

Análise de timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta

Leal, L.K.A.M.^{1*}; Oliveira, V.M.¹; Araruna, S.M.²; Miranda, M.C.C.³; Oliveira, F.M.A.³;

¹ Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Ceará

² Laboratório Central de Saúde Pública

³ Secretaria da Saúde, Prefeitura Municipal de Fortaleza

Resumo

O teor de timol, princípio ativo usado como marcador nas tinturas das folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) preparadas com material coletado antes, durante e após a floração e designadas como T1, T2 e T3, foi determinado por CLAE, utilizando-se cromatógrafo Shimadzu CLASS-VP, coluna RP-18 (Supelco), com fase móvel isocrática acetonitrila:água (78:22) e fluxo 0,8 ml/min com detecção em 254 nm. As amostras foram injetadas num volume de 20 µl e analisadas em triplicata. Os teores de timol encontrados foram $1,97 \pm 0,07$ em T1; $2,00 \pm 0,03$ em T2 e $2,34 \pm 0,06$ mg/ml em T3. Os resultados mostram discretas diferenças nas concentrações de timol nas tinturas das folhas de alecrim-pimenta preparadas em diferentes momentos de seu desenvolvimento. Contudo, observou-se que o melhor momento para a coleta da planta parece ser após a sua floração (T3), que mostrou o maior teor de timol.

Abstract

Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae) is popularly known in Northeast Brazil as "alecrim-pimenta". The goal of the present work is to perform a quantitative analysis of timol, used as a marker in phytomedicine prepared from the leaves of *L. sidoides*, collected before, during and after the flower. At least three samples of tincture of *L. sidoides* were analyzed by HPLC. Among the samples analyzed, the tincture produced from the leaves after the flower showed slightly high concentration of timol ($2,34 \pm 0,06$ mg/ml) when compared with before ($1,97 \pm 0,07$ mg/ml) or during the flower ($2,00 \pm 0,03$ mg/ml). The best period to collect leaves of *L. sidoides* seems to be after the flower.

O taxon genérico *Lippia* (Verbenaceae) inclui aproximadamente 200 espécies de ervas, arbustos e de árvores de pequeno porte¹. *Lippia sidoides* Cham. (syn. *L. multicapitata* Mart.) é uma planta arbustiva, aromática, que ocorre na região nordeste do Brasil com grande frequência na área abrangida pelos municípios de Mossoró, RN e Tabuleiro do Norte (CE), onde é conhecida pelos rurícolas como alecrim-pimenta, alecrim e estrepa-cavalo. Suas folhas são utilizadas popularmente sob a forma de chá abafado ou tintura como anti-séptico local^{2,3}.

O óleo essencial obtido das folhas de *Lippia sidoides* tem como principal constituinte o timol, cujo teor tem variado

entre 34,2 a 95,1% em várias determinações. Outros constituintes encontrados são o carvacrol, p-cimeno, α -terpineno e β -cariofileno^{4,5,6}. O estudo químico de extratos de *Lippia sidoides* levou ao isolamento e caracterização de compostos fixos, incluindo dois dímeros naftoquinônicos (lapachenol-isocatalponol e tectol), ésteres metílicos naturais dos ácidos graxos de C₁₆ a C₂₄, β -sitosterol, ácido vanílico, 2-metil-5-isopropilfenol e a 5-4-dihidroxi-6,7-dimetoxi-flavona^{7,8,9}.

O ensaio toxicológico agudo pré-clínico demonstrou a baixa toxicidade dos constituintes hidrossolúveis arrastados por vapor d'água durante a extração de óleo essencial das folhas de *L. sidoides*¹⁰. Além disso, o teste de reação por contato, feito com a aplicação de óleo essencial a 1% na pele dos animais, não causou alergia¹¹. O espectro de atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial se relaciona a microorganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium xerosis*, *Cândida albicans*, *Trichophyllum rubrum* e *Trichophyllum interdigitale*, dentre outros^{5,6,12,13}.

