

- Evans, H.; Hostettmann, K. Antibacterial phloroglucinois and flavonoids from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 1447-1452, 1995.
- <sup>14</sup> Rocha, L.; Marstom, A.; Kaplan, M.A.C.; Stoeckli-Evans, H.; Thull, U.; Testa, B.; Hostettmann, K. An antifungal g-pyrone and xanthenes with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, v. 36, p. 1381-1385, 1994.
- <sup>15</sup> Rocha, L. Estudo químico e farmacológico de *Hypericum brasiliense*. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1991. Dissertação de Mestrado.
- <sup>16</sup> Rocha, L.; Kaplan, M.A.C. Metodologia sistemática para pesquisa de hypericina em plantas. *Tribuna Farmacêutica*, v. 57-59, n. 1-3, p. 21-22, 1991.

**\*Autor para correspondência:**

Prof. Dr. Leandro Machado Rocha  
Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais  
Faculdade de Farmácia  
Universidade Federal Fluminense  
Rua Mário Viana, 523- Santa Rosa  
CEP 24241-002 - Niterói (RJ)  
E-mail : farm@cruiser.com.br  
Telefax: (21)2610-7969

## Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira)

Julião, L.S.<sup>1</sup>; Tavares, E.S.<sup>1,3</sup>; Lage, C.L.S.<sup>2,3</sup>; Leitão, S.G.<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biologia, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>2</sup> Instituto de Biofísica, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>3</sup> Programa de Biotecnologia Vegetal, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>4</sup> Faculdade de Farmácia, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro

### Resumo

O presente trabalho apresenta os cromatogramas em camada fina dos óleos essenciais, do extrato etanólico e do extrato diclorometano de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba*. Os quimiotipos foram denominados I, II e III para as diferenças no constituinte majoritário dos seus óleos essenciais: citral, carvona e linalol, respectivamente. O óleo e os extratos foram comparados com padrões de citral, carvona e linalol. Etanol e diclorometano podem ser usados para extração desde que ambos os extratos tenham perfis cromatográficos semelhantes. Não houve nenhuma diferença entre os extratos de folhas frescas e secas. Os resultados mostram uma rápida e eficiente identificação dos três quimiotipos através da cromatografia de camada fina.

### Abstract

The present work shows the thin layer chromatography of the essential oils, the ethanolic extract and the dicloromethane extract obtained from leaves of three chemotypes of *Lippia alba*. The chemotypes were denominated chemotype I, II and III for the differences in the majoritary compound of their essential oils: citral, carvone and linalol, respectively. The oil and the extracts were compared with standards of citral, carvone and linalool. Ethanol and dicloromethane can be used for extraction since both extracts have similar cromathographic profiles. There was no difference between extracts of fresh and dried leaves. The results show a fast and efficient identification of the three chemotypes by thin layer chromatography.

O nome popular "cidreira" é empregado no Brasil para designar espécies de várias famílias botânicas, cujas folhas apresentam cheiro semelhante ao do limão, sendo utilizadas na medicina tradicional em substituição à *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (Verbenaceae), uma das "ervas-cidreiras", é uma planta arbustiva que habita praticamente todas as regiões do Brasil, onde é utilizada na forma de chás, macerada, em compressas, banhos ou extratos alcoólicos, por suas propriedades antiespasmódica, antipirética, antiinflamatória, emenagoga, diaforética, estomáquica, analgésica e sedativa,

aliadas à sua baixa toxicidade. Tais propriedades devem-se aos seus constituintes ativos, dentre eles o óleo essencial.

