



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
ESCOLA DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



ÉLCIO ERMELINDO RIBEIRO

Análise fitoquímica de extratos da casca de  
*Myracrodruon urundeuva* Allemao (Anacardiaceae)

OURO PRETO

2018

ÉLCIO ERMELINDO RIBEIRO

Análise fitoquímica de extratos da casca de  
*Myracrodruon urundeuva* Allemao (Anacardiaceae)

Trabalho de conclusão de curso do graduando em farmácia Universidade Federal de Ouro Preto, realizado sob orientação do Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão e co-orientação da Prof MSc. Regislainy Gomes da Silva

OURO PRETO

2018

R484a Ribeiro, Élcio Ermelindo.  
Análise fitoquímica de extratos da casca de Myracrodruon urundeuva  
Allemao (anacardiaceae) [manuscrito] / Élcio Ermelindo Ribeiro. - 2018.

54f.:

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão.  
Coorientador: MSc. Regislainy Gomes da Silva.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de  
Farmácia. Departamento de Farmácia.

1. Aroeira. 2. Myracrodruon urundeuva. 3. Metabólitos secundários. I.  
Brandão, Geraldo Célio. II. Silva, Regislainy Gomes da. III. Universidade  
Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 615.3

Catálogo: [ficha@sisbin.ufop.br](mailto:ficha@sisbin.ufop.br)



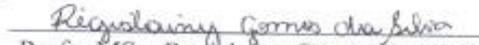
**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP  
**Escola de Farmácia**

## TERMO DE APROVAÇÃO

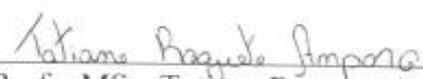
### ANÁLISE FITOQUÍMICA DE EXTRATOS DA CASCA DE *Myracrodruon urundeuva* ALLEMAO (ANACARDIACEAE)

Trabalho de conclusão de Curso defendido por **ÉLCIO ERMELINDO RIBEIRO**, matrícula 12.1.2083 em 04 de julho de 2018, e aprovado pela comissão examinadora:

  
Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão  
Orientador, DEFAR-EF-UFOP

  
Profa. MSc. Regislany Gomes da Silva  
Coorientadora, DEFAR-EF-UFOP

  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Bianco de Souza  
DEFAR-EF-UFOP

  
Profa. MSc. Tatiane Roquete Amparo  
DEFAR-EF-UFOP

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus e ao universo por permitirem que esse sonho fosse possível.

Aos meus pais, Genoveva e Sebastião, pela luta diária, amor incondicional, pelo apoio, por serem exemplos de vida e por sempre estarem ao meu lado.

Aos meus irmãos, Edgar e Helder, pela amizade, apoio e orgulho.

Aos meus avós, Dona Mariazinha e Sô Geraldo (*in memoriam*), pela inspiração constante e por serem exemplos de vida.

Às minhas tias, Ana e Maria, pelos sorrisos, incentivos e ajuda nessa jornada.

A Rosimeire, pela alegria, amizade e carinho.

A minha afilhada, Sâmya, pelo carinho, amor e felicidade.

Ao Ícaro, pelo amor, companhia e por sempre me incentivar a ser uma pessoa melhor.

Aos Ataídes, pelos bons momentos de felicidade proporcionados, que estarão sempre guardados na memória.

Aos amigos, Lucas, Xicó e Miro, pela amizade e companheirismo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão pela oportunidade, ensinamentos, confiança e apoio.

A minha co-orientadora MSc. Regislainy Gomes da Silva, pela dedicação, disposição, carinho e por todos os ensinamentos.

Aos professores da graduação pelo aprendizado diário.

Aos amigos e colegas da Escola de Farmácia.

E a todos que fizeram parte dessa jornada e que de alguma maneira contribuíram para que eu chegasse até aqui, muito obrigado.

*“Não aguento ser apenas  
um sujeito que abre  
portas, que puxa  
válvulas, que olha o  
relógio, que compra pão  
às 6 da tarde, que vai  
lá fora, que aponta lápis,  
que vê a uva etc. etc.  
Perdoai. Mas eu  
preciso ser Outros.  
Eu penso  
renovar o homem  
usando borboletas”*

*Manoel de Barros*

## Resumo

A *Myracrodruon urundeuva*, conhecida popularmente como aroeira, pertence à família Anacardiaceae. É uma planta bastante conhecida na medicina popular nordestina, sendo muito utilizada por suas ações antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante. Seus efeitos farmacológicos são atribuídos a presença de metabólitos secundários produzidos pela planta. Dentre as principais classes de produtos do metabolismo secundário se encontram os flavonoides, taninos e terpenos. Devido à grande importância desses compostos presentes na aroeira, associados ao amplo uso da planta na medicina tradicional, torna-se relevante a realização de estudos mais aprofundados, afim de se conhecer os componentes presentes na planta e que são responsáveis pelos efeitos terapêuticos. Este trabalho teve como objetivo caracterizar os metabólitos secundários presentes na casca de *M. urundeuva*. Para as análises fitoquímicas, extraiu-se os componentes da casca utilizando solventes que apresentam polaridades diferentes. Para obtenção dos extratos brutos utilizou-se como solventes etanol e água. O extrato bruto etanólico foi obtido por técnica de percolação enquanto o extrato bruto aquoso por ultrassom. O extrato bruto etanólico foi submetido ao fracionamento em aparato de Soxhlet, utilizando como solventes, hexano, acetato de etila e metanol. As frações recolhidas foram submetidas a técnicas cromatográficas afim de se identificar a presença de flavonoides, taninos e terpenos em cada fração. Amostras de cada fração foram ressuspendidas, filtradas e submetidas à análise utilizando cromatógrafo UPLC Acquity Waters® acoplado a espectrômetro de massas de captura de elétrons e ionizador químico à pressão atmosférica (APCI), em coluna de fase reversa Acquity UPLC® BEH [1,7µm, 50x2mm), FM: água:ác. fórmico 0,1% (A) e acetonitrila:ác. fórmico 0,1% (B), 0-11 min.gradient linear 5-95%B, com fluxo de 0,3mL/min, 4,0µL], UV 190–450 nm. Através do estudo fitoquímico, pôde-se caracterizar os flavonoides urundeuquina A, urundeuquina B e urundeuquina C, o tanino tri-*O*-galoil-1,5- anidro-glucitol, ainda não identificado nessa espécie, e os terpenos 30-nor-24-metilenocicloartanol e 24-metilenocicloartanol.

Palavras-chave: Aroeira, *Myracrodruon urundeuva*, metabólitos secundários, flavonoides, taninos, terpenos, análise fitoquímica

## Abstract

*Myracrodruon urundeuva*, popularly known as aroeira, belongs to the family Anacardiaceae. Aroeira is a well-known plant in Northeastern folk medicine, being widely used for its antioxidant, anti-inflammatory and healing actions. Its pharmacological effects are attributed to the presence of secondary metabolites produced by the plant. Among the main classes of secondary metabolism products are flavonoids, tannins and terpenes. Due to the great importance of these compounds present in aroeira, associated with the wide use of the plant in traditional medicine, it is relevant to carry out further studies in order to know the components present in the plant and that are responsible for the therapeutic effects. This work aimed to characterize the secondary metabolites present in the shell of *M. urundeuva*. For the phytochemical analyzes, the shell components were extracted using solvents having different polarities. To obtain the crude extracts ethanol and water were used as solvents. The crude ethanolic extract was obtained by percolation technique while the crude aqueous extract by ultrasound. The crude ethanolic extract was subjected to fractionation in Soxhlet apparatus, using hexane, ethyl acetate and methanol as solvents. The collected fractions were submitted to chromatographic techniques in order to identify the presence of flavonoids, tannins and terpenes in each fraction. Samples from each fraction were resuspended, filtered and subjected to the analysis using Acquity Waters® UPLC chromatograph coupled to an electron capture mass spectrometer and atmospheric pressure chemical ionizer (APCI), on an Acquity UPLC® BEH reverse phase column [1.7 µm, 50x2mm), FM: water: approx. 0.1% formic (A) and acetonitrile: aq. 0.1% formic (B), 0-11 min linear gradient 5-95% B, flow 0.3 mL / min, 4.0 µL], UV 190-450 nm. Through the phytochemical study, the flavonoids urundevine A, urundevine B and urundevine C, tannin tri-O-galloyl-1,5-anhydroglucitol, not yet identified in this species, and terpenes 30-nor-24methylenecycloartanol and 24-methylenecycloartanol.

Key words: aroeira, *Myracrodruon urundeuva*, secondary metabolites, flavonoids, tannins, terpenes, phytochemical analysis

## LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
AcOEt	Acetato de etila
APCI	<i>Atmospheric pressure chemical ionization</i>
CCC	Cromatografia em coluna clássica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
EtOH	Etanol
eV	Eletrovolt
Fig.	Figura
g	Grama
H <sub>2</sub> O	Água
kV	Quilivolt
mA	Miliampère
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
NUPEB	Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas
OMS	Organização Mundial da Saúde
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
rpm	Rotação por minuto
SUS	Sistema Único de Saúde
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
UPLC-MSMS	<i>Ultra performance liquid chromatography - tandem mass spectrometer</i>
UV	Ultravioleta
V	Volt
µL	Microlitro
µm	Micrômetro

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Árvore <i>Myracrodruon urundeuva</i> (aroeira) .....	4
Figura 2:	Tronco da aroeira .....	5
Figura 3:	Biossíntese simplificada de terpenos, flavonoides e taninos.....	6
Figura 4:	Estrutura básica dos flavonoides .....	7
Figura 5:	Biossíntese de flavonoides.....	8
Figura 6:	Anéis e bandas de UV de flavonoides.....	10
Figura 7:	Hidrólise de taninos hidrolisáveis.....	12
Figura 8:	Fórmulas estruturais: flavonoides e taninos condensados.....	12
Figura 9:	Percolação.....	17
Figura 10:	Fracionamento em Soxhlet.....	19
Figura 11:	Fluxograma de estudos fitoquímicos.....	20
Figura 12:	Cromatoplaça 1: Extratos brutos.....	22
Figura 13:	Cromatoplaça 2: Extratos brutos.....	22
Figura 14:	Cromatoplaça 3: Extratos brutos.....	23
Figura 15:	Cromatoplaça 4: Extratos brutos.....	23
Figura 16:	Cromatoplaça 5: Frações.....	24
Figura 17:	Cromatoplaça 6: Frações.....	24
Figura 18:	Cromatograma da fração acetato etilênica.....	26
Figura 19:	Espectro de massas da chalcona A.....	27
Figura 20:	Fragmentação da chalcona A.....	28
Figura 21:	Espectro de massas da chalcona B.....	29
Figura 22:	Fragmentação da chalcona B.....	30
Figura 23:	Estrutura das chalconas.....	31
Figura 24:	Cromatograma do extrato etanólico bruto.....	32
Figura 25:	Banda UV de taninos.....	32
Figura 26:	Isômeros do tanino A.....	33
Figura 27:	Espectro de massas do tanino A.....	34
Figura 28:	Fragmentação do tanino A.....	35
Figura 29:	Estrutura do tanino A.....	36
Figura 30:	Cromatograma da fração hexânica.....	36
Figura 31:	Banda UV dos terpenos.....	37
Figura 32:	Estrutura dos terpenos A e B.....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos terpenos.....	13
Tabela 2: Condições cromatográficas.....	19
Tabela 3: UV característico das chalconas.....	25

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivos Gerais.....	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. Uso de plantas medicinais.....	3
3.2. <i>Myracrodium urundeuva</i> .....	4
3.3. Metabólitos secundários.....	6
3.3.1 Flavonoides.....	7
3.3.2 Taninos.....	11
3.3.3 Terpenos.....	13
3.4. Análise fitoquímica.....	14
4. METODOLOGIA.....	16
4.1. Coleta .....	16
4.2. Extração.....	16
4.2.1. Extrato etanólico bruto.....	16
4.2.2. Extrato aquoso bruto .....	18
4.2.3. Extração sequencial .....	18
4.3. Perfil cromatográfico.....	19
4.4. Caracterização e identificação .....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1. Perfil cromatográfico.....	22
5.2. Caracterização.....	25
5.2.1 Flavonoides.....	25
5.2.2 Taninos.....	31
5.2.3 Terpenos.....	36
6. CONCLUSÃO.....	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

## 1- INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para efeitos curativos não é uma prática recente. Documentos antigos relatam o uso de plantas com potencial medicinal de pelo menos há 4000 a.C. Ao longo dos séculos, os produtos de origem vegetal com princípios medicinais se tornaram uma importante base para o tratamento de diferentes doenças no mundo e na manutenção da saúde (Phillips & Gentry, 1993).

A espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemao, conhecida popularmente como aroeira, é nativa da América do Sul. É nativa em regiões da caatinga e cerrado brasileiro (Monteiro et al. 2011). A presença de metabólitos secundários na casca da aroeira confere características de resistência natural da madeira frente a ações biológicas e químicas (Queiroz et al. 2002), motivo pelo qual a planta é largamente explorada na fabricação de móveis, o que a colocou na lista de espécies ameaçadas de extinção.

Estudos com espécimes oriundos da caatinga demonstraram a presença de taninos, flavonoides (Araújo, 2008) e terpenos como constituintes de extratos, bem como os efeitos farmacológicos dessa planta. Como o estudo de Carlini et al (2010), a qual demonstraram efeito protetor de mucosa gástrica em ratos. Em um outro estudo, chalconas isoladas de *M. urundeuva* foram eficazes contra conjuntivite induzidas por ovoalbumina em porquinhos da Índia (Mendonça et al, 2011). Vieira et al. (2015), demonstraram efeito antioxidante e de inibição da enzima tirosinase a partir de extrato metanólico da casca de aroeira.

No presente trabalho, técnicas cromatográficas clássicas aliaram-se a técnicas mais sofisticadas a fim de se caracterizar, isolar e identificar os compostos presentes na casca da aroeira. A análise fitoquímica é uma importante ferramenta e contribui na avaliação da segurança das partes utilizadas como remédios, uma vez que diversas plantas são amplamente utilizadas na medicina popular.

