 ppm), as quais corroboram com a proposta da instauração presente entre os carbonos C-5 e C-6. Foi possível ainda observar as correlações entre os hidrogênios metilênicos H-4 em  $\delta$  2,16 ppm com os carbonos C-10 ( $\delta$  36,58 ppm), C-2 ( $\delta$  31,88 ppm) e C-3 ( $\delta$  70,65 ppm) (Figura 34).

Figura 34. Correlações  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  observadas no espectro HMBC de LmFE-7.2.



A comparação dos dados espectroscópicos obtidos com dados descritos na literatura (GOAD, 1991), bem como o ponto de fusão (134-136 °C), permitiram sugerir que **LmFE-7.2** tratava-se do esteroide  **$\beta$ -sitosterol** (Figura 35).

Figura 35. Estrutura do  $\beta$ -sitosterol.

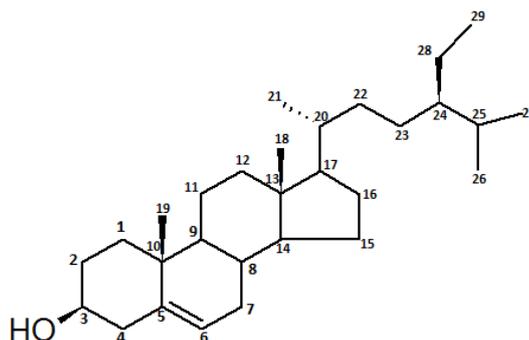


Tabela 11. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de LmFE-7.2 em comparação com os dados descritos na literatura.

nº C	DEPT-135	$\delta\text{C}$ (ppm)		$\delta\text{H}$ (ppm)
		LmFE-7.2 <sup>1</sup>	Lit. (GOAD 1991) <sup>2</sup>	
1	CH <sub>2</sub>	37,47	37,3	0,99
2	CH <sub>2</sub>	31,88	31,9	1,73
3	CH	70,65	71,7	3,33
4	CH <sub>2</sub>	42,70	42,5	2,16
5	C	141,78	140,97	-----
6	CH	120,77	121,95	5,23, d
7	CH <sub>2</sub>	29,41	31,9	
8	CH	32,01	31,9	1,90
9	CH	50,26	50,2	0,89
10	C	36,58	36,5	-----
11	CH <sub>2</sub>	21,10	21,1	1,46
12	CH <sub>2</sub>	39,81	39,9	1,99
13	C	42,36	42,5	-----
14	CH	56,74	56,8	
15	CH <sub>2</sub>	24,29	24,3	1,77
16	CH <sub>2</sub>	28,16	28,3	
17	CH	56,07	56,1	
18	CH <sub>3</sub>	12,02	11,9	0,61, s
19	CH <sub>3</sub>	19,49	19,4	
20	CH	35,93	36,2	1,34
21	CH <sub>3</sub>	19,01	18,8	0,90
22	CH <sub>2</sub>	33,98	33,9	
23	CH <sub>2</sub>	26,33	26,1	1,14
24	CH	45,83	45,9	0,92
25	CH	29,41	29,2	
26	CH <sub>3</sub>	19,99	19,8	
27	CH <sub>3</sub>	19,36	19,1	
28	CH <sub>2</sub>	23,22	23,1	1,26
29	CH <sub>3</sub>	12,16	12,3	0,62

<sup>1</sup>Espectro adquirido utilizando  $\text{CDCl}_3$  e piridina-*d*<sub>5</sub> como solvente.

<sup>2</sup>Espectro adquirido utilizando  $\text{CDCl}_3$ .

Figura 36. Espectro na região do infravermelho de LmFE-7.2 (em KBr).

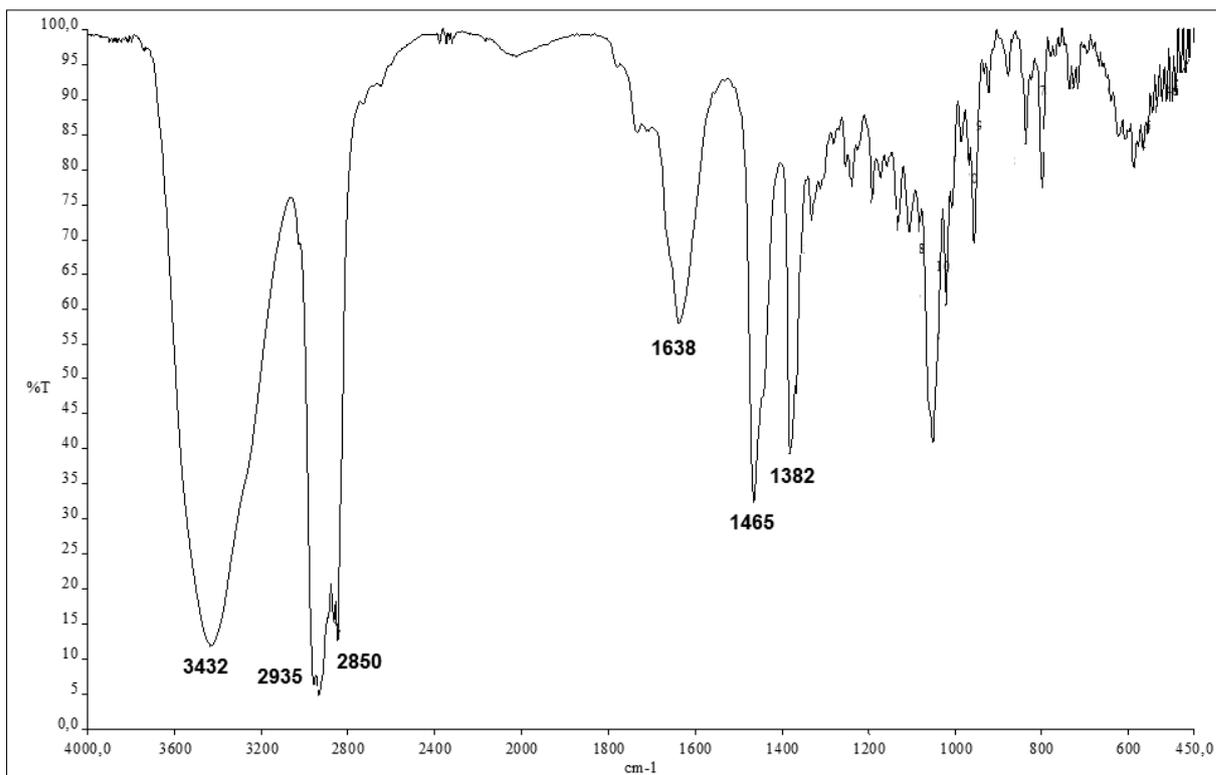
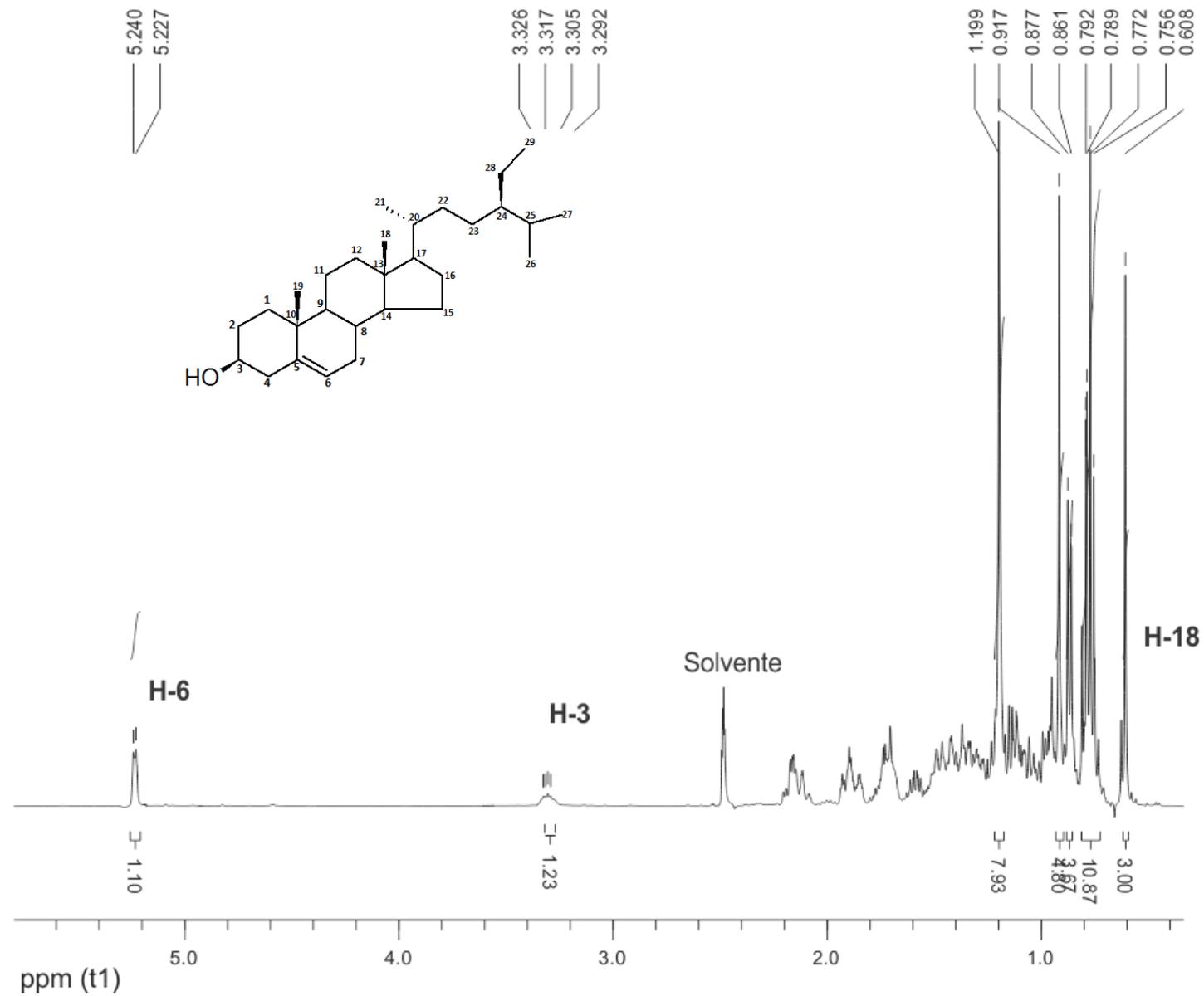
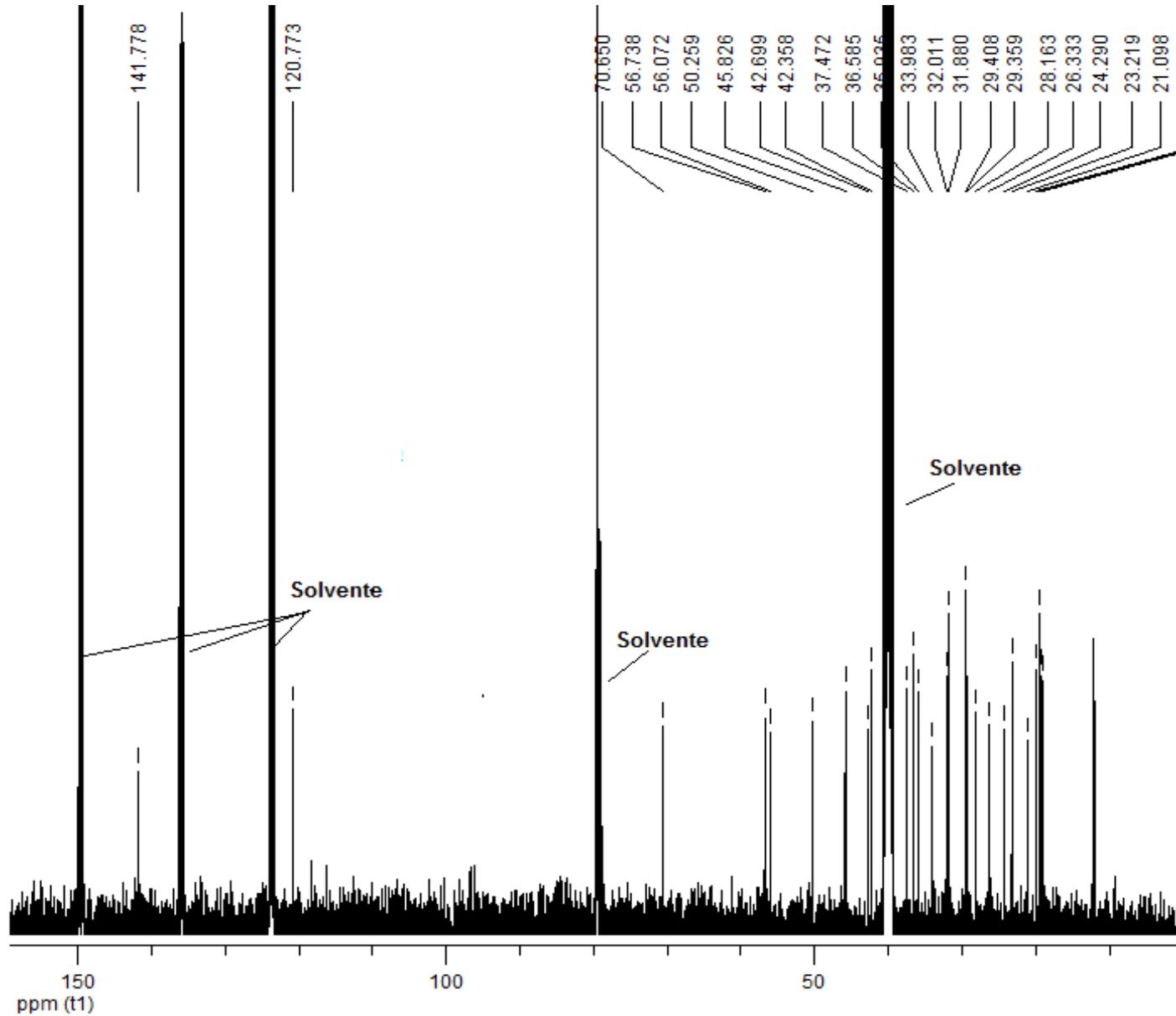


Figura 37. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  e piridina- $d_5$ ) de LmFE-7.2.

**Date:**  
8 Feb 2017  
**Document's Title:**  
H1 - LmFe G7 03.mrc

**Spectrum Title:**  
1  
**Frequency (MHz):**  
(f1) 400.180  
**Original Points Count:**  
(f1) 65536  
**Actual Points Count:**  
(f1) 65536  
**Acquisition Time (sec):**  
(f1) 5.4526  
**Spectral Width (ppm):**  
(f1) 30.035  
**Pulse Program:**  
Unknown

Figura 38. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  e piridina- $d_5$ ) de LmFE-7.2.



**Date:**  
11 Sep 2016

**Document's Title:**  
C13 LmFE G7 07.mrc

**Spectrum Title:**  
1

**Frequency (MHz):**  
(f1) 100.625

**Original Points Count:**  
(f1) 32768

**Actual Points Count:**  
(f1) 32768

**Acquisition Time (sec):**  
(f1) 1.3631

**Spectral Width (ppm):**  
(f1) 238.891

**Pulse Program:**  
Unknown

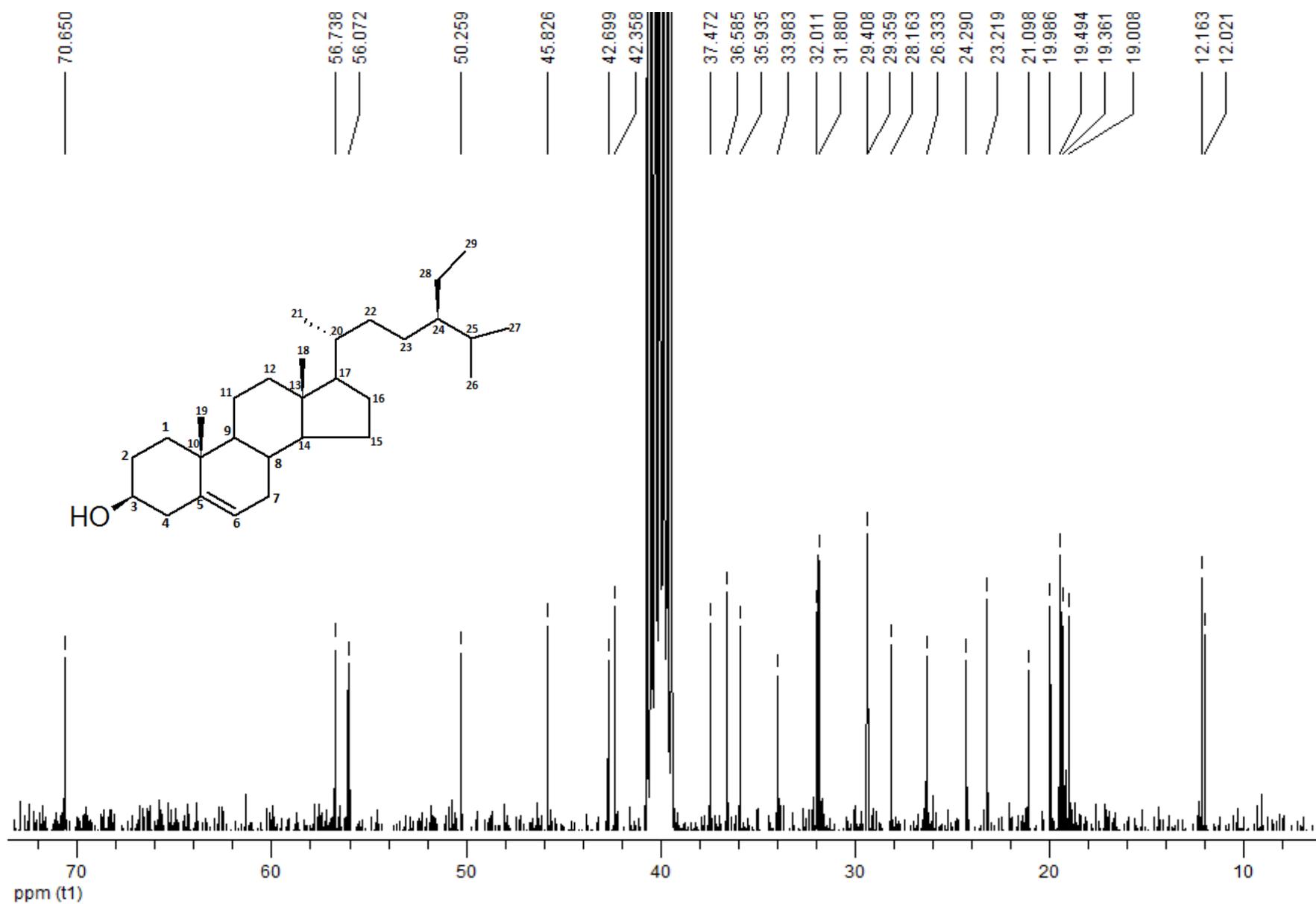
Figura 39. Ampliação do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  e piridina- $d_5$ ) de LmFE-7.2 na região  $\delta$  74 a 6 ppm.