A composição do óleo essencial de *L. alba* varia de tal forma, que foi sugerida a nomenclatura de quimiotipos, separados por seus elementos predominantes: 1,8-cineol<sup>1</sup>; carvona<sup>2</sup>; diidrocarvona<sup>3</sup>; g-terpineno<sup>4</sup>; limoneno<sup>1</sup>; citral<sup>1,5,2</sup>; cânfora<sup>6</sup>; d,l-limoneno<sup>7</sup>; piperitona<sup>7</sup>; β-cariofileno<sup>8</sup> e linalol<sup>9</sup>. Foi constatado que alguns dos quimiotipos apresentam também diversidade morfológica, especialmente no tamanho, textura das folhas, tamanho e coloração das flores<sup>10</sup>.

No presente trabalho, foi utilizada a cromatografia em camada fina dos óleos essenciais e dos extratos em etanol e em diclorometano para separar os três quimiotipos de *L. alba*, denominados quimiotipos I, II e III, com base no elemento majoritário do óleo essencial extraído de suas folhas: o citral, a carvona e o linalol, respectivamente.

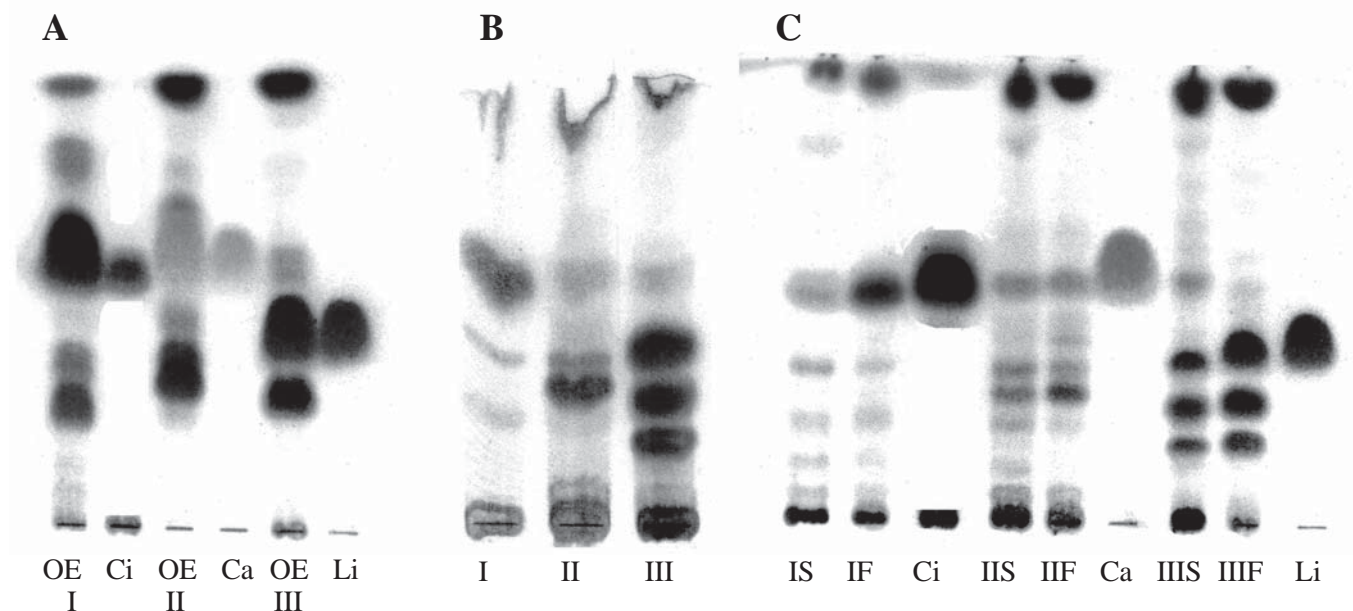
O citral apresenta atividade fungicida sobre *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* e *Candida albicans*<sup>5</sup>, toxicidade sobre *Acarapis woodi*, parasita de abelhas produtoras de mel<sup>8</sup> e é utilizado como aromatizante em produtos de uso doméstico. A carvona possui ação nematocida sobre larvas de *Meloidogyne jamaica*<sup>11,12</sup>. O linalol é um dos monoterpenos mais utilizados na indústria de perfumaria<sup>9</sup> e

apresenta efeito depressor sobre o sistema nervoso central, resultando em propriedades hipnóticas, hipotérmicas e anticonvulsivantes<sup>13, 14, 15</sup>.

