



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA.
CURSO DE GRADUAÇÃO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

Raquel da Silva Pereira Costa

Análise dos constituintes químicos do extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* sp. por GC-MS

Araguaína, TO

2023

RAQUEL DA SILVA PEREIRA COSTA

Análise dos constituintes químicos do extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* sp. por GC-MS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Integradas (CCI Cimba) para obtenção do título de licenciada em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Adriana Idalina Torcato de Oliveira.

Araguaína, TO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

CS37a Costa, Raquel da Silva Pereira.

Análise dos constituintes químicos do extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* sp. por GC-MS. / Raquel da Silva Pereira Costa. – Araguaína, TO, 2023.

61 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Química, 2023.

Orientadora : Adriana Idalina Torcato de Oliveira

1. Espécie vegetal. 2. Propriedades terapêuticas. 3. Potencial medicinal. 4. Saião. I. Título

CDD 540

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).


Raquel da Silva Pereira Costa

Análise dos constituintes químicos do extrato etanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* sp. por GC-MS


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Centro de Ciências Integradas (CCI Cimba) para obtenção do título de licenciada plena em Química e aprovado em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 07/12/2023.


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ADRIANA IDALINA TORCATO DE OLIVEIRA**
Data: 15/12/2023 18:06:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professora Orientadora
Profa. Dra. Adriana Idalina Torcato de Oliveira

Documento assinado digitalmente
 **FLAMYS LENA DO NASCIMENTO SILVA**
Data: 15/12/2023 19:46:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professora Avaliadora 1
Profa. Dra. Flamys Lena Nascimento Silva

Documento assinado digitalmente
 **EDENILSON DOS SANTOS NICULAU**
Data: 15/12/2023 21:04:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Avaliador 2
Prof. Dr. Edenilson dos Santos Niculau

Dificuldades são oportunidades disfarçadas de crescimento.

AGRADECIMENTOS

Com grande gratidão dedico este trabalho aos pilares da minha jornada acadêmica e pessoal: meus queridos pais e avó, meu amado companheiro, meus grandes amigos e ilustres professores. A vocês, meus pais, Leides e José e minha avó Cândida, devo tudo o que sou. Obrigada por seu amor incondicional, apoio e sacrifícios que fizeram para me proporcionar a oportunidade de estudar. Suas palavras de encorajamento e confiança foram minha força motriz. Sem a base sólida que vocês me deram, este trabalho não seria possível.

A meu esposo, Wellington, cujo amor e compreensão foram inabaláveis durante esta jornada, quero expressar minha mais profunda gratidão. Você foi minha âncora nos momentos turbulentos, meu maior incentivador nos momentos de dúvida e meu parceiro inestimável ao longo deste caminho. Sua presença constante tornou este desafio mais fácil de enfrentar.

Aos meus amigos Kelma, Camila, Keila, Jandiarya, Gabriella e Karielly, que estiveram ao meu lado desde o início, compartilhando minhas alegrias e frustrações, com suas palavras de encorajamento, apoio emocional e momentos de descontração, desempenharam um papel vital na minha jornada acadêmica e pessoal. Este trabalho é um reflexo do amor, apoio e amizade que recebi de vocês ao longo dos anos. Muito obrigada por fazerem parte desta conquista e por estarem sempre ao meu lado.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão aos professores que me guiaram e apoiaram ao longo desta jornada acadêmica. Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, Adriana Idalina Torcato de Oliveira. Suas valiosas críticas e conselhos moldaram a qualidade deste estudo e, estou imensamente grata por sua dedicação em compartilhar seu conhecimento comigo. Agradeço também aos demais professores que me inspiraram e me desafiaram ao longo dos anos. Cada um de vocês contribuiu para o meu crescimento acadêmico e pessoal, proporcionando as bases sólidas necessárias para este projeto. Suas aulas, palestras, e discussões enriqueceram minha compreensão do assunto e me motivaram a buscar a excelência. Por fim, agradeço a esta instituição de ensino e a todos os funcionários que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação. Sem a infraestrutura, recursos e suporte oferecidos por esta instituição, este trabalho não teria sido possível.

Com gratidão eterna!

RESUMO

Bryophyllum pinnatum sp., planta originária da região africana de Madagascar, mas amplamente disseminada na região subtropical do Brasil, é popularmente conhecida como saião, coirama, folha da fortuna e folha santa, sendo utilizada na medicina popular devido às suas notáveis propriedades analgésica, anti-inflamatória e cicatrizante. Em contrapartida, o estudo do perfil químico desta espécie medicinal é pouco explorado no cenário nacional. Nesse sentido, destaca-se a presente pesquisa, com o intuito de contribuir com os dados de elucidação química existentes na literatura. A partir das partes aéreas frescas, objetivou-se determinar qualitativamente os compostos químicos responsáveis pelas propriedades terapêuticas da espécie vegetal, sendo obtido o extrato etanólico das folhas com uso de extrator Soxhlet e, após a partição com diferentes solventes, foi realizada a análise por GC-MS. Os resultados obtidos traçam um perfil químico significativo, que incluem compostos com potencial anticancerígeno (Jaceosidina), antimicrobiano (Gondamida), com ação no sistema nervoso (Oleamida) e, também diversos ácidos graxos (como ácido linoléico, ácido palmítico, ácido mirístico) que estão diretamente relacionados às propriedades medicinais anti-inflamatório, anti-diabética e anti-hipertensiva da espécie.

Palavras-chaves: Espécie vegetal, propriedades terapêuticas, potencial medicinal, saião.

ABSTRACT

Bryophyllum pinnatum sp., a plant native to the African region of Madagascar but widely disseminated in the subtropical region of Brazil, is popularly known as "saião," coirama, leaf of fortune and holy leaf. It is used in folk medicine due to its remarkable analgesic, anti-inflammatory, and cicatrizing properties. However, the study of the chemical profile of this medicinal species is relatively unexplored in the national scenario. In this context, the present research stands out with the aim of contributing to the existing chemical elucidation data in the literature. From fresh aerial parts, the objective was to qualitatively determine the chemical compounds responsible for the therapeutic properties of the plant species. The ethanolic extract of the leaves was obtained using a Soxhlet extractor, and after partitioning with different solvents, GC-MS analysis was performed. The results obtained reveal a significant chemical profile, including compounds with anticancer potential (Jaceosidin), antimicrobial activity (Gondamid), action on the nervous system (Oleamide), and various fatty acids (such as linoleic acid, palmitic acid, myristic acid) directly related to the anti-inflammatory, anti-diabetic, and anti-hypertensive medicinal properties of the species.

