

AVALIAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE TINTURAS DE *Plantago sp*, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Mikania glomerata* Sprengel e *Mentha sp* CULTIVADAS EM DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO

CHEMICAL EVALUATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF Plantago sp, Schinus terebinthifolius Raddi, *Mikania glomerata* Sprengel e *Mentha sp* CULTIVATED IN DIFFERENT PARTS OF ESPÍRITO SANTO STATE

¹Larissa Silva de Souza

²Polianna da Silva Ferreira

³Ricardo Machado Kuster

⁴Hildegardo Seibert França*

¹Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha. E-mail: lasouza.q@gmail.com

²Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha. E-mail: polianna_silva@hotmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santos. E-mail: kusterrm@gmail.com

⁴Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Vila Velha. E-mail: hildegardo.franca@ifes.edu.br

*Autor de correspondência

Artigo submetido em 02/04/2020, aceito em 28/05/2020 e publicado em 28/08/2020.

Resumo: As plantas *Plantago sp*, *Schinus terebinthifolius*, *Mikania glomerata* e *Mentha sp* são listadas pela RENISUS com interesse de inseri-las como recursos terapêuticos para a população. Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar análises químicas que identifiquem os principais metabólitos secundários e avaliar a atividade antioxidante de tinturas etanólicas dessas plantas coletadas em diferentes localidades do Espírito Santo. As tinturas etanólicas foram obtidas em uma proporção de 10% (m/v) pelo método de maceração. Para a caracterização química das tinturas foi utilizada a técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) com respectiva fase móvel para cada classe de marcadores químicos das plantas estudadas, onde as placas foram visualizadas com reveladores químicos e físicos. As tinturas também foram caracterizadas por Espectrometria de Massas de Alta Resolução, utilizando a fonte de ionização *Eletrospray* em modo negativo (ESI(-) FT-ICR-MS). Por fim, a atividade antioxidante foi determinada pelo método DPPH. As análises cromatográficas e espectrométricas exibiram evidências de compostos fenólicos e terpênicos em todas as tinturas. Alguns íons [M-H]⁻ característicos foram identificados por ESI(-), como o de *m/z* 301,21741 (ácido caurenóico) para o guaco, de *m/z* 455,35307 (ácido ursólico) para a tansagem e, *m/z* 359,07724 (ácido rosmarínico) para a *Mentha*. Pela reação com o radical DPPH, todas as plantas apresentaram ação antioxidante, destacando as tinturas de guaco e tansagem com valores acima de 90% e 80%, respectivamente, próximos ao do padrão antioxidante ácido ascórbico. Logo, este estudo evidencia a presença de compostos fenólicos e marcadores químicos em plantas amplamente utilizadas pela medicina popular, destacando seu potencial antioxidante.

Palavras-chave: tansagem; aroeira; guaco; mentha; análise química.

Abstract: The plants *Plantago sp*, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Mikania glomerata* Sprengel and *Mentha sp* are listed by RENISUS with interest of inserting them as therapeutic resources for the population. Thus, the objective of the present study was to carry out chemical analysis that identify the main secondary metabolites and to evaluate the antioxidant activity of ethanolic tinctures (mother tincture) of these plants, collected in different localities of Espírito Santo - Brazil. The mother tinctures were obtained in a proportion of 10% (m/v). For the tinctures' chemical characterization was used the thin layer chromatography (CCD) technique with the respective mobile phase for each substance class, where the plates were visualized in specific physical and chemical detection. The tinctures were analyzed by High Resolution Mass Spectrometry using the ionization source Eletrospray in negative mode (ESI(-) FT-ICR-MS). Lastly, the antioxidant activity was determined by the DPPH method. The chromatographic and spectrometric analysis showed evidence of phenolic and terpenes compounds in all dyes. Some characteristic ions $[M-H]^-$ were identified by ESI(-) as m/z 301.21741 (kaurenoic acid) for guaco, from m/z 455.35307 (ursolic acid) for tansagem and m/z 359.07724 (rosmarinic acid) for mentha. Reaction with the DPPH radical, all the plants showed antioxidant action, evidencing the guaco and tansagem tinctures presented values above 90 and 80%, respectively, close to the ascorbic acid antioxidant standard. Therefore, this study evidences the presence of phenolic compounds and chemical markers in plants widely used by popular medicine, highlighting its antioxidant potential.

Keywords: tansagem; aroeira; guaco; mentha; chemical analysis.

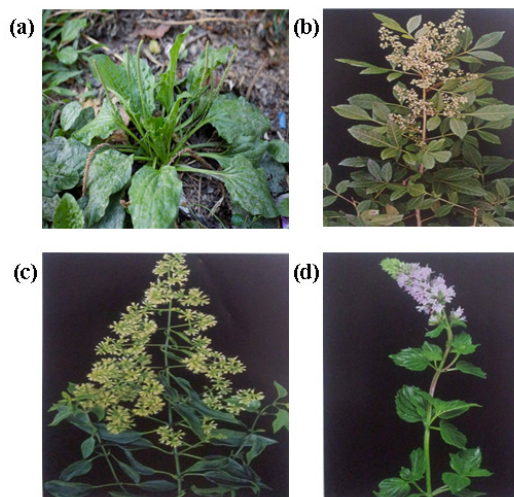
1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são importantes aliadas na assistência primária na saúde pública. Devido a isso, o Sistema Único de Saúde (SUS), por meio do Ministério da Saúde, vem desenvolvendo e aprimorando políticas públicas como a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS, assim como a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2016). É interessante notar que, desde os anos 2000, o estado do Espírito Santo (ES) tem utilizado essas práticas integrativas, por apresentar potencial necessário pela sua biodiversidade e para o desenvolvimento de pesquisas (BRASIL, 2013).

Nesse contexto, as plantas medicinais entram como um dos autores principais no desenvolvimento sustentável de produtos para a saúde. Um dos produtos é a tintura, utilizando em geral a planta seca, que se trata de uma preparação líquida onde a droga vegetal está em uma proporção a 10% em relação ao solvente hidroalcolico utilizado (BRASIL, 2019). Dentre as plantas medicinais listadas na Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS (RENISUS) estão o *Plantago sp*, *Schinus terebinthifolius*

Raddi, *Mikania glomerata* Sprengel e *Mentha sp* (Figura 1). Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi realizar análises químicas que identifiquem os principais metabólitos secundários e avaliar a atividade antioxidante de tinturas etanólicas dessas quatro plantas medicinais previstas pela RENISUS coletadas em diferentes localidades do Espírito Santo (BRASIL, 2009).