A Figura 1 mostra os cromatogramas em camada fina dos óleos essenciais e dos extratos obtidos em etanol e em diclorometano dos três quimiotipos de *Lippia alba*, comparados com os padrões de citral, carvona e linalol<sup>16</sup>. Os extratos preparados com etanol mostraram perfis cromatográficos similares àqueles dos preparados com diclorometano. Dessa forma, conclui-se que os dois solventes podem ser utilizados eficazmente como líquidos extratores para a diferenciação dos referidos quimiotipos.

A secagem prévia do material botânico não prejudicou a diferenciação cromatográfica dos extratos em diclorometano dos três quimiotipos, já que as bandas referentes aos elementos predominantes de cada óleo essencial estão presentes nos dois tratamentos (figura 1, C).

Os resultados demonstraram ser possível a identificação rápida e eficaz dos diferentes quimiotipos de *L. alba*, através de seus extratos e óleos essenciais, por cromatografia em camada fina, podendo desta forma, ser utilizada para a correta e rápida identificação de cada um dos diversos quimiotipos existentes.



**Figura 1.** Cromatogramas: A- Óleos essenciais (OE) dos quimiotipos I, II e III e padrões de citral (Ci), carvona (Ca) e linalol (Li); B- Extratos etanólicos dos quimiotipos I, II e III; C- Extratos em diclorometano de folhas secas (S) e frescas (F) dos quimiotipos I, II e III, com padrões de citral, carvona, e linalol.

#### Material e Métodos

**Material Vegetal:** Os três quimiotipos de *Lippia alba* são provenientes da cidade do Rio de Janeiro (I), do estado do Ceará (II), e da cidade de Valinhos, no interior do estado de São Paulo (III). Exsiccatas foram depositadas no Herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UFRJ (RFA), registradas sob os números 29421, 29422 e 29423, respectivamente. Estacas já enraizadas de cada um dos quimiotipos foram introduzidas no Horto do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da

UFRJ, onde foram cultivadas por um período de seis meses.

**Extrato Etanólico:** Cerca de 50 g de folhas frescas foram extraídas exaustivamente com etanol, por maceração à temperatura ambiente. Após filtração o extrato foi concentrado sob pressão reduzida, até consistência xaroposa.

**Extratos em Diclorometano:** Cerca de 0,5 g de folhas frescas e de 0,5 g de folhas secas à temperatura ambiente por 7 dias foram extraídas com 2 x 10 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, sob agitação, por 15 minutos.

Após filtração, o CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub> foi evaporado e o resíduo retomado em 1 ml de CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>.

**Óleos essenciais:** Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação de 100 g de folhas de cada quimiotipo de *L. alba*, em aparelho de Clevenger, durante duas horas. Os óleos obtidos foram diluídos na proporção de 1:10 com tolueno para aplicação na CCF.

**Padrões:** Os padrões de citral, carvona e linalol foram diluídos na proporção de 1:30 com tolueno para aplicação na CCF.

**Cromatografia em Camada Fina:** A cromatografia em camada fina foi feita em placas de sílica GF<sub>254</sub>. Como eluente foi utilizada uma mistura de tolueno e acetato de etila (93:7). Foram aplicados 25 µl dos extratos e 5 µl dos padrões. Para a revelação foi utilizada vanilina sulfúrica, seguida de aquecimento<sup>16</sup>.