Keywords: Plant species, therapeutic properties, medicinal potential, saião.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1: Aspecto foliar das folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> (A) e <i>Bryophyllum pinnatum</i> (B).....	15
Figura 2: Folhas (A) e inflorescências (B) de <i>Kalanchoe laciniata</i> sp.....	15
Figura 3: Folhas (A) e inflorescências (B) <i>Bryophyllum pinnatum</i> sp.....	15
Figura 4: Inflorescências e pétalas de <i>B.pinnatum</i>	16
Figura 5: Esquema do extrator Soxhlet.....	23
Figura 6: Esquema da técnica Clevenger.....	24
Figura 7: Esquema da técnica hifenada GC-MS.....	28
Figura 8: Nomenclatura de ácidos graxos.....	30
Figura 9: Rota metabólica de produtos secundários.....	35
Imagem 1: Fluxograma com as etapas para a separação e identificação química de folhas frescas de <i>B. pinnatum</i> cultivadas em jardim privado em Araguaína-TO.....	39
Figura 10: Cromatograma de íons totais para a fração hexânica.....	40
Figura 11: Cromatograma de íons totais para a fração de acetato de etila.....	40
Figura 12: Compostos majoritários no EHS.....	45
Figura 13: Compostos majoritários no EAS.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atividades farmacológicas <i>in vitro</i> apontadas para <i>B. pinnatum</i>	17
Tabela 2: Atividades farmacológicas <i>in vivo</i> apontadas para <i>B. pinnatum</i>	18
Tabela 3: Relação de ácidos graxos descritos na literatura.....	31
Tabela 4: Listagem de compostos obtidos da análise GC-MS para as frações EHS e EAS...	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
<i>B. pinnatum</i>	<i>Bryophyllum pinnatum sp.</i>
<i>K. laciniata</i>	<i>Kalanchoe laciniata sp.</i>
CG	Cromatografia gasosa
FM	Fase móvel
FE	Fase estacionária
EM	Espectrômetro de massas
FID	Detector de ionização de chama
TCD	Detector de condutividade térmica
ECD	Detector de captura de elétrons
MSD	Detector seletivo de massas
MALDI	Ionização por dessorção a laser assistida por matriz
ESI	Ionização por electrospray
EI	Ionização por impacto eletrônico
TOF	Analisador de tempo de voo
QD	Analisador quadrupolar
CID	Detectors de íons de canal elétrico
SID	Detectors de íons secundários
ECD	Detectors de íons de conversão de elétrons
RID	Detectors de íons de índice de refração
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
EAS	Extrato acetato de etila saião
EHS	Extrato hexânico saião
RT	Tempo de retenção

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1	Espécie vegetal: Saião.....	14
2.1.1	Morfologia do saião.....	15
2.1.2	Utilização medicinal da espécie.....	17
2.1.3	Composição química do saião.....	20
2.2	Métodos de extração utilizados em folhas.....	22
2.3	Técnicas hifenadas.....	25
2.4	Ácidos graxos e metabólitos secundários.....	28
3	OBJETIVOS.....	37
3.1	Objetivo geral.....	37
3.2	Objetivos específicos.....	37
4	METODOLOGIA.....	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
6	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	ANEXOS.....	57

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), a definição de planta medicinal engloba as espécies vegetais, ou suas partes, que contenham substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis por ações terapêuticas (BRASIL, 2022). O uso de plantas medicinais é amplamente disseminado para tratamento e cura das mais diversificadas doenças. Esta prática é, sobretudo, oriunda de conhecimentos de povos tradicionais, que se utilizavam dos recursos naturais para alimentação, rituais religiosos e práticas medicinais. Esse conhecimento etnobotânico foi historicamente repassado por gerações e atualmente recorre-se a espécies vegetais como fonte de substâncias bioativas de interesse industrial e tecnológico, sobretudo para utilização na produção de novos fármacos (Asiwe, *et al.*, 2021).

A química de produtos naturais engloba a investigação de compostos químicos consideráveis em plantas ou animais, que de forma interdisciplinar relaciona-se com a química orgânica, com ciências biológicas e estudos farmacêuticos e se beneficia da biodiversidade brasileira. As técnicas de extração e elucidação são adaptadas de acordo com o material a ser trabalhado, sendo que no caso de plantas, seguem-se diversas etapas que envolvem a coleta, a extração, a purificação ou isolamento e a elucidação estrutural. O uso de técnicas hífenadas na química de produtos naturais, tais como, a cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS) e cromatografia líquida de alta resolução acoplada a espectrômetro de massas (HPLC-MS) e outras técnicas como cromatografia líquida de alta resolução acoplada a ressonância magnética nuclear (HPLC-RMN), permite o estudo do perfil químico da amostra trabalhada (Santos, *et al.*, 2016).

Na pesquisa com plantas para uso medicinal é frequente deparar-se com substâncias oriundas de relações intraespecíficas do metabolismo vegetal, estando associadas a fatores ecológicos como adaptação ambiental (que envolve sazonalidade, disponibilidade hídrica e de nutrientes, temperatura, altitude, entre outros), defesa a ameaças de herbívoros e reações atrativas para polinização (associados ao aroma, cor e sabor). Essas substâncias específicas são chamadas de metabólitos secundários, ou compostos fitoquímicos, e são distribuídas em três grandes grupos, conforme a rota metabólica adotada: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (Menezes, 2020). Os metabólitos secundários não desempenham um papel direto nas funções metabólicas essenciais para a sobrevivência e crescimento do organismo produtor. Todavia, são largamente pesquisados pelas possíveis aplicações industriais, que incluem o desenvolvimento de novos fármacos, cosméticos e o uso como flavorizante em alimentos industrializados (Taiz; Zeiger, 2010).

A espécie *Bryophyllum pinnatum* sp. pertencente à família Crassulaceae, é uma planta que tem atraído considerável interesse pelos cientistas devido às suas notáveis propriedades medicinais e extensa aplicabilidade. É conhecida popularmente como saião, folha da fortuna ou/e folha santa, sendo utilizada em diversas culturas para tratar uma variedade de condições de saúde. As folhas suculentas contêm compostos bioativos, como flavonoides e alcaloides, que conferem à planta propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e analgésicas, o que a torna uma opção valiosa na medicina herbal. Além disso, relatos anedóticos e estudos científicos preliminares sugerem que a planta também pode ser benéfica no auxílio ao tratamento de queimaduras leves, feridas cutâneas, distúrbios gastrointestinais e respiratórios (Fernandes, *et al.*, 2019).

Concernente a essas propriedades terapêuticas relatadas, espera-se que a planta possua um perfil químico diversificado, contendo compostos que abrangem desde ácidos graxos, até a compostos fitoquímicos com potencial anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano. Segundo os estudos bibliográficos de Fernandes *et al.* (2019), em extrações com acetato de etila é comum encontrar compostos fenólicos, como flavonóides para a espécie mencionada. Já com extrato hexânico não há relatos precisos.