Figura 1: Aspectos gerais das plantas *Plantago sp* (a), *Schinus terebinthifolius* Raddi (b), *Mikania glomerata* Sprengel (c) e *Mentha sp*(d)



Fonte: próprio autor

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O Brasil é um país de uma biodiversidade imensa associada a uma rica diversidade étnica e cultural que detém um valioso conhecimento tradicional. Este, quando associado ao uso de plantas medicinais, possui o potencial necessário para o desenvolvimento de pesquisas, utilizando tecnologias apropriadas e apresentando resultados de grande impacto. Muitos são os relatos dados pela medicina popular dos grandes benefícios que essas plantas podem trazer (BRASIL, 2016; DE FIGUEREDO; GURGEL; GURGEL JUNIOR, 2014).

Pensando nisso, o SUS, no interesse de inserir oficialmente as plantas medicinais como recursos terapêuticos para a população, criou a lista RENISUS, que contém 71 espécies com informações farmacológicas (BRASIL, 2009). Essas informações impulsionaram o desenvolvimento de políticas de medicamentos, o qual teve como propósito garantir a necessária segurança, eficácia e qualidade dos medicamentos, garantindo o acesso da população àqueles considerados essenciais, destacando a importância de estudos científicos que a certifiquem (BRASIL, 2006).

As plantas *Plantago* sp, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Mikania glomerata* Sprengel e *Mentha* sp estão listadas na RENISUS e essas plantas estão distribuídas em diversas regiões no Estado do Espírito Santo, devido a características edafoclimáticas diferenciadas das regiões territoriais. Essas espécies são de interesse do Ministério da Saúde por apresentarem atividades anti-inflamatórias, expectorante, antibacteriana e diurética (BRASIL, 2009). Tais atividades terapêuticas estão correlacionadas aos metabólitos secundários, os quais são biosintetizados pelas plantas para sobrevivência, em diferentes concentrações, de acordo com as condições ambientais do Estado (clima temperado ou subtropical, de serras úmidas

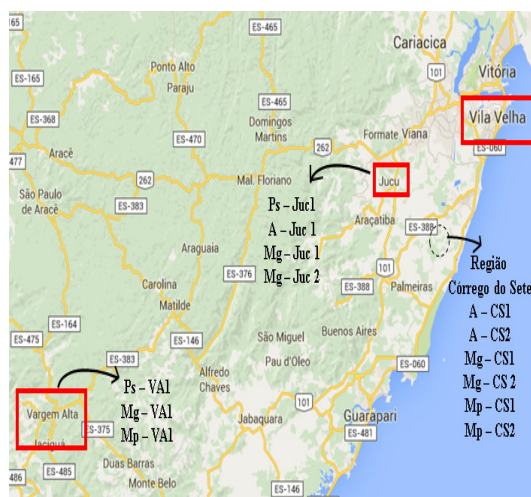
ou de clima de montanhas) (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Com o intuito de identificar essas substâncias, análises químicas e biológicas crescem no decorrer dos anos no ES, a fim de contribuir com o processo de cultivo e interesse em obter um produto de maior qualidade. O Planejamento estratégico do ES para 2030 mostra desejo e potencialidades ao apresentar valorização e importância para o estímulo do comércio, empreendedorismo e o desenvolvimento da agricultura familiar capixaba (BRASIL, 2013; SALES *et al.*, 2005).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As plantas medicinais foram coletadas em diferentes regiões do Estado do Espírito Santo (Figura 2), sendo essas, Córrego do Sete – Vila Velha, Jucuruaba - Viana e Vargem Alta (46 km, 28,7 km e 130 km da capital Vitória - ES, respectivamente), de acordo com o período de crescimento das mesmas, entre os meses de março a junho de 2014 com exsiccata e identificação botânica pela Fazenda Experimental Reginaldo Conde, do Incaper. A Tabela 1 descreve todas as plantas medicinais colhidas, adotando um código utilizado ao longo de todas as análises experimentais.

Figura 2: Mapa do Estado do Espírito Santo e os pontos de coleta das plantas



Fonte: adaptado google maps

Tabela 1: Plantas medicinais coletadas em várias regiões com seus respectivos códigos.

Planta - Nome Científico	Código da planta	Planta - Nome Científico	Código da planta
Tanchagem - <i>Plantago sp</i>	Ps - Juc1	Guaco - <i>Mikania glomerata</i> Sprengel	Mg-CS2
	Ps - VA1		Mg-CS2
Aroeira - <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	A-CS1		Mg-Juc1
	A-CS2		Mg-Juc2
			Mg-VA1
	A-Juc1	Hortelã - <i>Mentha sp</i>	Mp-CS1
			Mp-CS2
		Mp-VA1	

Legenda: Código das plantas: *Schinus terebinthifolius* R. (A), *Mikania glomerata* S. (Mg), *Mentha sp* (Mp), *Plantago sp* (Ps), Córrego do Sete (CS), Jucuruaba (Juc), Vargem Alta (VA). A numeração está relacionada a remessa da amostra.

Fonte: próprio autor

3.1 Preparação das tinturas etanólicas

As folhas foram secas em estufa à temperatura de 40°C por 48 horas, conforme o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019). As folhas secas foram trituradas e pesadas para obtenção de tinturas etanólicas, com etanol 96%, preparadas em uma proporção de 10% (m/v), filtradas e acondicionadas em vidro âmbar.

3.2 Determinação do Resíduo Seco das tinturas

A metodologia procedeu-se de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019). Pipetou-se 2 mL de cada extrato em placas de Petri, evaporou-se em banho maria até a secura e levou-os para estufa à temperatura de 105°C, durante 3 horas. Em seguida, foram deixados arrefecer em dessecador. O valor do resíduo seco foi calculado em porcentagem (m/v).