## **2- OBJETIVOS**

### 2.1- Objetivo Geral:

Caracterizar os grupos de metabólitos secundários presentes na casca da espécie *Myracrodruon urundeuva*, aroeira, proveniente do cerrado.

### 2.2- Objetivos específicos:

- Obter extrato aquoso e etanólico da casca de *M. urundeuva*.
- Particionar o extrato etanólico bruto com solventes de grau crescente de polaridade.
- Detectar a presença de flavonoides, taninos e terpenos em cada fração através de cromatografia em camada delgada.
- Caracterizar as substâncias de cada classe de metabólito secundário através de UPLC- MSMS.

### **3.REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1-Uso de plantas medicinais**

Desde os primórdios das civilizações, espécies vegetais com potencial medicinal são utilizadas pelo ser humano, e com o passar dos séculos e modernização das civilizações, os produtos de origem vegetal se tornaram um importante instrumento para o tratamento de diversas doenças no mundo inteiro. As plantas medicinais são importantes fontes de fitoterápicos e de descoberta de diversos novos fármacos (Brito et al., 2015).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 80% da população mundial faz uso de plantas na amenização ou cura de doenças (Lima et al. 2010). No Brasil, nos tempos atuais, as plantas medicinais e seus derivados se encontram entre os principais recursos terapêuticos, sobretudo entre as populações de baixa renda, seja na medicina tradicional ou popular, e nos programas implementados pelo SUS (Brasil, 2006).

As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de fármacos, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matérias-primas para a síntese, ou modelos para compostos farmacologicamente ativos (Brasil, 2006).

Segundo a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, “a seleção de espécies vegetais para estudo farmacológico pode ser baseada no seu uso tradicional por sociedades tradicionais, no conteúdo químico e toxicidade, na seleção ao acaso ou pela combinação de vários critérios. Uma das estratégias mais comuns é o estudo da medicina tradicional e/ou popular em diferentes culturas, conhecida como etnofarmacologia” (Brasil, 2006).

Devido a seu extenso território, o Brasil é o país de maior biodiversidade do planeta que, associada a uma rica diversidade étnica e cultural, detém um valioso conhecimento tradicional associado ao uso de plantas medicinais e tem o potencial necessário para desenvolvimento de pesquisas com resultados em tecnologias e terapêuticas apropriadas (Brasil, 2006).

### 3.4- *Myracrodruon urundeuva*

A espécie *M. urundeuva* (Fig.1) é conhecida popularmente como aroeira e pertence à família Anacardiaceae. Segundo Monteiro & Albuquerque (2010), é uma árvore nativa da América do Sul, tendo prevalência na caatinga e cerrado sendo bastante conhecida em diversos estados brasileiros, ocorrendo desde o estado do Ceará até o estado do Paraná. Essa planta atinge até 20 metros de altura, dependendo da região em que se encontra, caracterizando-se por um único tronco reto e cilíndrico (Santin & Leitão, 1991). A planta é explorada como fonte de madeira, combustível e principalmente como remédio. Essas práticas são responsáveis por colocar a planta na categoria de ameaçadas de extinção, devido à exploração predatória (Albuquerque & Andrade, 2002).



Figura 1. Nome científico: *Myracrodruon urundeuva*, nome popular: aroeira. Foto: Julcéia Camillo, 2016.

A aroeira é utilizada largamente por suas propriedades farmacológicas. Sua entrecasca (Fig. 2) possui propriedades anti-inflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes (Viana et al., 1995). As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras (Almeida et al., 2009). A aroeira é uma das plantas mais utilizadas na medicina tradicional nordestina, principalmente

como ação anti-inflamatória e cicatrizante no tratamento de ferimentos, gastrites, úlceras gástricas, cervicites, vaginites e hemorroidas (Lorenzi & Matos, 2005).



Figura 2. Tronco da aroeira do sertão (*M. urundeuva*). Disponível em:  
<[www.arvoresdf.com.br](http://www.arvoresdf.com.br)>

O efeito antimicrobiano do extrato da aroeira talvez seja o mais bem estudado até o presente momento onde diversos trabalhos na literatura têm testado o extrato da aroeira na inibição do crescimento bacteriano. (Machado & Oliveira, 2013). Além disso, outros efeitos e propriedades do extrato da aroeira tem sido testado, como seu efeito antiulcerogênico e protetor da mucosa gástrica (Machado & Oliveira, 2013).

Em estudos anteriores com extratos etanólicos de *M. urundeuva*, indicaram presença de diferentes grupos de metabólitos secundários, entre eles, flavonoides, taninos e terpenos na maioria das espécies (Bessa, 2013), sendo evidenciado também por Araújo (2008) em estudos com espécimes oriundos da caatinga.

### 3.2- Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários ou micromoléculas, são originados a partir do metabolismo primário através de rotas biossintética e enzimas específicas. Em geral, os metabólitos secundários, apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, atividades biológicas marcantes, podendo ser encontrados em baixas concentrações e em grupos de plantas específicos (Simões et al., 2007). São responsáveis por diversos efeitos biológicos para a planta, são essenciais para sua adaptação ao ambiente e aumentam suas chances de sobrevivência, uma vez que diversos desses metabólitos agem em defesa da planta, atuando como antibióticos, antifúngicos e antivirais contra possíveis patógenos e também como atrativos de animais responsáveis pela polinização. Além disso alguns desses metabólitos constituem importantes compostos que protegem a planta contra a luz ultravioleta evitando danos nas folhas (Fumagalli et al, 2008). Os compostos secundários despertam também grande interesse pelas amplas atividades farmacológicas que possuem, e que podem ser usados em diversas patologias (Pereira & Cardoso, 2012).

Segundo Simões et al. (2007), a origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato (Fig. 3). Nessa figura destaca-se a formação dos metabólitos secundários que são objetos deste estudo.

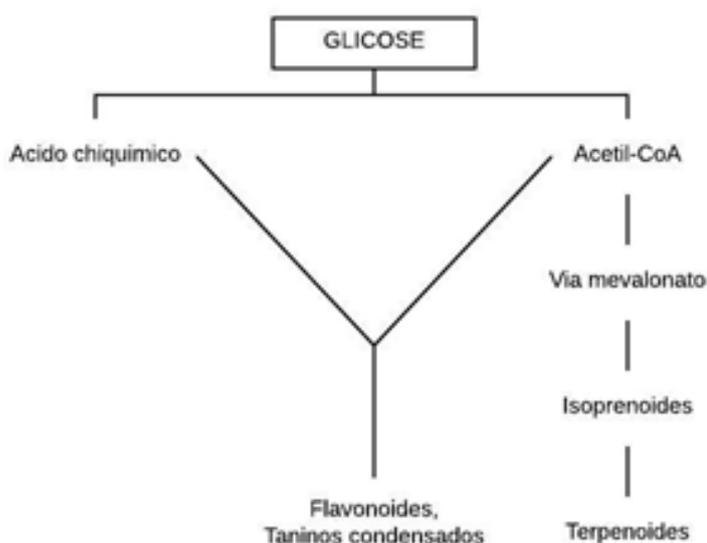


Figura 3. Representação simplificada do ciclo biossintético dos metabólitos secundários terpenoides, flavonoides e taninos condensados. Adaptado de Santos, 2001.

### 3.2.1- Flavonoides

Flavonoides são substâncias provenientes do metabolismo secundário de diversas espécies de plantas. Os flavonoides (Fig. 4) biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides representam uma importante classe dos polifenóis e estão amplamente distribuídos no reino vegetal (Santos & Mello, 2006). São considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários das plantas, ocorrendo amplamente em frutas, folhas, chás e vinhos (Silva et al., 2015). Nas plantas, os flavonoides são responsáveis por diversas funções, como proteção contra fungos, insetos, vírus e bactérias, ação antioxidante, atrativo para insetos e outros animais com a finalização de polinização, além de inibidores de enzimas, entre outros (Santos & Mello).

Mais de 8.000 flavonoides já foram identificados e sua estrutura básica consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Santos & Mello, 2006).

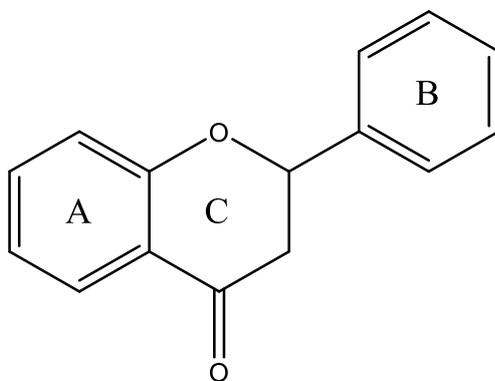
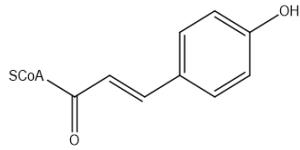


Figura 4. Estrutura básica dos flavonoides (Santos & Mello, 2006)

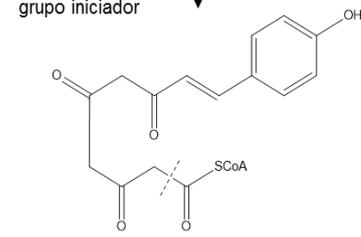
Suas principais classes são as antocianinas, flavanas, flavonas, flavonóis e isoflavonoides (Lazary, 2010). A diversidade estrutural dos flavonoides pode ser explicada devido as modificações que cada uma das classes pode sofrer, como: hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras (Koes et al., 1994). No diagrama abaixo (Fig. 5) se encontra representada sua rota biossintética.



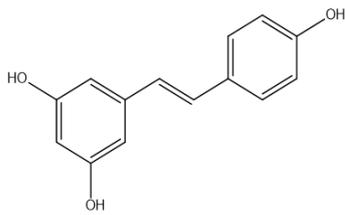
4-Hidroxicinamoil-CoA

Extensão da cadeia;  
Via acetato com um  
cinamoil-CoA como  
grupo iniciador

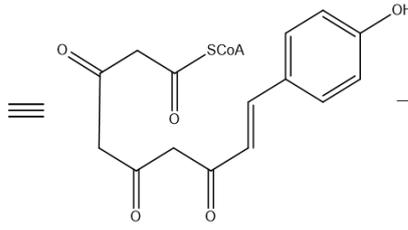
3 x malonil-CoA



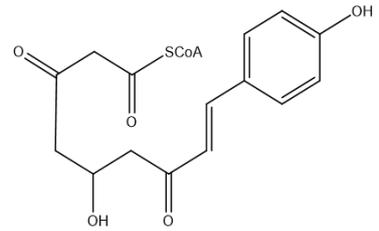
CO<sub>2</sub> ↓ aldol  
(estilbeno sintase)



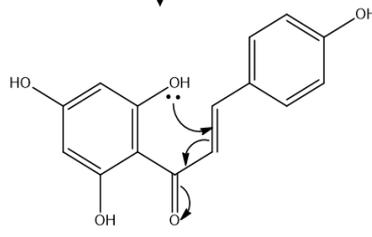
resveratrol  
(estilbeno)



NADPH  
↓  
redutase

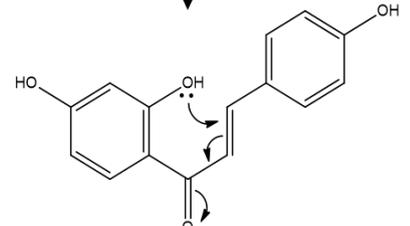


Claisen  
(chalcona sintase)



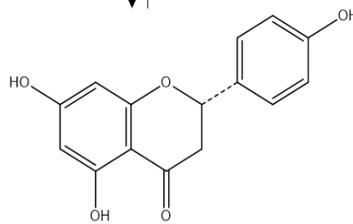
naringenina-chalcona  
(chalcona)

Claisen

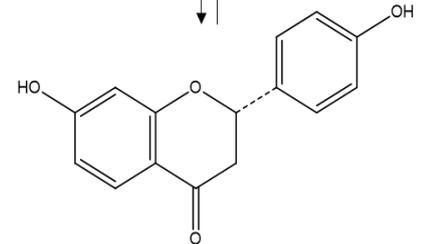


isoliqurritigenina  
(chalcona)

Ataque nucleofílico do  
tipo Michael da OH na  
cetona α,β-insaturada



naringenina  
(flavanona)



liquiritigenina  
(flavanona)

(Continuação)

