

Composição Química do Óleo Essencial de Três Acessos de *Hyptis Marruboides* EPL. Coletados no Sul de Minas Gerais

Priscila Pereira Botrel¹, José Eduardo Brasil Pereira Pinto², Suzan Kelly Vilela Bertolucci³,
Pedro Henrique Ferri⁴, Felipe Campos Figueiredo⁵, Cássia Cristina Bachião Miranda⁶

^{1,5,6}Instituto Federal do Sul de Minas Gerais, IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho, Muzambinho, MG, ¹priscila.botrel@eafmuz.gov.br, ^{2,3}Universidade Federal de Lavras, UFLA, Departamento de Agricultura, Lavras, MG, ²jeduardo@dag.ufla.br, ³suzan@dag.ufla.br; ⁴Universidade Federal de Goiás, UFG, Instituto de Química, Goiânia, GO. pedro@quimica.ufg.br; ⁵felipe.professor@yahoo.com.br; ⁶cassiabakiao@hotmail.com.

Introdução

Hyptis marruboides Epl., conhecida popularmente como hortelã-do-campo, é uma planta de uso medicinal com atividades contra infecções gastrointestinais e dermatológicas, dores e câimbras (CORRÊA, 1931). O óleo essencial no gênero *Hyptis* tem importância como fonte de constituintes bioativos, possuindo importantes efeitos biológicos, como atividades antimicrobianas, citotóxicas e inseticidas (KUHNT et al., 1995).

Estudos de variabilidade química entre diferentes populações naturais de plantas medicinais e aromáticas são importantes para seleção de espécies altamente produtoras de metabólitos secundários ou que produza um metabólito de interesse em maiores quantidades. Esses estudos também são fundamentais para a determinação da atividade biológica de um produto natural e para o desenvolvimento de produtos comerciais. De acordo com Silva (2003) os estudos da variabilidade genética existentes, vinculados aos estudos fitoquímicos para identificação de compostos secundários com ação terapêutica e sua implicação na conservação, ainda são incipientes.

H. marruboides é uma espécie que apresenta grandes potenciais biológicos, mas ainda são necessários vários estudos que comprovem sua eficácia. Estudar a variabilidade química é fundamental quando se deseja desenvolver estudos de efeitos biológicos, objetivando um padrão químico para essa espécie. Assim, objetivou-se avaliar a composição química de óleo volátil em folhas e inflorescências de *H. marruboides* coletadas em diferentes localidades do Sul de Minas Gerais.

Material e Métodos

Folhas e inflorescências de populações nativas de *H. marruboides* foram coletadas às 8h em três municípios do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil, durante o outono de 2010. As três localidades são os municípios de Ijaci, Luminárias e Ribeirão Vermelho.

A extração do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais localizado no Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Os óleos essenciais das folhas e inflorescências frescas de *H. marruboides* foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger por 90 min. O óleo essencial foi purificado por partição líquido-líquido com diclorometano. A fase orgânica foi reunida e tratada com 5 g de sulfato de magnésio anidro durante 30 min. Após esse período a solução foi filtrada e o solvente evaporado em temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases.

A composição química do óleo essencial foi determinada por uma amostra composta formada pelo agrupamento das repetições de cada tratamento.

As análises foram realizadas em um aparelho de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro quadrupolar de massas (CG-EM), Shimadzu[®] QP5050A (Kyoto, Japão), nas seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida, modelo CBP-5 (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 µm de espessura do filme em 5% de fenilmetilpolisiloxano) (Shimadzu[®], Japão), com fluxo de 1 mL.min⁻¹ de hélio como gás de arraste; aquecimento com temperatura programada (60°C com um gradiente de 3°C min⁻¹ até 240°C e, em seguida, com um gradiente de 10°C min⁻¹ até 270°C, mantendo-se uma isoterma de 7 min, com um tempo total de corrida de 70 min). A energia de ionização do detector foi de 70 eV, sendo o volume de injeção no modo *split* (1:20), amostra de 0,5 µL diluídas em diclorometano (grau ultrarresíduo, Baker, EUA). As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220°C e 240°C, respectivamente. A análise foi conduzida no modo varredura, a uma velocidade de 1,0 varredura s⁻¹, com um intervalo de massas de 40-400 *m/z*. A análise quantitativa foi obtida pela integração do cromatograma total de íons (TIC). A identificação dos constituintes foi realizada por comparação, automática e manual, dos espectros de massas com o banco de dados das bibliotecas NIST/EPA/NHI (NIST, 1998), por comparação dos espectros de massas e índices de retenção (IR) com os da literatura (ADAMS, 2001) e coinjeção com padrões autênticos. Os índices de retenção foram

calculados através da coinjeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C₈–C₃₂ (Sigma, EUA), e com aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (1963).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, compreendendo três localidades de coleta (Ijaci, Luminárias e Ribeirão Vermelho) e duas partes da planta (folhas e inflorescências), perfazendo um fatorial 3x2, num total de 6 amostras de óleos essenciais, com quatro repetições, totalizando 24 parcelas.