Existem numerosos fatores que podem interferir quantitativa e qualitativamente na produção de óleo essencial de plantas aromáticas, tendo um papel decisivo na qualidade do produto final. O rendimento e a composição podem ser influenciados pelas condições climáticas, hora da coleta, idade da planta, cuidados na preparação da matéria-prima vegetal, além de outros fatores^{14,15}. Considerando que a influência desses fatores deve ser estudada caso a caso, desenvolveu-se este trabalho cujo objetivo foi investigar a provável variação do teor de timol na tintura das folhas de *L. sidoides* coletadas em diferentes momentos de seu desenvolvimento, ou seja, antes, durante e após o período de floração.

Foi observada apenas uma discreta variação nas concentrações de timol nas amostras de tintura de *Lippia sidoides* produzidas a partir das folhas coletadas antes, durante e depois da floração das plantas. O melhor momento para a coleta da planta parece ser após a sua floração, considerando que o teor determinado neste momento do desenvolvimento da planta foi maior do que o encontrado ($2,34 \pm 0,06$ mg/ml) nas demais tinturas da planta antes da floração ($1,97 \pm 0,07$ mg/ml) e durante a floração ($2,00 \pm 0,03$ mg/ml) (figura 1).

A figura 2 apresenta o perfil cromatográfico da tintura obtida da planta após a floração (T3). Os resultados observados são interessantes, considerando que *Lippia sidoides* permanece na floração durante quase todo o período anual, daí reduções significativas no teor de timol na planta durante essa fase poderiam interferir na qualidade dessa matéria-prima, devendo-se levar em conta também, no entanto, a relação risco-benefício, considerando a pequena variação do princípio ativo e o tempo de espera, do momento para a preparação de tintura ou para extração do óleo essencial¹⁶. Embora estudos anteriores não tenham sido realizados quanto à variação de timol nas folhas de *Lippia sidoides* durante seu ciclo vital, já foi demonstrada uma variação sazonal na planta quanto ao teor de timol, e observada também uma redução em torno de 30,7% no rendimento da extração do óleo essencial das folhas, após cinco meses de seu armazenamento¹⁷.

Estudos dessa natureza devem ser feitos condicionados às possíveis variáveis, a fim de conseguir dados que possam orientar o trabalho de coleta das folhas de *Lippia sidoides*, que são amplamente utilizadas nos programas governamentais de fitoterapia na região nordeste do Brasil.

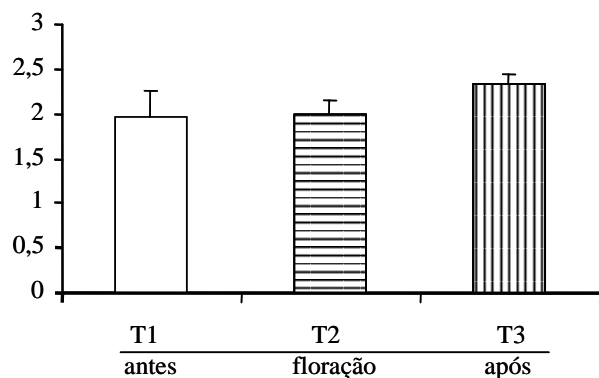


Figura 1. Teor de timol na tintura das folhas de *Lippia sidoides* coletadas antes, durante e após a floração. Os valores representam a média \pm d.p.m. da concentração de timol nas amostras (n=3-4).