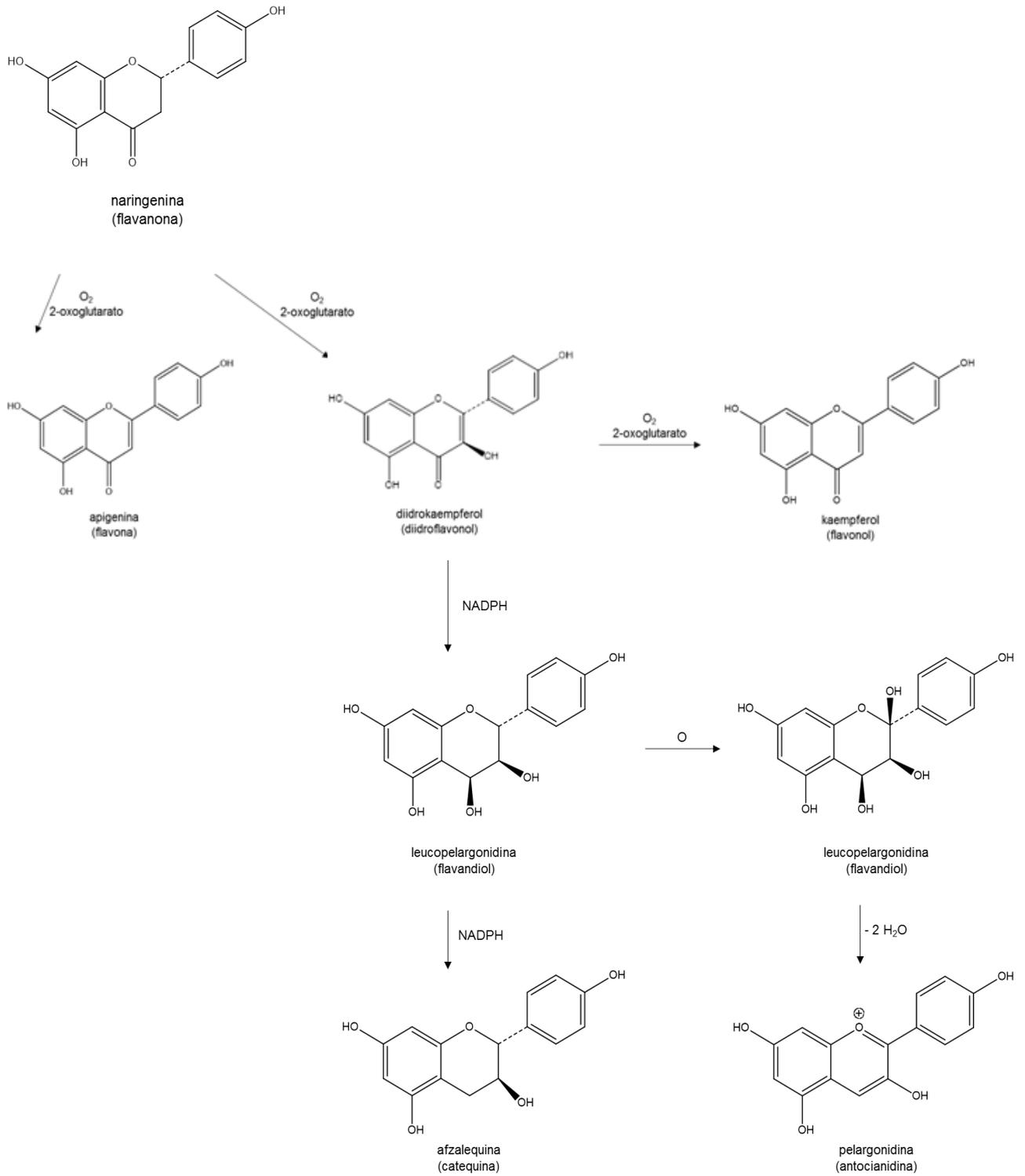


Figura 5. Biossíntese de flavonoides. Adaptada de DEWICK (2009).

Essas classes polifenólicas, desde a década de 80, se destacam por suas propriedades farmacológicas (Silva et al., 2015) como antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória, antiviral entre outros (Santos & Mello, 2006).

Técnicas modernas e sofisticadas para identificação e quantificação de compostos fenólicos foram desenvolvidas, como por exemplo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), fazendo com que os métodos clássicos, como cromatografia em camada delgada (CCD) e eletroforese de papel, sejam utilizadas mais comumente para identificação e acompanhamento rápido de polifenóis em extratos vegetais e em fracionamentos. Sendo assim os flavonoides podem ser separados, quantificados e identificados em uma operação por acoplamento de HPLC a detectores de ultravioleta (UV), massa ou ressonância magnética nuclear (RMN) (Andersen & Markham, 2006).

Devido à presença dos anéis fenílicos, os flavonoides apresentam enorme facilidade para detecção em UV e apresentam duas bandas características (bandas I e II) (Fig. 6). Estudos sobre essa classe de metabólito secundário por espectrometria UV demonstraram que a maioria das flavonas e flavonóis exibem banda I que absorve de 320 a 285nm que representa o anel B, e banda II que absorve de 250 a 285 nm, representando o anel A (Yao et al., 2004).

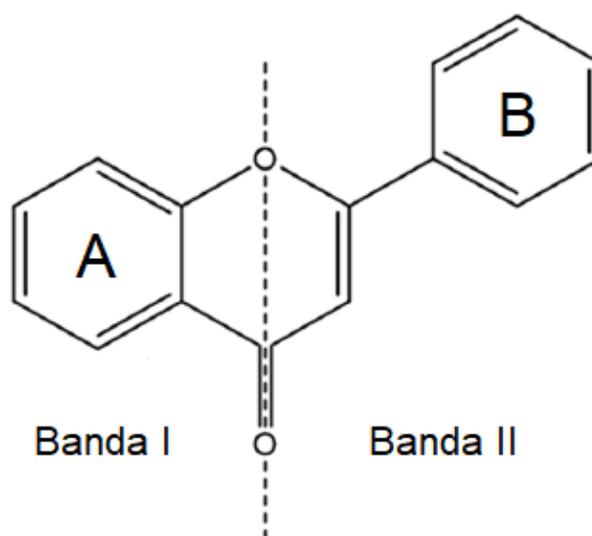


Figura 6. Representação dos anéis e respectivas bandas de absorção no UV em flavonoides. Adaptado de DEWICK (2009).

### 3.2.2- Taninos

Taninos são definidos classicamente como substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e 3000 daltons. Apresenta capacidade de complexar-se com proteínas sendo essa a base para suas atividades farmacológicas, ajudando no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações por formar uma camada protetora sobre o tecido danificado, facilitando o processo natural de cura (Santos & Mello, 2006). Haslam (1989), evidenciou efeito semelhante em casos de úlcera gástrica, onde ocorreu formação de uma camada protetora na mucosa estomacal através do complexo tanino-proteína. Os taninos são classificados em hidrolisáveis e condensados, e sua ocorrência tem padrões diferentes em diversas espécies de plantas (Santos & Mello, 2006). Os taninos hidrolisáveis (Fig. 7) são ésteres de ácido gálico e de ácido hexahidroxidifênico e glicose, além de outros polióis. Os taninos condensados ou procianidinas (Fig. 8) são polímeros de flavonoides, cujos monômeros são unidos por uma ligação carbono-carbono (Costa, 2003).

Os galotaninos e elagitaninos são exemplos de taninos hidrolisáveis e após hidrólise produzem ácido gálico e ácido elágico respectivamente. Os taninos condensados podem conter de duas a cinquenta unidades flavonoides, possuem estrutura complexa e são resistentes à hidrólise, porém podem ser solúveis em solventes orgânicos aquosos, dependendo de sua estrutura (Battestin, 2004).

Diversos estudos já evidenciaram importante ação antibacteriana, sobre protozoários, na reparação de tecidos entre outros, sendo esse efeito dependente da dose e dos diferentes tipos de taninos utilizados (Castejon, 2011).

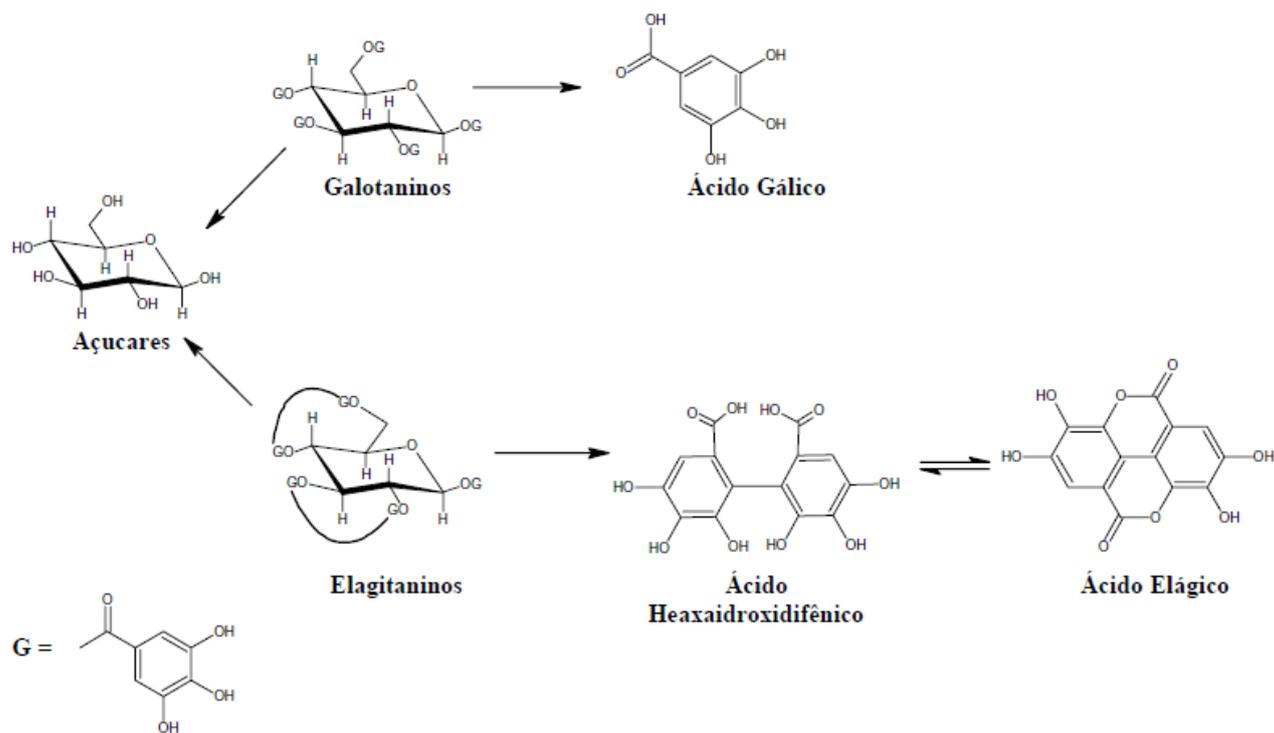


Figura 7. Hidrólise de galotaninos e elagitaninos. (Costa, 2003)

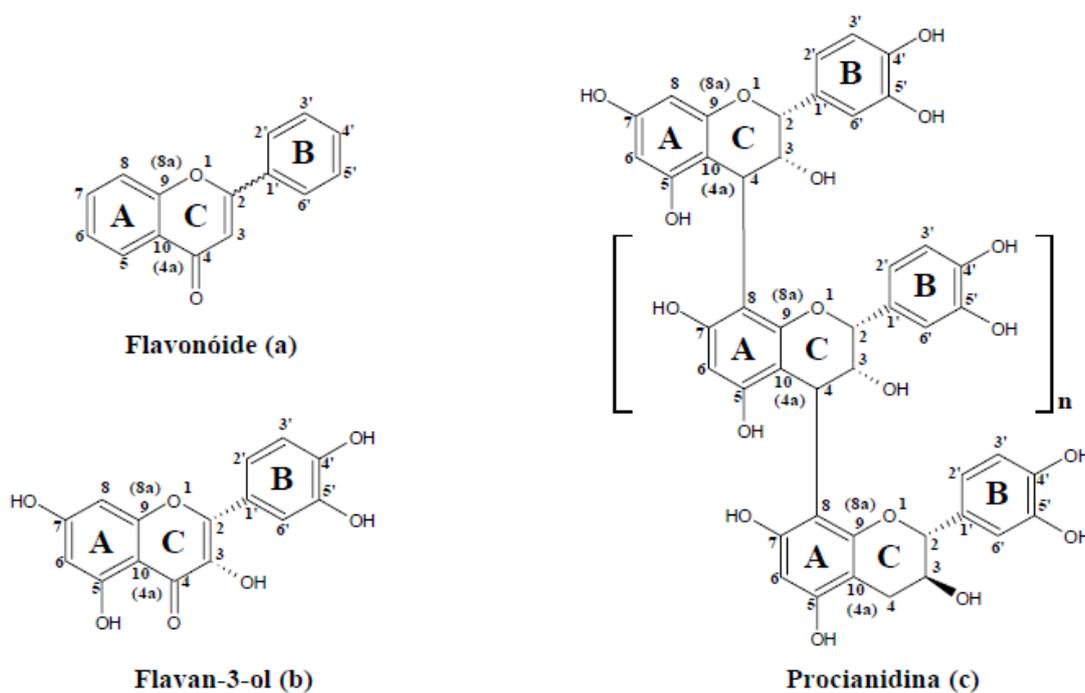


Figura 8. Fórmulas estruturais: a) flavonoide básico. B) flavan-3-ol e c) procianidina (tanino condensado). (Costa, 2003)

### 3.2.3- Terpenos

Os terpenos ou terpenoides constituem um grupo muito grande e estruturalmente diversificado de metabólitos secundários amplamente encontrados no reino vegetal, ocorrendo desde líquens e algas até plantas superiores (Dornelas & Mazzafera, 2006). Bohlmann & Keeling, 2008, sugerem que existam cerca de 40.000 diferentes tipos de terpenoides na natureza. O termo “terpenoide” é usado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno. Os terpenos são classificados quanto ao número de carbonos presentes na estrutura e quanto ao número de unidades isoprênicas (tabela 1), onde os menores terpenos contém 5 carbonos em seu esqueleto e apenas uma unidade isoprênica são denominados hemiterpenos (Nascimento, 2016).

**Tabela 1:** classificação dos terpenos (Santos & Mello, 2006).

Nº DE UNID.	Nº DE ÁTOMOS DE CARBONO	NOME OU CLASSE
1	5	isopreno
2	10	monoterpenoides
3	15	sesquiterpenoides
4	20	diterpenoides
5	25	sesterpenos
6	30	triterpenoides
8	40	tetraterpenoides
n	n	polisoprenoides

Os terpenos são comumente associados aos óleos essenciais, uma vez que a maioria dos óleos voláteis são constituídos principalmente por terpenos, a destacar-se monoterpenos (cerca de 90% dos óleos essenciais) e sesquiterpenos (Santos & Mello, 2006). Dentre as funções biológicas atribuídas aos terpenos, destacam-se a biossíntese de hormônios, proteção contra raios UV, proteção térmica, atrativo para polinizadores, estabilização de membrana e proteção contra predadores (Dornelas & Mazzafera, 2006).