Apesar do extenso uso na medicina tradicional e pelo reconhecimento como uma espécie vegetal com potencial farmacológico, pelo programa RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde) (BRASIL, 2022), poucos estudos sobre os aspectos químicos e farmacológicos da espécie *B. Pinnatum* e suas derivadas são relatados na literatura, sendo que seus constituintes não foram totalmente elucidados (Fernandes, *et al.*, 2019). Nesse aspecto, reitera-se a importância da presente pesquisa, com abordagem etnofarmacológica, em analisar uma planta com tão grande potencial biotecnológico.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Espécie vegetal: Saião

A família Crassulaceae, pertencente à classificação das angiospermas, compreende aproximadamente 35 gêneros e 1500 espécies distribuídas em regiões temperadas e tropicais do planeta, contemplando 6 subfamílias. Plantas desta família assimilam o CO₂ através de ácidos crassuláceo (CAM) predominantemente durante a noite e convertem em carboidratos durante o dia, sendo esta a principal característica desse grupo, compreendendo uma adaptação evolutiva da via da fotossíntese assimilação de carbono (Chibli, 2013).

Espécies da família Crassulaceae são cultivadas para fins ornamentais e medicinais. Dentre as espécies pertencentes a essa família encontram-se *Bryophyllum pinnatum sp.* e *Kalanchoe laciniata sp.*, ambas são tidas como similares morfológicamente por suas características (Fernandes, *et al.*, 2019).

Bryophyllum pinnatum sp., com sinónimas de *Kalanchoe pinnata sp.* e *Bryophyllum calycinum Salisb.*, é popularmente designada por saião, folha da fortuna, coirama ou folha santa, é uma espécie de suculenta nativa de Madagascar, que possui ampla disseminação no território brasileiro, sendo listada pela Anvisa como um fitoterápico potencial. Além disso, também é encontrada em diversas regiões temperadas e subtropicais do planeta, como: Nigéria, África do Sul e Austrália. É largamente utilizada como planta medicinal para tratamento de diversas condições de saúde, sendo encontrada sobretudo em regiões de clima subtropical (Chibli, 2013).

Kalanchoe laciniata sp., também chamada de *Kalanchoe crenata* e *Kalanchoe brasiliensis*, é considerada a derivada brasileira do saião africano, possuindo semelhantes propriedades terapêuticas, bem como, sendo designada pelos mesmos nomes populares, contudo apresentando algumas diferenças morfológicas, no que tange ao aspecto foliar e inflorescências. Diferente da espécie *B. pinnatum*, a *K. laciniata sp.* tem ampla distribuição em todas as regiões brasileiras (Chibli, 2013).

Devido a diversos aspectos semelhantes, como características morfológicas e utilização medicinal, as duas espécies são geralmente confundidas e erroneamente identificadas (Chibli, 2013) (Fernandes, *et al.*, 2019).

Neste estudo, trataremos unicamente da caracterização química da espécie *B. pinnatum*, devido ao acesso da planta na região de estudo.

2.1.1 Morfologia do saião

As características botânicas da espécie *B. pinnatum* incluem o aspecto de hortaliça perene podendo atingir até 60 cm de altura, com folhas suculentas de aproximadamente 15 cm de comprimento, com filotaxia oposta-cruzada e possuindo bordas crenadas; as inflorescências são pendentes, tubulares e hermafroditas (Fernandes, *et al.*, 2019).

As folhas apresentam aspecto decussate, isto é, significativamente crenada, na espécie *B. pinnatum* (figura 1-B) e aspecto oval na espécie *K. brasiliensis* (Figura 1-A), sendo o tamanho da folha variável em um mesmo espaço da planta, podendo atingir até 30 cm de comprimento. Além disso, as folhas carnudas costumam gerar os novos ramos (propágulos - plântula em miniatura) na extremidade foliar, que ao entrarem em contato com o solo originam uma nova planta adulta, representando a forma de reprodução vegetativa da planta (Fernandes, *et al.*, 2019).

Figura 1: Aspecto foliar das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* (A) e *B. pinnatum* (B).



Fonte: FERNANDES, et al., 2019.

As figuras 2 e 3 permitem diferenciar a espécie *Kalanchoe laciniata* sp. da *Bryophyllum pinnatum* sp. por meio da inflorescência específica de cada espécie.

Fig. 2: Folhas (A) e inflorescências (B) de *Kalanchoe laciniata* sp.

Fig. 3: Folhas (A) e inflorescências (B) de *Bryophyllum pinnatum* sp.



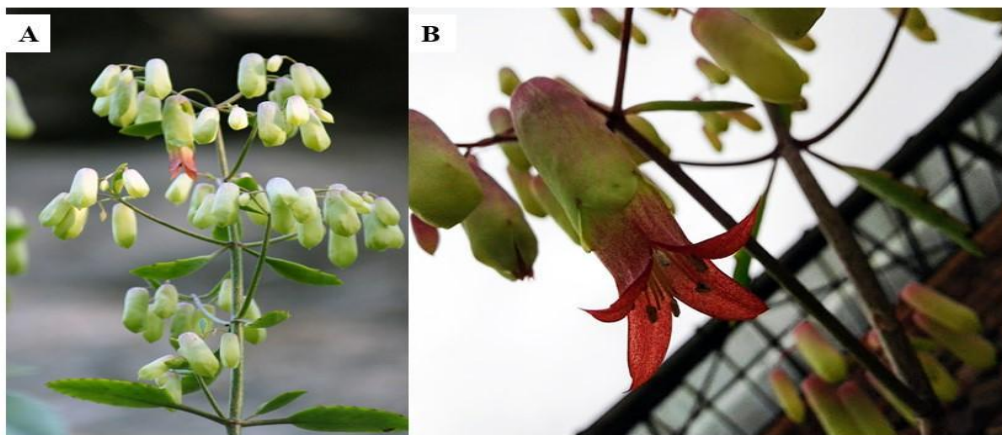
Fonte: FERNANDES, et al., 2019.

As inflorescências decorrente de *B. pinnatum* (Figura 3-B) são do tipo panículas terminais, sendo as flores tetrâmeras, tubulares e pendentes, com cálice e corola voltados para baixo (sendo por isto a planta designada como saião pela semelhança das suas inflorescências com saias). O cálice possui uma mistura de coloração verde na parte superior (base) e vermelho-roxeado na parte inferior, devido à exposição ao sol. Acrescido a isto, a corola é branca esverdeadas basalmente (onde envolta pelo cálice), mas vermelhas, arroxeadas ou roxas esverdeadas acima onde expostas além do cálice (Marinho; Cordeiro, 2020).

As inflorescências são consideradas hermafroditas, monopétaladas, possuindo nectários na base do gineceu e o néctar secretado fica alojado na base da flor, na parede interior das pétalas. Seus frutos são raramente observados. A forma de reprodução sexuada da planta é através da dispersão de sementes por polinizadores (Chibli, 2013) (Fernandes, *et al.*, 2019).