### Referências

- Zoghbi, M.G.B.; Andrade, E.H.A.; Santos, A.S.; Silva, M.H.; Maia, J.G.S. Essential oils of *Lippia alba* (Mill) N. E. Br Growing wild in the brasilian Amazon. Flavour and Fragrance Journal, v. 13, p. 47-48, 1998.
- Matos, F.J.A.; Machado, M.I.L.; Craveiro, A.A.; Alencar, J.W. Essential oil composition of two chemotypes of *Lippia alba* grown in northeast Brazil. Journal of Essential Oil Research, v. 8, p. 695-698, 1996.
- Fester, G.; Retamar, J.; Ricciardi, A.; Cassano, A. La esencia de *Lippia alba* de Isla Puente (y de Villa Ana). Revista de la Facultad de Ingenieria Química, XXX, p. 5-10, 1961.
- Gomes, E.C.; Ming, L.C.; Moreira, E.A; Miguel, O.G.; Miguel, M.D.; Kerber, V.A.; Conti, A.; Filho, A.W. Constituents of the essential oil from *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. (Verbenaceae), Revista Brasileira de Farmácia, v. 74, p. 29-32, 1993.
- Fun, C.E; Svendsen, A.B. The essential oil of *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. Journal of Essential Oil Research, v. 2, p. 265-267, 1990.
- Delacassa, E.; Soler, E.; Menendez, P.; Moyna, P. Essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown and *Aloysia chamaedrifolia* Cham. (Verbenaceae) from Uruguai. Flavour and Fragrance Journal, v. 5, p. 107-108, 1990.
- Fester, G.A.; Martinuzi, E.A.; Ricciardi, A. I. Anales de la Asociacion Quimica Argentina, v. 42, p. 43, 1954.
- Craveiro, A.; Alencar, J.W.; Matos, F.J.A.; Andrade, C.H.S.; Machado, M.I.L. Essential oils from brasilian Verbenaceae Genus *Lippia*. Journal of Natural Products, v. 44, n. 5, p. 598-601, 1981.
- Frighetto, N.; Oliveira, J.G.; Siani, A.C.; Chagas, K.C. *Lippia alba* Mill N. E. Br. (Verbenaceae) as a source of linalool. Journal of Essential Oil Research, v. 10, p. 578-580, 1998.
- Matos, F.J.A. As ervas cidreiras do Nordeste do Brasil. Estudo de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) Parte II - Farmacoquímica. Rev. Bras. Farm., v. 77, n. 4, p. 137-141, 1996.
- Ellis, M.D. ; Baxendale, F. P. Toxity of seven monoterpenoids to tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) and their honey bee (Hymenoptera : Apidae) hosts when applied as fumigants. Journal of Economic Entomology, v. 90, n. 5, p. 1087-1091, 1998.

<sup>12</sup> Oka, Y.; Nacar, S.; Putievsky, E.; Ravid, U.; Zohara, Y.; Spiegel, Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root nemathode. Phytopatology, v. 90, n. 7, p. 710-715, 2000.

<sup>13</sup> Elizabetszy, E.; Silva Brum, L.F.; Souza, D.O. Anticonvulsivant properties of linalool in glutamate-related seizure models. Phytomedicine, v. 6, n. 2, p. 107-113, 1999.

<sup>14</sup> Ghelardini, C.; Galeotti, N.; Salvatore, G.; Mazzanti, G. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavanda angustifolia*. Planta Medica, v. 65, n. 8, p. 700-703, 1999.

<sup>15</sup> Re, L.; Barocci, S.; Sonnino, S.; Mencarelli, A.; Vivani, C.; Paolucci, G.; Scarpantonio, A.; Rinaldi, L.; Mosca, E. Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction. Pharmacological Research, v. 42, n. 2, p. 177-181, 2000.

<sup>16</sup> Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainsky, E.M. Plant drug analysis - a thin layer chromatographic atlas. Berlim, Alemanha: Springer-Verlag, 1984.

### \*Autor para correspondência:

Profa. Dra. Suzana G. Leitão  
Faculdade de Farmácia, UFRJ, CCS  
Bloco A - Ilha do Fundão  
CEP 21952-590 - Rio de Janeiro (RJ)  
E-mail: sgleitao@pharma.ufrj.br