Devido à suas características químicas, os terpenos são amplamente utilizados nas indústrias de alimentos, cosméticos e indústria farmacêutica que além de sua utilização como aromatizante em medicamentos de uso oral, são também utilizados em função de suas propriedades terapêuticas (Santos & Mello, 2006). Cowan (1999), evidenciou em seus estudos uma ampla ação terapêutica atribuída a diferentes tipos de terpenos, abrangendo as principais classes de antimicrobianos. O tricolorabdal A, um diterpeno, extraído da *Rabdosia trichocarpa*, mostrou uma forte atividade antibacteriana *in vitro* contra *Helicobacter pylori* (Kadota et al., 1997). Em um outro estudo, Ayafor et al (1994) isolou da semente de *Aframomum daniellii*, um típico tempero camaronês, o diterpeno afromodial que apresentou atividade antifúngica de amplo espectro. Artemisina e seu derivado  $\alpha$ -arteether, conhecido como ginghamosu, é um sesquiterpeno utilizado no tratamento de malária (Vishwakarma, 1990). O ácido betulínico triterpenoide demonstrou inibir o vírus do HIV. O mecanismo de ação dos terpenos não é bem elucidado, porém acredita-se que envolve a ruptura das membranas pelos compostos lipofílicos (Cowan, 1999).

### 3.3- Análise fitoquímica

Para se identificar e isolar os metabólitos secundários presentes nas espécies vegetais, tal como na aroeira, é necessária uma análise fitoquímica da droga vegetal. Segundo Simões et al. (2008), a análise fitoquímica é importante principalmente quando ainda não são dispostos todos os estudos químicos com espécies de interesse popular, tendo como principal objetivo conhecer os compostos químicos e avaliar sua presença nas espécies vegetais identificando grupos de metabólitos secundários relevantes (Santos & Mello, 2006).

A triagem fitoquímica é um procedimento importante para bioprospecção das espécies vegetais de interesse farmacológico e/ou toxicológico. A composição química de um extrato pode ser conhecida através de testes químicos qualitativos rápidos e de baixo custo, sugerindo as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse (Mattos, 1997).

Devido à importância farmacológica dos taninos, flavonoides e terpenos, a análise desses metabólitos tem chamado a atenção, de onde surge a importância e

necessidade de estudos de otimização dos métodos de preparo de materiais vegetais com o objetivo de diminuir erros. É inconveniente a análise de tecidos frescos, tornando-se indispensável a secagem do material, de preferência em temperatura ambiente, uma vez que temperaturas elevadas podem diminuir a concentração desses compostos (Santos & Mello, 2006). Para a extração desses compostos, deve-se atentar à seleção do solvente adequado, outro fator de suma importância, afim de preservar as concentrações dos compostos de interesse. Técnicas clássicas de separação de constituintes fenólicos de extratos vegetais podem incluir cromatografia em camada delgada, cromatografia em coluna, e técnicas mais sofisticadas incluem a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Santos & Mello, 2006).

## 6- METODOLOGIA

### 6.1- Coleta

Para realização da análise fitoquímica no presente estudo, foi utilizada matéria-prima vegetal proveniente do entre casca de aroeira (*M. urundeuva*), previamente coletada, secada em temperatura controlada (40°C) e triturada em moinho de facas.

A matéria prima foi coletada pelo professor Dr. Geraldo Célio Brandão, em janeiro de 2017, no distrito de Fechados (latitude: -18.8167; longitude: -43.8667), pertencente ao município de Santana do Pirapama, localizado no Estado de Minas Gerais.

A exsicata do material vegetal foi depositada no herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, sob número de identificação BHCB 48733.

### 6.2- Extração

A amostra foi submetida a três diferentes métodos de extração com o objetivo de separar componentes com diferentes graus de polaridades.

#### 6.2.1- Extrato etanólico bruto

Para a obtenção do extrato etanólico bruto, 1500g de droga vegetal foram pesados e transferidos para um percolador previamente preparado com algodão e areia afim de se filtrar a solução extratora. Posteriormente foi adicionado quantidade suficiente de etanol (Emfal<sup>®</sup>), aproximadamente 2.000 mL, cobrindo toda a droga vegetal, a fim de se extrair substâncias de várias polaridades. A abertura superior do percolador foi tampada e a solução extratora ficou em repouso por dois dias para que o solvente penetrasse de forma homogênea por toda a droga vegetal potencializando seu efeito. Logo após, o líquido foi recolhido através de uma torneira com velocidade de gotejamento constante (15- 30 gotas/minuto) (Fig. 9).



Figura 9. Processo de percolação em etanol da casca de *M. urundeuva*.

O percolado foi transferido para um balão de fundo redondo e levado ao rotaevaporador (IKA™ RV 10 Control V Auto Rotary) com temperatura média de 40°C, rotação de 50 rpm e baixa pressão, afim de se recuperar o solvente presente na solução. O solvente recuperado foi novamente transferido para o percolador e acrescentado juntamente com solvente novo, totalizando no final do processo aproximadamente 4.000mL. A extração foi realizada em intervalos de dois em dois dias até que o percolado apresentasse coloração fraca, indicando assim o esgotamento da droga vegetal para essa extração.

O extrato recolhido com a evaporação do solvente, foi transferido para um recipiente de vidro previamente pesado e levado à estufa com temperatura controlada, 40°C, a fim de se eliminar completamente o solvente. Recolheu-se uma pequena fração do extrato para técnicas cromatográficas e análise em UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) acoplado com espectrômetro de massas.

### 6.3.2- Extrato aquoso bruto

A obtenção do extrato aquoso foi através de ultrassom (Mini-son-THORNTON. Especeletrônica S.A.), extraindo da droga vegetal componentes com alta polaridade. Vinte e cinco gramas da droga vegetal foram pesados em balança (KERN 440-53) e transferidos para um erlenmeyer de 250mL. Foram realizados quatro ciclos de 60 minutos. No primeiro ciclo, foi acrescentado ao erlenmeyer 100mL de água destilada, quantidade suficiente para cobrir toda a amostra. O recipiente com a droga vegetal umedecida foi levado ao ultrassom. Nos ciclos posteriores, foram adicionados mais 25mL de água destilada. Após cada ciclo a solução foi filtrada, e armazenada em um erlenmeyer de 250mL. Ao final do último ciclo, alíquotas de 35mL foram transferidas para tubos falcons com capacidade de 50mL e acondicionadas em geladeira até sua liofilização. As amostras foram liofilizadas em liofilizador (Mirtis-BtK4XL<sup>®</sup>), o extrato liofilizado foi armazenado em um eppendorf para posterior análise em UPLC-MSMS.

### 6.3.3- Extração sequencial

Cerca de 50 gramas do extrato etanólico bruto foram transferidos para aparelho de Soxhlet recém preparado com cartucho de papel de filtro (Fig. 10). Utilizou-se três solventes diferentes em ordem crescente de polaridade. O primeiro solvente utilizado foi o hexano (Synth<sup>®</sup>) afim de se extrair constituintes apolares, o segundo solvente foi o acetato de etila (Neon) para extrair compostos de polaridade intermediária e, por último, utilizou-se metanol (Vetec<sup>®</sup>) afim de se extrair substâncias mais polares. Para cada extração, utilizou-se 600mL do respectivo solvente. As frações recolhidas foram levadas à um rotaevaporador com temperatura média de 40°C, rotação de 50 rpm e baixa pressão. Os extratos foram transferidos para vidro de penicilina previamente pesados e tampados com papel alumínio perfurado para completa evaporação do solvente.



Figura 10. Fracionamento do extrato etanólico bruto da casca de *M. urundeuva* em aparato de Soxhlet.

#### 6.4- Perfil cromatográfico

A cada extração, foram realizadas cromatografias em camada delgada comparativas, de fase normal, a fim de se identificar a presença de flavonoides e terpenos. As placas cromatográficas foram preparadas com sílica gel (Vetec®) como fase estacionária. As condições cromatográficas, para o extrato bruto etanólico e aquoso, estão descritas na tabela 2. Na identificação de flavonoides nos extratos brutos, foi pesquisada a presença de heterosídeos e geninas.

**Tabela 2-** Condições cromatográficas para os extratos brutos.

	Flavonoides	Terpenos
F. E.	Sílica gel (fase normal)	Sílica gel (fase normal)
F. M.	Heterosídeos: AcOEt: Ac. fórmico: Ac. acético: H <sub>2</sub> O (10:1,1:1,1:2,7) Genina: CHCl <sub>3</sub> : AcOEt (6:4)	AcOEt: Hexano (4:2)
Padrão	Heterosídeos: Rutina Genina: Quercetina	Ac. oleanólico β- citosterol
Revelador	NP/PEG	Liebermann-Buncharad Anisaldeído

Nas frações hexano, acetato de etila e metanol, tanto para flavonoides quanto para terpenos, foram usadas sílica gel como fase estacionária e hexano: acetato de etila (4:2) como fase móvel. Os reveladores utilizados foram NP/PEG, seguido de visualização no UV para flavonoides e anisaldeído sulfúrico seguido de aquecimento a 100°C por 5 minutos.

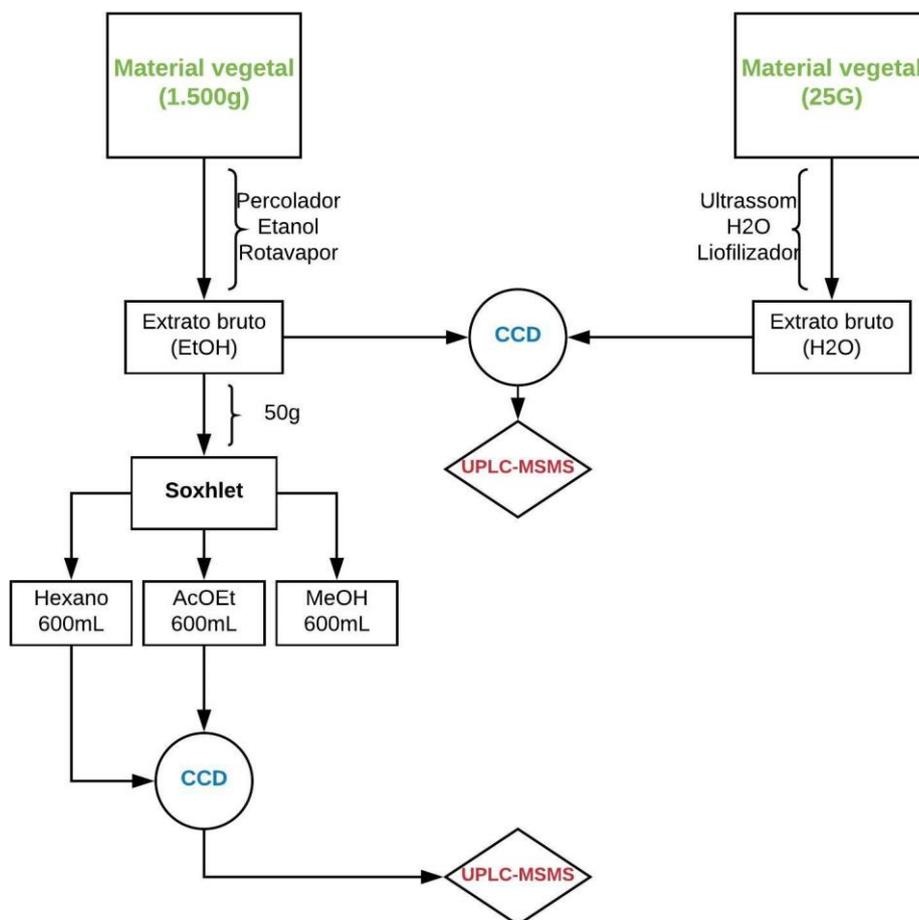


Figura 11. Fluxograma da metodologia de estudos fitoquímicos dos extratos aquoso e etanólico e frações casca de *M. urundeuva*.

## 6.5- Caracterização e identificação

Para identificação e purificação dos compostos, uma alíquota de cada extrato foi filtrada em seringa acoplada a um filtro de 0,21µm e solubilizado em metanol grau HPLC. A análise do extrato etanólico bruto e das frações hexânica e acetato de etila foram realizadas utilizando um cromatógrafo líquido UPLC Acquity Waters® acoplado

com espectrômetro de massas de captura de elétrons e ionizador químico à pressão atmosférica (APCI). A separação cromatográfica foi feita em coluna Acquity UPLC® BEH (1,7µm, 50x2 mm d.i.) (Waters®). A fase móvel utilizada foi composta de água:ácido fórmico 0,1% (solvente A) e acetonitrila:ácido fórmico 0,1% (solvente B), com protocolo de eluição 0-11 minutos em gradiente linear de 5-95% B. O fluxo foi 0,3 mL/min., e o volume de injeção da amostra de 4,0µL. Registrou-se o espectro de UV de 190-450 nm.

As análises em espectrometria de massas foram realizadas com equipamento operando nas seguintes condições: modos positivo e negativo; voltagem do capilar, 3500 V; temperatura do capilar, 320 °C; voltagem da fonte, 5 kV; temperatura do nebulizador 320 °C; corrente elétrica, 5 mA e gás de arraste nitrogênio, com pressão de 27 psi. As análises foram realizadas no modo *full scan* (100-2000 u). As análises ESI MS/MS foram feitas em um UPLC Acquity Waters®, com hélio como gás de colisão, com energia de colisão de 30 eV. A análise em espectrômetro de massas foi feita em um analisador quadrupolo acoplado com uma fonte de *eletronspray* no modo negativo. Voltagem do íon spray: -4 kV e voltagem da fenda -60 V.

## 7- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1- Perfil cromatográfico

As frações foram submetidas à cromatografia em camada delgada afim de identificar os compostos presentes em cada fração. No extrato bruto etanólico, esperava-se encontrar compostos com amplos espectros de polaridade. Sendo assim, nessa fração foi verificada a presença de flavonoides e terpenos. A presença de heterosídeos foi confirmada através do aparecimento de fluorescência característica de flavonoides no extrato etanólico bruto após revelação com NP/PEG e visualizadas sob luz UV (Fig. 12 e Fig. 13). Sendo assim confirmou-se a presença de flavonoides nesse extrato.