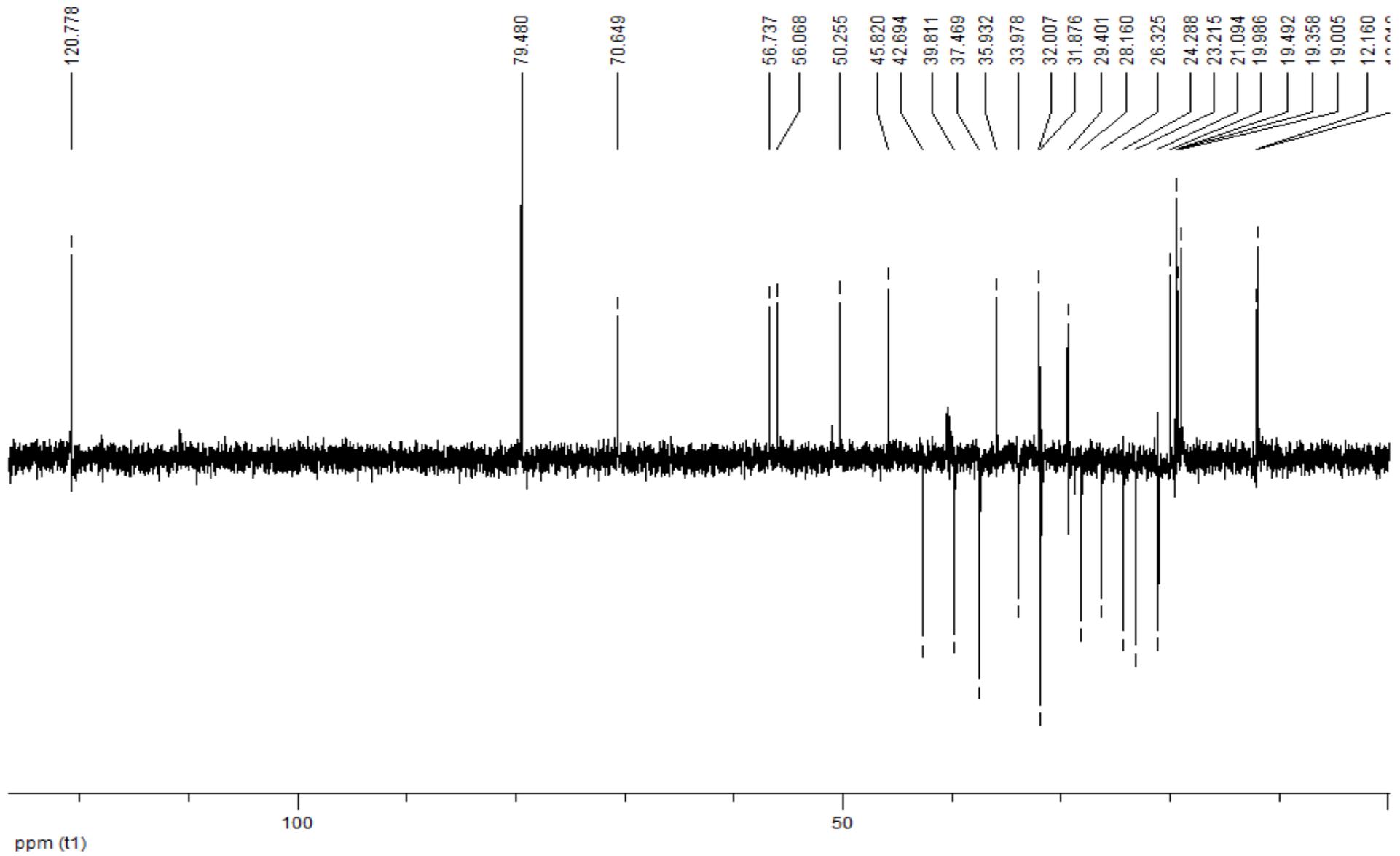
Figura 40. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub> e piridina-d<sub>5</sub>) de LmFE-7.2.

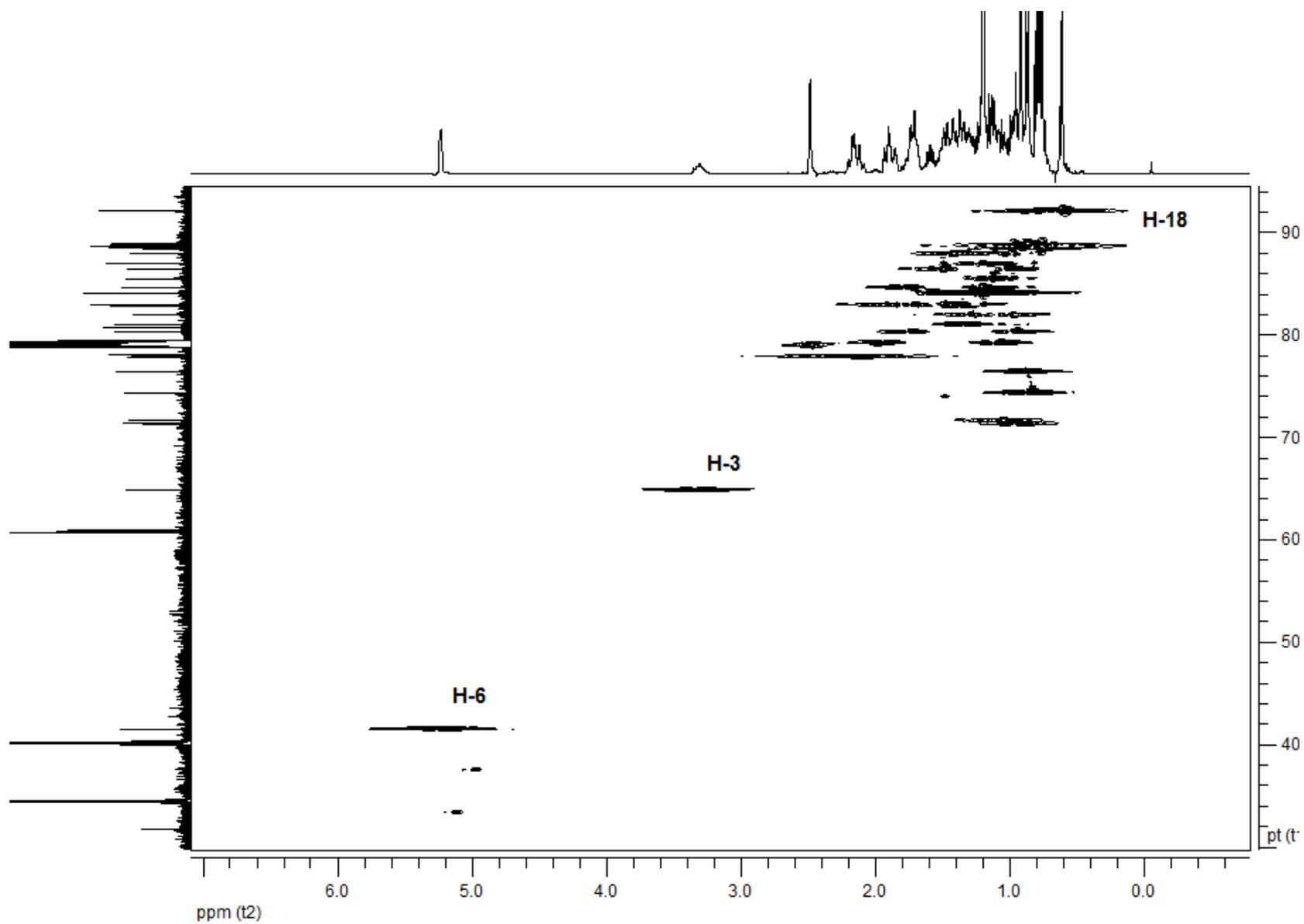
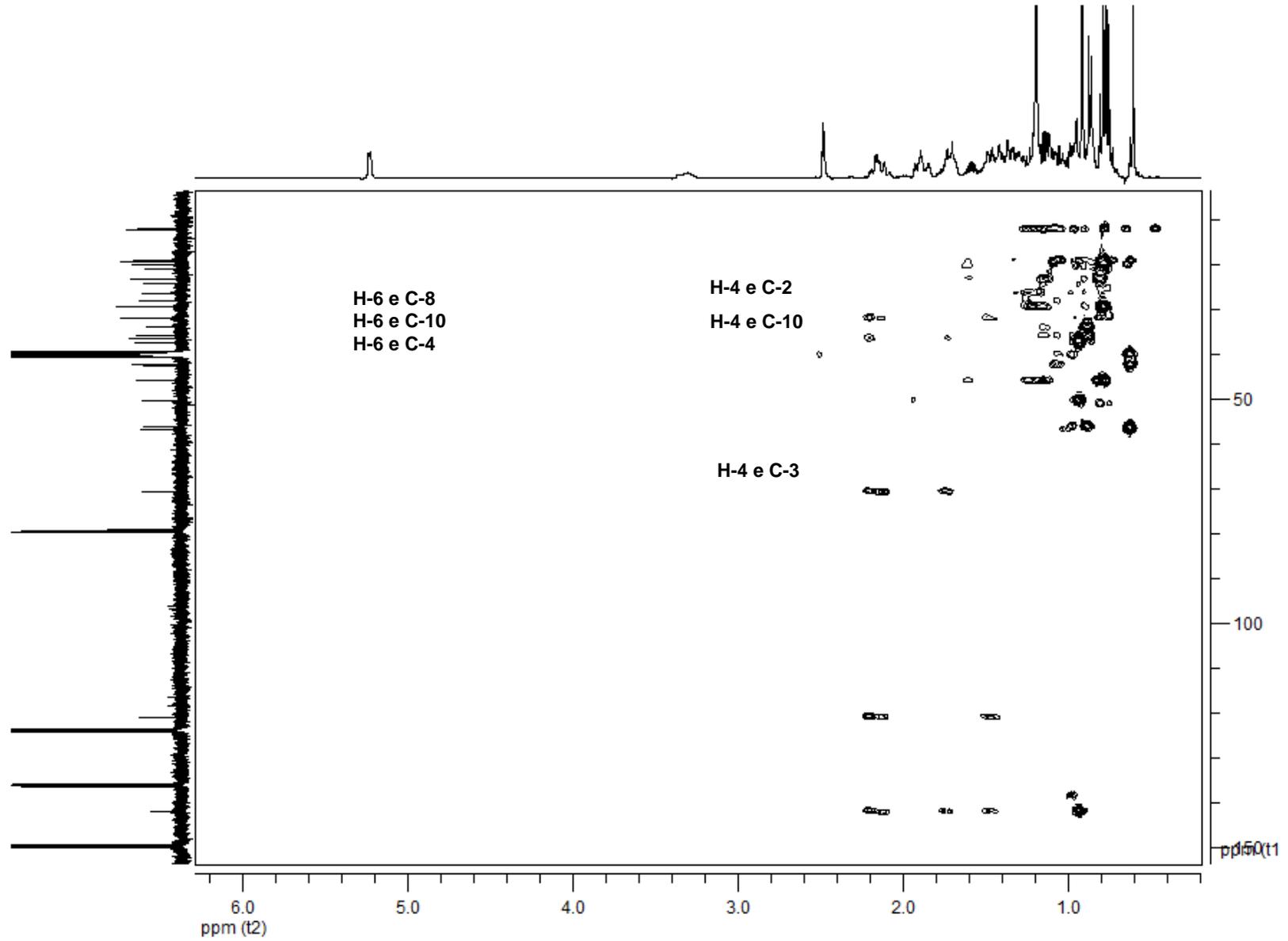
Figura 41. Espectro de RMN HSQC da correlação  $^1\text{H}$  -  $^{13}\text{C}$  de LmFE-7.2.

Figura 42. Espectro de RMN HMBC da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de LmFE-7.2.

### 5.5.5. LmFE-14.1: hispidulina (4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona)

O espectro de absorção na região do infravermelho de **LmFE-14.1** (Figura 45, p. 89) apresentou banda com máximos de absorção em  $3442\text{ cm}^{-1}$ , característica de estiramento de ligação O-H, indicando a presença de hidroxila na estrutura. A absorção com máximo em  $1602$  e  $1579\text{ cm}^{-1}$  representa deformação axial de ligação C=C e a banda em  $1478\text{ cm}^{-1}$  é característica de vibrações em núcleos aromáticos (PAVIA *et al.*, 2012). O máximo de absorção em  $1654\text{ cm}^{-1}$  é característico de carbonila conjugada (SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

O espectro na região UV/Vis de **LmFE-14.1** em metanol (Figura 46, p. 90) apresentou máximos em 215, 274 e 334 nm, característicos de um flavonoide (MARCUCCI *et al.*, 1998). Ao se adicionar NaOH, observou-se um deslocamento batocrômico, o qual sugeriu a presença de hidroxila fenólica (Figura 47, p. 90). A adição de AcONa provocou um deslocamento batocrômico nos máximos de absorção em relação à curva em MeOH (Figura 48, p. 91), sugerindo a presença de hidroxila de caráter ácido acentuado nas posições C-7 e C-4'. A adição de  $\text{AlCl}_3$  na solução contendo **LmFE-14.1** em MeOH, provocou um deslocamento batocrômico que não foi regenerado após a adição de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (Figura 49, p. 91), sugerindo a presença de uma hidroxila quelada em C-5 (MARCUCCI *et al.*, 1998).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **LmFE-14.1** (Figura 50, p. 92) apresentou quatro sinais de ressonância na região de hidrogênios aromáticos, além de um singlete em  $\delta$  13,86 ppm (1H) atribuído a um hidrogênio de um grupo hidroxila quelado. Outros sinais (largo) atribuídos a hidrogênios de hidroxilas foram observados entre  $\delta$  10,5 ppm - 9,3 ppm. No espectro foi possível ainda atribuir o sinal em  $\delta$  3,86 ppm com integração relativa a três hidrogênios, sugerindo a presença de um grupo metoxila na estrutura do composto **LmEF-14.1**.

Dentre os sinais de hidrogênios aromáticos observados, destaca-se o singlete em  $\delta$  6,61 ppm atribuído ao hidrogênio H-8, evidenciando um anel aromático penta-substituído característico de anel-A de flavonoides. O singlete em  $\delta$  6,62 ppm foi atribuído ao hidrogênio olefínico característico do hidrogênio H-3 do núcleo de uma flavona (Figura 53, p. 95). A disposição dos hidrogênios no anel-B foi compreendida pela análise de dois duplo-dubletos referentes aos hidrogênios H-2' e H-6' em  $\delta$  7,90 ppm ( $J= 7,32\text{ Hz}$ ) e H-3' e H-5' em  $\delta$  7,00 ppm ( $J= 7,57\text{ Hz}$ ) sendo ambos os sinais

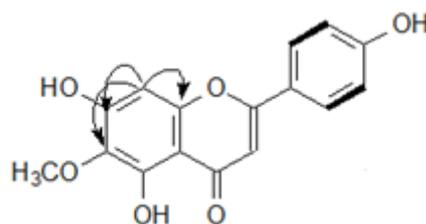
integrados para dois hidrogênios. Estes pares de hidrogênios *orto*-acoplados revelam o anel-B simétrico substituído na posição 4'.

A análise ao espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 52, p. 94) e DEPT-135 (Figura 54, p. 96) de **LmFE-14.1** possibilitaram a identificação de treze sinais, sendo destes, quatro de carbonos metínicos, um de carbono metílico e oito de carbonos não-hidrogenados. Os sinais em  $\delta$  116,08 e  $\delta$  128,89 ppm com maiores intensidades indicaram se tratar de dois pares de carbonos equivalentes hidrogenados referentes aos respectivos carbonos C-3' e 5' e C-2' e 6' do anel-B simétrico de um flavonoide. O sinais  $\delta$  164,38, 102,53 e  $\delta$  182,61 ppm, correspondem aos carbonos C-2, C-3 e a carbonila C-4 (anel-C), indicando que o carbono C-3 é não-oxigenado e típico de flavonas. O espectro HSQC (Figura 55, p. 97) da correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  exibe contorno referente ao carbono C-3 em  $\delta_{\text{C}}$  102,53 ppm com o hidrogênio H-3 em  $\delta_{\text{H}}$  6,62 ppm, sugerindo tratar-se do núcleo de uma flavona.

Os sinais em  $\delta$  161,63, 153,35, 131,60 e 157,38 ppm foram atribuídos respectivamente aos carbonos oxigenados C-4', C-5, C-6 e C-7 do anel flavonoídico. O sinal em  $\delta$  59,73 ppm ( $\text{CH}_3$ ), com deslocamento característico de carbono oxigenado, foi atribuído à metoxila, que através da análise dos experimentos espectroscópicos na região UV/Vis, permitiu sugerir sua localização no carbono C-6.

O espectro  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (Figura 57, p. 99) apresentou correlação entre os pares de hidrogênios mais próximos do anel-B ( $\delta$  7,90 e  $\delta$  7,00 ppm). Já o mapa de contorno HMBC  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (Figura 56, p. 98) apresentou correlações entre o sinal do hidrogênio H-8 ( $\delta$  6,61 ppm) com os sinais dos carbonos C-6 em  $\delta$  131,60 ppm ( $^3\text{J}$ ), C-7 em  $\delta$  157,38 ppm ( $^2\text{J}$ ) e C-9 em 153,01 ppm ( $^2\text{J}$ ), evidenciando o caráter penta-substituído do anel-A (Tabela 12, p. 88).

Figura 43. Correlações  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC (  $\rightarrow$  ) e COSY (  $\text{—}$  ) de LmFE-14.1.



A faixa de fusão 285-287 °C e os dados espectroscópicos levaram a considerar **LmFE-14.1** como a 4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona (**hispidulina**) (Figura 44), a qual já foi isolada da espécie *L. montevidensis* (NAGAO *et al.*, 2002).

Figura 44. Estrutura da 4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona (**hispidulina**).