3.3 Determinação do perfil cromatográfico das tinturas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

No estabelecimento da metodologia por CCD utilizou-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254 (10 x 10 cm) de percurso de eluição de 8 cm. O sistema de solvente apropriado às moléculas de investigação seguiu-se, conforme recomendações de Wagner e Bladt (1996). Todos os cromatogramas foram desenvolvidos em uma câmara saturada. Com auxílio de uma micropipeta de 50µL (Hamilton 705SN), foram aplicados 10µL das amostras e 5µL dos padrões correspondentes à classe das substâncias. Após a corrida cromatográfica, foi utilizado um revelador para a visualização dos compostos eluídos. As placas foram observadas por câmara UV ($\lambda = 254$ e 365nm) e documentadas por fotografia digital. A Tabela 2 descreve as respectivas classes de substâncias, fase móvel, padrões e reveladores utilizados nas análises (ANSM, 2019; WAGNER; BLADT, 1996)

Tabela 2: Sistemas de eluições, padrões e reveladores usados para a caracterização dos principais grupos de metabólitos secundários a partir das tinturas etanólicas de *Schinus terebinthifolius*, *Mentha sp*, *Plantago sp* e *Mikania glomerata* S., a partir da CCD

Metabólitos Secundários	Sistemas de Eluições	Padrões	Reveladores
Flavonóides	Acetato de etila: Ácido fórmico: Ácido acético glacial: Água (100:11:11:26, v/v)	Isoquercetina, Hyperosídeo, Quercetina e Quercetina	NP/PEG
Terpenos	Tolueno:Acetato de etila (93:7, v/v)	Óleo de Citronela	Reagente de Vanilina Sulfúrica (SR)
Cumarina	Tolueno: diclorometano: acetona (45:25:30, v/v)	Cumarina e Ácido ortocumárico	KOH (10%)

Fonte: Adaptado de Wagner e Bladt (1996)

3.4 Análises por Espectrometria de Massas de Ressonância Ciclotrônica de Íons por Transformada de Fourier com Ionização por Eletrospray (ESI (-) FT-ICR MS)

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas modelo 9,4 T

Solarix (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As tinturas solubilizadas (1 mg/mL) em acetonitrila:água (1:1) foram injetadas na fonte de ionização eletrospray (ESI) por infusão direta a uma taxa de fluxo de 5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ em modo negativo de aquisição de íons ESI (-) e adquiridos em uma região de m/z 200 a 1000. As condições da fonte de ESI (-) foram: pressão de gás nebulizador de 1,0 bar, voltagem capilar de 3,2 kV e temperatura do capilar de 250 °C. O tempo de acumulação de íons foi de 0,5 milissegundos (ms), sendo que cada espectro foi adquirido pela acumulação de 32 scans com um domínio de tempo de 4 mega-point. Os espectros de FT-ICR MS foram adquiridos e processados utilizando o software Data Analysis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). O grau de insaturação para cada molécula é determinado pelo valor de DBE (double bond equivalent), por intermédio da equação $\text{DBE} = \text{C} - \text{H}/2 + \text{N}/2 + 1$ onde C, H e N correspondem aos números de carbono, hidrogênio e nitrogênio, respectivamente, na fórmula mínima determinada a partir dos dados de FT-ICR MS.

3.5 Determinação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada por meio da reação de redução do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). Para a avaliação da atividade antioxidante foram preparadas soluções metanólicas das tinturas e do padrão ácido ascórbico nas quatro concentrações que exibiram resultados: 1,25%; 0,62%; 0,31%; 0,15%. As diluições das amostras foram seriadas de 50%. A microplaca foi preparada de forma que cada poço recebeu 100 μL da substância teste, em suas respectivas concentrações. A leitura da absorbância das amostras foi realizada após 30 minutos da adição de 200 μL de DPPH (0,3mM) em ELISA, no comprimento de onda 517nm, em microplaca de 96 poços. A atividade antioxidante das amostras e do padrão foi

calculada usando a porcentagem de inibição do DPPH (NOIPA *et al.*, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do resíduo seco das tinturas

O teor de resíduo seco permite visualizar o potencial de extração do etanol determinando a quantidade de substâncias solúveis nesse solvente. De todas as plantas analisadas, o *Plantago sp* coletado em Vargem Alta apresentou o maior teor de resíduo seco, com um valor de 1,38%. Dentre as tinturas de *Mikania glomerata*, obteve uma extração máxima de resíduo seco de 0,71% para a localidade de Vargem Alta. A Farmacopeia Francesa preconiza que o teor de resíduos secos para a *Plantago sp* e *Mikania glomerata* de 1,2 e 0,5%, respectivamente, determinando um alto poder de extração para essas tinturas (ANSM, 2019). As tinturas de *Schinus terebinthifolius* e da *Mentha sp* não estão especificadas em Monografias de referências, porém observa-se variação de quase 50% na porcentagem de resíduos secos entre os indivíduos de Aroeira, apresentando indivíduos com 0,55 a 1,26% de substâncias extraíveis como mostradas na Tabela 3. Todas essas extrações implicarão na análise posterior, influenciando nas concentrações das substâncias identificadas.

Em estudos com a *S. terebinthifolius*, Gomes GOMES *et al.* (2020) e Scheid *et al.* (2018) obtiveram diferentes frações de diversas polaridades, evidenciando a fração mais polar com maiores rendimentos. Resultados de Sales (2013) foram semelhantes, utilizando tinturas etanólicas da *S. terebinthifolius* quando avaliado o resíduo seco, apresentando um valor de 1,41% \pm 0,13 (m/m) de substâncias extraídas. O valor encontrado para a tintura de Jucuruaba se aproxima com o observado, levando a concluir que as demais amostras de aroeira estejam mais diluídas. Dados de resíduo seco da tintura de *Mentha sp* não foram encontrados na literatura. Todavia, ao

analisar a influência do cultivo na produção de biomassa em folhas de *Mentha spicata*, Santos, Brezan e Serra (2013) relataram que as plantas cultivadas ao sol apresentaram maiores valores comparados com as cultivadas à sombra. Fatores como a intensidade luminosa influenciam no

desenvolvimento da planta, sendo um indicativo para o baixo rendimento em Vargem Alta para a *Mentha sp* (GOBBONETO; LOPES, 2007).

Tabela 3: Teor de resíduo das tinturas das plantas coletadas

Planta - Nome Científico	Código da planta	Resíduo seco (%)	Planta - Nome Científico	Código da planta	Resíduo seco (%)
Tansagem - <i>Plantago sp</i>	Ps- Juc1	0,7	Guaco - <i>Mikania glomerata</i> Sprengel	Mg-CS1	0,4
	Ps-VA1	1,38		Mg-CS2	0,37
Aroeira - <i>Schinus terebinthifolius</i>	A-CS1	0,55		Mg-Juc1	0,46
	A-CS2	0,73		Mg-Juc2	0,49
	A-Juc1	1,26	Mg-VA1	0,71	
			Hortelã - <i>Mentha sp.</i>	Mp-CS1	0,51
				Mp-CS2	0,69
				Mp-VA1	0,15

Legenda: Código das plantas: *Schinus terebinthifolius* R. (A), *Mikania glomerata* S. (Mg), *Mentha sp* (Mp), *Plantago sp* (Ps), Córrego do Sete (CS), Jucuruaba (Juc), Vargem Alta (VA). A numeração está relacionada a remessa da amostra.