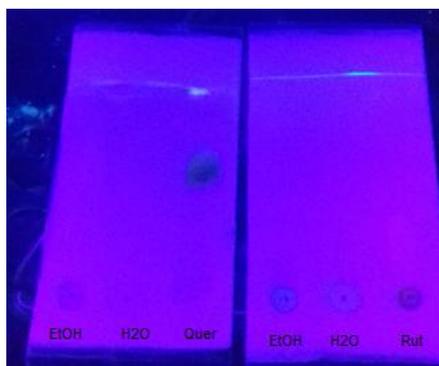


Figura 12. Cromatoplaça do extrato aquoso bruto e extrato etanólico bruto de casca de *M. urundeuva*. EtOH- extrato bruto etanólico; H2O- extrato bruto aquoso; Quer- quercetina; Rut- rutina. Revelador: NP/PEG.

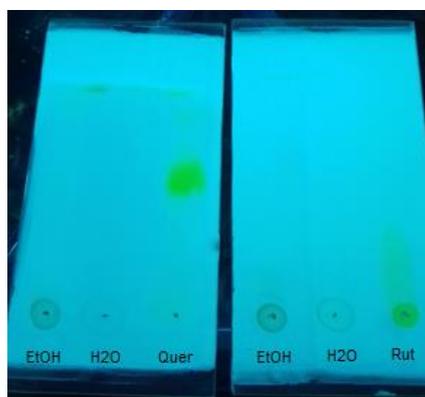


Figura 13. Cromatoplaça do extrato aquoso bruto e extrato etanólico bruto de casca de *M. urundeuva*. EtOH- extrato bruto etanólico; H2O- extrato bruto aquoso; Quer- quercetina; Rut- rutina. Revelador: NP/PEG.

A presença de terpenos no extrato bruto etanólico foi confirmada através do surgimento de manchas características no visível após revelação com Liebermann-Burchard e anisaldeído para amostras de referências, ácido oleanólico e  $\beta$ -citosterol, respectivamente (Fig. 14 e Fig. 15).

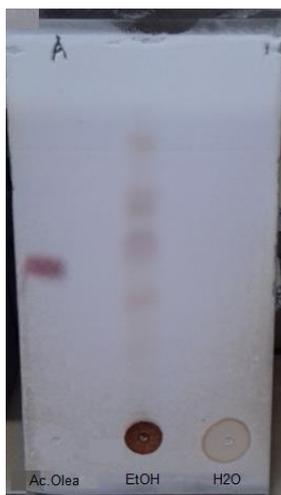


Figura 14. Cromatoplaça do extrato aquoso bruto e extrato etanólico bruto de casca de *M. urundeuva*. EtOH- extrato bruto etanólico; H2O- extrato bruto aquoso; Ac.Olea- ácido oleanólico. Revelador: Liebermann- Burchard.



Figura 15. Cromatoplaça do extrato aquoso bruto e extrato etanólico bruto de casca de *M. urundeuva*. EtOH- extrato bruto etanólico; H2O- extrato bruto aquoso; b-cito- b-citosterol. Revelador: anisaldeído.

Após a detecção dos metabólitos secundários de interesse presentes em maior quantidade no extrato etanólico bruto, o mesmo foi fracionado. O primeiro solvente utilizado foi o hexano, onde identificou-se a presença de terpenos (Fig. 16) uma vez que essas substâncias possuem baixa polaridade, tal como o solvente utilizado. O segundo solvente foi o acetato de etila, onde foi possível a identificação de flavonoides, conforme demonstrado na figura 17, que mostra o aparecimento de manchas roxas após revelado com anisaldeído (terpenos) e NP/PEG (flavonoides).



Figura 16. Cromatoplaça das frações hexânica e acetato etilênica da de casca de *M. urundeuva*. Hex- fração hexanica; AcOEt- Fração acetato de etilênica. Revelador: anisaldeído. Aquecimento 100°C, 5 minutos

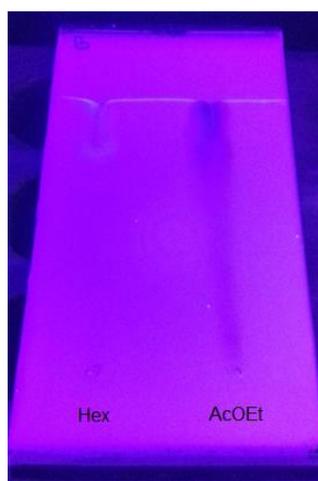


Figura 17. Cromatoplaça das frações hexânica e acetato etilênica da casca de *M. urundeuva*. Hex- fração hexanica; AcOEt- Fração acetato de etila. Revelador: NP/PEG. UV.

## 7.2- Caracterização

A etapa de identificação dos compostos se iniciou após a obtenção de amostras enriquecidas através das metodologias já descritas. A identificação dos metabólitos secundários foi realizada utilizando UPLC-MSMS.

### 7.2.1- Flavonoides

A caracterização da fração acetato etilênica mostrou a presença de 3 chalconas (chalcona A, chalcona B, chalcona C) com razão massa/carga ( $m/z$ ) 525, 523 e 541 respectivamente, obtidos em modo negativo. O espectro de ultravioleta de flavonoides apresenta duas bandas de maior absorção de 240 a 400nm, sendo a banda I (304 a 350nm) e a banda II (240 a 280nm) (Andersen & Markham, 2005).

Na tabela abaixo se encontra as bandas características, além da razão massa/carga e o tempo de retenção de cada uma das chalconas identificadas nessa fração (tabela 3):

**Tabela 3.** Bandas de UV característicos das chalconas isoladas do extrato acetato etilênico da casca de *M. urundeuva*.

Pico	Composto	$m/z$ MS <sup>-</sup>	TR (min.)	Bandas UV (nm)
1	Chalcona A	525	4,49	286/ 330
2	Chalcona B	523	4,45	283/ 321
3	Chalcona C	541	3,98	281/ 322

No perfil cromatográfico abaixo (Fig. 18) podemos observar picos com tempos de retenção de 3,98, 4,45 e 4,49 min., que apresentaram bandas características de flavonoides no UV.

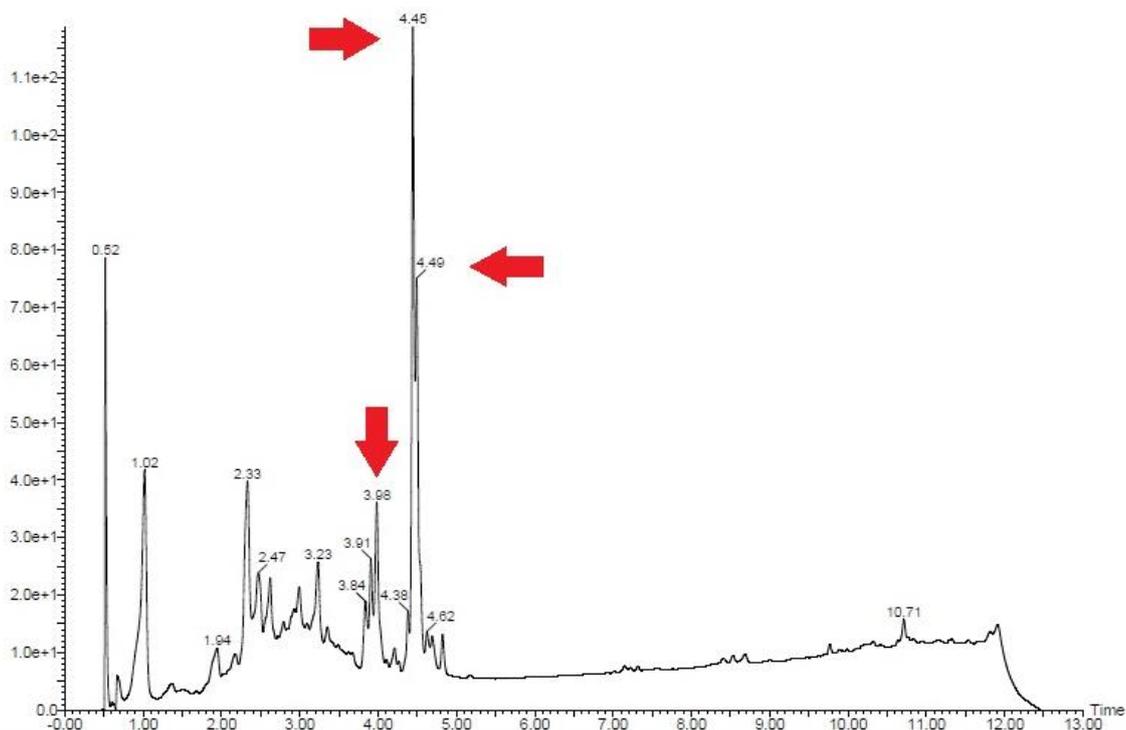


Figura 18. Perfil cromatográfico do extrato acetato etilênico obtido por UV- DAD da casca de *M. urundeuva*.

O primeiro composto analisado foi o de maior tempo de retenção (4,49), que apresentou no espectro de massa modo negativo, a espécie desprotonada e  $m/z$  525 Da. Três outros isômeros de mesma razão massa/carga foram detectados no extrato desta espécie vegetal. As análises de  $MS^2$  permitiram sugerir tratar-se de uma chalcona dimérica (Fig. 19). Este achado corrobora com o estudo de Bandeira et al. (2003), onde foi isolado pela primeira vez a urundeuquina A, chalcona dimérica.

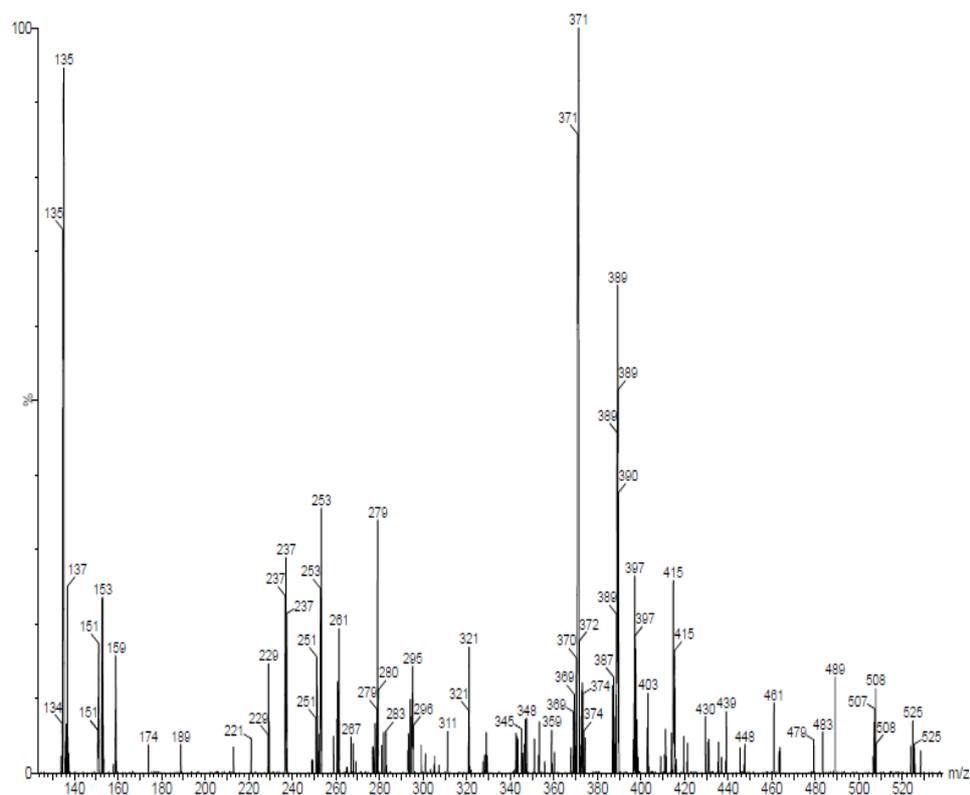


Figura 19. Espectro de massas da chalcona A, presente na fração acetato etilênica da casca de *M. urundeuva*.

A proposta de fragmentação para essa substância encontra-se abaixo (Fig. 20).

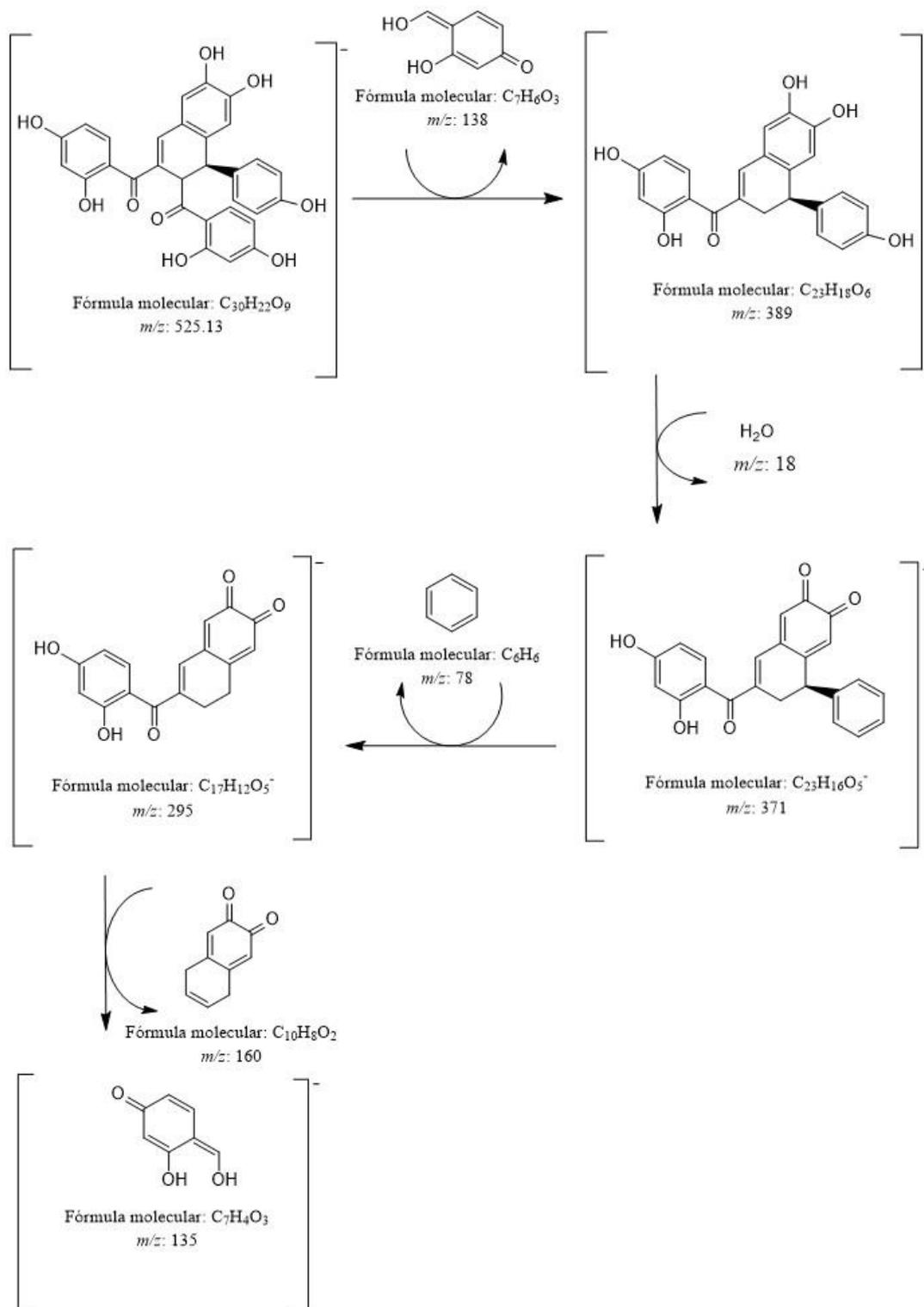


Figura 20. Proposta de fragmentação da chalcona A, presente na fração acetato etilênica da casca de *M. urundeuva*.