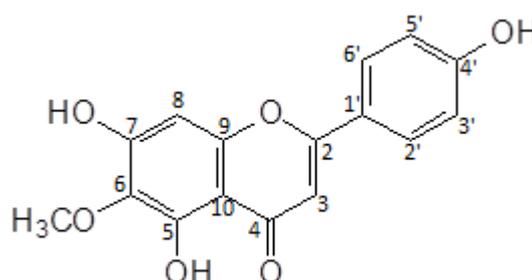
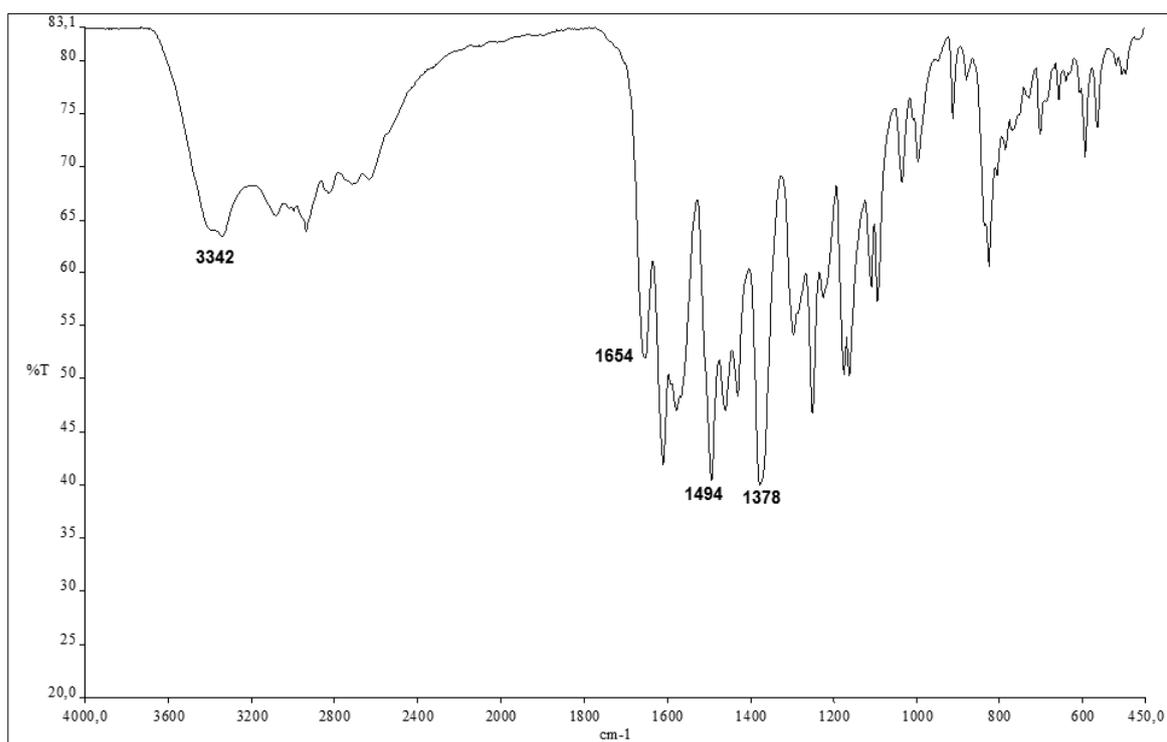


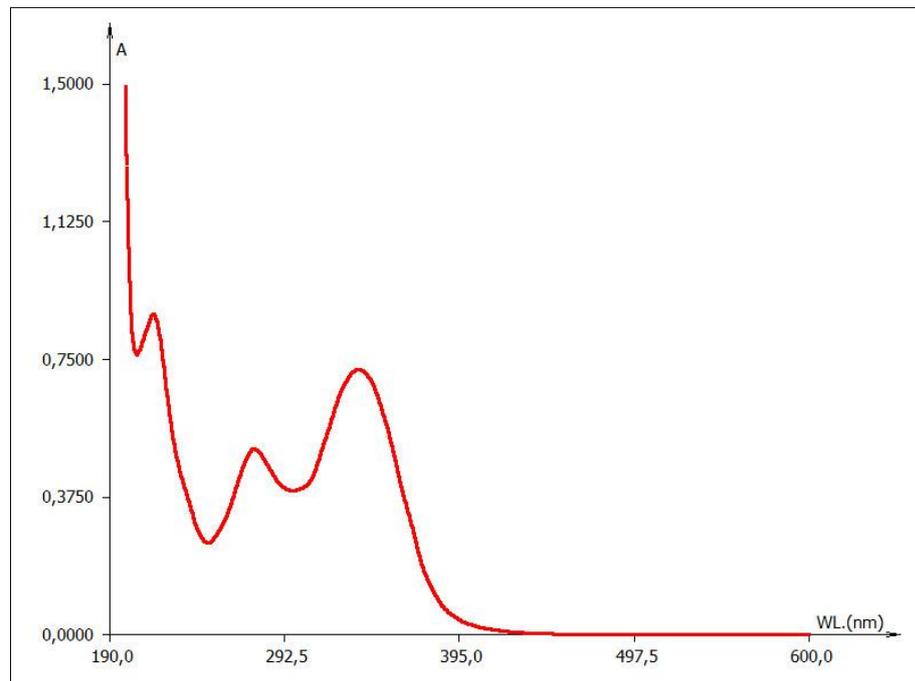
Tabela 12. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de LmFE-14.1 em comparação com os dados descritos na literatura.

nº C	DEPT-135	$\delta\text{C}$ (ppm)		$\delta\text{H}$ (ppm)	
		LmFE-14.1 <sup>1</sup>	Lit. (CHACÓN-MORALES, <i>et al.</i> , 2013) <sup>1</sup>	LmFE-14.1 <sup>1</sup>	Lit. (CHACÓN-MORALES, <i>et al.</i> , 2013) <sup>1</sup>
2	C	164,38	163,8	-	-
3	CH	102,53	102,3	6,62, s	6,78, s
4	C	182,61	182,1	-	-
5	C	153,35	152,7	-	-
6	C	131,60	131,3	-	-
7	C	157,38	157,3	-	-
8	CH	94,06	94,2	6,61, s	6,59, s
9	C	153,01	152,4	-	-
10	C	104,67	104,0	-	-
1'	C	121,96	121,2	-	-
2'	CH	128,89	128,4	7,90, d ( $J=7,32$ )	7,93, d ( $J=12,5$ )
3'	CH	116,08	115,9	7,00, d ( $J=7,57$ )	6,92, d ( $J=12,5$ )
4'	C	161,63	161,1	-	-
5'	CH	116,08	115,9	7,00, d ( $J=7,57$ )	6,92, d ( $J=12,5$ )
6'	CH	128,89	128,4	7,90, d ( $J=7,32$ )	7,93, d ( $J=12,5$ )
1''	-OCH <sub>3</sub>	59,73	59,9	3,86, s	3,74, s

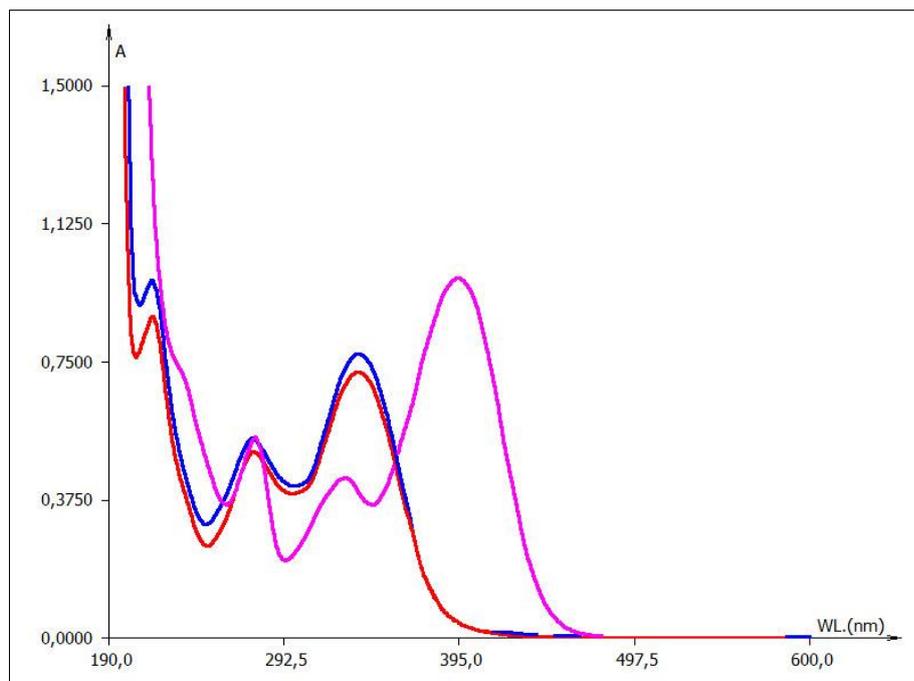
<sup>1</sup>Espectro adquirido utilizando CDCl<sub>3</sub> como solvente.

**Figura 45. Espectro na região do infravermelho (KBr) de LmFE-14.1.**

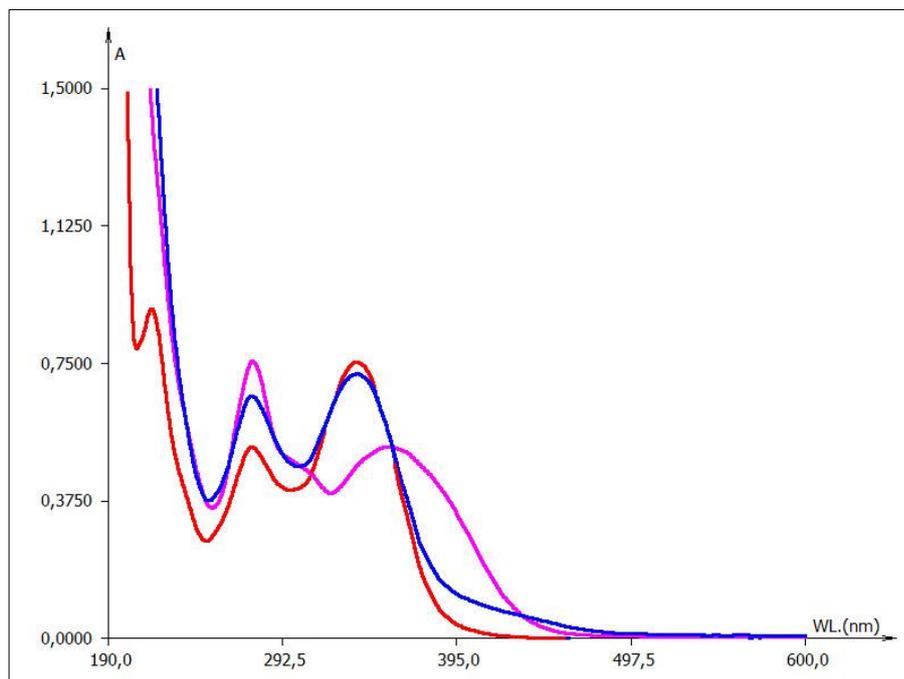
**Figura 46. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1 em MeOH.**



**Figura 47. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1. Curva vermelha: Espectro em MeOH; Curva rosa: Espectro em MeOH + NaOH; Curva azul: Espectro em MeOH + NaOH + HCl.**



**Figura 48. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1. Curva vermelha: Espectro em MeOH; Curva rosa: Espectro em MeOH + AcONa; Curva azul: Espectro em MeOH + AcONa + H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.**



**Figura 49. Espectro na região UV/Vis de LmFE-14.1. Curva vermelha: Espectro em MeOH; Curva rosa: Espectro em MeOH + AlCl<sub>3</sub>; Curva azul: Espectro em MeOH + AlCl<sub>3</sub> + HCl.**

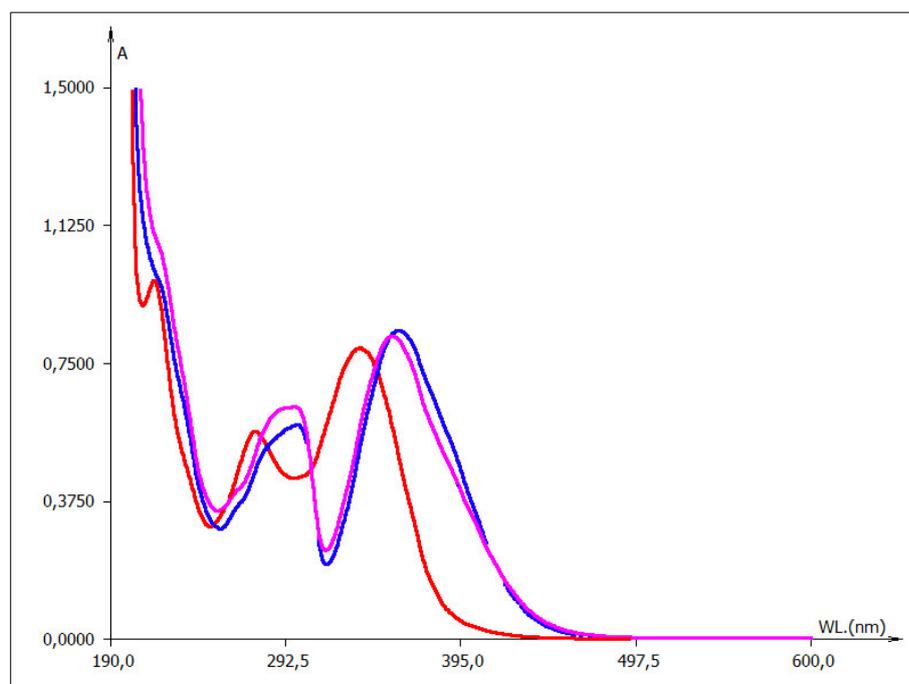


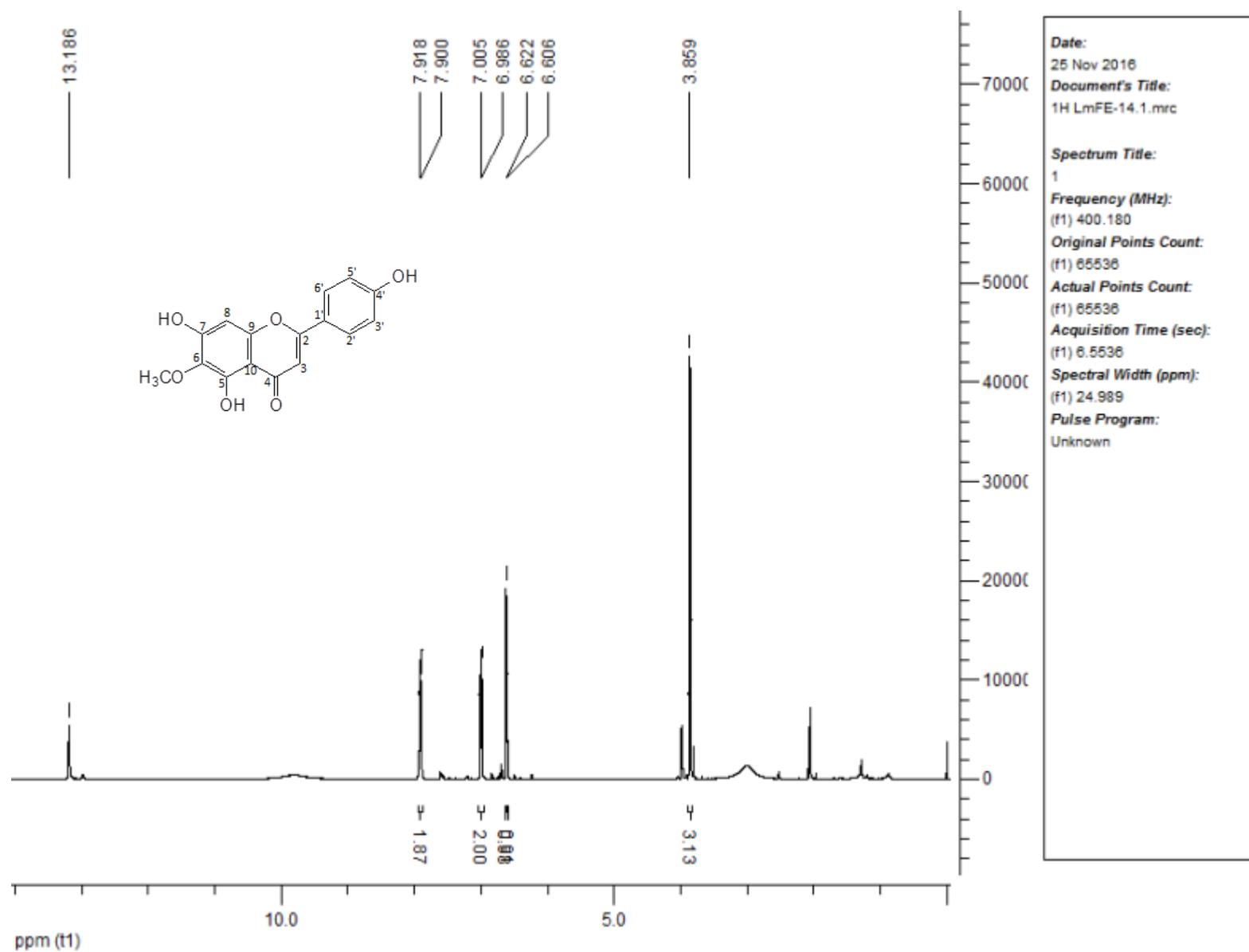
Figura 50. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de LmFE-14.1.

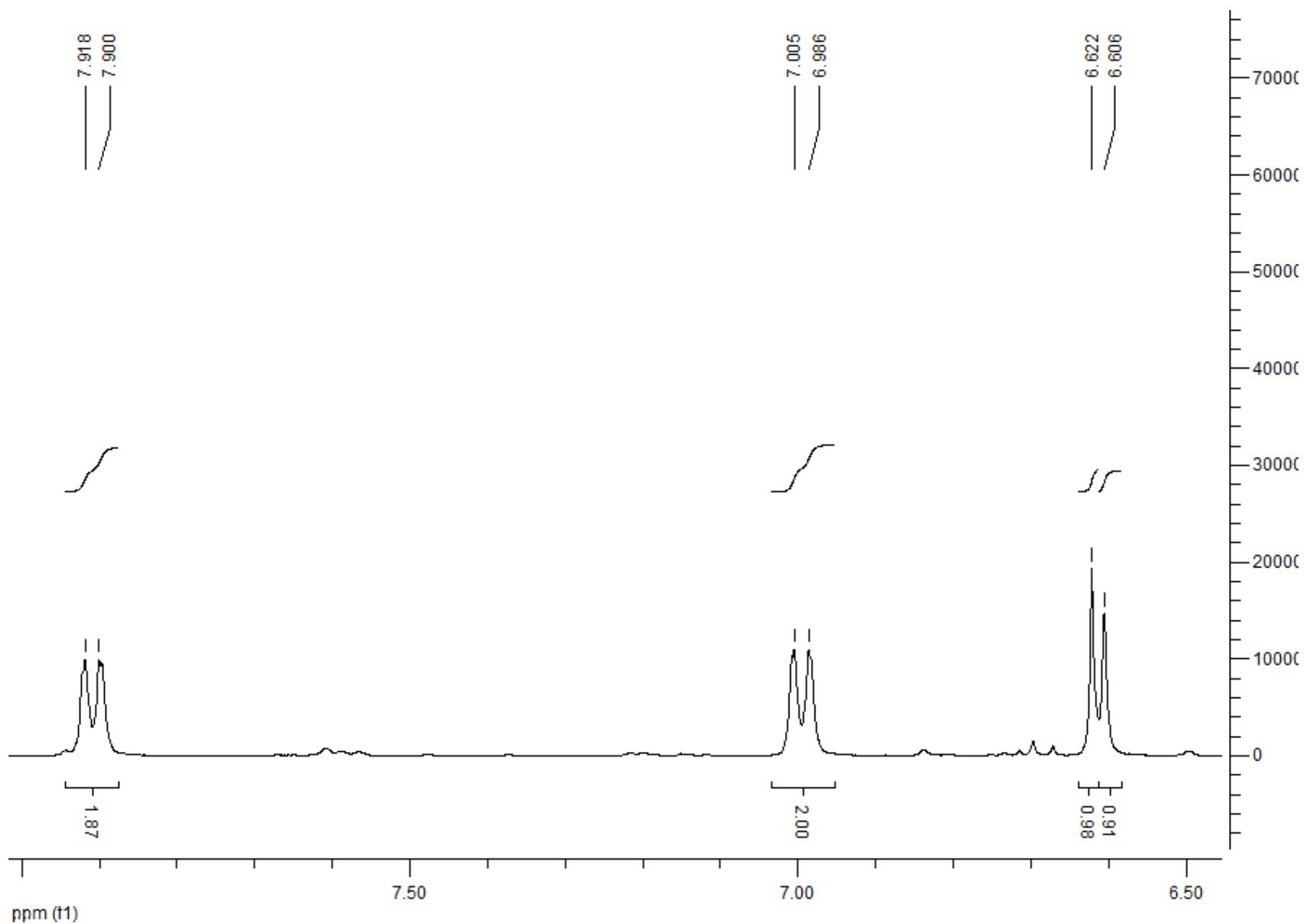
Figura 51. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de LmFE-14.1 na região  $\delta$  8,01-6,45 ppm.