A figura 4 ilustra como as pétalas (parte avermelhada) da espécie são protegidas pelas sépalas (em verde) e, quando abertas, as pétalas demonstram suas estruturas reprodutoras, atraindo também polinizadores.

Fig. 4: a) Inflorescências de *B. pinnatum*. b) Abertura das pétalas de *B.pinnatum*.



Fonte: <https://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/kalanchoe-pinnata-lam-pers.>

Em contrapartida, a inflorescência gerada por *K. brasiliensis* (Figura 2-B) é do tipo panícula, apresentando flores abundantemente, dispostas em cachos, com cores amarelo-alaranjada, sendo hermafroditas, gamopétalas com corola mais longa que o copo, com a presença de carpelos escamosos que se tornam folículos polispérmicos (FERNANDES, *et al.*, 2019).

2.1.2 Utilização medicinal da espécie

Considerando que as folhas são a parte da planta mais utilizada, na forma de sucos, sumos e emplastos, em relação a *B. pinnatum*, os usos terapêuticos populares incluem: tratamento de doenças respiratórias e gástricas; tratamento para feridas cutâneas; queimaduras; diversas infecções bacterianas, virais e fúngicas; tratamento para hipertensão, diabetes e tumores (Fernandes *et al.*, 2019; Hegde, 2015; Asiwe, *et al.*, 2021; Chibli, 2013). Muitas outras utilizações secundárias são relatadas, mas essas variam culturalmente, não sendo consideradas de forma geral.

Estudos farmacológicos *in vitro* apontam diversas atividades terapêuticas que estão associadas aos usos populares da espécie vegetal (Tabela 1).

Tabela 1: Atividades farmacológicas *in vitro* apontadas para *B. pinnatum*.

Atividade farmacêutica	Referências
Potencial Antibacteriano e antifúngico	Akinpelu (2000); Aqil; Ahmad (2003), Akinsulire <i>et al.</i> , (2007); Jain <i>et al.</i> , (2010); Chowdhury <i>et al.</i> , (2011); Nwadinigwe, (2011); Biswas <i>et al.</i> , (2012); Tatsimo <i>et al.</i> , (2012), Sharker <i>et al.</i> , (2012); Sharma <i>et al.</i> (2014); Mabeku <i>et al.</i> , (2017)
Antiparasitário	Muzitano <i>et al.</i> (2006a), Alhaji <i>et al.</i> , (2014), Agyare <i>et al.</i> , (2014)
Antiviral	Aoki <i>et al.</i> , (2014)
Anti Leishmaniose	Muzitano <i>et al.</i> (2006a)
Antiplasmodial	Singh <i>et al.</i> , (2015)
Antioxidante	Harlalka <i>et al.</i> , (2007), Gupta <i>et al.</i> , (2009); Jain <i>et al.</i> , (2010); Majaz <i>et al.</i> (2011); Sharker <i>et al.</i> , 2012, Tatsimo <i>et al.</i> , 2012, Alhaji <i>et al.</i> , (2014), Sharma <i>et al.</i> , (2014), Nascimento <i>et al.</i> , (2015), Phatak; Hendre, (2015a), Gupta <i>et al.</i> , (2015), Mabeku <i>et al.</i> , (2017), Hara <i>et al.</i> , (2018)
Imunomodulador	Cruz <i>et al.</i> , (2008); Cruz <i>et al.</i> , (2012)
Antiproliferativo	Almeida <i>et al.</i> , (2000)
Antitrombolítico	Sharker <i>et al.</i> , (2012)
Atividade Antirolítica	Yasir; Waqar, (2011), Phatak; Hendre, (2015b)

Atividade Tocolítica	Gwehenberger <i>et al.</i> , (2004), Simõeswüst <i>et al.</i> , (2010); Wächter <i>et al.</i> , (2011)
Anticâncer	Obaseiki-Ebor, <i>et al.</i> , (1993), Umbuzeiro-Valent <i>et al.</i> , (1999), Supratman <i>et al.</i> , (2001), Mahata <i>et al.</i> , (2012)
Hepatoprotetora	Yadav; Dixit, (2003)
Atividade Acetilcolinesterase	Feitosa <i>et al.</i> , (2011)
Antidiabético	Matthew <i>et al.</i> , (2013a)
Atividade Fosfolipásica	Fernandes <i>et al.</i> , (2016)

Fonte: Adaptado de Fernandes, et al (2019).

Em relação aos estudos farmacológicos *in vivo* foi observado que esta espécie apresenta:

Tabela 2: Atividades farmacológicas *in vivo* apontadas para *B. pinnatum*.

Atividade farmacêutica	Referências
Atividade Gastroprotetora com destaque para Antiulcerativa	Pal; Chaudhuri, (1991); Adesanwo <i>et al.</i> , (2007); Braz <i>et al.</i> , (2013); Sharma <i>et al.</i> , (2014b); Araújo <i>et al.</i> , (2018)
Anti Helicobacter pylori	Mabeku <i>et al.</i> , (2017)
Anti-Inflamatória	Ojewole, (2005); Gupta <i>et al.</i> , (2009); Afzal <i>et al.</i> , (2012); Chibli <i>et al.</i> , (2014); Ferreira <i>et al.</i> , (2014); Cruz <i>et al.</i> , (2008); Cruz <i>et al.</i> , (2012)
Cicatrizante De Feridas	Khan <i>et al.</i> , (2004); Nayak <i>et al.</i> , (2010); Lebedeva <i>et al.</i> , (2017); Zakharchenko <i>et al.</i> , (2017)
Anti-Asmáticas e Antitussígeno	Ozolua <i>et al.</i> , (2010a); Salami <i>et al.</i> , (2013); Mans <i>et al.</i> , (2015)
Atividade Analgésica	Afzal <i>et al.</i> , (2012), Ojewole, (2005); Morshed <i>et al.</i> , (2010); Ferreira <i>et al.</i> , (2014)
Ação no Sistema Nervoso Central	Agostinho <i>et al.</i> , (1992)
Atividade Anticonvulsivante	Yemitan; Salahdeen, (2005); Mora-Pérez (2016)

Ação No Sistema Locomotor	Nassis <i>et al.</i> , (1995); Matthew <i>et al.</i> (2013b)
Atividade Neurosedativa	Yemitan; Salahdeen,(2005)
Relaxante Muscular	Yemitan Andsalahdeen, (2005)
Hepatoprotetora	Afzal <i>et al.</i> , (2013); Yadav; Dixit, (2003)
Anti-Leishmaniose	Silva <i>et al.</i> , (1995), Gomes <i>et al.</i> , (2009); Muzitano <i>et al.</i> , (2009)
Anti-Malária	Muñoz <i>et al.</i> , (2000)
Anti-Hipertensivo	Ghasi <i>et al.</i> , (2011); Bopda <i>et al.</i> , (2014)
Antidiabético	Ojewole, (2005); Ogbonnia <i>et al.</i> , (2008); Matthew <i>et al.</i> , (2013a); Aransiola <i>et al.</i> , (2014); Menon <i>et al.</i> , (2015); Menon <i>et al.</i> , (2016)
Hipocolesterolêmico	Ogbonnia <i>et al.</i> , (2008); Menon <i>et al.</i> , (2015)
Atividade Hormonal	Nassis <i>et al.</i> , (1996)
Efeito nos Parâmetros Hematológicos	Ufelle <i>et al.</i> , (2011)
Neuroprotetora	Harlalka <i>et al.</i> , (2007), Anadozie <i>et al.</i> , (2018)
Atividade Antilitogênica	Yadav <i>et al.</i> , (2016)
Atividade Anti Antiofídica	Fernandes <i>et al.</i> , (2016)

Fonte: Adaptado de Fernandes, *et al.* (2019).