O segundo composto analisado foi o de tempo de retenção 4,45 min. e  $m/z$  523 Da no modo negativo. As análises CLAE-MS permitiram identificar a presença de dois isômeros com essa razão massa/carga nos tempos de retenção 3,93, 4,09 e 4,55 min.

A urundevina B isolada por Bandeira e colaboradores (2003), apresenta essa mesma massa molar, sugerindo que um dos isômeros presente na fração em aceto de etila poderia ser a urundevina B. O espectro de massas de segunda ordem para o isômero com tempo de retenção 4,55 min. esta apresentado na figura 21.

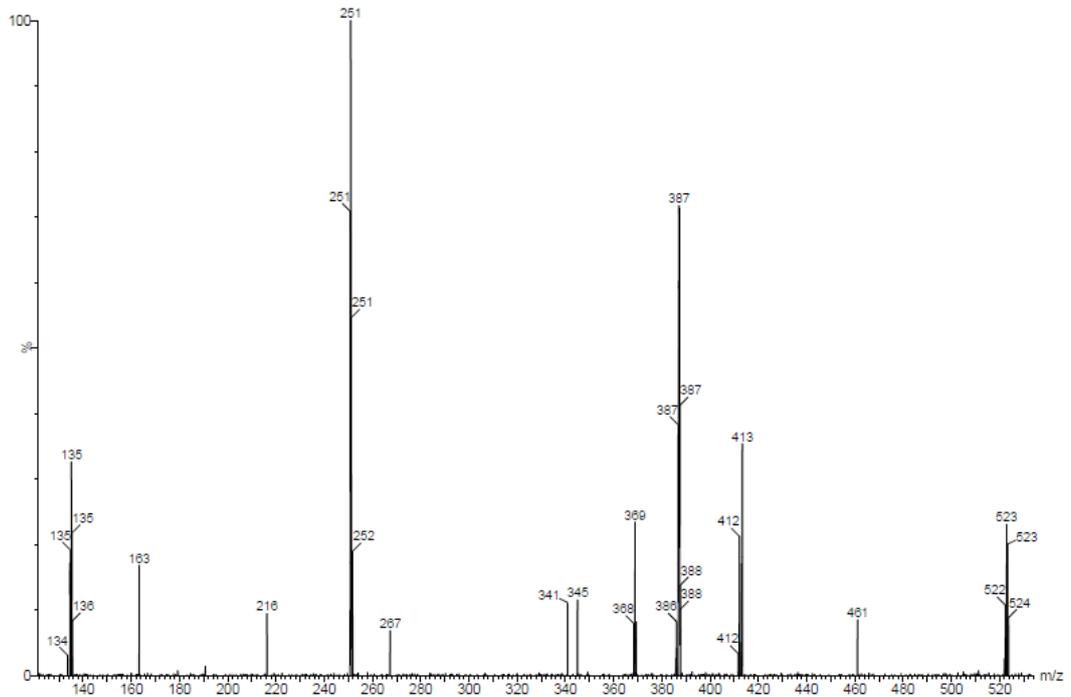


Figura 21. Espectro de massas da chalcona B presente na fração acetato etilênica da casca de *M. urundeuva*.

A proposta de fragmentação para essa substância encontra-se abaixo (Fig. 22).

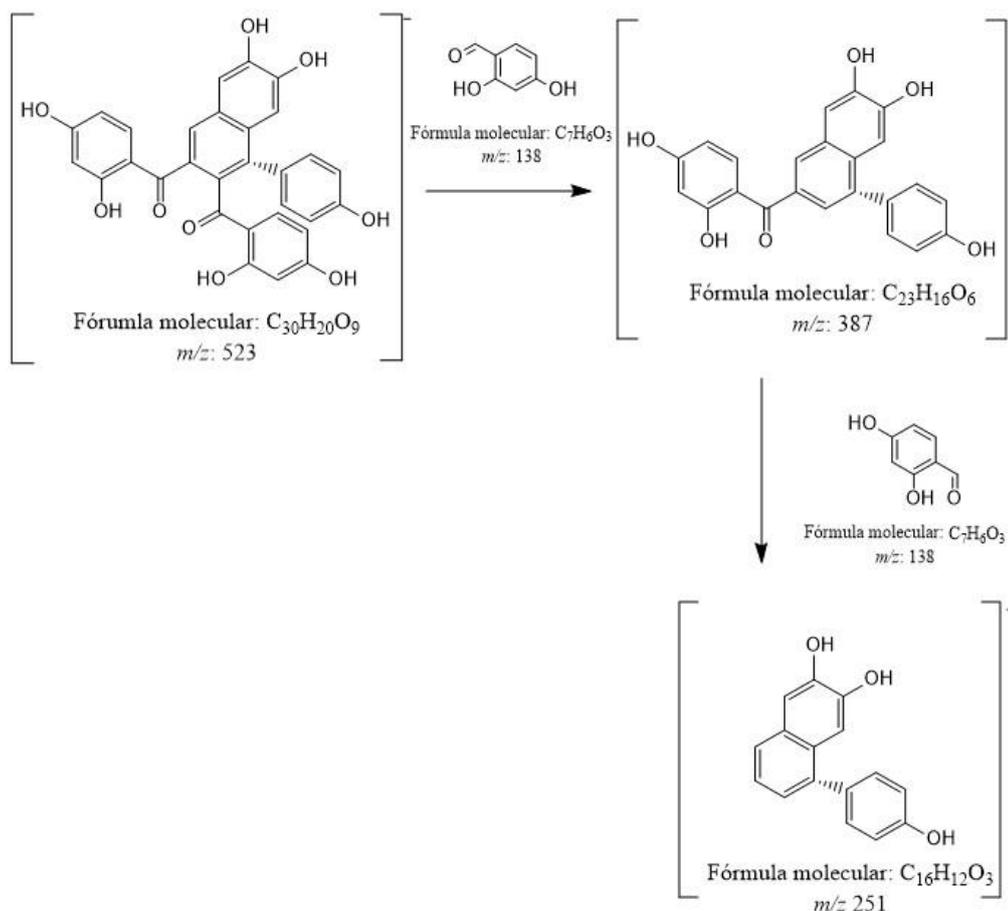


Figura 22. Proposta de fragmentação da chalcona B, presente na fração acetato etilênica da casca de *M. urundeuva*.

O terceiro composto analisado foi o de menor tempo de retenção 3,98 min. e  $m/z$  541 Da no modo negativo. Foram encontrados 2 isômeros, entretanto não foi realizada a sua fragmentação. Dessa forma é possível inferir sua presença baseada na massa encontrada no modo negativo, estando de acordo com o estudo de Bandeira et al. (2003). Sendo essa substância a urundevina C.

A partir dos dados encontrados e com o respaldo da literatura, é possível sugerir que as chalconas encontradas nesse estudo, são as mesmas encontradas anteriormente no estudo de Bandeira e colaboradores (2003), se tratando da urundevina A (chalcona A), urundevina B (chalcona B) e urundevina C (chalcona C). (Fig. 23)

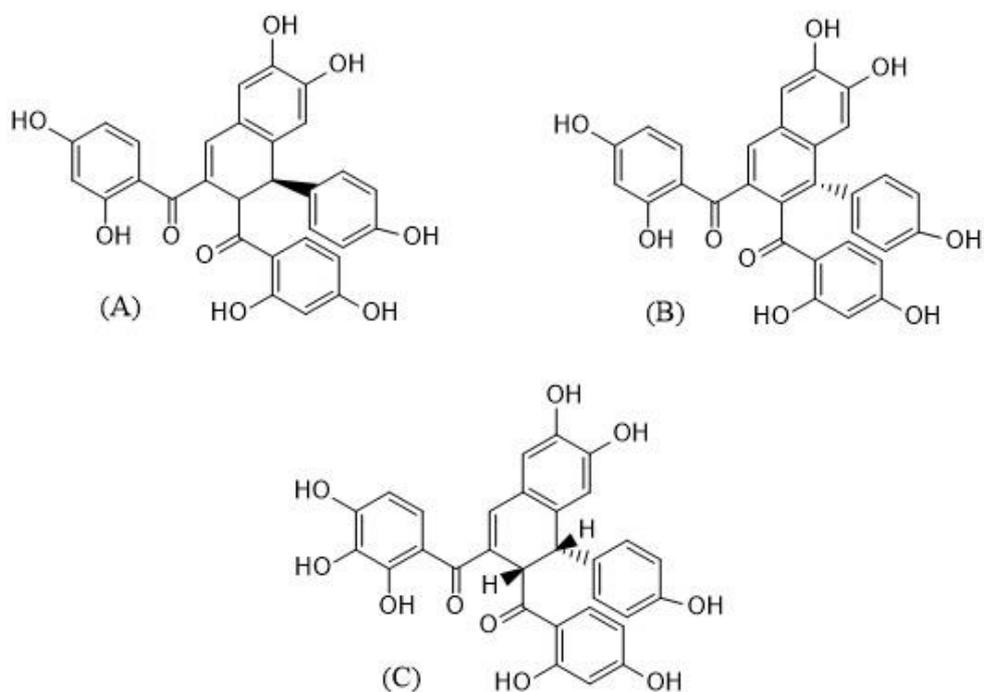


Figura 23. Estrutura das Chalconas identificadas na fração acetato etilênica da casca de *M. urundeuva*. A) *urundevina A*; B) *urundevina B*; C) *urundevina C*.

### 7.2.2- Taninos

Na análise do extrato etanólico bruto foi possível detectar a presença de alguns taninos, sobretudo um tanino hidrolisável (tanino A), escolhido para a caracterização. O tanino A foi inicialmente caracterizado de acordo com o seu espectro de UV. Abaixo está representado o cromatograma deste extrato (Fig. 24). Essa substância apresentou tempo de retenção em 3,27 min.

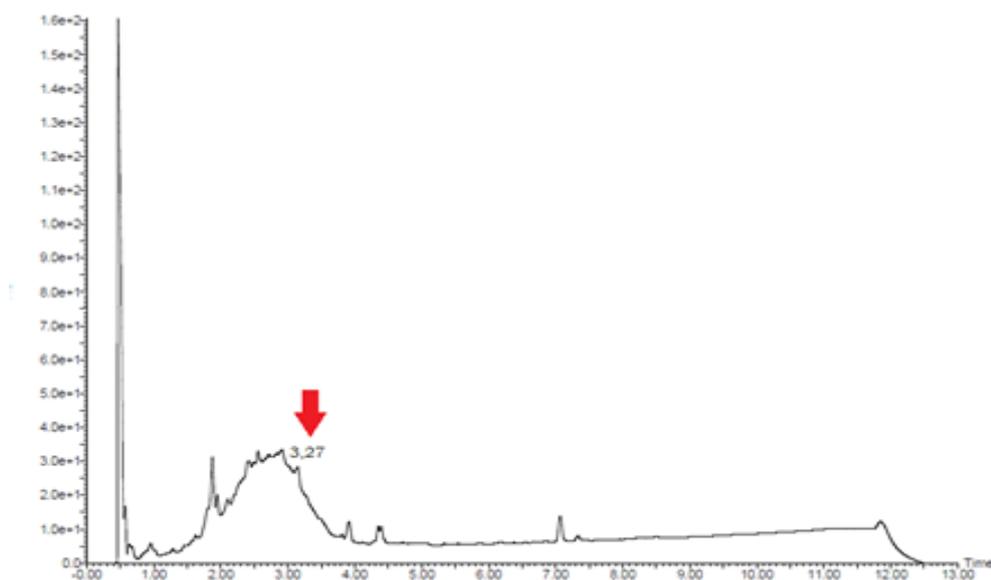


Figura 24. Cromatograma do extrato etanólico bruto da casca de *M. urundeuva*.

O espectro de UV da substância analisada, apresenta banda característica de taninos em 278 nm (Fig. 25). Verza et al. (2007), descreve a banda característica de taninos hidrolisáveis em torno de 280 nm devido a presença de ácido gálico.