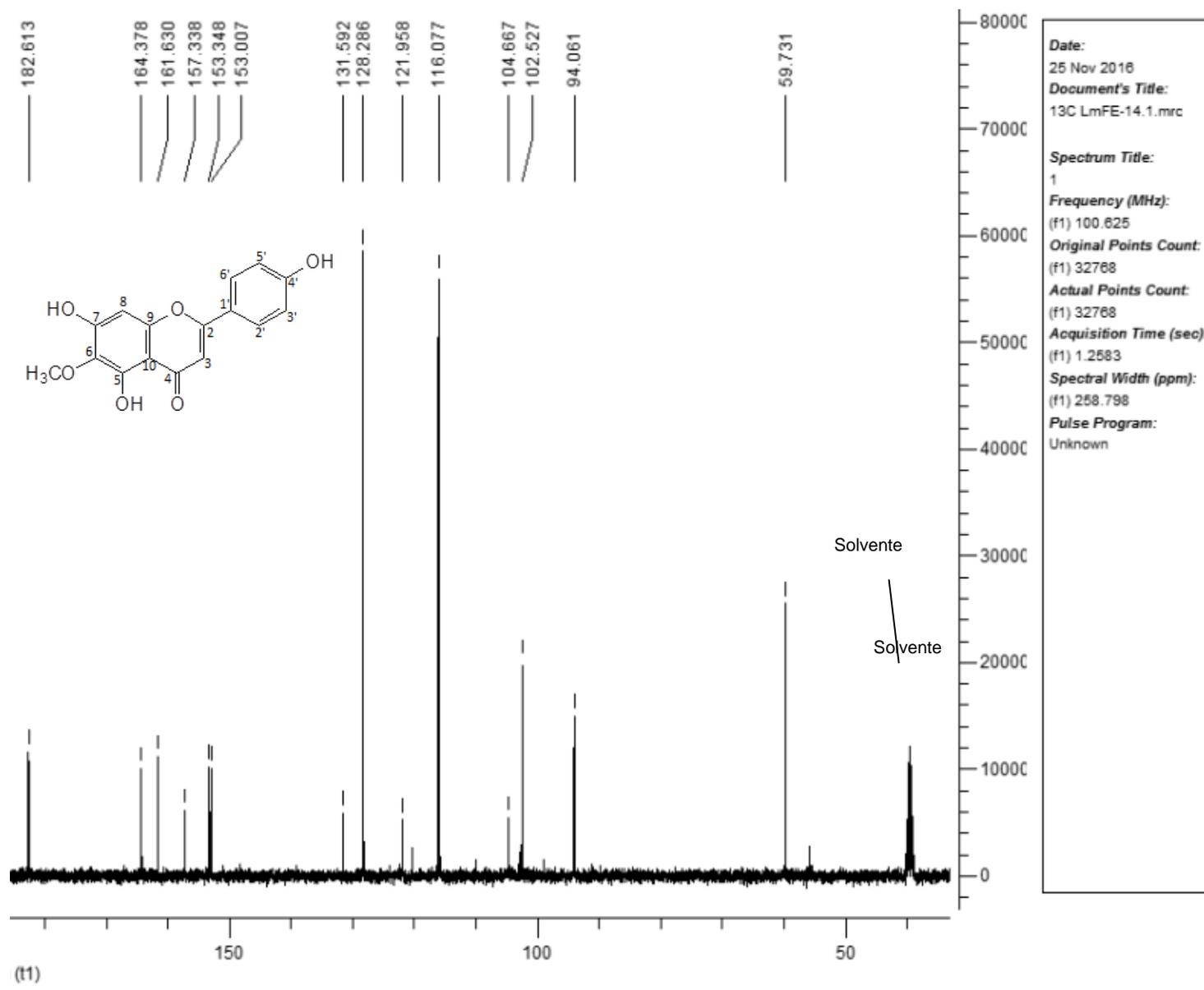
Figura 52. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de LmFE-14.1.

Figura 53. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de LmFE-14.1 na região  $\delta$  169,0 - 88,5 ppm.

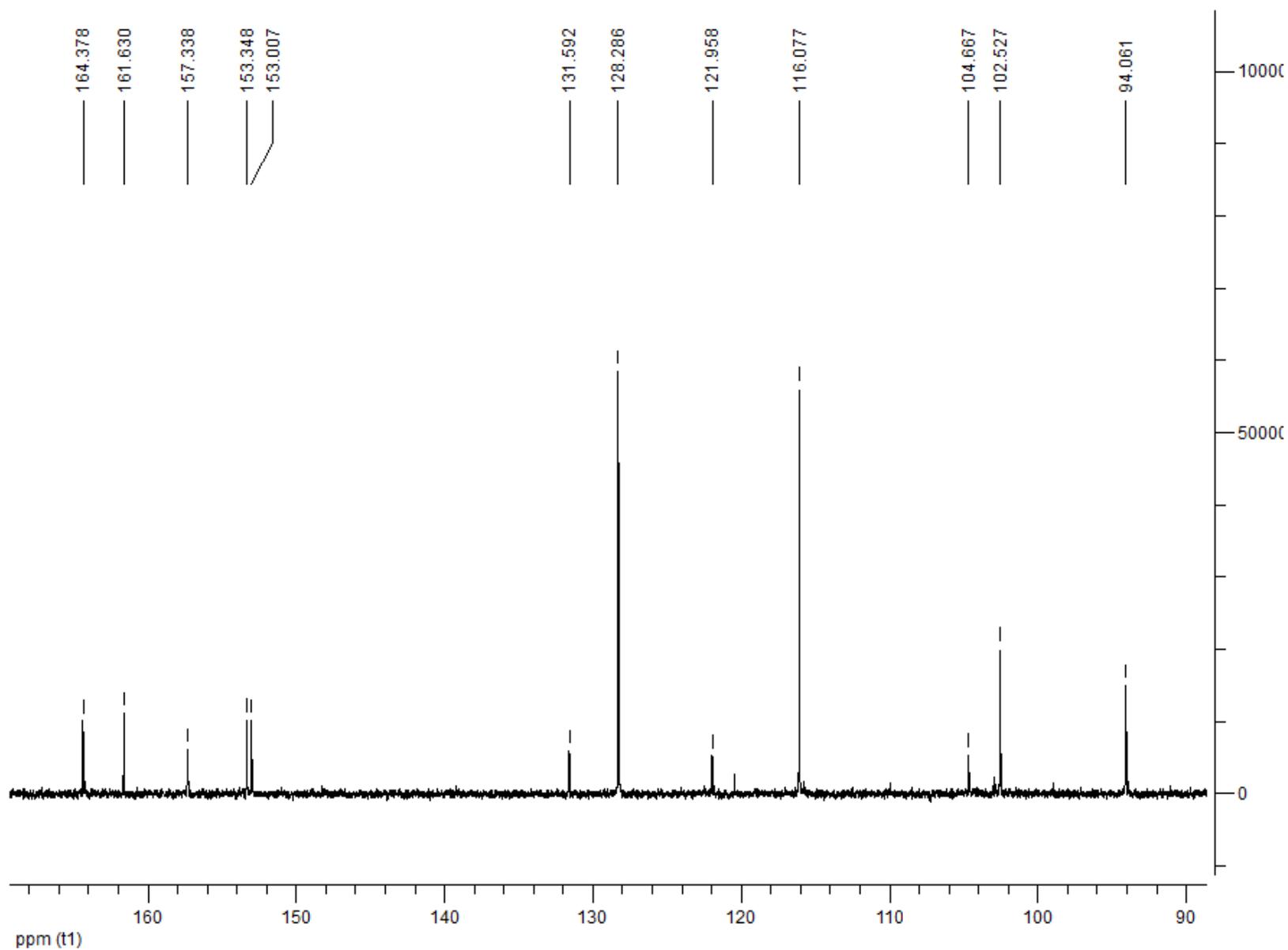


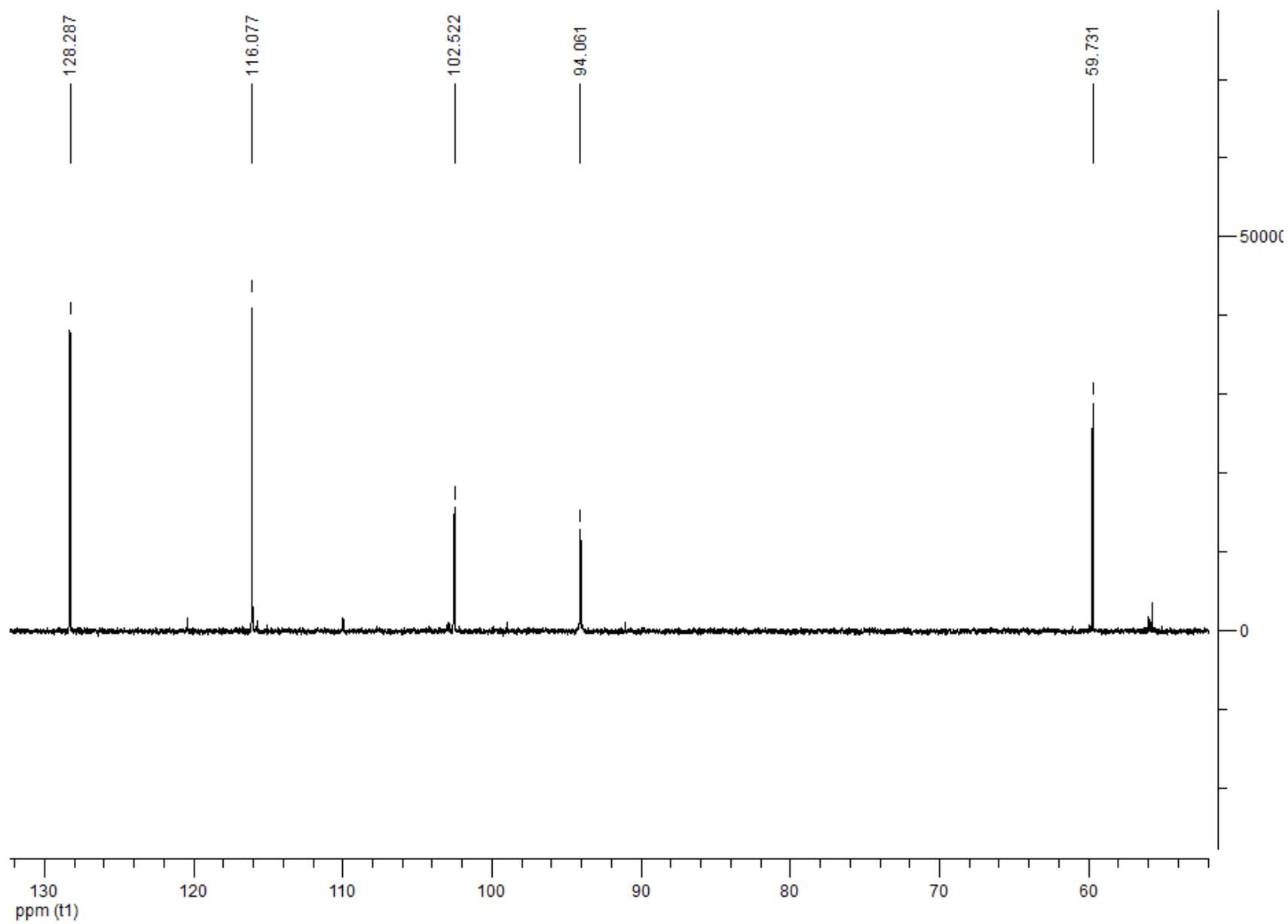
Figura 54. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) de LmFE-14.1.

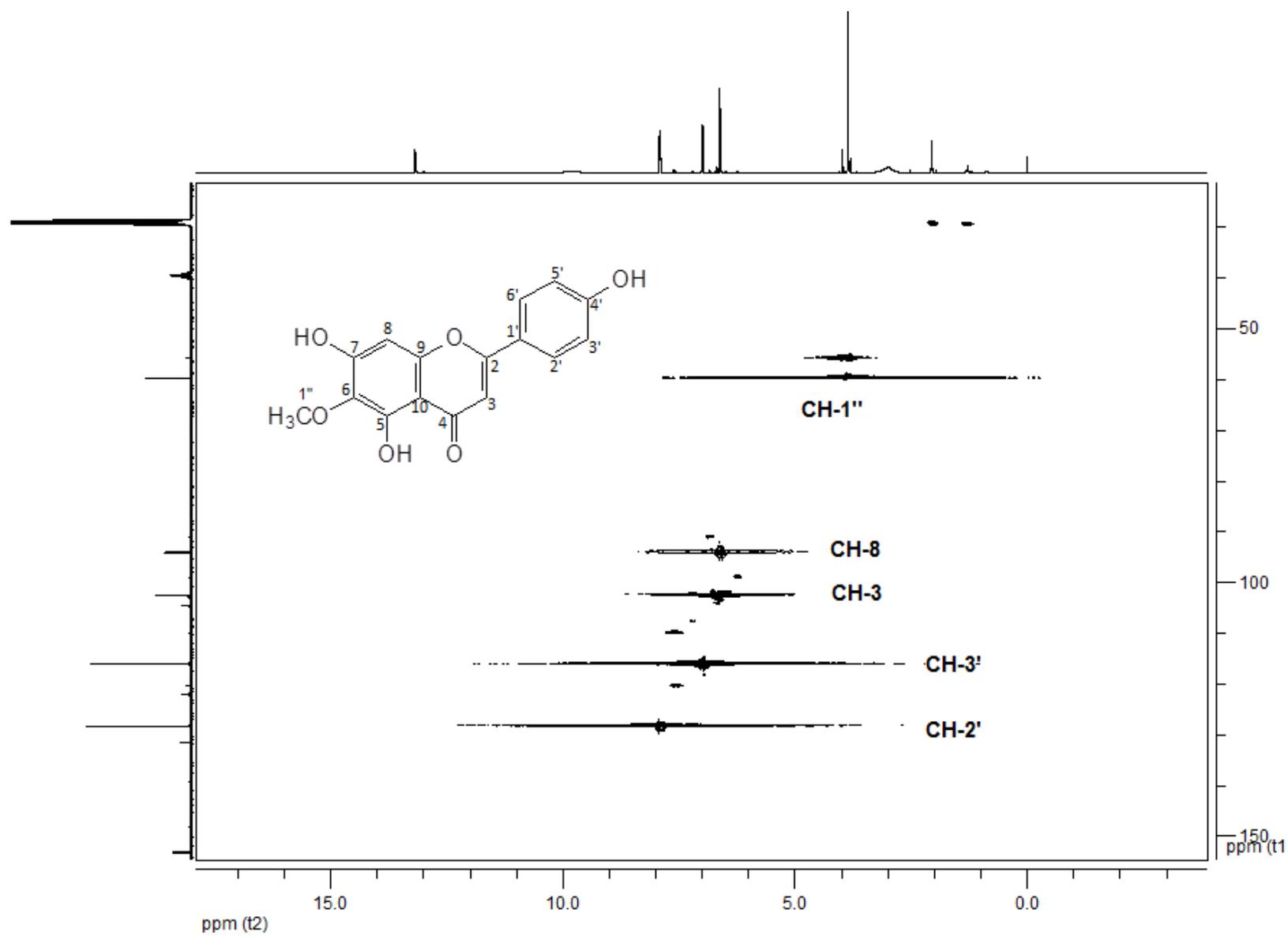
Figura 55. Espectro de RMN HSQC da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de LmFE-14.1.