Fonte: próprio autor

4.2 *Plantago sp* - Tansagem

A análise do perfil cromatográfico da tintura etanólica da Tansagem mostrou manchas com fortes absorções sob exposição da luz UV, após a revelação. Com o intuito de verificar a presença de flavonoides, a planta coletada em Jucuruaba apresentou manchas azuis com fator de retenção (R_f , do inglês *Retention Factor*) igual a 0,60, enquanto a amostra coletada em Vargem Alta, manchas amareladas ($R_f = 0,49$). Dependendo do tipo estrutural do flavonóide observado sob luz ultravioleta (365 nm), uma coloração amarelo escura, verde ou azul fluorescente pode ser observada, sendo a fluorescência laranja amarela correspondente a flavonoides (quercetina, miricetina e seus glicosídeos) e laranja correspondendo a flavonas (luteolina e seus glicosídeos), modificado ou intensificado com a utilização de diferentes reagentes reveladores (WAGNER; BLADT,

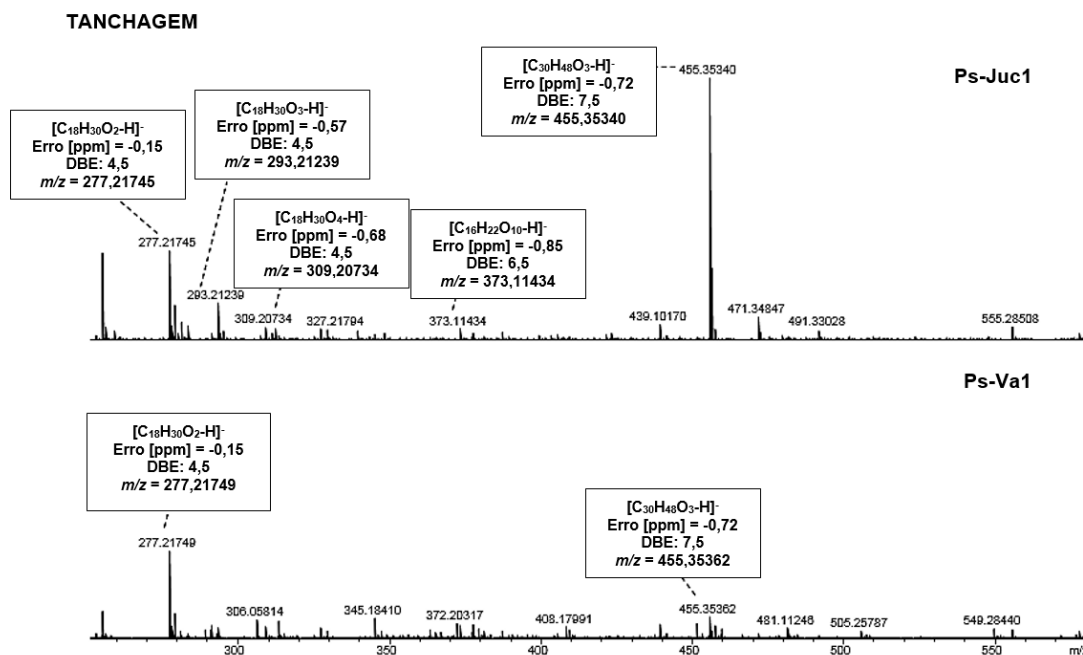
1996). Na identificação dos terpenos, os cromatogramas indicaram a presença de zonas amarelas ($R_f = 0,35$ e $0,47$). Pela técnica CCD, a Farmacopeia Francesa (2019) descreve, para a espécie de *Plantago major*, a presença do monoterpene aucubina, indicado pela coloração azulada e coloração amarelada indicando o acteosídeo, presente na espécie *P. lanceolata*. Nenhuma das análises apresentou o perfil cromatográfico semelhante ao padrão utilizado (Tabela 2).

Com o intuito de caracterizar os compostos identificados, a tintura foi submetida à técnica espectrométrica de altíssima resolução. As análises por ESI(-) FT-ICR MS das tinturas da *Plantago* apresentaram íons pseudomoleculares ($[M-H]^-$) com informações de sua fórmula molecular exatas, baixos erros e números de insaturações (DBE). Quando comparadas com as duas localidades, o espectro de

massas para Jucuruaba detectou a presença dos íons m/z 455,35340 com DBE 7,0 e de m/z 277,21745 com DBE 4,0 atribuído ao triterpeno ácido ursólico ($C_{30}H_{48}O_3$) e ao ácido linolênico ($C_{18}H_{30}O_2$),

respectivamente (Figura 3) (BRASIL, 2014; KARTINI *et al.*, 2017). A presença dos mesmos picos e de demais outros sinais foram detectados para Vargem Alta, porém, destacados pela baixa intensidade do sinal.

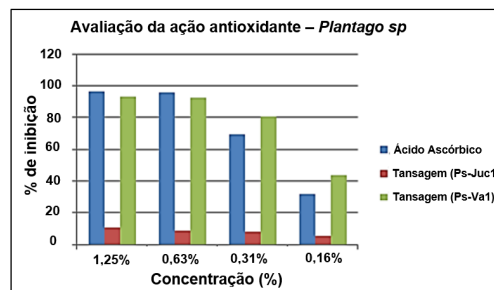
Figura 3: Espectro de Massas ESI (-) FT-ICR MS da tintura etanólica da *Plantago sp* (Tansagem/Tanchagem)



Fonte: próprio autor

Quando avaliada sua ação antioxidante, as tinturas da tansagem apresentaram importantes atividades, sendo que a amostra coletada em Vargem Alta apresentou uma atividade superior ao ácido ascórbico, padrão utilizado como referência, nas duas maiores concentrações (Gráfico1). Quando coletada em Jucuruaba, a tansagem foi menos ativa mostrando um poder de inibição quase nove vezes menor que o valor do padrão de referência. De fato, a coleta feita em Vargem Alta obteve um valor de extração maior quando comparado ao de Jucuruaba. Fatores ambientais como a temperatura, índice pluviométrico, radiação UV, altitude e composição atmosférica podem ter influenciado na produção de substâncias que tornaram uma planta mais ativa que outra (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Gráfico 1: Percentual de atividade antioxidante da tintura etanólica da *Plantago sp* coletada em diferentes localidades do Espírito Santo