Resultados e Discussão

Os resultados das análises qualitativas e quantitativas dos óleos essenciais analisados estão representados na Tabela 1 na ordem de eluição em coluna CBP-5. No total, 31 constituintes voláteis foram identificados numa faixa entre 93,31% a 99,79%. Apenas as amostras de inflorescências de Ijaci (56,26%) e de Ribeirão Vermelho (57,36%) apresentaram teores de monoterpenos oxigenados superiores aos sesquiterpenos oxigenados. As amostras de inflorescências de Luminárias e das folhas de Ribeirão Vermelho tiveram um conteúdo mais expressivo de sesquiterpenos totais, 61,27% e 66,21%, respectivamente. De acordo com Sales et al. (2007), sesquiterpenos oxigenados (52,9-93,2%) são a principal classe de constituintes químicos do óleo essencial de caules e folhas de populações de *H. marruboides* provenientes de Lavras e Tiradentes-MG. Resultados contrários foram observados neste trabalho, onde todos os acessos e partes da planta apresentaram menores teores de sesquiterpenos oxigenados (11,35-42,82%), exceto para folhas coletadas no município de Ribeirão Vermelho (Tabela 1).

Foram observadas variações nos teores dos constituintes químicos dos óleos das inflorescências e folhas das três localidades (Tabela 1). A faixa de teores observados para os constituintes majoritários do óleo demonstraram grandes diferenças entre as amostras. Os principais constituintes foram a α -tujona (6,72-19,3%), a β -tujona (8,40-24,20%), a *cis*-pinocanfona (2,68-5,71%), α -copaeno (4,43-9,25%), β -cariofileno (7,24-11,49%) e o γ -muuroleno (6,73-12,02%). Os teores de α e β -tujona do presente trabalho foram bastante distintos dos observados por Botrel et al. (2009) que determinaram 41,0% de α -tujona e 15,9% de β -tujona em inflorescências de genótipo roxo de plantas *H. marruboides* cultivadas em campo experimental em Lavras-MG (Brasil).

Tabela 1. Composição química e porcentagem de área relativa dos picos cromatográficos correspondentes aos constituintes identificados nos óleos essenciais de folhas e inflorescências de *H. marrubioides* coletadas nas três localidades do Sul de Minas Gerais.

Constituinte	IR ^a	Área (%)						
		Ijaci		Luminárias		Ribeirão Vermelho		
		Folhas	Inflor.	Folhas	Inflor.	Folhas	Inflor.	
1	3-Octanol	992	0,45	0,30	0,35	0,10	0,10	0,21
2	<i>cis</i> -Hidrato de sanineno	1064	0,10	0,43	0,10	0,10	0,10	0,41
3	<i>trans</i> - Hidrato de sanineno	1098	0,93	0,74	0,10	0,10	0,63	0,89
4	α -Tujona	1104	8,71	17,57	16,42	7,11	6,72	19,30
5	β -Tujanol	1115	20,19	24,20	19,07	15,58	8,40	23,35
6	<i>iso</i> -3-Tujanol	1132	2,58	0,80	0,72	2,34	2,10	0,51
7	<i>trans</i> -Sabinol	1137	0,10	0,79	0,82	-	-	0,85
8	<i>trans</i> -Verbenol	1142	1,22	1,80	1,55	0,79	1,29	1,88
9	<i>neois</i> -3-Tujanol	1147	0,10	0,61	0,58	-	0,10	0,78
10	<i>cis</i> -Pinocanfona	1170	4,77	5,55	5,35	3,82	2,68	5,71
11	Terpinen-4-ol	1174	1,56	2,09	2,05	1,13	0,80	1,80
12	α -Terpineol	1188	2,06	1,68	1,14	1,07	1,75	1,88
13	α -Copaeno	1374	9,25	6,51	6,69	7,26	4,43	5,37
14	β -Bourboneno	1383	2,30	0,54	0,77	2,26	0,10	0,39
15	β -Cariofileno	1418	9,35	11,49	10,43	9,26	7,24	11,08
16	α -Humuleno	1452	0,85	0,99	1,01	0,91	0,60	0,86
17	(E)- β -Farneseno	1454	0,10	0,10	-	-	0,10	0,33
18	γ -Muuroleno	1480	8,57	9,24	12,02	9,03	6,73	11,47
19	γ -Cadineno	1513	1,53	0,82	0,79	1,37	2,28	0,67
20	δ -Cadineno	1521	0,92	0,79	0,86	1,10	0,96	0,54
21	Desconhecido	1539	0,72	0,12	0,44	0,61	0,95	0,37
22	<i>cis</i> -Muurool-5-em-4 β -ol	1555	0,64	0,47	5,01	7,56	6,41	1,84
23	β -Nerolidol	1573	0,10	0,61	0,62	0,59	0,71	0,38
24	Espatuleno	1576	0,74	0,62	0,51	1,09	2,51	0,53
25	Óxido de cariofileno	1581	4,44	3,04	2,98	6,15	10,59	2,40
26	10- <i>epi</i> -g-Eudesmol	1618	-	0,10	0,10	0,10	0,10	0,39
27	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol	1631	0,97	0,75	0,69	1,11	2,10	0,49
28	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -ol	1635	2,66	2,54	2,54	3,51	5,72	1,57
29	β -Eudesmol	1649	0,10	0,46	0,47	0,87	2,11	0,53
30	α -Cadinol	1652	1,20	0,52	0,53	1,50	0,82	0,41
31	Germacra-4(15,5,10(14)-trien-1 α -ol	1685	6,73	3,23	3,57	6,99	11,75	2,81
Monoterpenos oxigenados			42,32	56,26	47,90	32,04	24,57	57,36
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos			33,59	30,60	33,01	31,80	23,39	31,08
Sesquiterpenos oxigenados			17,58	12,34	17,02	29,47	42,82	11,35
Sesquiterpenos totais			51,17	42,94	50,03	61,27	66,21	42,43
Total identificado			93,49	99,20	97,93	93,31	90,78	99,79