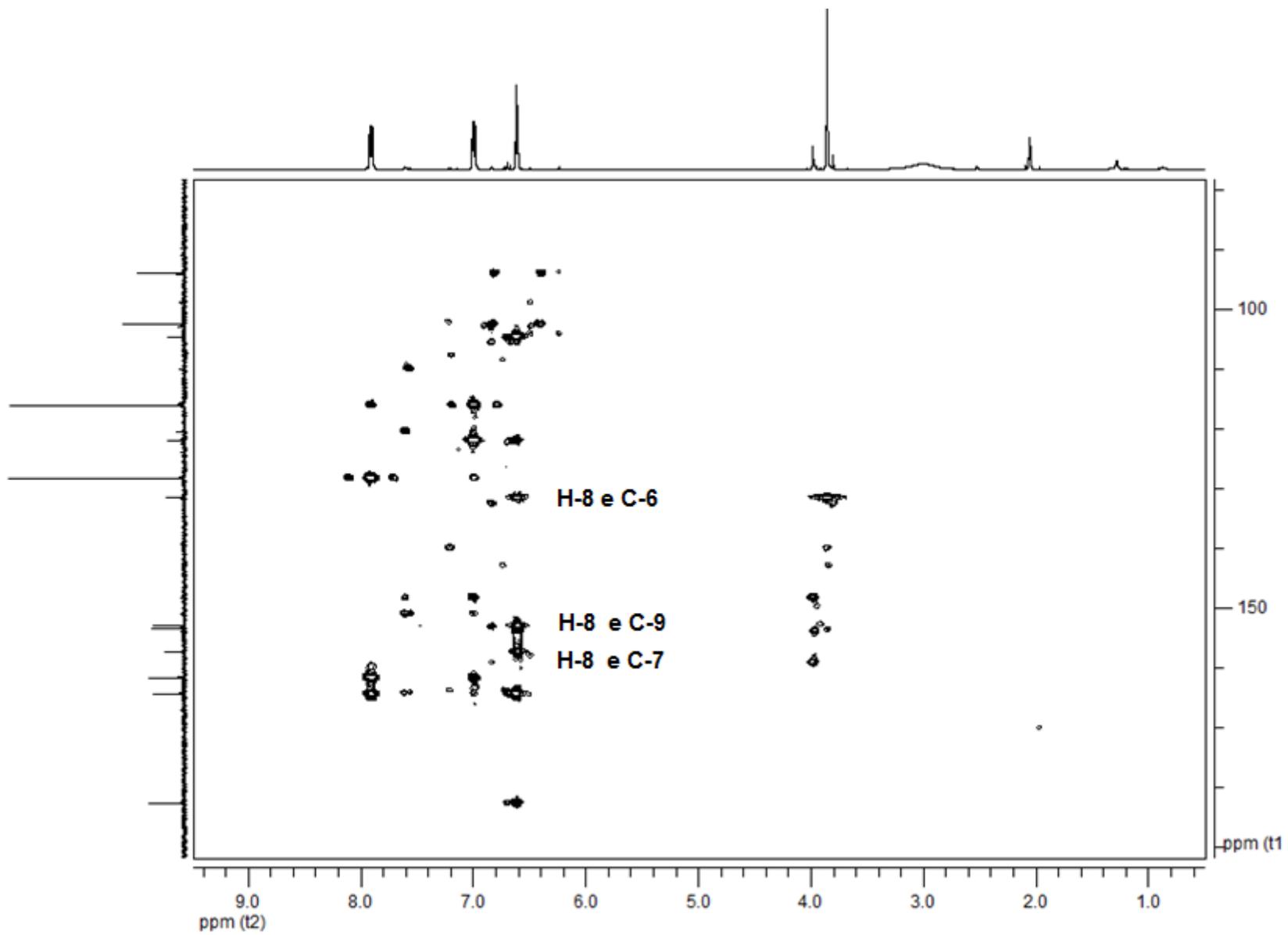
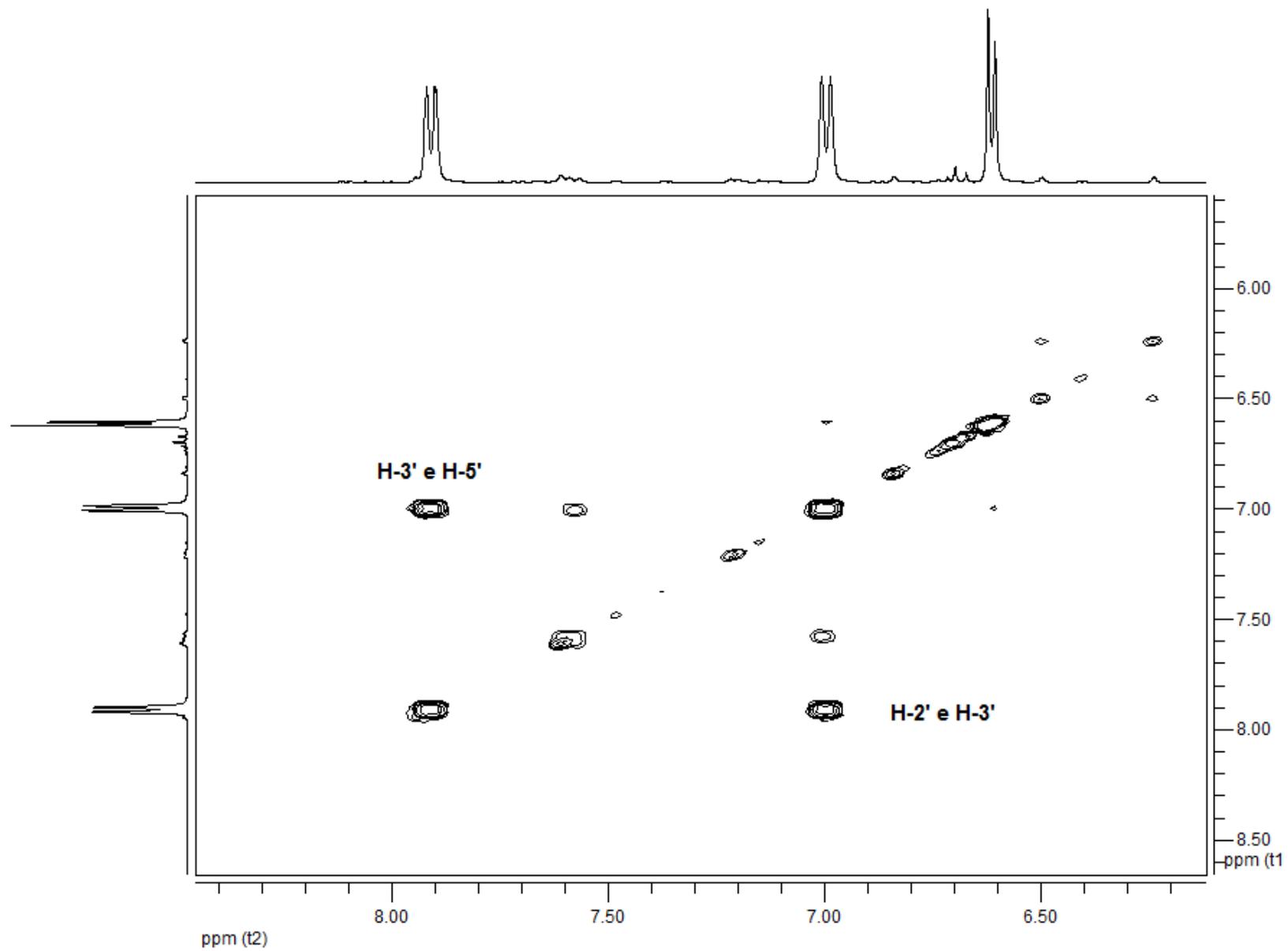
Figura 56. Espectro de RMN HMBC da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de LmFE-14.1.

Figura 57. Espectro de RMN COSY da correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de LmFE-14.1.

### 5.5.6. LmFE-15.1: $\beta$ -sitosterol-O- $\beta$ -D-glicosídeo

Na análise do espectro no infravermelho de **LmFE-15.1** (Figura 60, p. 103), foi observado uma banda larga em  $3416\text{ cm}^{-1}$  característica de grupo hidroxila pelo estiramento da ligação O-H. Já as bandas intensas em  $2935$  e  $2863\text{ cm}^{-1}$ , são características de estiramento simétrico e assimétrico de ligações CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> e denotam a natureza alifática da estrutura do composto. A presença de insaturação na estrutura é sugerida pela absorção em  $1636\text{ cm}^{-1}$ , característica de estiramento de ligações C=C.

Na análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H de **LmFE-15.1** (Figura 61, p. 104) observou-se sinais múltiplos na região entre  $\delta$  2,05 – 0,65 ppm relativos aos sinais dos átomos de hidrogênio metílicos, metilênicos e metínicos típicos de um esqueleto esteroidal. O sinal em  $\delta$  5,26 ppm (1H, *d*, *J*= 5,07 Hz), característico de hidrogênio olefínico, pôde ser atribuído ao hidrogênio H-6. Os sinais múltiplos entre  $\delta$  4,61 e  $\delta$  4,17 ppm foram atribuídos aos hidrogênios de uma unidade glicosídica presente. O sinal do dubleto em  $\delta$  4,27 ppm (1H, *d*, *J*= 7,93 Hz) referente ao átomo de hidrogênio anomérico, permite caracterizar a unidade glicosídica como  $\beta$ -glicose na qual, o deslocamento e constante de acoplamento do dubleto apresentado pelo hidrogênio axial se compara ao descrito na literatura (KHATUN *et al.*, 2012).

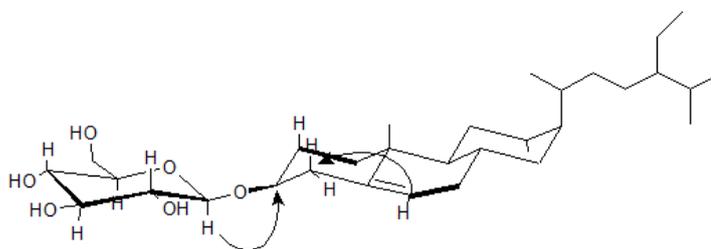
A análise dos espectros de RMN <sup>13</sup>C (Figura 62, p. 105) e DEPT-135 (Figura 64, p. 107) possibilitaram a identificação de trinta e cinco sinais de carbono, sendo destes doze carbonos metilênicos, treze carbonos metínicos e seis carbonos metílicos. O sinal em  $\delta$  77,55 ppm característico de carbono oxigenado, foi atribuído ao carbono oximetínico C-3. Os sinais caraterísticos de carbonos olefínicos em  $140,88$  (C) e  $121,65$  ppm (CH) foram respectivamente atribuídos aos carbonos C-5 e C-6. Os sinais de carbonos metílicos em  $\delta$  19,47 e  $\delta$  19,32 ppm foram atribuídos aos carbonos C-26 e C-27 característicos da unidade monoterpênica acíclica de um esteroide.

A partir do espectro bidimensional HSQC de correlação <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C (Figura 65, p. 108), foi possível atribuir os sinais  $\delta$  3,50 e 3,72 ppm como sendo provenientes dos hidrogênios geminais diasterotópicos do único carbono metilênico C-6' ( $\delta$  61,66 ppm) característicos de uma unidade glicopiranosídica. Através também do mapa de

contorno HSQC, o sinal do hidrogênio em  $\delta$  4,27 (1H, *d*,  $J = 7,93$  Hz) pôde ser correlacionado de forma inequívoca com o carbono metínico anomérico ( $\delta$  101,31 ppm).

O mapa de contorno da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC (Figura 66, p. 109) apresentou contorno da correlação entre o sinal do hidrogênio olefínico H-6 ( $\delta$  5,26, *d*,  $J = 5,07$  Hz) com o sinal do carbono C-4 em  $\delta$  38,78 ppm. A correlação entre o hidrogênio anomérico H-4 e o carbono oxigenado C-3 também foi apresentada pelo contorno entre os sinais  $\delta_{\text{H}}$  4,27 e  $\delta_{\text{C}}$  77,55 (Figura 58):

Figura 58. Correlações  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC (→) e COSY (—) de LmFE-15.1.



O espectro da correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY (Figura 67, p. 110) apresentou correlações de acoplamento entre o hidrogênio H-6 ( $\delta$  5,26) com o hidrogênio diastereotópico H-7a ( $\delta$  1,87). O hidrogênio anomérico H-1' apresentou contorno pelo acoplamento com o hidrogênio carbinólico H-2'.

Evidências da natureza alifática esteroidal na região do infravermelho, dados espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  comparados à literatura (KHATUN *et al.*, 2012), bem como o ponto de fusão apresentado na faixa 285-290 °C, permitiram compreender que a substância **LmFE-15.1** tratava-se do esteroide glicosilado  $\beta$ -sitosterol-*O*- $\beta$ -D-glicosídeo (Figura 59). Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do composto estão apresentados na Tabela 13.

Figura 59. Estrutura do  $\beta$ -sitosterol-*O*- $\beta$ -D-glicosídeo.

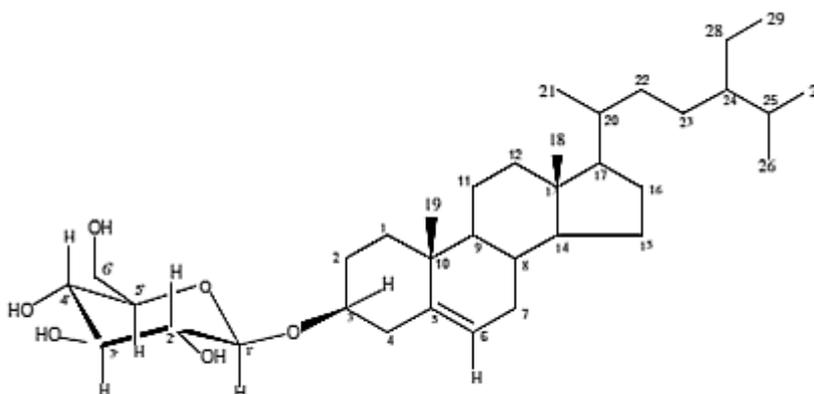


Tabela 13. Atribuição dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de LmFE-15.1 em comparação com os dados descritos na literatura.

nº C	DEPT-135	$\delta\text{C}$ (ppm)		$\delta\text{H}$ (ppm)	
		LmFE-15.1 <sup>1</sup>	Lit. (KHATUN <i>et al.</i> , 2012) <sup>2</sup>	LmFE-15.1 <sup>1</sup>	Lit. (KHATUN <i>et al.</i> , 2012) <sup>2</sup>
1	CH <sub>2</sub>	37,25	36,85	0,95/1,75 m	1,25, m
2	CH <sub>2</sub>	28,21	29,12	1,18/1,73 m	1,33, m
3	CH	77,55	78,61	3,50 m	3,13, m
4	CH <sub>2</sub>	38,78	42,12	2,14/2,36 m	2,14, m
5	C	140,88	139,98	-----	-----
6	CH	121,65	121,54	5,26 s	5,09, s
7	CH <sub>2</sub>	31,82	31,41	1,87, m	1,73, m
8	CH	31,85	31,46	1,32, m	1,22, m
9	CH	50,05	49,83	0,83 m	1,22, m
10	C	36,64	36,27	-----	-----
11	CH <sub>2</sub>	21,01	20,21	1,38 m	1,33, m
12	CH <sub>2</sub>	39,66	38,20	1,06/1,90 m	1,33, m
13	C	42,26	41,88	-----	-----
14	CH	56,59	56,36	0,91 m	1,22, m
15	CH <sub>2</sub>	24,26	23,79	0,98/1,47 m	1,73, m
16	CH <sub>2</sub>	29,72	27,76	1,80/1,47 m	1,73, m
17	CH	55,86	55,66	1,03 m	1,73, m
18	CH <sub>3</sub>	12,03	11,27	0,58 s	0,62, s
19	CH <sub>3</sub>	19,00	19,10	0,83 m	0,94, s
20	CH	35,90	35,70	1,28 m	1,32, m
21	CH <sub>3</sub>	20,08	18,69	0,83, d	0,84, d
22	CH <sub>2</sub>	33,79	33,51	0,95/1,34 m	1,73, m
23	CH <sub>2</sub>	25,93	25,64	1,10 m	1,73, m
24	CH	45,61	45,49	0,87 m	1,12, m
25	CH	29,18	29,2	1,57 m	2,14, m
26	CH <sub>3</sub>	19,47	18,80	0,90 m	0,75, m
27	CH <sub>3</sub>	19,32	18,02	0,73 m	0,73, m
28	CH <sub>2</sub>	23,07	22,60	1,20 m	1,33, m
29	CH <sub>3</sub>	12,174	12,29	0,77 m	0,77, m
1'	CH	101,31	100,74	4,27 d	4,11, d
2'	CH	74,03	73,21	3,00 m	3,14, m
3'	CH	77,28	76,18	3,24 m	3,14, m
4'	CH	70,67	69,90	3,12 m	3,14, m
5'	CH	77,20	75,62	3,16 m	3,06, m
6'	CH <sub>2</sub>	61,66	61,36	3,50/3,72 m	2,94, m

<sup>1</sup>Espectro adquirido utilizando  $\text{CDCl}_3$  e piridina-*d*<sub>5</sub> como solvente.

<sup>2</sup>Espectro adquirido utilizando  $\text{CDCl}_3$ .

Figura 60. Espectro na região do infravermelho (em KBr) de LmFE-15.1

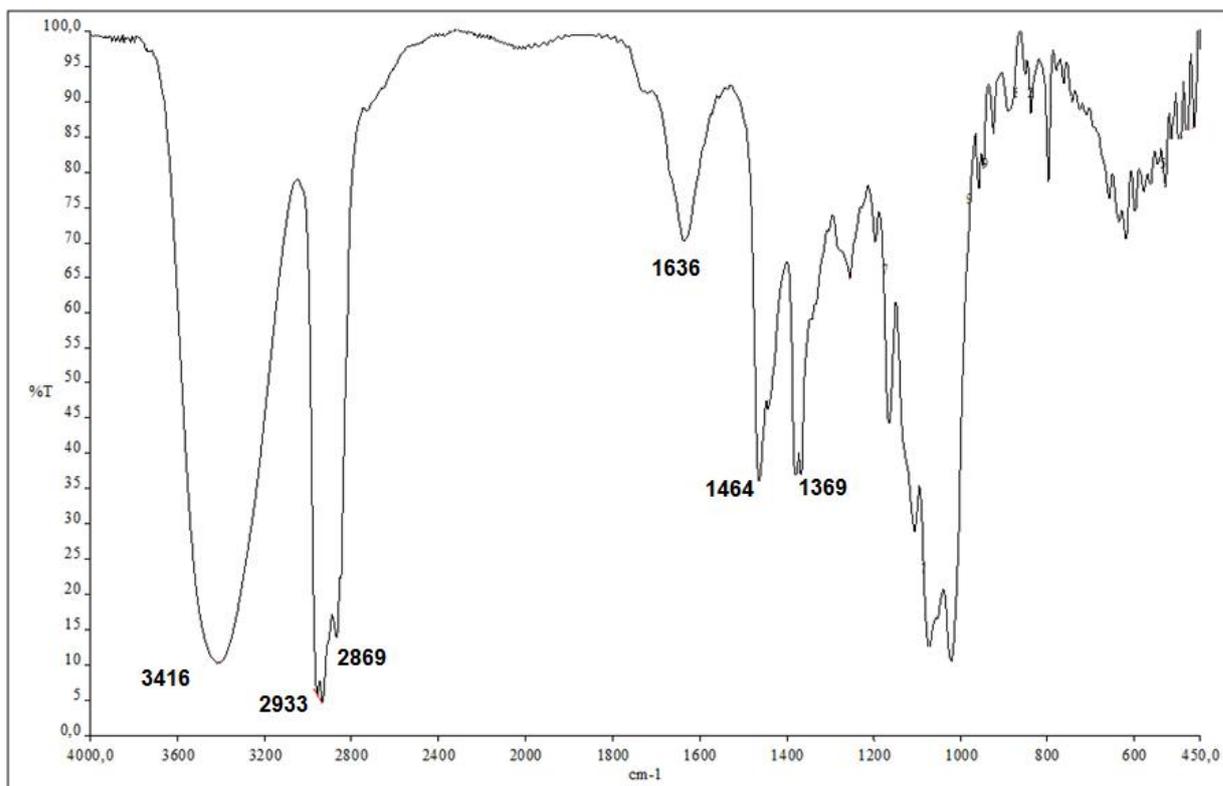
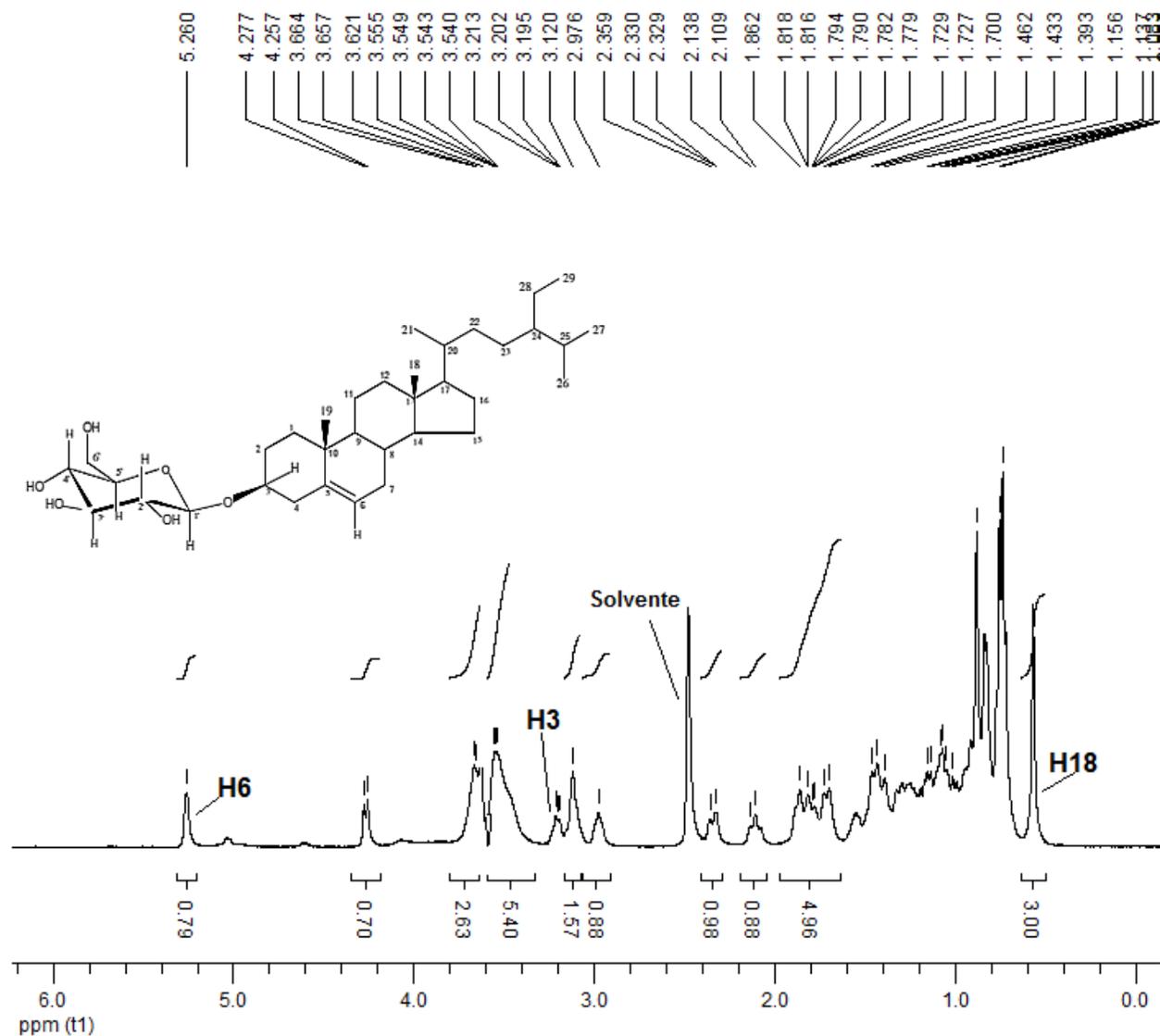


Figura 61. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$  e piridina- $d_5$ ) de LmFE-15.1.