Fonte: próprio autor

4.3 *Schinus terebinthifolius* – Aroeira

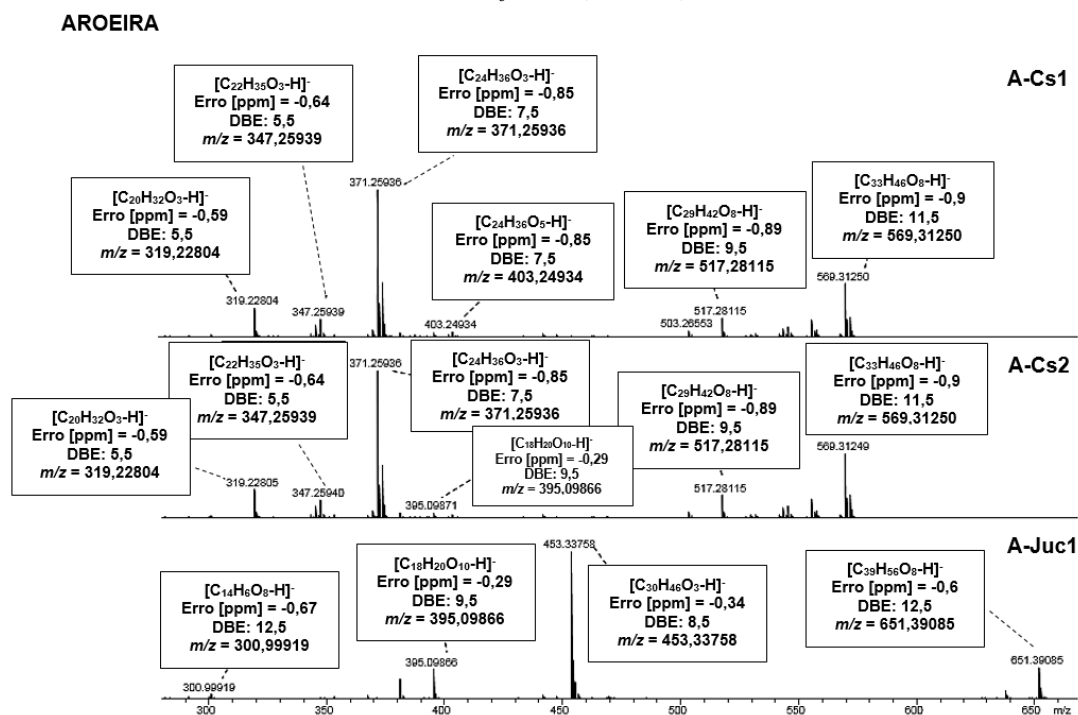
Com o intuito de avaliar a presença de flavonoides/compostos fenólicos a CCD da tintura de Aroeira detectou compostos com

alta absorção sob a luz UV, antes e depois da aplicação do revelador. É importante ressaltar que as três localidades apresentaram um perfil cromatográfico semelhante, apresentando os mesmos valores de Rf e colorações. Fatores de retenção 0,71, 0,80 e 0,86, com manchas de colorações rosadas, alaranjadas e amareladas, respectivamente, podem estar correlacionados a substâncias fenólicas simples ou flavonoides (WAGNER; BLADT, 1996). As mesmas intensidades de colorações, porém, com diferentes fatores de retenção, são descrito pela literatura como compostos fenólicos polares, dentre eles os flavonoides (BARBIERI *et al.*, 2014; PILATTI *et al.*, 2018; SANTANA; SARTORELLI; LAGO, 2012). Os terpenos ocorreram em baixas concentrações, porém, ainda assim, observando colorações amareladas (Rf = 0,19 e 0,44) e azuladas (Rf = 0,05, 0,41 e 0,55). O monoterpene citral, identificado pela literatura de mancha, cujo valor de Rf é 0,42 e coloração típica azul violeta, pode estar correlacionado ao Rf =

0,41 de fácil visualização na tintura de Jucuruaba (SALES, 2013).

Sinais intensos e baixos erros em m/z 371,25936 ($C_{24}H_{35}O_3$, DBE = 7,0) foram detectados nas plantas coletadas em Córrego do Sete por ESI (-) FT-ICR MS (Figura 4), diferente da planta coletada em Jucuruaba, com um sinal intenso em m/z 453,33758 ($C_{30}H_{45}O_3$, DBE = 8,0), referindo-se a íons [(M-H)]. O íon majoritário m/z 453 pode estar atribuído ao ácido masticadienoico, triterpene ácido descrito para a aroeira (GOMES *et al.*, 2020). Em Córrego do Sete, no entanto, não foram encontrados na literatura compostos ou classes compatíveis ao íon majoritário. De fato, alguns sinais característicos de ácidos fenólicos e flavonoides descritos pela literatura para *S. terebinthifolius*, como a quercitrina, galato de metila, galato de etila, miricetrina e luteolina, não foram detectados sendo que, algumas possuem a massa molecular inferior à região aplicada à técnica (m/z 200-1000) (GOMES *et al.*, 2020).

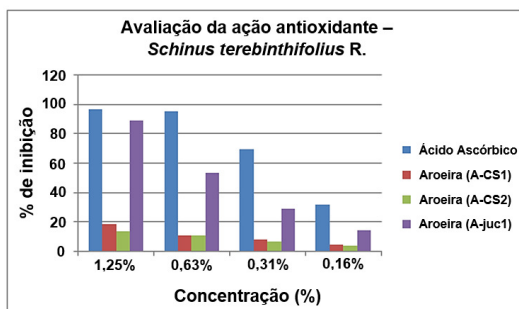
Figura 4: Espectro de massas ESI (-) FT-ICR MS da tintura etanólica da *Schinus terebinthifolius* (Aroeira)



Fonte: próprio autor

A tintura etanólica da aroeira apresentou capacidade sequestradora de radical DPPH em todas as coletas, sendo que, a amostra de Córrego do Sete evidenciou uma atividade cinco vezes menor que o ácido ascórbico em todas as concentrações (Gráfico 2). Esse fato pode ter correlação com a proporção de resíduo seco extraído (0,55 e 0,73%), relacionado com a concentração de ácidos fenólicos. Diferente desses, a aroeira de Jucuruaba obteve uma ação antioxidante proporcional com o aumento da concentração com uma atividade acima de 80% na maior concentração.