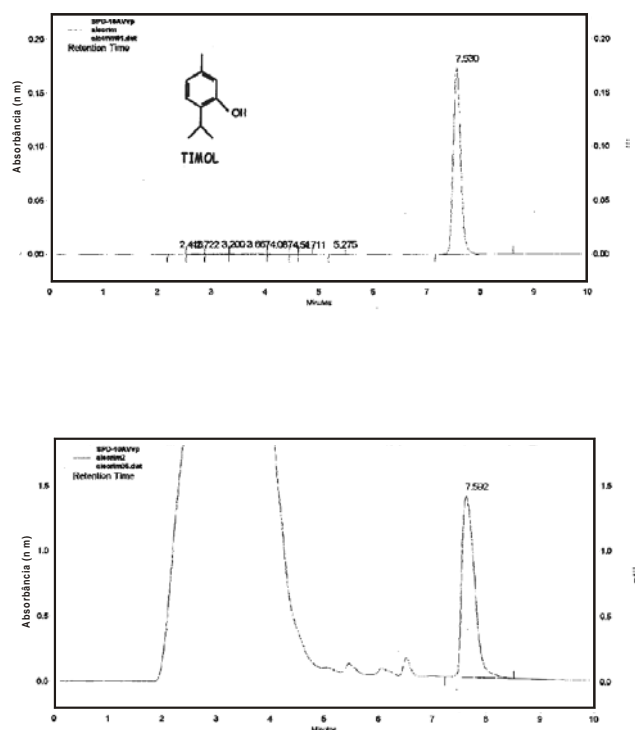


Figura 2. Cromatograma (CLAE-UV) do timol (A) e da tintura de *Lippia sidoides* (B) obtida das folhas coletadas após a floração.

Material e Métodos

Material botânico: As folhas de *Lippia sidoides* foram coletadas em Fortaleza (CE) (fevereiro-julho/2000), no horto de plantas medicinais da Universidade Federal do Ceará (UFC), no Campus do Pici. Exsicatas das mesmas plantas submetidas à coleta foram

preparadas e depositadas no Herbário Prisco Bezerra da UFC, sob o número EAC-08474.

Tinturas de *Lippia sidoides*: Foram obtidas segundo metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira (2a ed.). Quarenta gramas das folhas de *L. sidoides* de cada tipo foram submetidas à secagem natural (sombra), trituradas e extraídas com 200 ml de etanol:água (70:30) durante 5 dias, à temperatura ambiente, num percolador. Cada tintura (T1, T2 e T3) foi analisada diretamente por CLAE-UV.

Análises Cromatográficas: As análises por CLAE-UV foram realizadas em cromatógrafo líquido Shimadzu CLASS-VP, coluna RP-18 (Supelco) de 250 mm x 4 mm x 5 mm, temperatura 40 °C, fase móvel isocrática acetonitrila:água (78:22) e fluxo 0,8 ml/min com detecção em 254 nm. Foram injetados 20 μ l de cada amostra, em triplicata ou mais, quando necessário. Para a determinação quantitativa do timol, foi desenvolvida uma curva de calibração, utilizando-se soluções de timol nas concentrações de 0,125; 0,25; 0,5 e 1mg/ml, fazendo-se também injeções de 20 μ l, no mínimo três vezes.

Agradecimentos: FUNCAP e CNPq pelo apoio financeiro.

Referências

- Terblanché, F.C.; Kornelius G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae): A literature review. *Journal of Essential Oil Research*, v. 8, p. 471-485, 1996.
- Matos, F.J.A., Plantas Medicinas: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2. ed. Fortaleza, Imprensa Universitária/ UFC, 2000. p. 171-172.
- Aguiar, L.B.M.A.; Matos, F.J.A. Atividade antibiótica de plantas da flora nordestina - II. *Ciência e Cultura*, v. 36, p. 464, 1983.
- Matos, F.J.A.; Oliveira, F. *Lippia sidoides* Cham.: farmacognosia, química e farmacologia. *Rev. Bras. Farm.*, v. 79, p. 84-87, 1998.
- Lacoste, E.; Chaumont, J.P.; Mandin, D.; Plumel, M.M.; Matos, F.J. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Application to the cutaneous microflora. *Ann. Pharm. Fr.*, v. 54, p. 228-230, 1996.
- Lemos, T.L.J.; Monte, F.J.Q.; Barbosa, R.C.B.; Lima, E.O. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from brazilian plants. *Fitoterapia*, v. 63, p. 266-268, 1992.
- Costa, S.M.O.; Lemos, T.L.G.; Monte, F.J.A. Quinona dimérica (tectol) de *Lippia sidoides* (Verbenaceae). In: XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Águas de Lindóia, SP, 1998.
- Macambira, L.M.A. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste - *Lippia sidoides* Cham. Dissertação de Mestrado, UFC, 1985.
- Macambira, L.M.A.; Andrade, C.H.S.; Matos, F.J.A.; Craveiro, A.A.; Braz-Filho, R. Naphtoquinoids from *Lippia sidoides*. *J. Nat. Prod.*, v. 49, p. 310-312, 1986.
- Viana, G.S.B.; Matos, F.J.A.; Craveiro, A.A. Observações preliminares sobre a farmacologia de *Lippia sidoides*. 30ª Reunião Anual da SPBC, SP, Ciência e Cultura, v. 30, 1978.
- Mendonça, V.L.M.; Fonteles, M.C.; Aguiar, L.M.B.; Craveiro, A.A. Toxicidade e alergenicidade do óleo essencial de *Lippia*