Date:

12 Sep 2016

Document's Title:

1H LmFE 63.mrc

Spectrum Title:

1

Frequency (MHz):

(f1) 400.180

Original Points Count:

(f1) 65536

Actual Points Count:

(f1) 65536

Acquisition Time (sec):

(f1) 5.4526

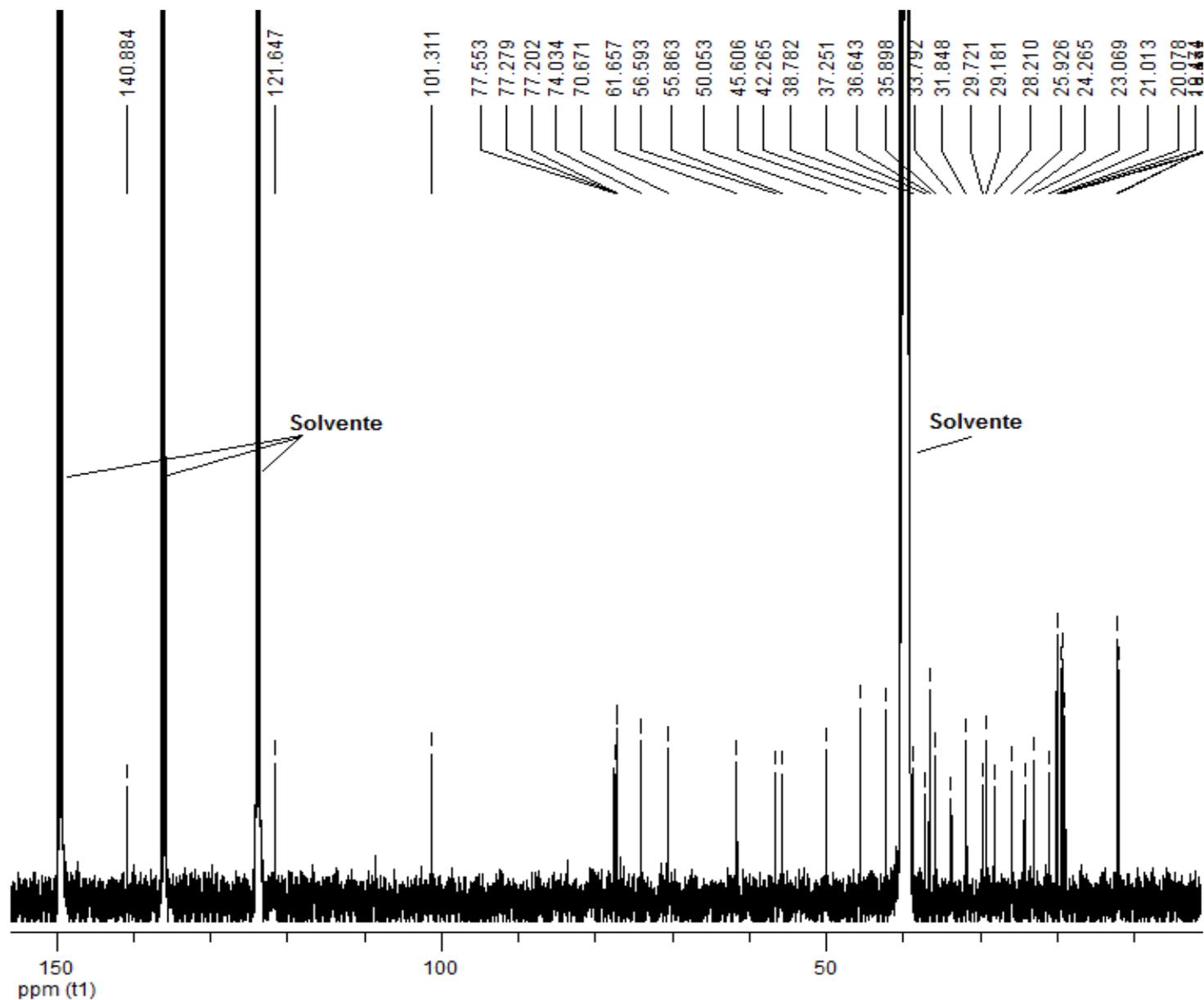
Spectral Width (ppm):

(f1) 30.035

Pulse Program:

Unknown

Figura 62. Espectro do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$  e piridina- $d_6$ ) de LmFE-15.1.



Date:

12 Sep 2016

Document's Title:

C13 LmFE 63.mrc

Spectrum Title:

1

Frequency (MHz):

(f1) 100.625

Original Points Count:

(f1) 32768

Actual Points Count:

(f1) 32768

Acquisition Time (sec):

(f1) 1.2976

Spectral Width (ppm):

(f1) 250.956

Pulse Program:

Unknown

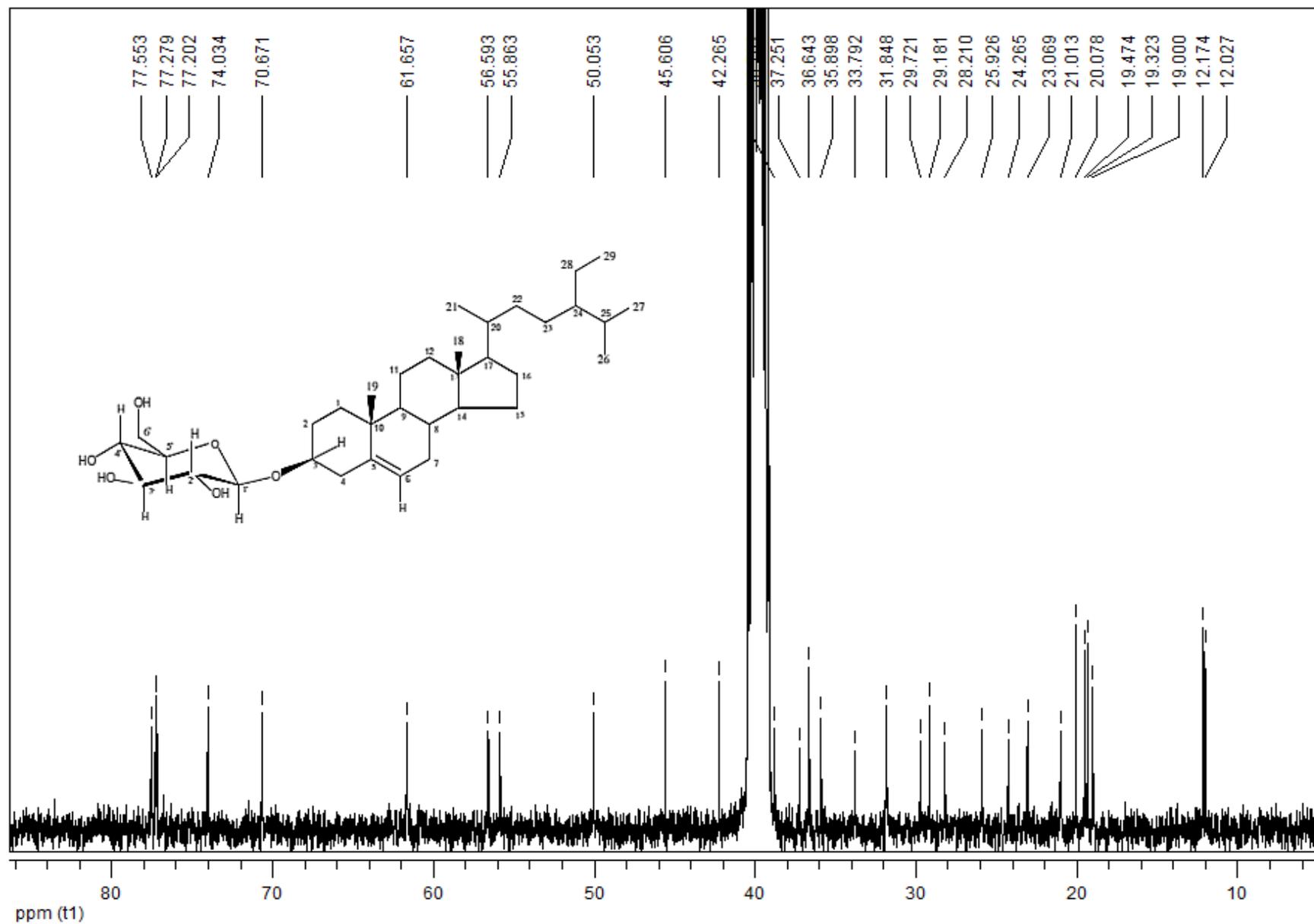
Figura 63. Ampliação do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$  e piridina- $d_5$ ) de LmFE-15.1.

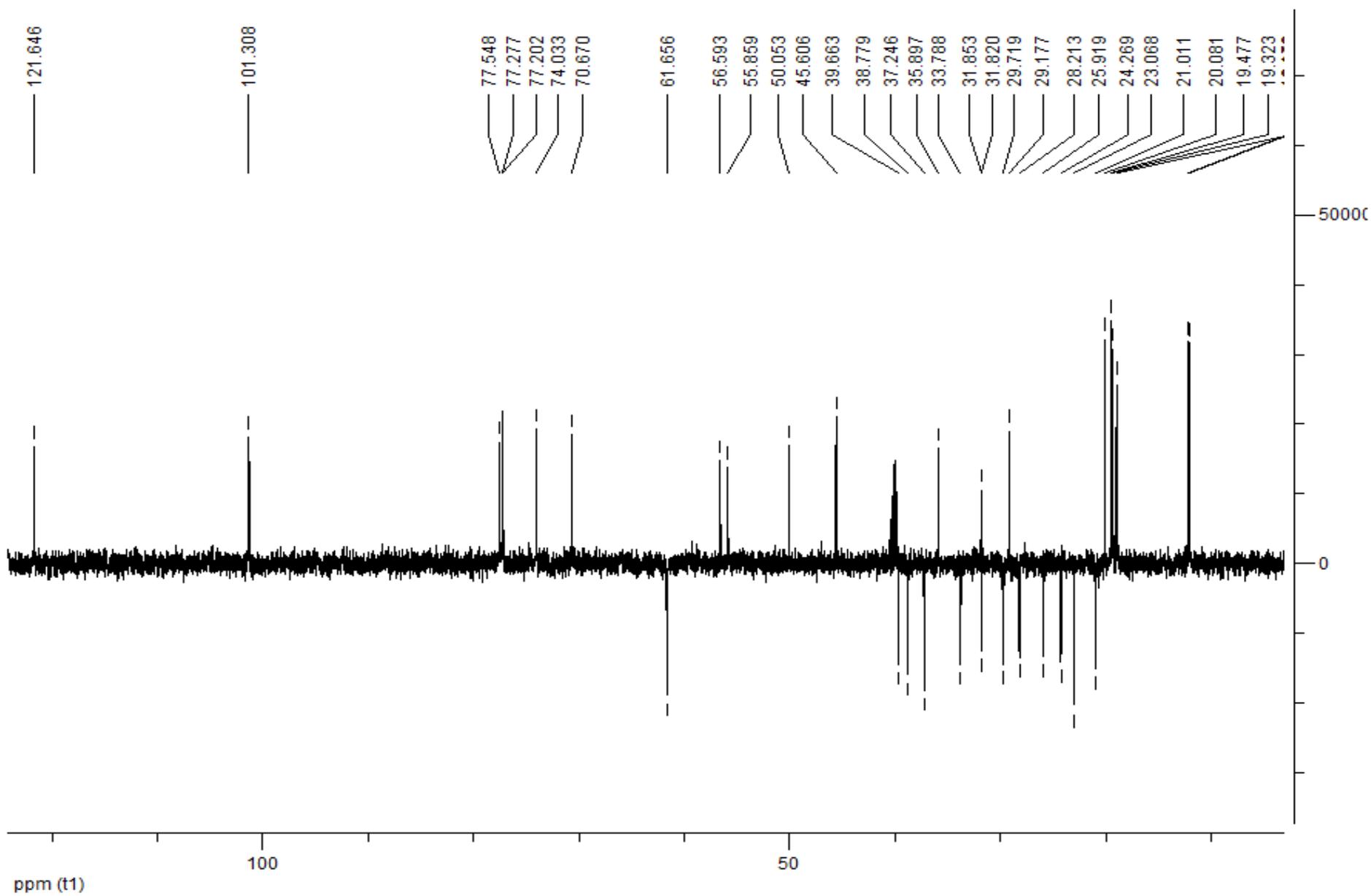
Figura 64. Espectro de RMN DEPT-135 (100 MHz, DMSO- $d_6$  e piridina- $d_5$ ) de LmFE-15.1.

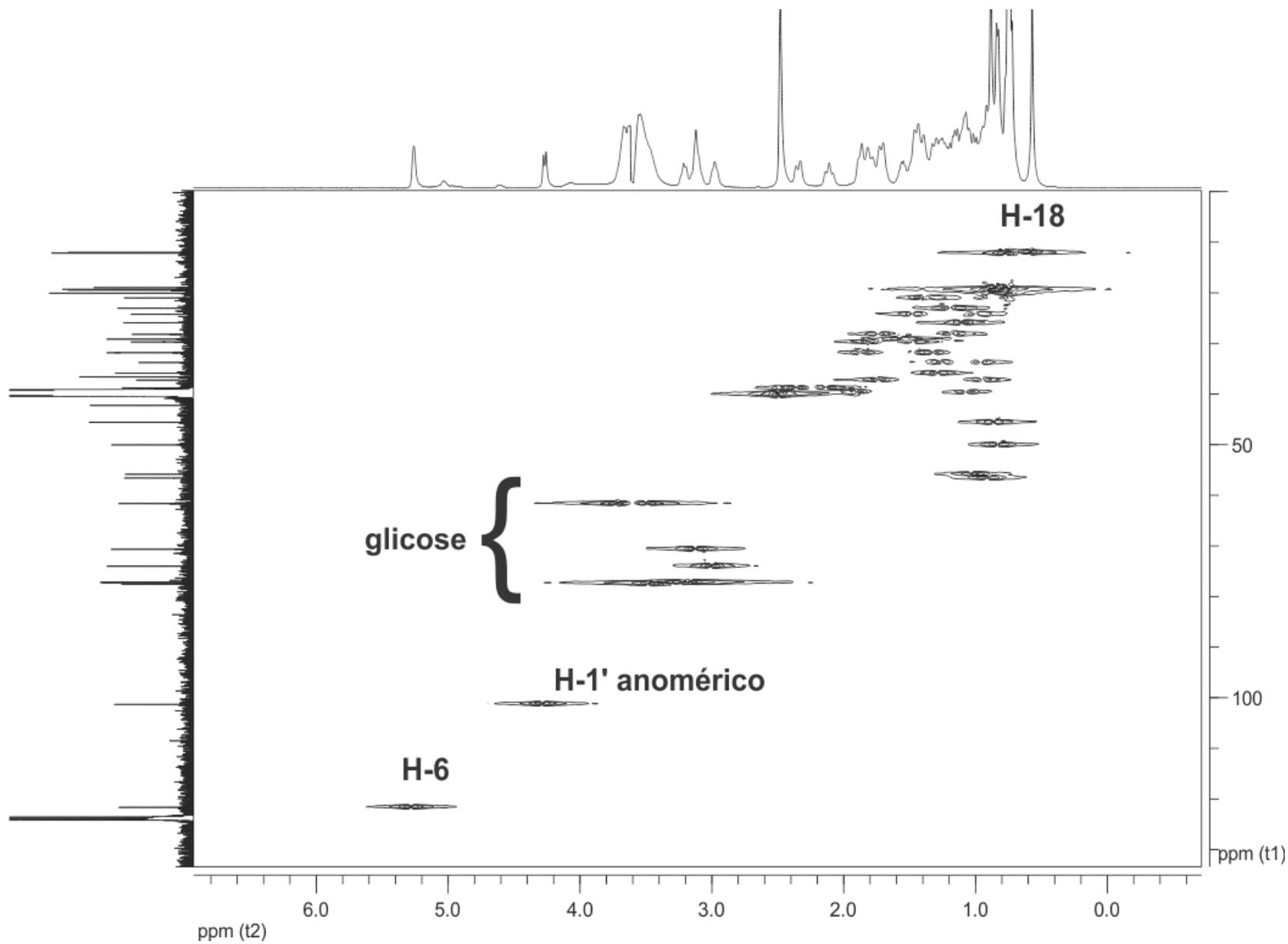
Figura 65. Espectro de RMN HSQC da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de LmFE-15.1.