Gráfico 2: Percentual de atividade antioxidante da tintura etanólica da *Schinus terebinthifolius* coletada em diferentes localidades do Espírito Santo



Fonte: próprio autor

4.4 *Mentha sp* - Hortelã

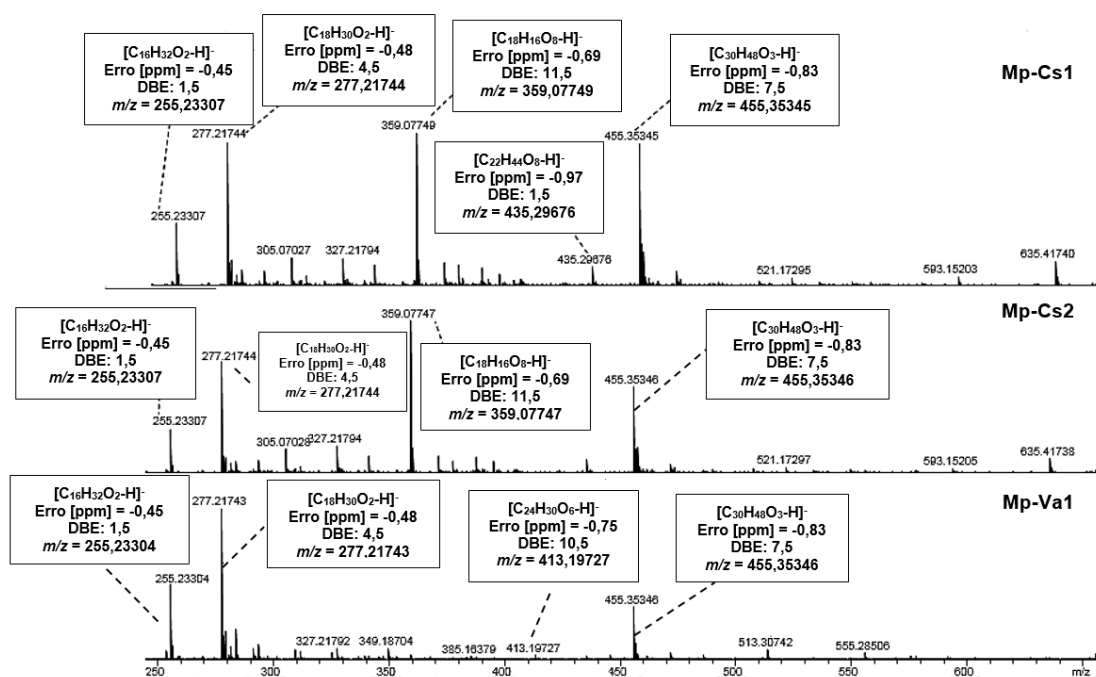
O perfil cromatográfico para as tinturas etanólicas de Hortelã mostrou manchas com colorações alaranjadas ($R_f = 0,42$ e $0,57$) nas amostras de Córrego do Sete (CS1 e CS2) como também do padrão isoquercetrina ($R_f = 0,69$), apresentando um perfil químico semelhante entre as duas. Não foi possível detectar a presença de nenhum composto na amostra de Vargem Alta. Isso pode ter ocorrido devido à baixíssima extração de resíduo seco para esta localidade (0,15%). Em relação à classe dos terpenos, esses ocorreram com manchas amareladas em baixa concentração. Monoterpenos típicos dessa planta como o mentol ($R_f = 0,28$, cor azulado) e timol ($R_f = 0,52$, cor avermelhado) estiveram ausentes na placa cromatográfica

(WAGNER; BLADT, 1996). De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), manchas correspondentes ao acetato de metila ($R_f = 0,81$, cor azul-violeta) e ao 1,8-cineol ($R_f = 0,28$, cor azul a violeta castanho) são características do perfil químico para a *Mentha piperita*.

Por se tratar de uma técnica de alta sensibilidade, os espectros do ESI (-) detectaram íons $[M-H]^-$ de m/z 255,23307 (DBE=1,0) e m/z 277,21730 (DBE=4,0) referentes ao íon desprotonado de ácido palmítico ($C_{16}H_{32}O_2$) e ao ácido α -linolênico ($C_{18}H_{30}O_2$) para todas as localidades. Outro íon de m/z 455,35307 e DBE = 7,0 esteve presente em todas as localidades, associado ao triterpeno ácido ursólico ($C_{30}H_{48}O_3$) (Figura 5). O sinal de alta intensidade do íon $[M-H]^-$ de m/z 359,07749 e DBE = 11,0 foi associado com o derivado do ácido cafeico, identificado somente nas localidades de Córrego do Sete. Esses compostos estão descritos pela literatura para o gênero *Mentha*, como para a *Mentha piperita* (ARRUDA *et al.*, 2017; MAFFEI; SCANNERINI, 1992; MCKAY; BLUMBERG, 2006) e a *Mentha crispata* (DIMECH *et al.*, 2006), evidenciando o ácido rosmarínico com um forte agente antioxidante.

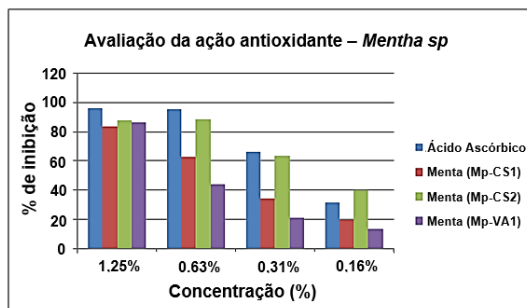
Todas as concentrações da tintura da *Mentha sp* exibiram porcentagem de redução dos radicais livres quando comparados com o padrão (Gráfico 3). Resultados importantes foram obtidos na maior concentração, gerando uma atividade antioxidante acima de 80% para todas as localidades, bem como a amostra CS2, na concentração 0,63%, mostrando alta inibição. A concentração dos compostos fenólicos observados pela CCD e pelos compostos identificados por ESI(-) podem ter contribuído nessa diferença de inibição, favorecendo o local CS2 como sendo o mais ativo.