Propriedades como a antidiabética, anti-leishmaniose e hepatoprotetora são citadas para estudos *in vitro* e *in vivo*, tendo resultados satisfatórios em ambos. A atividade antidiabética é uma propriedade que indica a atuação de substâncias na redução de glicose no sangue. A atividade hepatoprotetora está relacionada à capacidade de certas substâncias em proteger o fígado contra doenças e danos causados por via externa, sendo também relatado atividade gastroprotetora para a espécie vegetal. Além disso, a atividade antiparasitária estudada *in vitro* está relacionada com respostas observadas em *in vivo*, como a atividade antimalária. O potencial antibacteriano e antifúngico da espécie está relacionado ao estudo *in vivo* da ação anti-*Helicobacter pylori*, que se trata de uma espécie de bactéria que coloniza naturalmente a mucosa do estômago humano. Muitas úlceras pépticas, alguns tipos de gastrite e de câncer do estômago decorrem da infecção causada por esta espécie bacteriana. Ademais, diversos estudos foram realizados para atividades relacionadas ao sistema nervoso, tais como: neuroprotetora, atividade neurosedativa, ação no Sistema Nervoso Central, etc.

Segundo a revisão sistemática realizada por Fernandes, *et al.* (2019), a espécie apresenta baixa toxicidade e boa segurança, contudo alguns estudos relataram ação citotoxicidade (Sowemimo *et al.*, 2007; Abdellaoui *et al.*, 2010; Biswas *et al.*, 2012; Kaewpiboon *et al.*, 2012). No geral, a espécie é segura para uso agudo, mas são necessários estudos adicionais para investigar a toxicidade subcrônica e crônica.

É importante salientar que os estudos vigentes sobre a espécie não são suficientes para determinar a atividade medicinal dela contra uma patologia específica, pois a maioria das pesquisas são conduzidas *in vitro* ou *in vivo* com animais, portanto, não se sabe ao certo quais os efeitos da planta no organismo humano (a não ser por conhecimentos etnofarmacológicos).

2.1.3 Composição química do saião

Apesar da utilização medicinal generalizada, os constituintes químicos não foram totalmente elucidados para a espécie vegetal. Recentemente estudos apontaram substâncias inéditas para a espécie, tratando-se de dois flavonóides com potencial antimicrobiano: 5'-metil 4,5,7-trihidroxi-flavona e 4,3,5,7-tetrahidroxi 5-metil 5-propenammina antocianidina (Okwun; Nnamdi, 2011), que evidencia o quanto a espécie possui um perfil químico diversificado, mas ainda pouco explorado.

Dentre os estudos disponíveis, variadas classes de compostos foram descritos para a espécie *B. pinnatum* que incluem ácidos orgânicos acíclicos e aromáticos, ácidos graxos, aminoácidos, minerais, vitaminas, açúcares, álcoois, fenóis, cetonas, esteróides e produtos secundários, sobretudo, da classe dos terpenos e compostos fenólicos (Okonwu, K. *et al.*, 2020) (Fernandes, *et al.*, 2019).

Em relação aos flavonóides, os derivados glicosilados das agliconas quercetina, kaempferol e luteolina têm sido descritas para esta espécie (Fernandes, *et al.*, 2019, p. 531).

Há relatos da presença majoritária de flavonóides, sendo responsáveis pelas principais atividades da planta como potencial antioxidante, anticancerígeno, cicatrizante, antimicrobiano e antiinflamatório. Contudo, o maior interesse na pesquisa por flavonóides está associado à atividade anticancerígena, considerando que esses compostos podem atuar como agentes quimiopreventivos (Pereira, *et al.*, 2017).

Os estudos de Asiwe, *et al.*, (2021) de caracterização química com extrato de acetato de etila nas folhas de *B. pinnatum* obtiveram como resultados os constituintes principais: ácido hexadecanóico, éster metílico (24,88%), ácido 10,13-octadecadienóico, éster metílico (29,69%), ácido tetracosanóico, éster metílico (7,84%), estearato de metila (6,97%), cis-metil 11-eicosenoato (6,26 %), 18-metilnonadecanoato de metila (4,99%), ácido docosanóico, éster

metílico (3,71%) e 4,7-metano-1H indeno, octahidro- (2,43%). Além disso, o mesmo trabalho realizou análise fitoquímica do extrato de acetato de etila com as folhas obtendo como resultados:

A análise fitoquímica da fração acetato de etila das folhas de *B. pinnatum* indicou a presença de importantes fitoquímicos como proantocianina, rutina, quinina, flavan-3-ol, antocianina, lunamarin, sapogenina, fenol, flavononas, esteroides, catequina, epicatequina, kaempferol, fitato, oxalato, resveratrol, flavonas, tanino, ribalinidina, naringina e esparteína. Descobriu-se que as folhas de *B. pinnatum* são relativamente ricas em flavan-3-ols (catequina), flavonóides (kaempferol), flavona, resveratrol, tanino, oxalato e fitato (Asiwe, *et al.*, 2021, p. 18).

Os estudos de Adibe, *et al.*, (2019) compararam a composição química do óleo essencial obtido dos caules e folhas da planta, e concluiu-se que o caule possui maior teor de terpenos (“O óleo da folha consiste em 32,90% de terpeno/terpenóide, enquanto o total de terpeno/terpenóide presente no óleo essencial do caule foi de 59,42%”) (Adibe,*et al.*, 2019, p.60).

Na literatura podem ser encontrados diversos relatos da presença de compostos da classe bufadienolídeos (em diferentes extratos), que representam um grupo de compostos químicos esteroidais que são cardioativos, encontrados principalmente em plantas e sapos venenosos. Esses compostos têm propriedades farmacológicas notáveis, mas também são potencialmente tóxicos em determinadas concentrações. O uso inadequado ou a exposição a concentrações elevadas destes compostos pode levar a efeitos colaterais perigosos, como arritmias cardíacas, náuseas, vômitos e, em casos graves, até a morte (Pereira, *et al.*, 2017) (Fernandes, *et al.*, 2019).