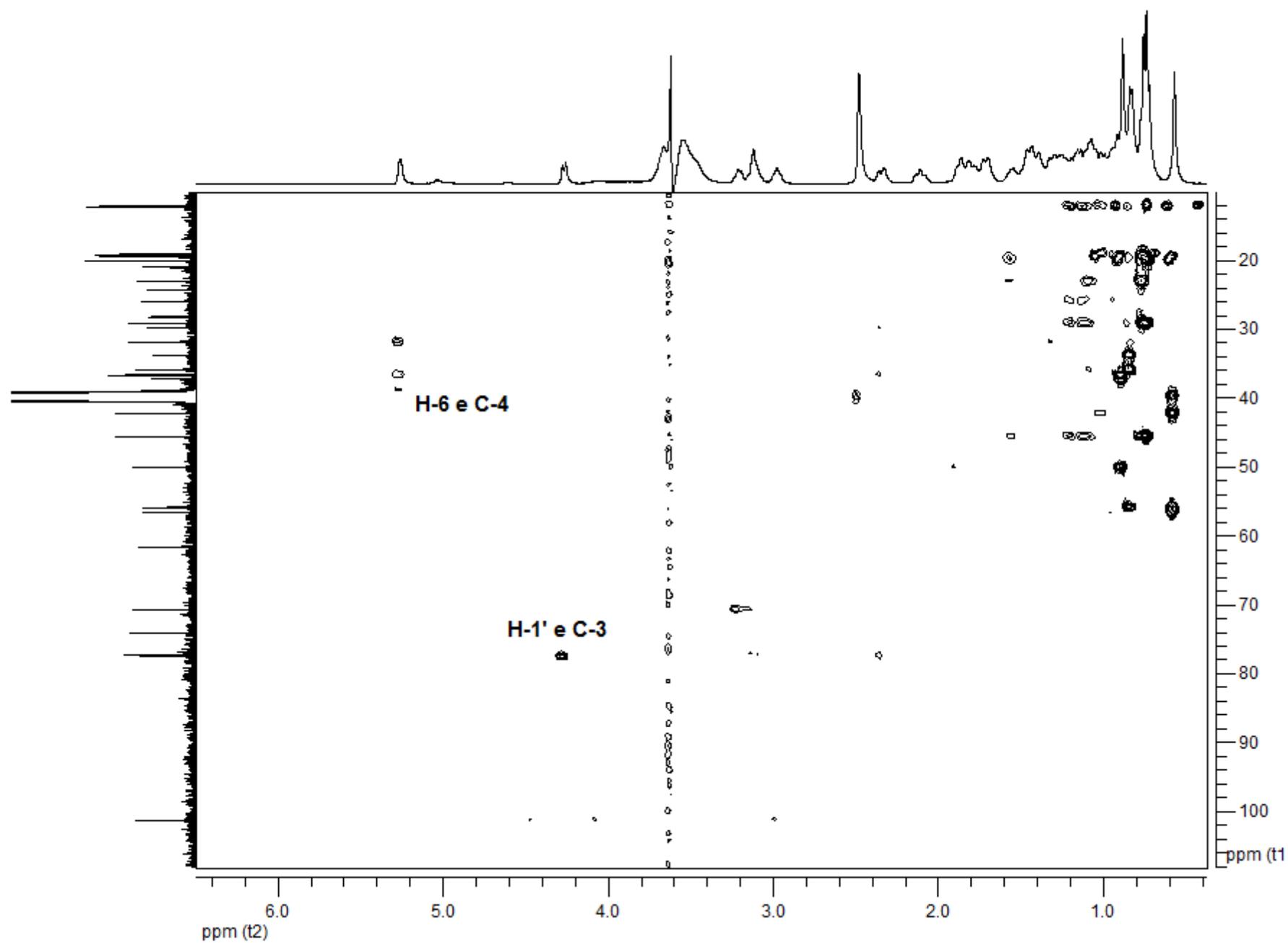
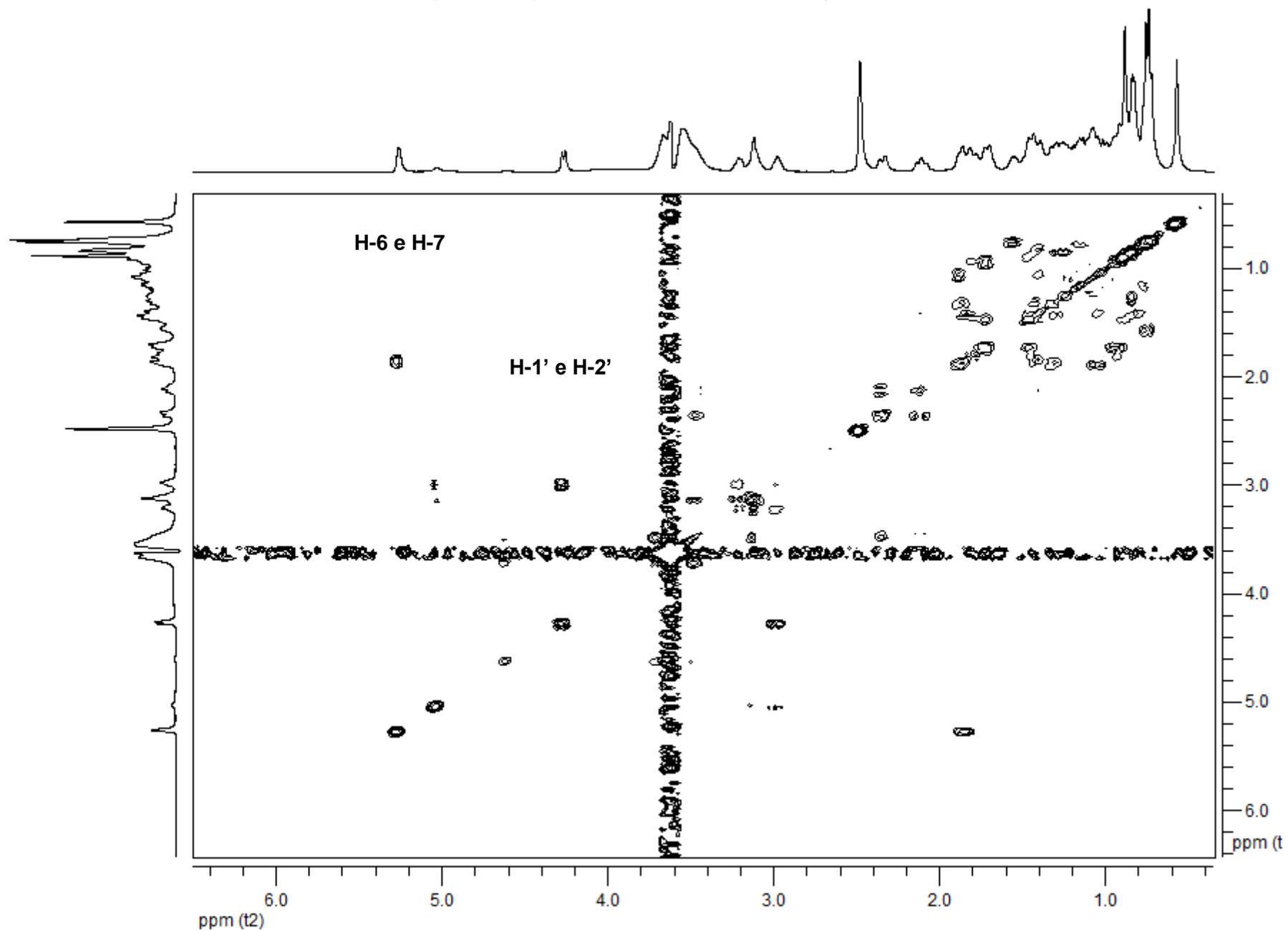
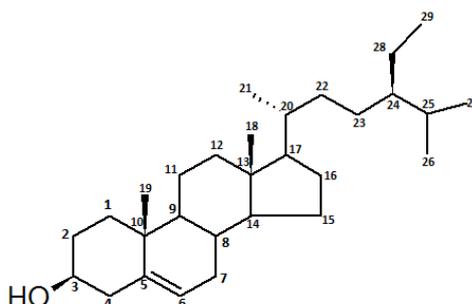
Figura 66. Espectro de RMN HMBC da correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de LmFE-15.1.

Figura 67. Espectro de RMN COSY da correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de LmFE-15.1.

## 5.6. Constantes físicas e dados espectroscópicos das substâncias isoladas de *L. macrophylla*.

- $\beta$ -sitosterol



IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3416 (O-H), 2933 (C-H), 2869 (C-H), 1636 (C=C).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz),  $\delta$  (ppm): 0,99 (2H, *m*, H-1); 1,73 (2H, *m*, H-2) 3,33 (1H, *s*, H-3); 2,16 (2H, *m*, H-4); 5,23 (1H, *d*, H-6); 1,90 (1H, *m*, H-8); 0,89 (1H, *s*, H-9); 1,46 (2H, *m*, H-11); 1,99 (2H, *m*, H-12); 1,77 (2H, *m*, H-15); 0,61 (3H, *s*, H-18); 1,34 (1H, *m*, H-20); 0,90 (3H, *s*, H-21); 1,14 (2H, *m*, H-23); 0,92 (1H, *s*, H-24); 1,26 (2H, *m*, H-28); 0,62 (3H, *s*, H-29).

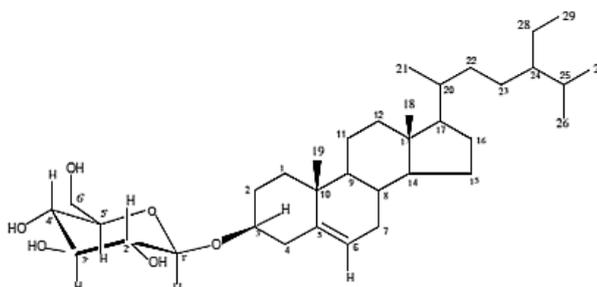
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz): Tabela 11, p. 78.

Aspecto: sólido branco

Solubilidade: clorofórmio

PF: 135-138 ° C

- $\beta$ -sitosterol-O- $\beta$ -D-glicosídeo



IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3416 (O-H), 2933 (C-H), 2869 (C-H), 1636 (C=C)

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz),  $\delta$  (ppm): 0,95 (1H, *m*, H-1a); 1,75 (1H, *m*, H-1b); 1,18 (1H, *m*, H-2a); 1,73 (1H, *m*, H-2b); 3,50 (1H, *m*, H-3); 2,14 (1H, *m*, H-4a); 2,36 (1H, *m*, H-4b); 5,26 (1H, *s*, H-6); 1,87 (2H, *m*, H-7); 1,32 (1H, *m*, H-8); 0,83 (1H, *m*, H-9); 1,38 (2H, *m*, H-11); 1,06 (1H, *m*, H-12a); 1,90 (1H, *m*, H-12b); 0,91 (1H, *m*, H-14); 0,98 (1H, *m*, H-15a); 1,47 (1H, *m*, H-15b); 1,80 (1H, *m*, H-16a); 1,47 (1H, *m*, H-16b); 1,03 (1H, *m*, H-17); 0,58 (3H, *s*, H-18); 0,83 (3H, *m*, H-19); 1,28 (1H, *m*, H-20); 0,75 (3H, *m*, H-21); 0,95 (1H, *m*, H-22a); 1,34 (1H, *m*, H-22b); 1,10 (2H, *m*, H-23); 0,87 (2H, *m*, H-24); 1,57 (1H, *m*, H-25); 0,90 (3H, *m*, H-26) 0,73

(3H, *m*, H-27); 1,20 (2H, *m*, H-28); 0,77 (3H, *m*, H-29); (1H,  $J=7,93$ , *d*, H-1'); 3,00 (1H, *m*, H-2'); 3,24 (1H, *m*, H-3'); 3,12 (1H, *m*, H-4'); 3,16 (1H, *m*, H-5'); 3,50 (1H, *m*, H-6'a); 3,72 (1H, *m*, H-6'b).

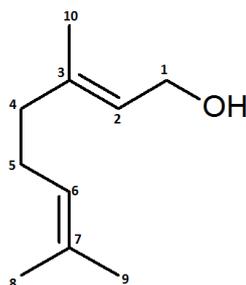
**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz):** Tabela 13, p. 102

**Aspecto:** sólido branco

**Solubilidade:** clorofórmio

**PF:** 285-290 °C

- **geraniol**



**IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3346 (O-H), 2967 (C-H), 2924 (C-H), 2856 (C-H), 1669 (C=C)

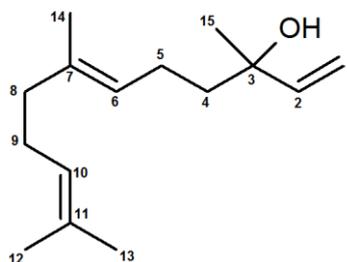
**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz),  $\delta$  (ppm):** 4,16 (2H, *d*,  $J=6,88$  Hz, H-1); 5,43 (1H, *t*,  $J=6,37$ , H-2); 2,11 (2H, *m*, H-4); 2,05 (2H, *m*, H-5); 5,11 (1H,  $J=6,60$ , *t*, H-6); 1,69 (3H, *s*, H8); 1,62 (3H, *s*, H-9); 1,69 (3H, *s*, H-10).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz):** Tabela 10, p. 66

**Aspecto:** incolor ou amarelado

**Solubilidade:** clorofórmio e acetona

- **(E)-nerolidol**



**IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3421 (O-H), 2964 (C-H), 2924 (C-H), 2853 (C-H), 1653 (C=C)

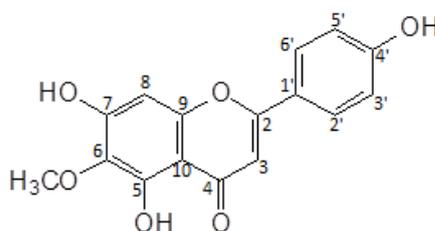
**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz),  $\delta$  (ppm):** 5,23 (1H, *dd*, 17,3 e 1,0 Hz, H-1a); 5,07 (1H, *dd*, 10,8 e 1,0 Hz, H-1b); 5,93 (1H, *dd*, 17,3 e 10,8 Hz, H-2); 2,0-1,15 (2H, *m*, H-5); 5,15-5,10 (4H, *m*, H-10); 2,0-1,15 (4H, *m*, H-8 e 9); 1,62 (6H, *s*, H-12 e 14); 1,70 (3H, *s*); 1,30 (3H, *s*).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz):** Tabela 9, p. 58

**Aspecto:** oleoso e levemente amarelado

**Solubilidade:** clorofórmio e acetona

- hispidulina



**IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3346 (O-H), 2967 (C-H), 2924 (C-H), 2856 (C-H), 1669 (C=C)

**UV-Vis:** 215, 274 e 334 nm

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz),  $\delta$  (ppm):** 6,62 (1H, s, H-3); 6,61 (1H, s, H-8); 7,90 (1H,  $J=7,32$ , *d*, H-2'); 7,00 (1H,  $J=7,57$ , *d*, H-3'); 7,00 (1H,  $J=7,57$ , *d*, H-5'); 7,90 (1H,  $J=7,32$ , *d*, H-6'); 3,86 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ -6')

**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz):** Tabela 12, p. 88

**Aspecto:** sólido amarelo

**Solubilidade:** acetona e DMSO

**PF:** 285-287 °C

## 6. CONCLUSÕES

Através do estudo do óleo essencial das folhas de *Lantana macrophylla* foram identificados nove componentes, os quais 74,2 % são monoterpenos e 22,8% sesquiterpenos. Em comparação com a literatura para percentual de óleo essencial nas folhas de espécies do gênero *Lantana*, o rendimento de 3,43 ± 0,11% (m/m) obtido para *L. macrophylla* se mostrou superior. Dentre os constituintes identificados, os majoritários foram o acetato de geranila (48,5%), geraniol (18,5%) e (*E*)-nerolidol (20,2%).

Da análise às frações iniciais do extrato etanólico das folhas de *L. macrophylla*, foi possível identificar os ácidos graxos saturados e insaturados de C<sub>16</sub> a C<sub>20</sub>: ácido palmitoleico, elaidico, oleico, linoleico, araquídico e eicosanoico.

No estudo dos constituintes fixos através do fracionamento do extrato etanólico das folhas de *L. macrophylla*, foi possível o isolamento de sete substâncias: os fitoesteróis **β-sitosterol** e **β-sitosterol-O-D-glicosídeo**, sendo ambos relatados no gênero, já isoladas de *L. montevidensis* (MOHAMED, *et al.*, 2016) e *L. hispida* (JIMENEZ-ARELLANES, 2007), a flavona **hispidulina**, já relatada para *L. montevidensis* (NAGAO *et al.*, 2002), um ácido graxo de cadeia longa e saturada, e duas misturas de óleos - uma rica do monoterpeno **geraniol** e a outra do sesquiterpeno (**E**)-nerolidol.

A atividade antioxidante determinada para o extrato etanólico apresentou valor de IC<sub>50</sub> de 3,22 µg/mL e IAA calculado em 9,79 sendo considerada como muito forte (SCHERER e GODOY, 2009).

O ensaio antibacteriano frente à *Staphylococcus epidermidis* pelo método de autobiografia em CCD, apresentou resultado positivo com halo de inibição para o extrato etanólico das folhas e para os compostos geraniol e a hispidulina.

Os ensaios de letalidade utilizando *Artemia salina* apresentaram valores de toxicidade moderados para o extrato etanólico e óleo essencial com CL<sub>50</sub> 399,66 µg/mL e 248,44 µg/mL respectivamente.

Este estudo químico inédito de *L. macrophylla* representa uma importante contribuição científica para a área da fitoquímica, revelando a espécie como uma fonte de substâncias bioativas; num precedente a demais estudos químicos e biológicos com seus metabólitos secundários e extratos orgânicos.

## 7. REFERÊNCIAS

ABENA, A. A.; DIATEWA, M.; GAKOSSO, G.; GBEASSOR, M.; HONDI-ASSAH, TH.; OUAMBA, J. M. **Fitoterapia**. v. 74, n. 3, p. 231-236, 2003.

ADAMS, Robert P. **Identification of Essencial Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. n. 4. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL, Estados Unidos. 2007.

AGUIAR, Ulisses Nogueira et al. **Chemical composition and modulation of antibiotic activity of essential oil of *Lantana caatingensis* M. (Verbenacea)**. Industrial Crops and Products ed. 74, p. 165–170, 2015.

ALITONOU, G., AVLESSI, F., BOKOSSA, I., AHOUSSE, E., DANGOU, J., SOHOUNHLOUÉ, D.C.K., 2004. **Composition Chimique et Activité Biologique de l'Huile Essentielle de *Lantana camara* L.. Compte Rendue de Chimie**. v. 7, p. 1101–1105, 2004.

ALMEIDA, C. F. et al. **Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil**. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. v. 2, p. 15, 2006.

ALVIANO, W. S. et al. **Antimicrobial activity of *Croton cajucara* Benth Linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms**. Oral Microbiol. Immunol., Copenhagen, v. 20, n. 2, p. 101-105, 2005.

ANDRESSON, S.; NILSSON, A.; GROTH, I.; BERGSTROM, G. **Floral scents in butterfly-pollinated plants: possible convergence in chemical composition**. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 140, p. 129-153, 2002.

BALAKRISHNAN, G.; JANAKARAJAN, L.; BALAKRISHNAN, A.; LAKSHMI, B.S. **Molecular basis of the antiinflammatory property exhibited by cyclo-pentano phenanthrenol isolated from *Lippia nodiflora***. Journal of Immunological Investigations. v. 39, p. 713-739, 2010.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. Porto Alegre: Artmed, p.161-178, 2008.