Figura 5: Espectro de massas ESI (-) FT-ICR MS da tintura etanólica da *Mentha sp*



Fonte: próprio autor

Gráfico 3: Percentual de atividade antioxidante da tintura etanólica da *Mentha sp* coletada em diferentes localidades do Espírito Santo



Fonte: próprio autor

4.5 *Mikania glomerata* - Guaco

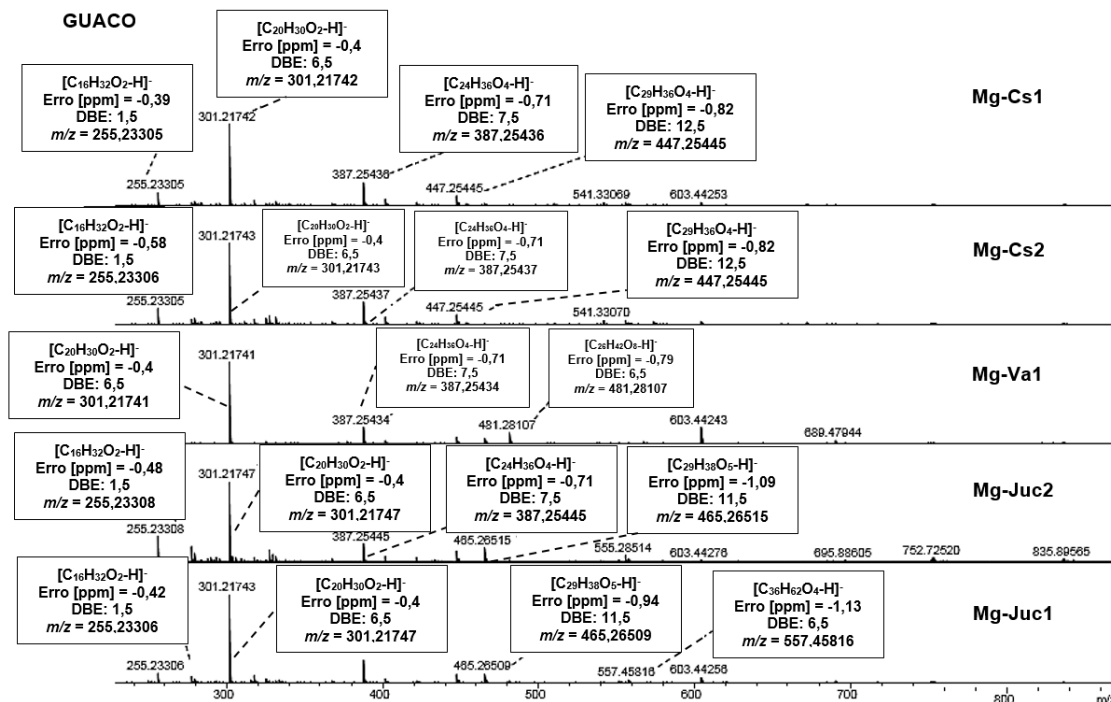
O sistema cromatográfico utilizado para identificação das principais classes presentes no guaco permitiu a detecção de manchas características de compostos majoritários da planta, por meio de padrões como a cumarina e o ácido orto-cumárico. Além disso, pode-se perceber uma semelhança em seu perfil químico entre as regiões, destacando a aparição de manchas azuis esverdeadas, indicando a presença de cumarina ($R_f = 0,84$) e de ácido orto-cumárico ($R_f = 0,35$) (BRASIL, 2010; WAGNER; BLADT, 1996). A cumarina em maiores concentrações pode ser encontrada em partes superiores da planta, principalmente em folhas jovens, como também em caules, flores e raízes, em

menor concentração (CZELUSNIAK *et al.*, 2012; DE CASTRO *et al.*, 2006).

Por ESI (-), as tinturas de guaco apresentaram um perfil químico semelhante com poucos sinais distintos entre as localidades (Figura 6). Verifica-se um sinal $[M-H]^-$ de alta intensidade de m/z 301,21742, de DBE = 6,0 e fórmula mínima $C_{20}H_{29}O_2$ em todas as localidades, fortemente associada ao ácido caurenico, já identificado em espécie de *Mikania* (CZELUSNIAK *et al.*, 2012; MORETI *et al.*, 2017; VILEGAS; DE MARCHI; LANÇAS, 1997). A cumarina, de m/z 146,

não foi identificada, devido ao limite da faixa do espectro de massas adquirido. O sinal referente ao ácido palmítico, de m/z 255,23305, foi detectado em todas as localidades, exceto na tintura de Vargem Alta. O ácido cinamoilgrandiflorico ($C_{29}H_{36}O_4$ e DBE=12,0) de m/z 447,25445 foi detectado nas amostras de Córrego do Sete. Essa substância já foi identificada na *Mikania laevigata* por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) (RUFATTO *et al.*, 2013).

Figura 6: Espectro de massas ESI (-) FT-ICR MS da tintura de *Mikania glomerata* S. (Guaco)



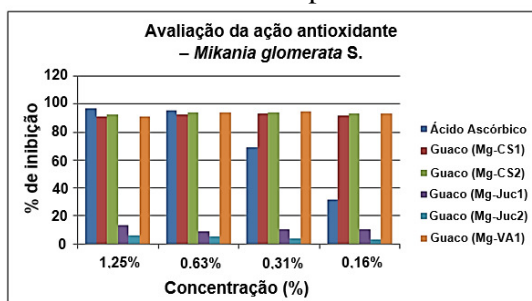
Fonte: próprio autor

Duas localidades exibiram alta atividade sequestradora de radical DPPH em todas as concentrações de tintura de guaco. As amostras de Vargem Alta e Córrego do Sete (CS1 e CS2) apresentaram uma capacidade de 80% de sequestro de radicais livres, quando comparado ao ácido ascórbico utilizado como padrão de referência (Gráfico 4). As tinturas de Jucuruaba (Mg-Juc1 e Mg-Juc2) obtiveram

atividade inferior ao padrão, indicando uma porcentagem de inibição abaixo de 20% em todas as concentrações. Assim como os flavonoides, estudos afirmam que a cumarina (1,2-benzopirona), considerada um marcador químico da Guaco, apresenta importante capacidade antioxidante (GASPARETTO *et al.*, 2010; HOULT; PAYÁ, 1996). Wu *et al.* (2007) discutem sobre a substituição orto-diidroxil e uma

ligação dupla em uma posição específica, representando uma importante função na propriedade antioxidante da cumarina simples. Para apresentar alguma atividade antioxidante, apenas um grupo hidroxila na posição 7 das cumarinas simples é necessário. Já alguma substituição entre C6-C8, incluindo grupos glicosídeos ou metóxi, talvez reduza sua capacidade antioxidante frente a radicais (WU *et al.*, 2007). Cumarinas simples com hidroxilas na posição 7 e cumarinas fenólicas podem estar presentes nas amostras de guaco de Vargem Alta e Córrego do Sete, enquanto as cumarinas com substituições entre C6-C8 e orto-substituídas podem ser encontradas em amostras de Jucuruaba. De fato, todas as tinturas de Guaco apresentam perfis químicos semelhantes em análises cromatográficas e espectrométricas, porém, as hipóteses apontam os diferentes tipos de substituições e a quantificação da cumarina e derivados, por apresentarem diferença das atividades antioxidantes.