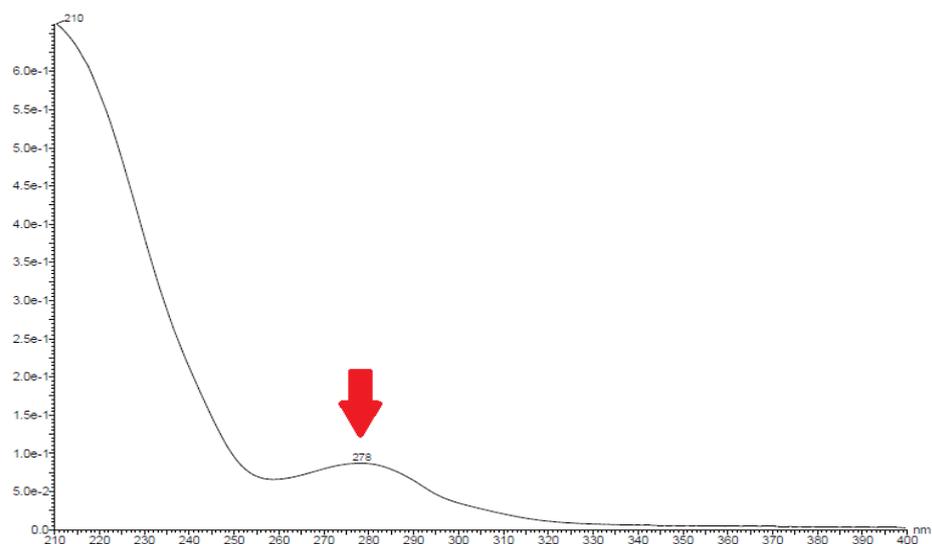


Figura 25. Banda característica dos taninos presentes no extrato etanólico bruto da casca de *M. urundeuva* no UV.

O tanino analisado apresentou razão massa/carga igual a 619 no modo negativo. Foram encontrados 3 isômeros presentes na planta (Fig. 26).

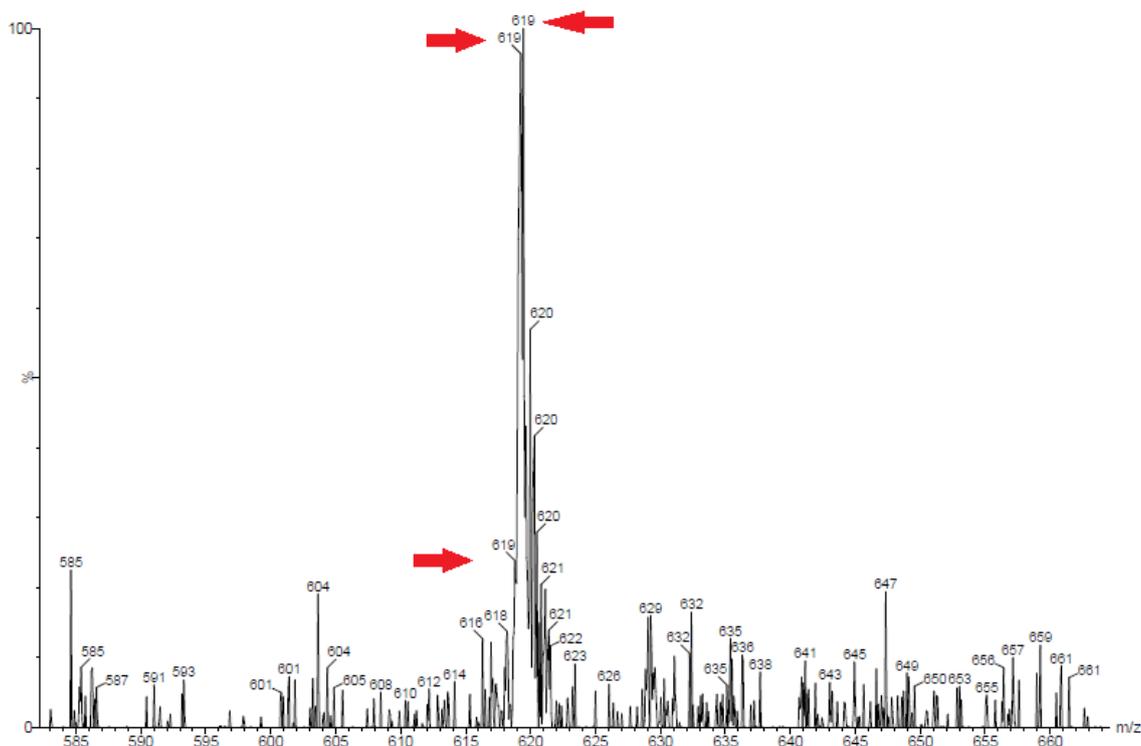


Figura 26. Isômeros do tanino A presente no extrato etanólico bruto da casca de *M. urundeuva*, no modo negativo.

O espectro de massas (Fig. 27) dessa substância permite sugerir ser um galotanino com três ácidos gálicos esterificando uma molécula de glucitol. Sendo demonstrado através do aparecimento de picos característicos da perda de cada unidade de ácido gálico da molécula. A análise foi feita no modo negativo, e sua  $m/z$  foi 619, conclui-se assim que a massa dessa molécula é 620 g/mol.

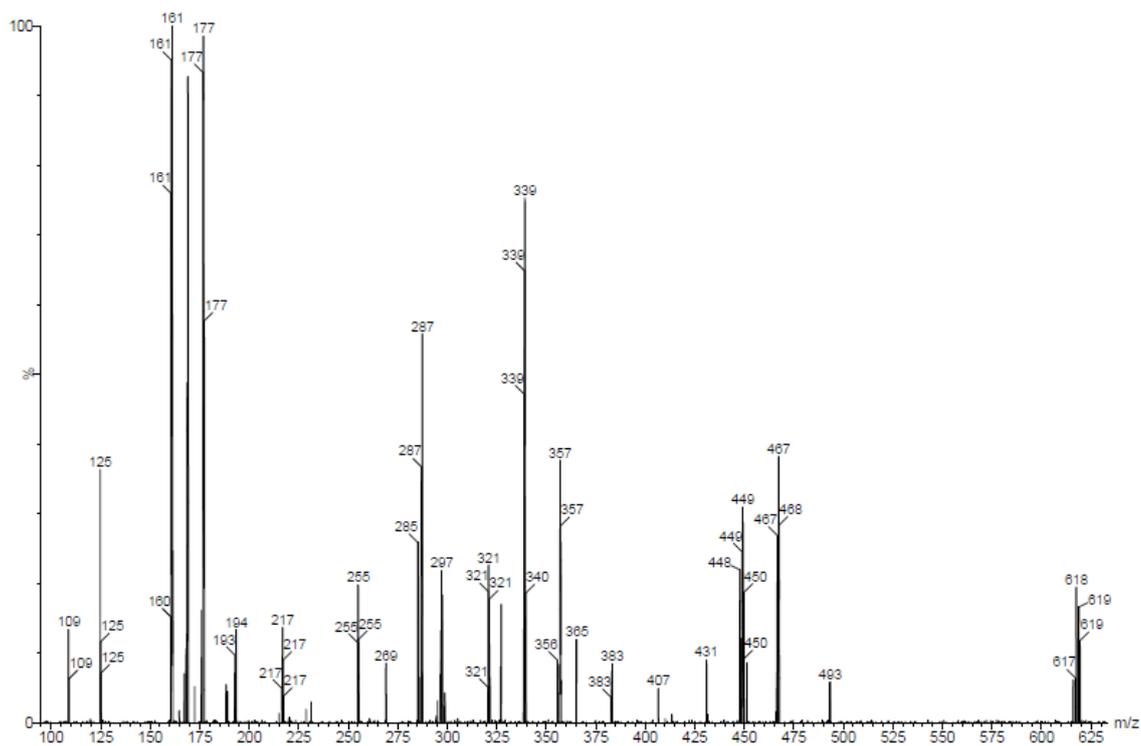


Figura 27. Espectro de massas do tanino A, presente no extrato etanólico bruto da casca de *M. urundeuva*.

A proposta de fragmentação dessa substância encontra-se abaixo (Fig. 28).

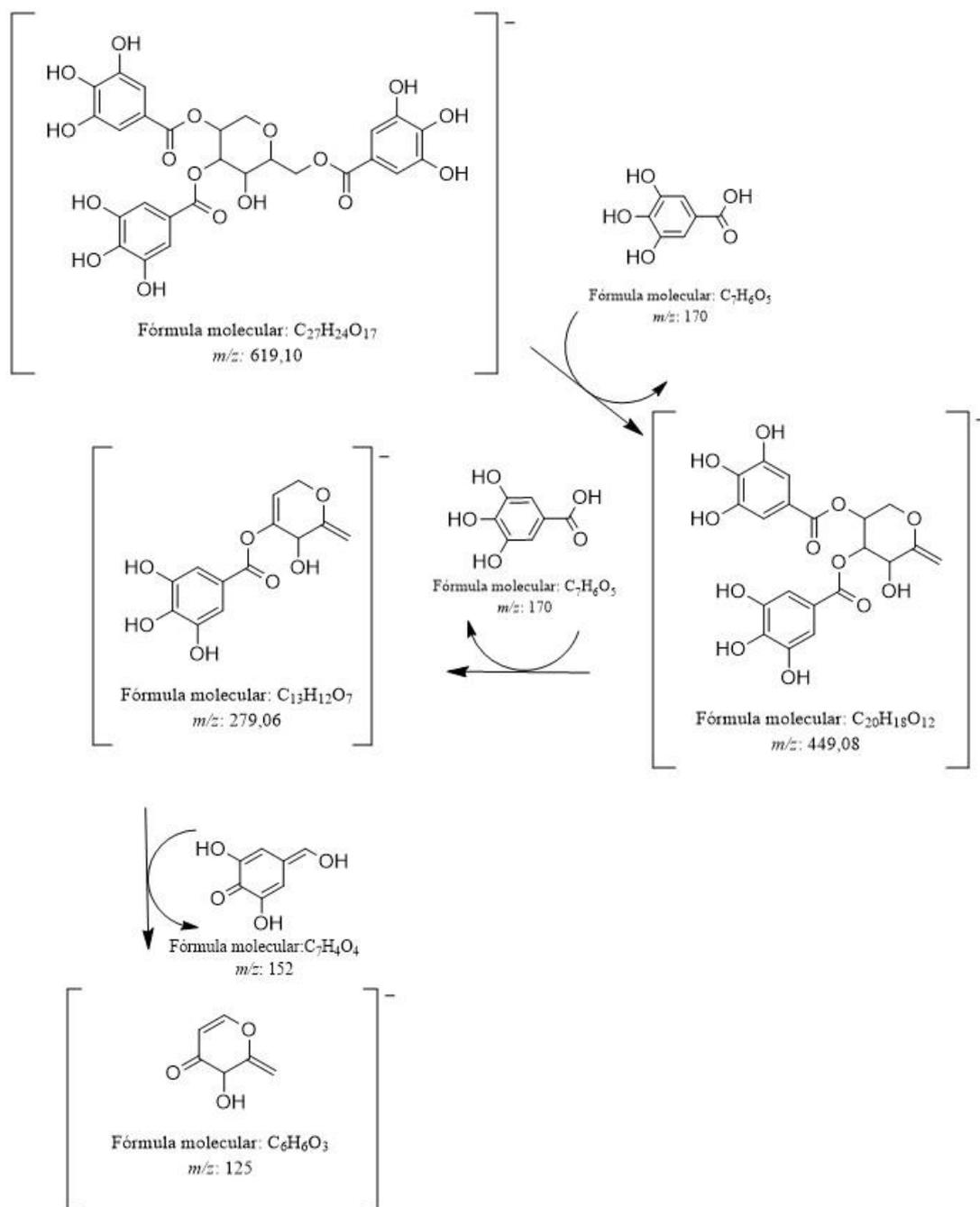


Figura 28. Proposta de fragmentação do tanino A, onde o pico  $m/z$  279 não aparece no espectro por se tratar de um composto instável.

A partir dos dados obtidos pode-se sugerir que a substância analisada se trata do tri-*O*-galoil-1,5-anidro-glucitol, embora esse tanino não tenha sido estudado anteriormente na espécie *M. urundeuva* (Fig. 29).

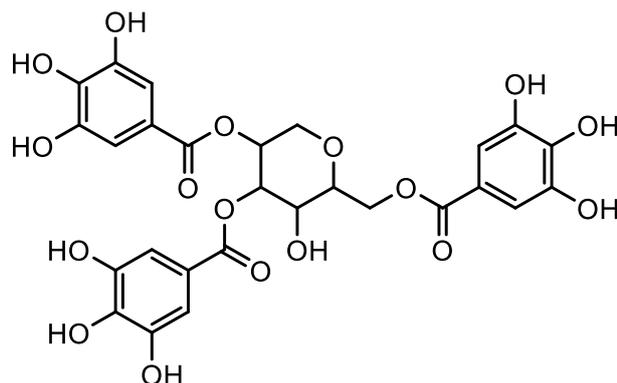


Figura 29. Estrutura do tri-*O*-galoil-1,5-anidro-glucitol.

### 7.2.3- Terpenos

Na análise da fração hexânica detectou-se a presença de 2 terpenos. As substâncias de interesse foram selecionadas de acordo com o seu espectro de UV. O cromatograma dessa fração está representado abaixo (Fig. 30). Os tempos de retenções selecionados foram 10,73 min. e 10,77 min uma vez que apresentaram bandas de UV característicos de terpenos (Fig. 31).