BEGUM, S. et al. **Leishmanicidal triterpenes from *Lantana camara***. Chemistry and Biodiversity, v. 11, n. 5, p. 709-718, 2014.

BEGUM, S. et al. **Pentacyclic triterpenoids from the aerial parts of *Lantana camara* and their nematocidal activity**. Chemistry & Biodiversity, v. 5, n. 9, p. 1856-1866, 2008.

BEHBAHANI, Mandana. **Evaluation of anti-HIV-1 activity of a new iridoid glycoside isolated from *Avicenna marina*, in vitro.** Journal of International Immunopharmacology. v. 23, p. 262-266, 2014.

BLANCO, M. A. et al. **Antispasmodic effects and composition of the essential oils from two South American chemotypes of *Lippia alba*.** Journal of Ethnopharmacology. v. 149, p. 803-809, 2013.

CARRIÓ, Esperança; VALLÈS, Joan. **Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea).** Journal of Ethnopharmacology. v. 141, nº 3, p. 1021-1040, 2012.

CHACÓN-MORALES, P.; AMARO-LUIS, J. M.; BAHASAS, A. **Isolation and characterization of (+)-mellein, the first isocoumarin reported in *Stevia* genus.** Avances en Química, ed. 8, v.3, p. 145-151, 2013.

CHASSOT, A. **A ciência através dos tempos.** 2 ed., São Paulo: Moderna, p. 280, 2004.

CONCEIÇÃO, A. O. et al. ***Lantana macrophylla* Schauer (Verbenaceae) ethanolic extract induces activation of ERK1/2 and p38 MAPKs pathway and Ca<sup>2+</sup> imbalance in human trophoblasts derived cell lines.** Food and Chemical Toxicology, v. 50, n. 3–4, p. 1001-1012, 2012.

COSTA, José Galberto M. et al. **Biological screening of araripe basin medicinal plants using *Artemia salina* Leach and pathogenic bacteria.** Pharmacognosy Magazine. v. 6, nº. 24, p. 331-334, 2010.

CUNHA, A. Proença da; RIBEIRO, Odete R. Roque. **Plantas Aromáticas em Portugal – Caracterização e Utilizações.** 2ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2007.

DAVID, J. P.; Silva, E. F.; de MOURA, D. L. **Lignanas e Triterpenos do extrato citotóxico de *Eriope blanchetii*.** Química Nova, v. 24, 2001.

DEENA, M. J.; THOPPIL, J. E. **Antimicrobial activity of the essential oil of *Lantana camara*.** Fitoterapia. v. 71, ed. 4, p. 453-455, 2000.

DUBHEY, Debasmita; PADHY, Rabindra N. **Antibacterial activity of *Lantana camara* L. against multidrug resistant pathogens from ICU patients of a teaching hospital.** Journal of Herbal Medicine. v. 3, p. 65-75, 2013.

GARCIA, Liliana Torcoroma et al. **Differential anti-proliferative effect on K562 leukemia cells of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils produced under diverse growing, collection and extraction conditions.** Journal of Industrial Crops and Production. v. 96, p. 140-148, 2017.

GERTSCH, J.; LEONTI, M.; RADUNER, S. et al. **Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. v. 26, n. 105, p. 9099–104, 2008.

GHISALBERTI, E.L. ***Lantana camara* (Verbenacea)**. Fitoterapia, v. 71, p. 467–486, 2000.

GOAD, J. L. **Methods in Plant Biochemistry**. v. 7, p. 369, Londres, 1991.

GOLDSTEIN, Allen H.; GALBALLY, Ian E.. **Known and Unexplored Organic Constituents in the Earth's Atmosphere**. Environmental Science & Technology 41. n. 5, p. 1514–21, 2007.

GONÇALVES, Maria José et al. **Composition and biological activity of the essential oil from *Thapsia minor*, a new source of geranyl acetate**. Industrial Crops and Products. v. 35, ed. 1, p. 166-171, 2012.

HAMBURGUER, M. O.; CORDELL. G. A. **A direct bioautography assay for compounds possessing antibacterial activity**. Journal of Natural Products, v. 50, n. 1, p. 19-22, 1987.

HARTMAN. L.; LAGO, R.C.A. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids**. Lab. Prac., v. 22, p. 475-476, 1973.

HERNANDEZ, T.; CANALES, M.; AVILA, J. G.; GARCÍA, A. M., MARTÍNEZ, A.; CABALLERO, J.; ROMO DE VIVAR, A.; LIRA, R. **Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lantana achyranthifolia* Desf. (Verbenacea)**. Journal of ethnopharmacology, ed. 96, p. 551-554, 2005.

HOLZBACH, Juliana Cristina. **Aristolactamas e alcanoides isoladas de *Aristolochia gigantea* Mart.** Dissertação (mestrado). 108 fls. UNESP, Araraquara, São Paulo. 2011.

IMBENZI, P. S. et al. **Chemical Constituents in Extracts from Leaves of *Lantana trifolia* and Their In Vitro Anti-oxidative Activity**. Chinese Herbal Medicines, v. 6, n. 3, p. 242-246, 2014.

**INCT HERBARIO VIRTUAL DA FLORA E DOS FUNGOS**. 2016. 2 ilustrações. Disponível em: <http://inct.splink.org.br/>. Acessado em 28/09/2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. ed. 04, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 624, 2008.

JEON, J.H; KIM, H. W.; KIM, M. G.; LEE, H. S. **Mite-control activities of active constituents isolated from *Pelargonium graveolens* against house dust mites.** J Microbiol Biotechnol. ed. 18, v. 10, p. 1666-1671, 2008.

JIMENEZ-ARELLANES, A. et al. **Antimycobacterial triterpenoids from *Lantana hispida* (Verbenaceae).** Journal of Ethnopharmacology, v. 111, n. 2, p. 202-205, 2007.

JOLY, A. B. **Introdução à Taxonomia Vegetal.** São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993.

JULIÃO, L. D. S. et al. **Phenylethanoid glycosides from *Lantana fucata* with in vitro anti-inflammatory activity.** Journal of Natural Products, v. 72, n. 8, p. 1424-1428, 2009.

KALITA, Sanjeeb et al. **In vitro antioxidant and DNA damage inhibition activity of aqueous extract of *Lantana camara* L. (Verbenaceae) leaves.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. P. 1675-1679, 2012.

KATSUYAMA, S.; MIZOGUCHI, H.; KUWAHATA, H. et al. **Involvement of peripheral cannabinoid and opioid receptors in  $\beta$ -caryophyllene-induced antinociception.** European journal of pain. v. 5, n. 17, p. 664–675, 2013.

KHAN, M.; MAHMOOD, A.; ALKHATHLAN, H. Z. **Characterization of leaves and flowers volatile constituents of *Lantana camara* growing in central region of Saudi Arabia.** Arabian Journal of Chemistry, v. 2, 2015.

KHAN, M.; SRIVASTAVA, S. K.; JAIN, N.; SYAMASUNDAR, K. V.; YADAV, A. K. **Chemical composition of fruit and stem essential oils of *Lantana camara* from northern India.** v. 18, p. 376-379, 2003.

KHATUN, M.; BILLAH, M.; QUADER, MD. A. **Sterols and Sterol Glucoside from *Phyllanthus* Species.** Dhaka Univ. J. Sci. ed. 1, v. 60, p. 5-10, 2012.

KOHLI, R. K.; BATISH, D. R.; BATISH, H. P.; SINGH, H. P.; DOGRA, K. S. **Status, invasiveness and environmental threats of three tropical American invasive weeds (*Parthenium hysterophorus* L., *Ageratum conyzoides* L., *Lantana camara* L.).** India. Biol Invas, v. 8, p. 1501-1510, 2006.

KOPA, Theodora K. **Antiplasmodial anthraquinones and hemisynthetic derivatives from the leaves of *Tectona grandis* (Verbenaceae).** Phytochemistry Letters. v. 8, p. 41-45, 2014.

LAWRENCE, B.M. **Commercial essential oils: truths and consequences.** In: SWIFT, K.A.D. Advances in Flavours and Fragrances: From the Sensation to the Synthesis Special Publication. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, p. 57–83, 2002.

MACHADO, Rachel R. P. **Essential oil from leaves of *Lantana camara*: a potential source of medicine against leishmaniasis.** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 5, n. 22, p. 1011-1017, 2012.

MACHADO, S. M. F.; FACUNDO, V. A.; RIBEIRO, A.; MILITÃO, J. S. L. T.; MORAIS, S. M.; MACHADO, M. I. L. **Seasonal Variation of (E)-Nerolidol in Siparuna guianensis Aublet and <sup>13</sup>C-NMR Spectral Assignments of (E)- and (Z)-Nerolidol.** J. Essencial Oil Research, v. 10, p. 708-710, 1998.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.E. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** Química Nova. ed. 23, p. 429-438, 2014.

MALDONADO, Eliana M. et al. **Antileishmanial metabolites from *Lantana balansae*.** Revista Brasileira de Farmacognosia. v. 26, p. 180-183, 2016.

MARCUCCI, Maria Cristina et al. **Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis.** Mensagem doce. v. 46, p. 3-8, 1998.

MATOS, F. J. de A. **Introdução à fitoquímica experimental.** 2. ed. Fortaleza: EUFC, 1997

MAYER, B. N; FERRIGNI, N. R; PUTNAM, J. E; JACOBSEN, L. B; NICHOLS, D. E. ; MCLAUGHLIN, J. L. **Brine Shrimp- A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents.** Planta Medica, v. 45, p.31 - 34, 1982.

MEDEIROS, Lídia B. P., et al. **Chemical constituents and evaluation of cytotoxic and antifungal activity of *Lantana camara* essential oils.** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 6, n. 22 p. 1259-1267, 2012.

MENSOR, Luciana L. et al. **Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method.** Phytotherapy Research. v. 15, nº 2, p. 127-130, 2001.

MISRA, L.; LAATSCH, H. **Triterpenoids, essential oil and photo-oxidative 28 $\rightarrow$ 13-lactonization of oleanolic acid from *Lantana camara*.** Phytochemistry. v. 54, p. 969-974, 2000.

MOHAMED, N. M. et al. **Triterpenes from the roots of *Lantana montevidensis* with antiprotozoal activity.** Phytochemistry Letters, v. 15, p. 30-36, 2016.

MOSHI, E. M. J. et al. **Brine shrimp toxicity of some plants used as traditional medicines in Kagera Region, north western Tanzania.** Tanzania Journal of Health Research. v. 12, ed. 1, 2010.

MUNIR, A. A. **A revision taxonomic of *Lantana camara* L. and *L. montevidensis* Briq. (Verbenacea) in Australia.** J Adelaide Bot Gard 17. p. 1-27, 1996.

NASCIMENTO, Juliana Couto et al. **Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L.** Revista Brasileira de Farmácia (RBF). v. 94, nº 4, p. 327-332, 2011.

NGASSOUM, M. B.; YONKEU, S.; JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G., SCHMAUS, G., HAMMERSCHMIDT, F. J. **Chemical composition of essential oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar.** Flavour Frag J. v. 14, p. 245-250, 1999.

NIKKON, F., SALAM, K.A., YEASMIN, T., MOSADDIK, A., KHONDKAR, P.; HAQUE, M.E. **Mosquitocidal triterpenes from the stem of *Duranta repens*.** Journal of Pharmaceutical Biology. v. 48, p. 264-268, 2010.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica.** 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 1997.

OZCELIK, O.; LEE, J. H.; MIN, D. B. **Effects of light, oxygen and pH on the Absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.** Journal of Food Science, v. 68, p. 487-490, 2003.

PARVEEN, M.; KHANAM, Z.; ALI, M.; RAHMAN, S.Z. **A novel lupene-type triterpene glucoside from the leaves of *Clerodendrum inerme*.** Natural Product Research. v. 24, p. 167-176, 2010.

PASCUAL, M.E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. **Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae).** Il Fármaco, v.56, p. 501-504, 2001.

PASSOS, J. L. **Chemical Characterization of Volatile Compounds of *Lantana camara* L. and *L. radula* Sw. and Their Antifungal Activity.** J. Molecules (open access), v. 17, p. 11447-11455, 2012.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia.** ed. 4. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

PEANA, A. T. et al. **(-)-Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound.** Life Sci., Oxford, v. 78, n. 7, p. 719-723, 2006.

POUR, B. M.; SASIDHARAN, S. **In vivo toxicity study of *Lantana camara*.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v. 1, n. 3, p. 230-232, 2011.

PUI-YEE, J. Y.; CASSINI, S. T.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. T.; STACEY, G. **Xanthone induction of nod gene expression in *Bradyrhizobium japonicum*.** Symbiosis, v. 19, n. 131, p. 140, 1995.

RAHMATULLAH, Mohammed et al. **Folk Medicinal Uses of Verbenacea Family Plants in Banglvaadesh**. Journal Tradit Complement Altern Med. v. 8, p. 53-65, 2011.

RAJASHEKAR, Y. et al. **Isolation and characterization of biofumigant from leaves of *Lantana camara* for control of stored grain insect pests**. Industrial Crops and Products, v. 51, p. 224-228, 2013.

RANDRIANALIJAONA, J. A. et al. **Seasonal and chemotype influences on the chemical composition of *Lantana camara* L. - Essential oils from Madagascar**. Analytica Chimica Acta, v. 545, n. 1, p. 46-52, 2005.

RIBEIRO, A. F. **Circadian and seasonal study of the cinnamate chemotype from *Lippia origanoides* Kunth**. Biochemical Systematics and Ecology, v. 55, p. 249-259, 2014.

RIBEIRO, Daiany Alves et al. **Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil**. Journal of Ethnopharmacology. v. 155, ed. 3, p. 1522-1533, 2014.

RIET-CORREA et al. **Poisoning by *Lantana glutinosa* (Verbenacea) in cattle in southern Brazil**. Revista de Pesquisa Veterinária Brasileira. 1984.

RUFINO, M. S. M.; et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. (Comunicado técnico). Fortaleza: Embrapa, 2007.

RUSSEL, Sharman. **Talking plants**. Discovery Magazine. 2002. Disponível em: <http://discovermagazine.com/2002/apr/featplants>. Acessado em 27/06/16.

SARRAZIN, Sandra Layse Ferreira. **Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia grandis* Schauer (Verbenacea) from the western Amazon**. Food Chemistry. v. 134, p. 1474-1478, 2012.

SATYAL, P. et al. **The Chemical Diversity of *Lantana camara*: Analyses of Essential Oil Samples from Cuba, Nepal, and Yemen**. J. Chem. Biodiversity, v. 13, p. 336-342, 2016.

SCHAUER, J. Verbenacea. In: Candolle A. P. de (ed.), **Podromus systematis naturalis regni vegetabilis**. – Paris & Leipzig. p. 522-700, 1847.

SCHERER, Rodrigo; GODOY, Helena Teixeira. **Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method**. Food Chemistry. v. 112, p. 654-658, 2009.

SENA FILHO, J. G. **Chemical and molecular characterization of fifteen species from the *Lantana* (Verbenacea) genus**. Biochemical Systematics and Ecology, v. 45, p. 130-137, 2012.

SHARMA O. P.; MAKKAR H. P. S; DAWRA, R. K. A. **Review of the noxious plant *Lantana camara***. *Toxicon*. n. 26, p. 975-987, 1988.

SHIMODA, M., WU, Y., & OSAJIMA, Y. **Aroma compounds from aqueous solution of haze (*Rhus succedanea*) honey determined by adsorptive column chromatography**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 44, p. 3913 –3918, 1996.

SILVA, Aline N. **Estudo da composição química e da atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de espécies do gênero *Myrcia* dc. (Myrtaceae)**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)(171fls.). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

SILVA, M.H.L.D.; ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.D.G.B.; LUIZ, A.I.R.; SILVA, J.D.D.; MAIA, J.G.S. **The essential oils of *Lantana camara* L. occurring in North Brazil**. *Flavour Frag J* v. 14, p. 208-210, 1999.

SOARES, Bruna Viana. **Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae)**. *Journal of Veterinary Parasitology*. v. 234, p. 49-56, 2017.

SOMWONG, Pathom; MORIYASU, Masataka; SUTTISRI, Rutt. **Chemical constituents from the roots of *Clerodendrum indicum* and *Clerodendrum villosum***. *Journal of Biochemical Systematics and Ecology*. v. 63, p. 153-156, 2015.

SONIBARE, O.O.; EFFIONG, I. **Antibacterial activity and cytotoxicity of essential oil of *Lantana camara* L. leaves from Nigeria**. *Afr J Biotechnol* v. 7, p. 2618-2620, 2008.

SOUSA, E. O. et al. **Chemical Composition and Aminoglycosides Synergistic Effect of *Lantana montevidensis* Briq. (Verbenaceae) Essential Oil**. *Records of Natural Products*, v. 5, n. 1, p. 60-64, 2011.

SOUSA, E. O. et al. **Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts**. *Industrial Crops and Products*, v. 70, p. 7-15, 2015.

SOUSA, E. O.; COSTA, G. M. J. **Genus *Lantana*: chemical aspects and biological activities**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. ed. 22, v. 5, p. 1155-1180, 2012.

SOUSA, E.O.; SILVA, N.F.; RODRIGUES, F.F.G.; CAMPOS, A.R.; DE LIMA, S.G.; COSTA, J.G.M. **Chemical composition and resistance-modifying effect of the essential oil of *Lantana camara* Linn**. *Pharmacogn Mag*. ed. 22, p. 78-82, 2010.

SOUZA, Cynthia Domingues; FELFILI, Jeanine Maria. **Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil**. *Acta bot. bras.* v. 20, ed. 1, p. 135-142, 2006.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. versão 12, 2012. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>. Acesso em 13/01/17.

SUTHERLAND, William. **Plants: A Different Perspective**. 2010. Disponível em: <http://content.yudu.com/Library/A1og25/PlantsADifferentPers/resources/73.htm>. Acessado em 27/06/16.

THIRUMURUGAN, A.; NEETHU, Anns Tomy; JAI GANESH, R; GOBIKRISHNAN, S.. **Biological reduction of silver nanoparticles using plant leaf extracts and its effect on increased antimicrobial activity against clinically isolated organism**. Der Pharma Chemica, ed. 2, n. 6, p. 279-284, 2010.

VIEGAS JR., C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. **Os Produtos Naturais e a Química Medicinal moderna**. Química Nova. v. 29, n. 2, p. 326, 2006.

VYAS, N.; ARGAL, A. **Diuretic potential of oleanolic acid isolated from *Lantana Camara***. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, v. 5, n. 2, p. 196-199, 2012.

YUNES, R. A.; CECHINEL, V. F. **Química de Produtos Naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 2ª ed. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2009.

ZANDI-SOHANI, Nooshin; HOJJATI, Mohammad; CARBONELL-BARRACHINA, Ángel A. **Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius)**. Chilean J. Agric. Res. [online] vol.72, n.4, pp.502-506, 2012.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. **GC and GC/MS analyses of the Algerian *Lantana camara* leaf essential oil: Effect against *Sitophilus granarius* adults**. Journal of Saudi Chemical Society, v. 16, n. 3, p. 291-297, 2012.