Os estudos de Pereira, *et al.* (2017) demonstraram o impacto de diferentes extratos na composição química da espécie. Neste estudo, o material vegetal foi submetido a extratos aquosos a frio e a quente, bem como, a fração etanol e água (1:1) com análise em HPLC-DAD-MS, observando-se que os flavonoides são os compostos majoritários nos três extratos, com destaque para Kaempferol 3-O-Larabinopiranosyl-(1→2)-Lrhamnopyranoside e glicosídeos de quercetina. Outros compostos encontrados no mesmo estudo compreendem: ácido caféico, ácido málico, ácido cítrico, ácido isocítrico e cis- ácidos p-cumaril glutárico, bem como, os flavonóides cianidina 3-O--D-glicosídeo, dihidroquercetina, isorhamnetina-3-rutinosídeo, miricitrina e isoscoparina- 7-O-arabinosídeo isoscoparina-7-O-arabinosídeo. Além disso, o estudo concluiu que a extração aquosa a quente evitou o aparecimento de substâncias tóxicas como os bufadienolídeos, sugerindo a segurança desse tipo de extrato para a espécie vegetal (Pereira, *et al.*, 2017).

2.2 Métodos de extração utilizados em folhas

O processo de extração consiste em preparações líquidas ou em pó obtidas da retirada dos princípios ativos de uma matriz complexa (drogas vegetais), recorrendo-se a métodos diversificados. Diversos fatores influenciam no processo de extração, tais como: a parte utilizada do material vegetal, em que circunstâncias foi coletado, o grau de processamento prévio, o tamanho da amostra; o solvente utilizado, bem como, a polaridade e concentração deste; o tempo e a temperatura de extração; entre outros. Todos esses fatores devem ser adequados para a amostra, assim como a técnica de extração utilizada (Rodrigues, *et al.*, 2016) (Rodrigues, 2013).

As técnicas extrativas podem ser divididas em métodos a frio e métodos a quente, sendo as que se aplicam na obtenção de extratos vegetais incluem:

2.2.1 Métodos a frios

Maceração

Constitui-se como um processo estático de extração onde o material vegetal é colocado em contato com o solvente em um recipiente fechado por um período prolongado de tempo (horas ou dias), que pode variar de no mínimo três horas até três semanas, em temperatura ambiente (Rodrigues, *et al.*, 2016). As principais desvantagens associadas com este método são a lentidão do processo de extração e o esgotamento da droga vegetal no líquido extrator (Rodrigues, 2013).

Percolação ou Lixiviação

Corresponde ao arrastamento do princípio ativo pela passagem contínua do líquido extrator. A técnica necessita de uma etapa preliminar que consiste no umedecimento homogêneo da droga com um solvente por um período de 2 a 4 horas (maceração). Após esse período, o macerado é destinado ao percolador, uma máquina que pode ser de vidro ou de metal. O macerado permanece em repouso por 24H dentro do equipamento e, posteriormente, a torneira do equipamento é aberta e ocorre o gotejamento contínuo do extrato. Finalizado esta etapa, o extrato retorna de 4 a 10 vezes ao percolador, com período de repouso de 2 a 4 horas. O processo de gotejamento se repete em cada ciclo (Rodrigues, *et al.*, 2016).

Prensagem a frio

A técnica consiste em aplicar pressão sobre uma determinada amostra, com utilização de uma prensa hidráulica ou mecânica, visando extrair óleos ou sucos da matéria-prima, que ocasionalmente vai escorrendo pelas laterais do equipamento. O extrato é coletado e separado

das partes sólidas da amostra, com auxílio de processos adicionais, como: filtração, decantação ou centrifugação (Rodrigues, *et al.*, 2016).

2.2.2 Métodos a quente

Infusão

Configura na diluição de um soluto por um solvente em ebulição, em um recipiente fechado. Na utilização de partes aéreas vegetais é importante uma etapa preliminar que consiste em contundir, cortar ou pulverizar folhas ou flores, para aumentar a superfície de contato do solvente. Após o processo de extração, utiliza-se filtração para separar a parte sólida da líquida, sendo a última destinada a uso medicinal (Rodrigues, 2013).

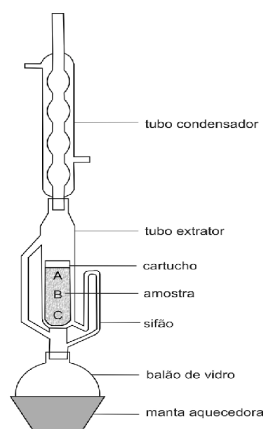
Decocção

Diferentemente da infusão, a decocção, o solvente é adicionado sob o soluto, sendo ambos aquecidos por um período de tempo. Semelhantemente, após a extração separa-se as partes componentes por filtração e, o líquido é utilizado para preparo de medicamentos (Rodrigues, *et al.*, 2016). A principal desvantagem desse método é que as substâncias a serem extraídas devem ser termo-resistentes, pois muitos ativos podem ser alterados pelo aquecimento prolongado, por isso a técnica é mais empregada para partes vegetais mais resistentes como caules e troncos (Rodrigues, 2013).

Extração por solventes orgânicos - Soxhlet

Este é um método de extração por refluxo contínuo. O material vegetal é colocado em um cartucho e o solvente é depositado em um balão volumétrico, sendo aquecido e evaporado continuamente no aparelho, condensando-se e entrando em contato com o material vegetal presente no cartucho. Esse processo é repetido várias vezes, permitindo uma extração mais completa dos compostos desejados. Tem como vantagens a utilização de pequena quantidade do solvente e a extração altamente eficiente (Rodrigues, 2013).

Figura 5: Esquema do extrator soxhlet.

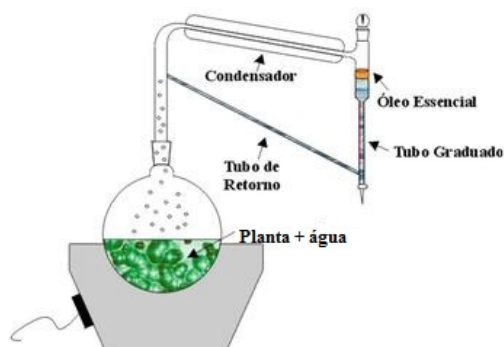


Fonte: [esquemática-extrator-soxhlet](#).