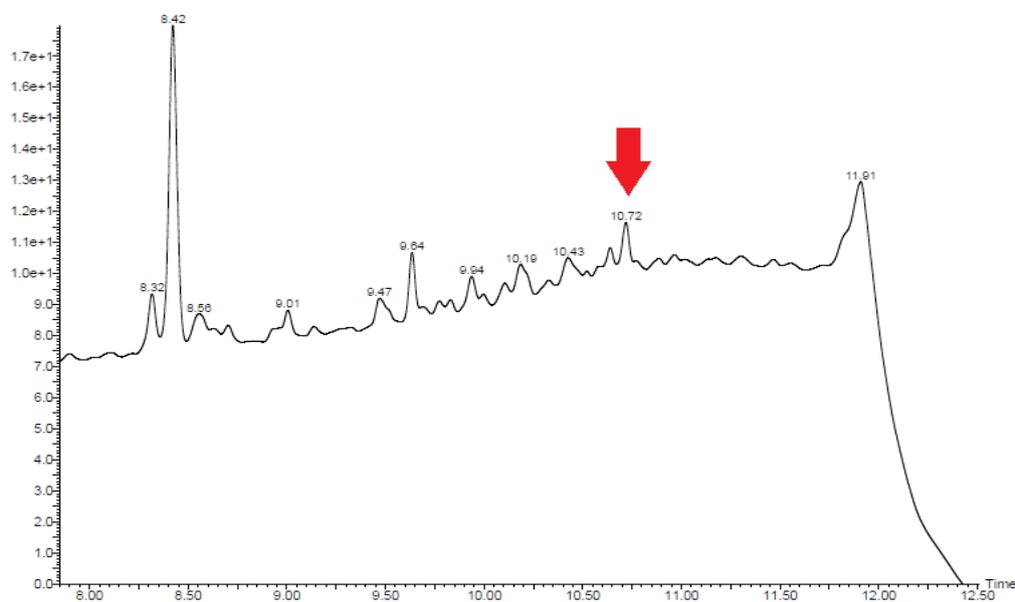


Figura 30. Cromatograma da fração hexânica da casca de *M. urundeuva*.

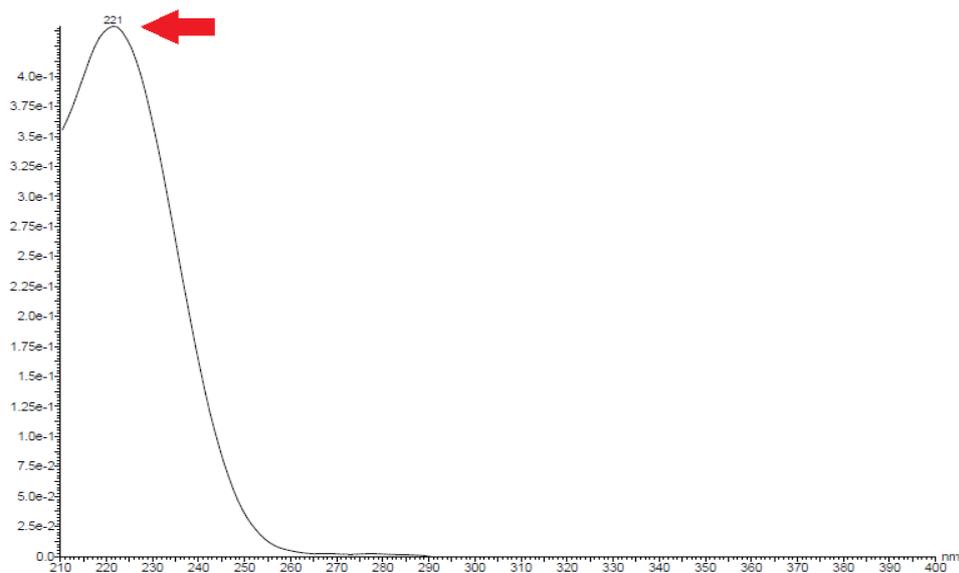


Figura 31. Banda de UV característica de terpenos da fração hexânica da casca de *M. urundeuva*.

A primeira substância analisada teve tempo de retenção correspondente a 10,72 min. e  $m/z$  425 no modo negativo, e a segunda substância corresponde ao tempo de retenção 10,77 min. e  $m/z$  439 no modo negativo. Os espectros de massas dessas substâncias sugerem ser triterpenos. Aquino & Silveira (2011), através de estudos fitoquímicos do lenho do galho da *M. urundeuva*, identificaram dois terpenos de massas semelhantes aos encontrados nesse estudo e embora não tenha sido realizado as fragmentações desses terpenos, pode-se sugerir através dos dados obtidos que se trata do 30-nor-24-metilenocicloartanol (A) e 24-metilenocicloartanol (B) respectivamente (Fig. 32).

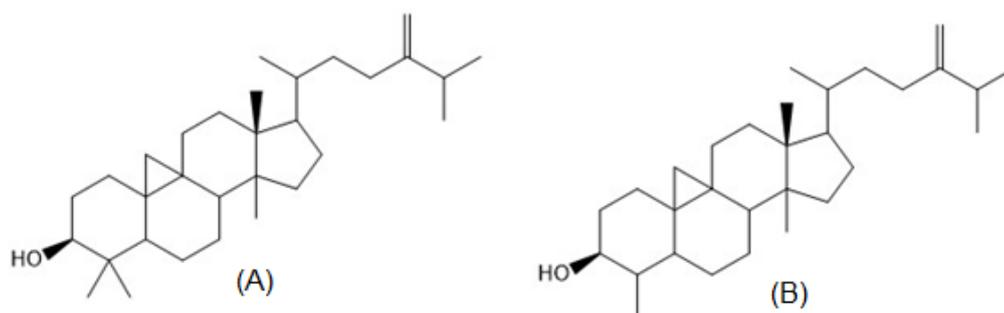


Figura 32. Triterpenos: A) 30-nor-24-metilenocicloartanol; B) 24-metilenocicloartanol.

## 9- CONCLUSÃO

Com a análise fitoquímica do presente estudo foi possível caracterizar vários componentes presentes no extrato da casca desta espécie vegetal, sendo que técnicas cromatográficas aliadas a detectores de UV e MS são ferramentas importantes para a identificação de compostos presentes em extratos vegetais.

A partir dos dados obtidos, foi possível identificar a presença de flavonoides, taninos e terpenos na casca da *M. urundeuva*. Os flavonoides identificados foram urundevina A, urundevina B e urundevina C, já relatados anteriormente na literatura. Apesar dos taninos serem os principais metabólitos secundários presentes na aroeira, o composto tri-O-galoil-1,5-anidro-glucitol, nunca foi estudado nessa espécie. Os terpenos identificados foram 30-nor-24-metilenocicloartanol e 24-metilenocicloartanol, já relatados em estudos anteriores da *M. urundeuva*.

A aroeira desempenha um importante papel na vida social de populações que habitam as regiões do cerrado e da caatinga. Sendo assim a análise de seus componentes é de extrema importância, uma vez que este tipo de estudo pode auxiliar no conhecimento da química da espécie e com isto contribuir para estudos futuros de toxicidade, favorecendo as populações que fazem uso de suas partes como medicamento.

Poucos são os estudos de plantas nativas do cerrado, sendo assim esse trabalho contribui para futuros estudos, onde possa comparar a presença dos componentes presentes nas árvores nativas das duas regiões (caatinga e cerrado), uma vez que variações sazonais contribuem diretamente na formação e produção de diversos produtos do metabolismo secundário de diversas plantas.

## 8- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALBUQUERQUE U. P., ANDRADE L. H. C. **Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil.** Acta Bot. Bras. 2002.

ALMEIDA, A.C. et al. **Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal.** Ciência Rural, 2009.

ANDERSEN O. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications.** Flórida. Taylor & Francis, 2006.

ARAÚJO, T. A. S. **Taninos e flavonoides em plantas medicinais da caatinga: um estudo de etnobotânica quantitativa.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação da UFPE. 2008.

AYAFOR J. F. et al. **Aframodial and other bioactive diterpenoids from Aframomum species.** Pure and applied chemistry, Vol. 66. 1994.

BESSA, N. G. F. DE et al. **Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. v.15. n.4. supl.I. p.692-707. 2013.

BOHLMANN, J.; KEELING, C. I. **Terpenoid biomaterials.**The Plant Journal, v. 54, n. 4, p. 656–669. 2008.

BRITO, M. F. M. et al. **Conhecimento etnobotânico local sobre plantas medicinais: uma avaliação de índices quantitativos.** Interciencia. 2015.

CARLINI, E. A.; ALMEIDA, J. M. D.; RODRIGUES, E.; TABACH, R. **Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão).** Revista Brasileira de Farmacognosia. 2010.

CASTEJON, FERNANDA VIEIRA. **Taninos e Saponinas.** Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação, Universidade Federal de Goiás, Goiania, 2011.

COSTA, T. S. A.; LIMA, A.; LIMA, M. V. **Determinação de tanino em pedúnculo de caju: método da vanilina versus método do butanol ácido.** Quim. Nova, Vol. 26, Nº 5, 763-765, 2003.

COWAN, M.M. **Plant products and antimicrobial agents.** Clinical Microbiology Reviews, v.12, n.4, p.564-82, 1999.

CROTEAU, R., KUTCAHN, T.M. AND LEWIS, N.G. **Natural products. In Biochemistry and Molecular Biology of Plants (Buchanan, B., Grissem, W. and Jones, R., eds).** Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists. 2000.

DORNELAS, M. C.; MAZZAFERA, P. **A genomic approach to characterization of the *Citrus* terpene synthase gene family.** Genetics and Molecular Biology, v.30, n.3 (suppl), p- 832-840. 2007.

FRANCO, E.A.P; BARROS, R.F.M. **Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.8, p. 78-88, 2006.

FUMAGALLI, E. et al. **Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*.** Revista Brasileira de Farmacognosia. v. 18. n.4. pp-627-641. 2008.

GOBBO-NETO, L. LOPES, N. P. **Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** Quimica Nova. Vol. 30, No. 2, p.374-381. 2007.

HASLAM, E. **Plant Polyphenols, Vegetable Tannins Revisited.** Cambridge University Press, Cambridge, 1989.

KADOTA, S. et al. **Antibacterial activity of trichorabdal from *Rabdosia trichocarpa* against *Helicobacter pylori*.** Zentbl. Bakteriologie. 286:63–67. 1997.

KOES, R. E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J. N. M. **The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution.** Bioessays, vol.16, 1994.

LAZARY V.M.D. **Efeitos do consumo de isoflavona na prevenção do câncer de mama.** [Monografia]. Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Núcleo de Estudos em Educação e Promoção da Saúde, NESPROM, Brasília, 2010.

LIMA, J.F. et al. **Evaluation of different substrates in the physiological quality of caroá melon [*Sicana odorifera* (Vell.) Naudim] seeds.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, jun. 2010. v. 12, n. 2, p. 163–167.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil - nativas e exóticas.** Nova Odessa, Instituto Plantarum. Luz MT. Cultura contemporânea e medicinas alternativas: Novos paradigmas em saúde no fim do século XX. PHISIS: Rev Saúde Coletiva. Rio de Janeiro, v.15, p.145-176, 2005.

MA, H. et al. **Cosmetic applications of glucitol-core containing gallotannins from a proprietary phenolic-enriched red maple (*Acer rubrum*) leaves extract: inhibition of melanogenesis via down-regulation of tyrosinase and melanogenic gene expression in B16F10 melanoma cells.** Dermatological research. Issue 4, pp 265-267. 2017.

MACHADO, A. C. et al. **“Aroeira” (*Myracrodruon urundeuva*) methanol extract: the relationship between chemical compounds and cellular effects.**

Pharmaceutical Biology. 2016.

MACHADO, A. C.; OLIVEIRA, R. C. **Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão).** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.16, n.2, p.283-289, 2014.

MATYOS, F.J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141p.

MENDONÇA, R. J. et al. **Chalcones from *Myracrodruon urundeuva* are efficacious in guinea pig ovalbumin induced allergic conjunctivitis.** Revista Brasileira de Farmacognosia. 2011.

Ministério da Saúde; Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** 1. ed. Brasília, DF: Ideal Gráfica e Editora Ltda, junho de 2006. v. 1.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P. **O valor dos recursos naturais e a valoração contingente de *Myracrodruon urundeuva* Allemão – um enfoque conservacionista.** Acta Botanica Brasilica. v.26. p.125-132. 2012.

MOURA, L. C., BANDEIRA, M. A. M. **Contribuição ao estudo fitoquímico das folhas de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão).** Encontro Universitário da UFT. 2017.

NASCIMENTO, C. A. **Caracterização funcional de terpeno sintases de citros.** Dissertação (mestrado). Curso de pós-graduação em agricultura tropical e subtropical. Instituto Agrônomo.2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. **Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes**. Journal of Biotechnology and Biodiversity. Vol. 3, N. 4: pp. 146-152. 2012.

PHILLIPS, O.; GENTRY, A. M. **The useful plants of Tambopata, Peru. II. Additional hypothesis testing in quantitative ethnobotany**. Economic Botany, v.47, n.1, p.33-43, 1993.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. **Caracterização dos Taninos da Aroeira-Preta (*Myracrodruon urundeuva*)**. Revista Árvore, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

SANTIN, D.A., LEITÃO, H.F. **Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon Freire Allemão* (Anacardiácea)**. Revista Brasileira de Botânica, v.14, p.133-145, 1991.

SANTOS, S.C.; MELLO, J.C.P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Simões, C.M.O. et. al (org) 6 ed- Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC, 1096p, 2006.

SILVA, L. R. da et al. **Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico**. Acta Toxicol. Argent. v.23. pp-36-43. 2015.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed. e-PUB (recurso eletrônico). 2017.

VIANA, G.S.B. et al. **Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) – Estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**. 164p. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará. 1995.

VIEIRA, L. M. et al. **Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae).** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.17, n.4, p.521-527, 2015.

VISHWAKARMA, R. A. **Stereoselective synthesis of a-artether from artemisinin.** 1990. Journal of Natural Products. V.53. n.1, pp 216–217. 1990.

YAO, L. H. et al. **Flavonoids in Food, and their Health Benefits.** Plant Foods for Human Nutrition. v. 59, p. 113-122, 2004.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP  
**Escola de Farmácia**



### ATESTADO DE CORREÇÃO

Atesto que **ÉLCIO ERMELINDO RIBEIRO**, matrícula 12.1.2083 realizou todas as correções exigidas pela Banca examinadora no manuscrito do Trabalho de Conclusão de Curso: *Análise Fitoquímica de Extratos da Casca de Myracrodruon urundeuva Allemao (Anacardiaceae)*, podendo o mesmo ser liberado para ser publicado na plataforma do SISBIN-UFOP.

Ouro Preto, 04 de julho de 2018.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão  
Orientador - DEFAR-EF-UFOP