Gráfico 4: Percentual de atividade antioxidante da tintura etanólica da *Mikania glomerata* S., coletada em diferentes localidades do Espírito Santo



Fonte: próprio autor

5 CONCLUSÕES

As plantas *Plantago sp*, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Mikania glomerata* Sprengel e *Mentha sp*, coletadas em diferentes localidades do Estado do Espírito Santo, apresentaram em sua composição características de flavonoides, di e triterpenos, ácidos graxos e marcadores químicos como a cumarina, identificados

por metodologias cromatográficas e espectrométricas. Praticamente todas as plantas analisadas apresentaram atividade antioxidante, evidenciando a potencialidade de cada localidade estudada, para o plantio de plantas medicinais, amplamente utilizadas pela medicina popular. Logo, este estudo estimula a pesquisa com essas e outras plantas medicinais utilizadas pela população e contribui com a importância de estimular o comércio e o desenvolvimento da agricultura familiar capixaba.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da CNPq e com o da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ANSM. **Pharmacopée française - Préparations homéopathiques - Français - ANSM** : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. França, 2019.
- ARRUDA, M. O. *et al.* The Hydroalcoholic Extract Obtained from *Mentha piperita* L. Leaves Attenuates Oxidative Stress and Improves Survival in Lipopolysaccharide-Treated Macrophages. **Journal of Immunology Research**, v. 2017, 2017.
- BARBIERI, D. S. V *et al.* Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. **Archives of Oral Biology**, v. 9, n. 59, p. 1–10, 2014.
- BRASIL. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2006.
- BRASIL. **Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao Sistema Único**

- de Saúde (Renisus), 2009.** Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/politica-e-programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos/plantas-medicinais-de-interesse-ao-sus-renisus>>. Acesso em: 22 de maio de 2020.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira - 5^o Edição. **Ministério da Saúde**, v. 2, p. 545, 2010.
- BRASIL. Plano de Desenvolvimento do Estado do Espírito Santo. **Governo do Estado do Espírito Santo**, v. 7, 2013.
- BRASIL. Monografia da espécie *Plantago major* L. (Tanchagem). **Ministério da Saúde**, v. 5, p. 78, 2014.
- BRASIL. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. 2016. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/politica-e-programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos>>. Acesso em: 22 de maio de 2020.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira - 6^a edição. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA**, v. 1, 2019.
- CZELUSNIAK, K. E. *et al.* Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: Revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 2, p. 400–409, 2012.
- DE CASTRO, E. M. *et al.* Coumarin contents in young *Mikania glomerata* plants (guaco) under different radiation levels and photoperiod. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 25, n. 3, p. 387–392, 2006.
- DE FIGUEREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. A política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos: Construção, perspectivas e desafios. **Physis**, v. 24, n. 2, p. 381–400, 2014.
- DIMECH, G. S. *et al.* Avaliação do extrato hidroalcoólico de *Mentha crispera* sobre a performance reprodutiva em ratos Wistar Gustavo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 152–157, 2006.
- GASPARETTO, J. C. *et al.* *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: Estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 627–640, 2010.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.
- GOMES, R. B. DE A. *et al.* Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 143, n. May 2019, p. 111430, 2020.
- HOULT, J. R. S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**, v. 27, n. 4, p. 713–722, 1996.
- KARTINI, P. S. *et al.* Effects of *Plantago major* extracts and its chemical compounds on proliferation of cancer cells and cytokines production of lipopolysaccharide-activated THP-1 macrophages. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, n. 62, p. 393–399, 2017.
- MAFFEI, M.; SCANNERINI, S. Seasonal

variations in fatty acids from non-polar lipids of developing peppermint leaves. **Phytochemistry**, v. 31, n. 2, p. 479–484, 1992.

MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 8, p. 619–633, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. **Plantas Medicináveis e Fitoterápicos Política e Programa nacional de**. [s.l.: s.n.].

MORETI, D. L. C. *et al.* Mikania glomerata Sprengel extract and its major compound ent-kaurenoic acid display activity against bacteria present in endodontic infections. **Anaerobe**, v. 47, p. 201–208, 2017.

NOIPA, T. *et al.* New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. **Food Research International**, v. 44, n. 3, p. 798–806, 2011.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. D. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 146–152, 2012.

PILATTI, D. M. *et al.* Comparison of the phytochemical profiles of five native plant species in two different forest formations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 2, p. 233–242, 2018.

RUFATTO, L. C. *et al.* Mikania laevigata: Chemical characterization and selective cytotoxic activity of extracts on tumor cell lines. **Phytomedicine**, v. 20, n. 10, p. 883–889, 2013.

SALES, M. D. C. **Avaliação e Caracterização de Insumos Bioativos da**

Aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi) com Potencial Econômico para o Desenvolvimento Tecnológico de Bioprodutos. Universidade Federal do Espírito Santo, 2013.

SALES, M. N. G. *et al.* Revalorizando as pequenas criações na agricultura familiar capixaba. **Revista Agriculturas**, v. 2, p. 1–36, 2005.

SANTANA, J. S.; SARTORELLI, P.; LAGO, J. H. G. Isolamento e avaliação do potencial citotóxico de derivados fenólicos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2245–2248, 2012.

SANTOS, G. A.; BREZAN, M. A.; SERRA, L. Z. Influência do Cultivo na Produção de Biomassa, Teor e Composição do Óleo Essencial de *Mentha spicata*. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 8, n. 3, p. 19–25, 2013.

SCHEID, T. *et al.* Effects of Methanol Fraction from Leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi on Nociception and Spinal-Cord Oxidative Biomarkers in Rats with Neuropathic Pain. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 201, 2018.

VILEGAS, J. H. Y.; DE MARCHI, E.; LANÇAS, F. M. Determination of coumarin and kaurenoic acid in Mikania glomerata ('guaco') leaves by capillary gas chromatography. **Phytochemical Analysis**, v. 8, n. 2, p. 74–77, 1997.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2º ed. Nova Iorque: Springer, 1996.

WU, C. R. *et al.* Antioxidant properties of Cortex Fraxini and its simple coumarins. **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1464–1471, 2007.