Destilação por arraste a vapor - Clevenger

Esta técnica consiste em destilar substâncias através da passagem de vapor de água através da matriz da amostra, sendo eficaz para a obtenção de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais. O funcionamento da técnica consiste em colocar o material vegetal previamente preparado dentro da câmara de destilação. O aquecimento do equipamento resulta na evaporação da água que atinge a amostra vegetal, como agente de arraste, e leva os óleos essenciais voláteis e outros compostos aromáticos presentes no material. Nesse processo, os óleos essenciais, juntamente com a água, se vaporizam até um condensador, onde são resfriados e condensados novamente em líquidos, sendo armazenados em outra parte do equipamento. Pela imiscibilidade com a água, a parte oleosa extraída deposita-se na superfície do recipiente, sendo facilmente separada. Quando a água em processo de ebulição está em contato direto com o material vegetal, a técnica passa a ser conhecida como hidrodestilação, sendo uma técnica muito utilizada em pequena escala. A hidrodestilação é preferida quando se deseja evitar altas temperaturas e quando os compostos extraídos são sensíveis ao calor (Rodrigues, 2013).

Figura 6: Esquema da técnica Clevenger.



Fonte: <https://aromasvitais.blogspot.com/2013/05/tipos-de-destilacao-para-obtencao-de.html>, 2023.

Extração por fluidos supercríticos

No estado onde coexistem a matéria líquida e gasosa, com substâncias com temperatura e pressão acima do seu ponto crítico, temos um método extrativo utilizado principalmente para óleos essenciais. Dentre os fluidos, o gás CO₂ supercrítico é o mais utilizado, sendo colocado em um equipamento que permite a circulação deste através do material vegetal, contido na câmara de extração, dissolvendo assim os compostos desejados. Após completar-se o ciclo de extração, a solução é transferida para outra parte do equipamento, o separador, onde soluto e solvente se separam, sendo que neste ponto o soluto já pode ser coletado e o gás retorna ao início do processo onde pode ser reutilizado em outras extrações (Rodrigues, *et al.*, 2016).

Ultrassom

Corresponde a um método extrativo que utiliza ondas sonoras de alta frequência (20 KHz a 2000 KHz) através de um aparelho que aumenta a penetração do solvente na matriz do soluto, ocorrendo por meio da fragmentação das membranas celulares. Os principais benefícios desta técnica consistem no rendimento da extração sólido-líquido, no curto tempo necessário de extração e nas baixas quantidades de solvente requerido (Rodrigues, *et al.*, 2016).

Turbólise

Técnica que consiste na decomposição térmica dos compostos da amostra em um ambiente de alta temperatura e pressão, permitindo a liberação dos componentes desejados. A amostra é colocada dentro de um recipiente, célula de turbólise, que é aquecida e pressurizada rapidamente. Nessas condições extremas de temperatura e pressão, os compostos na amostra começam a se decompor, liberando gases e vapores que contêm os componentes que se deseja extrair. As principais desvantagens associadas com este método são: A separação desafiadora da solução extrativa por meio de filtração; a geração de calor durante o processo, bem como, a necessidade de gerenciar a temperatura, restringindo o uso de líquidos voláteis e; as limitações técnicas envolvidas ao lidar com caules, raízes ou materiais excepcionalmente rígidos, são aspectos que merecem atenção (Rodrigues, 2013).

2.3 Técnicas hifenadas

O termo técnica hifenada é atribuído ao acoplamento entre duas ou mais técnicas analíticas, sendo uma de isolamento e outra de identificação química, com o intuito de obter uma ferramenta analítica mais eficiente, rápida e seletiva que as técnicas convencionais. Dentre as vantagens das técnicas hifenadas, em comparação com as técnicas sem hifenação, destacam-se: maior seletividade e sensibilidade analítica, identificação mais precisa com redução de falsos positivos e falsos negativos, ampliação do escopo de aplicações, eficiência e economia de tempo. Todavia, uma das principais vantagens refere-se ao fato de não necessitar de uma grande quantidade (miligrama) do analito na sua forma purificada, o que acontece com as técnicas sem hifenação, que só são válidas após um protocolo de purificação (Rodrigues, *et al.*, 2006).

Exemplos comuns de técnicas hifenadas incluem LC-MS (cromatografia líquida - espectrometria de massas), GC-MS (cromatografia gasosa - espectrometria de massas),

LC-RMN (cromatografia líquida - ressonância magnética nuclear), entre outros (Santos, *et al.*, 2016).

Considerando que extratos vegetais brutos se constituem como uma matriz complexa, contendo centenas ou milhares de compostos, que diferem consideravelmente em seus parâmetros físico-químicos e espectroscópicos, as técnicas analíticas mais empregadas na análise de produtos à base de plantas medicinais são a cromatografia e a espectroscopia.

2.3.1 Cromatografia gasosa (GC)

A cromatografia gasosa (GC- Gas chromatography) é uma técnica analítica utilizada para separar e quantificar componentes voláteis ou semivoláteis de uma amostra. A técnica envolve a passagem de uma mistura de componentes voláteis através de uma coluna cromatográfica, onde ocorre a separação dos constituintes com base em suas interações com uma fase estacionária e uma fase móvel. À medida que os componentes da amostra passam pela coluna, eles se separam e saem do detector em momentos diferentes, o que permite a identificação e quantificação dos componentes (Santos, *et al.*, 2016).

A amostra é introduzida no sistema cromatográfico através do sistema de injeção, que é aquecido entre 20-50°C acima da temperatura da coluna. Existem diferentes tipos de injetores, como injetores on-column (comuns em colunas recheadas, com injeção direta na coluna através de um septo de silicone), injetores split/splitless (injeção com divisor/sem divisor, que permitem controlar a quantidade de amostra injetada) e, injetores com temperatura programada, sendo utilizados em colunas capilares. A amostra é vaporizada por um fluxo de gás, conhecido como fase móvel (FM) ou gás de arraste (gases inertes como hélio, nitrogênio ou hidrogênio, são utilizados), atuando no transporte das substâncias até um tubo contendo a fase estacionária (FE -geralmente um material sólido ou líquido que reveste o interior da coluna cromatográfica). Os tipos de fases estacionárias podem variar dependendo da aplicação e dos componentes a serem separados. Fases estacionárias comuns incluem sílica gel, polímeros ou filmes capilares. A coluna cromatográfica é o componente central do sistema de cromatografia gasosa, sendo onde ocorre a separação dos componentes da amostra com base em suas interações com a fase estacionária. As colunas podem variar em comprimento, diâmetro e tipo de fase estacionária, e a escolha depende das características da amostra e dos objetivos da análise, sendo classificadas em colunas recheadas e colunas capilares. Após separação das substâncias presentes na amostra, registram-se sinais no detector, que em função do tempo constituem o cromatograma. Os detectores mais comuns em cromatografia gasosa incluem o detector de ionização de chama (FID), detector de

condutividade térmica (TCD), detector de captura de elétrons (ECD) e detector seletivo de massas (MSD) (Santos, *et al.*, 2016).