^a Índice de retenção relativo a série de *n*-alcanos (C8-C32) em coluna CBP-5.

A diferença mais marcante entre os teores dos constituintes do óleo foi observada nas amostras de folhas coletadas em Ribeirão Vermelho, que apresentaram os menores teores de

α -tujona (6,72%), β -tujona (8,40%), *cis*-pinocanfona (2,68%), α -copaeno (4,43%), β -cariofileno (7,24%) e γ -muuroleno (6,73%) e os maiores de γ -cadineno (2,28%), espatulenol (2,51%), óxido de cariofileno (10,59%), cariofila-4(12),8(13)-dien-5 α -ol (2,10%), cariofila-4(12),8(13)-dien-5 β -ol (5,72%), β -eudesmol (2,11%) e germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 α -ol (11,75%) (Tabela 1).

Os principais constituintes químicos encontrados por Sales et al. (2007) em *H. marruboides*, ao estudarem a variabilidade química presente no óleo essencial dessa espécie em duas localidades da região do Cerrado Brasileiro (Lavras e Tiradentes, MG) foram cariofila-4(14),8(15)-dien-5 β -ol, eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol, óxido de cariofileno e β -cariofileno. Esses resultados diferem dos encontrados neste trabalho, onde os monoterpenos α e β -tujona apresentaram maiores percentagens no óleo essencial, variando de 6,72 a 24,20%. No estudo realizado por Sales et al. (2007), as percentagens de α e β -tujona variaram de 0,4 a 1,8%. Comparando estes locais de coleta com os estudados neste trabalho, pode-se sugerir que existem fatores ambientais ou genéticos influenciando a composição química.

Conclusões

Os principais constituintes químicos identificados nos acessos foram a α -tujona (6,72-19,3%), a β -tujona (8,40-24,20%), a *cis*-pinocanfona (2,68-5,71%), α -copaeno (4,43-9,25%), β -cariofileno (7,24-11,49%) e o γ -muuroleno (6,73-12,02%).

Referências Bibliográficas

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2001. 456 p.

BOTREL, P. P.; PINTO, J. E. B. P.; FIGUEIREDO, F. C.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* Epling (Lamiaceae) em diferentes genótipos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 1, n. 2, p. 164-469, 2009.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 481-487, 2007.

KUHNT, T.M.; PROBSTLE, A.; RIMPLER, H.; BAUER, R.; HEINRICH, M. Biological and pharmacological activities and further constituents of *Hyptis verticillata*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 61, n. 3, p. 227-232, 1995.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version of the NIST/EPA/NIH mass spectral database**: software. Gaithersburg, 1998.

SALES, J.F.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; OLIVEIRA, C. B. A.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; SERAPHIN, J. C. Composition and chemical variability in the essential oil of *Hyptis marruboides* Epl. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 19, n. 6, p. 552-556, 2007.

SILVA, M. A. S. **Variabilidade genética e fitoquímica de *Casearia sylvestris* Sw. em populações do cerrado e mata atlântica do estado de São Paulo**. 2003. 155 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, n. 4, p. 463-471, 1963.