- sidoides* Cham. para utilização em cosméticos. *Aerosóis e Cosméticos*, v. 12, p. 12-17, 1990.
- ¹² Aguiar, L.B.M.; Matos, F.J.A. Atividade antibiótica de plantas medicinais da flora nordestina. *Ciência e Cultura*, v. 35, 1983.
- ¹³ Lemos, T.L.J.; Matos, F.J.A.; Matos, F.J.A.; Craveiro, A.A.; Mechesney, J.D. Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants. *Phytoterapy Research*, v. 4, p. 82-84, 1990.
- ¹⁴ Miraldi, E.; Giachetti, D.; Ferri, S. Quality control of aromatic drugs reported in European Pharmacopoeia 3. ed., IL FÁrmaco, v. 56, p. 365-371, 2001.
- ¹⁵ Silva, M.G.V.; Craveiro, A.A.; Matos, F.J.A.; Machado, M.I.L.; Alencar, J.W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. *Fitoterapia*, v. 70, p. 32-34, 1999.
- ¹⁶ Smith, R.M. Gas and liquid chromatography in analytical chemistry. Chichester: John Wiley, 1988.
- ¹⁷ Nunes, R.S. Desenvolvimento galênico de produtos de uso odontológico (creme dental e enxaguatório bucal) à base de *Lippia sidoides* Cham. - Verbenaceae -alecrim-pimenta. Dissertação de Mestrado, UFPE, 1999.

***Autor para correspondência:**

Luzia Kalyne A. M. Leal
Rua Valdemiro Cavalcante, 340 - Rodolfo Teófilo
CEP 60 430-050 - Fortaleza (CE)
E-mail: kalyne@ufc.br

Anatomia foliar de *Bauhinia blakeana* Dunn.

Ferreira, J.L.P.^{1,2}; Velasco, E.¹; Paula, A.E.S.¹; Araújo, R.B.¹; Pacheco, J.M.²

¹ Laboratório de Química de Produtos Naturais, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz

² Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia e Administração Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense

Resumo

São observadas as características microscópicas das folhas de *Bauhinia blakeana* Dunn., espécie conhecida no Brasil como "Pata de vaca" e usada pela população como hipoglicemiante. As análises dos cortes transversais e das dissociações epidérmicas indicam a presença de um mesófilo dorsiventral contendo espaços intercelulares, protegido por epidermes com tricomas de diversos aspectos e estômatos paracíticos e anomocíticos. O pecíolo, plano-convexo, pubescente, apresenta duas saliências, colênquima angular e feixes vasculares colaterais e bicolaterais.

Abstract

The paper describes the microscopic characteristics of the leaves of *Bauhinia blakeana* Dunn., known in Brazil as "pata de vaca" and used as a hypoglycemic remedy. Transverse sections and epidermal dissociations indicate the presence of a dorsiventral mesophyll protected by epidermis with trichomes of diverse types and paracytic and anomocytic stomata. The petiole, which is plane-convex, pubescent, shows two excrescences, an angular collenchyma and collateral and bicollateral vascular bundles.

Bauhinia blakeana Dunn. (Leguminosae-Caesalpinioideae) (figura 2-J), árvore muito solicitada como ornamental pelo porte e beleza de suas flores, foi descrita como uma nova espécie em 1908, após ser descoberta no litoral da ilha de Hong Kong, por volta do ano de 1880¹, sendo considerada por alguns autores como híbrido de *B. variegata* e *B. purpurea*. Ao ser trazida para o Brasil adaptou-se plenamente às condições climáticas e edáficas locais. Hoje encontra-se cultivada principalmente na região sudeste brasileira, onde é conhecida pelo nome de "pata de vaca" e considerada possuir, como outras espécies próximas, que recebem a mesma designação nominal, propriedades hipoglicemiantes. A população brasileira costuma