2.3.1 Espectrometria de massas (MS)

A técnica de espectrometria de massas (MS- Mass spectrometry) é baseada na medida das massas das partículas carregadas (íons) geradas a partir de moléculas em uma amostra. Simplificadamente, a técnica funciona da seguinte maneira: Semelhantemente, há um compartimento para entrada da amostra, que logo é destinada ao ionizador, que realiza a conversão das moléculas da amostra em íons carregados, geralmente íons positivos (cátions). Existem várias técnicas de ionização disponíveis, cada uma com suas vantagens e aplicações específicas, incluindo a ionização por eletronegatividade química, ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI), ionização por electrospray (ESI) e ionização por impacto eletrônico (EI). Após a ionização, os íons gerados são separados com base em suas razões massas/cargas em um componente chamado analisador de massas. Existem vários tipos de analisadores de massas, incluindo o analisador de setor magnético, o analisador de tempo de voo (TOF), o analisador de armadilha iônica (Ion trap), o analisador quadrupolar (QD), entre outros. Cada tipo de analisador tem suas próprias características e é escolhido com base nas necessidades específicas da análise. Na sequência, os íons separados são detectados no detector que registra a intensidade dos íons em função da razão massa/carga. Os detectores mais comuns em espectrometria de massas incluem detectores de íons de canal elétrico (CID), detectores de íons secundários (SID), detectores de íons de conversão de elétrons (ECD) e detectores de íons de índice de refração (RID). O resultado desse processo é um espectro de massas, isto é, representação gráfica dos padrões de fragmentação de cada composto, que permite a identificação qualitativa dos compostos presentes na amostra. Além disso, a intensidade dos íons nos espectros de massas pode ser usada para a quantificação relativa dos compostos (Santos, *et al.*, 2016).

A espectrometria de massas é uma ferramenta versátil que pode ser usada para uma variedade de aplicações, como identificação de compostos orgânicos desconhecidos, determinação de estruturas moleculares, rastreamento de compostos em análises ambientais, estudos de proteômica e metabolômica, controle de qualidade em indústrias farmacêuticas e muito mais (Santos, *et al.*, 2016).

2.3.3 GC-MS

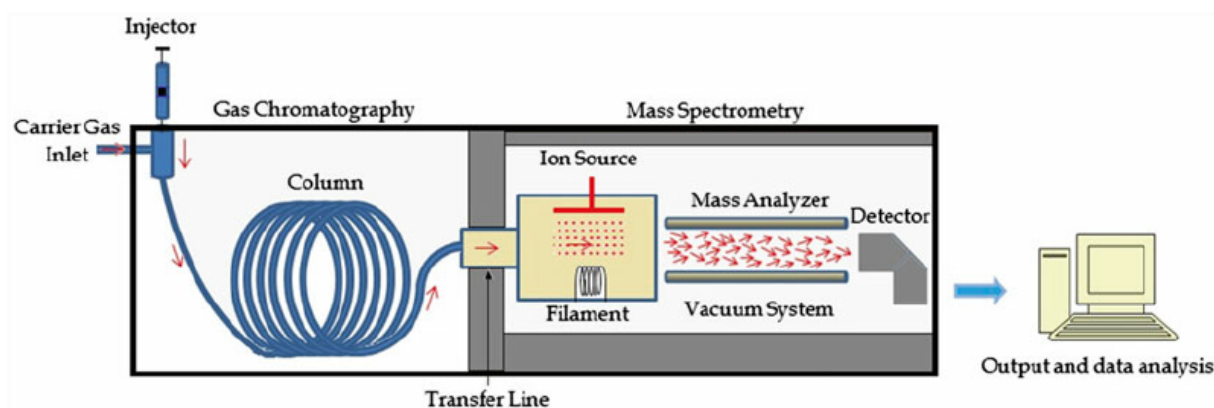
Quando a cromatografia gasosa é acoplada à espectrometria de massas, aumenta-se a capacidade de detecção dos analitos da amostra, com alta sensibilidade e capacidade de identificação precisa. Para acoplamento das duas técnicas analíticas mencionadas é necessário uma interface de ligação e também adaptação de algumas funções. Existem diversas estratégias de interface disponíveis, tais como a interface capilar e a interface de fluxo com pressão constante. Além disso, o analisador da GC passa a ser o próprio espectrômetro de massa (Santos, *et al.*, 2016).

A CG-EM consta de um cromatógrafo, usualmente com coluna capilar, uma interface para ligação dos dois sistemas, uma câmara de ionização onde os íons são formados, uma câmara mantida sob vácuo onde ocorre a separação destes e um sistema para a detecção dos íons acoplado a um sistema de registro com um programa para interpretação dos resultados obtidos (COLLINS *et al.*, 2006) (Santos, *et al.*, 2016, p. 4).

A amostra é injetada na coluna de cromatografia gasosa, onde é separada em seus componentes individuais. Os componentes são então ionizados e transferidos para o analisador de massas, onde são fragmentados pela razão massa/carga, tendo o sinal ampliado no detector (Santos, *et al.*, 2016).

O esquema abaixo (figura 7) ilustra a técnica hifenada utilizada nesta pesquisa:

Figura 7: Esquema da técnica hifenada GC-MS.



Fonte: <https://revistaanalytica.com.br/a-cromatografia-a-gas-acoplada-a-espectrometria-de-massas-gc-ms/>

2.4 Ácidos graxos e metabólitos secundários

Na análise da composição química de plantas medicinais é frequentemente relatado deparar-se com abundância de moléculas pertencentes ao grupo dos ácidos graxos, bem como, com moléculas que fazem parte do metabolismo secundário das plantas, os ditos compostos fitoquímicos. Nesse sentido, explana-se aqui um pouco sobre essas duas classes de substâncias.

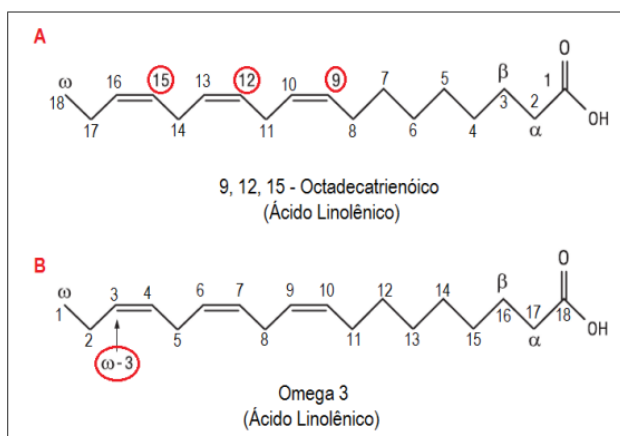
2.4.1 Ácidos graxos

Os ácidos graxos são componentes fundamentais das gorduras e óleos encontrados em organismos vivos (como fontes animal, vegetal e marinha). Esses ácidos carboxílicos desempenham papéis essenciais na biologia, na nutrição e na fisiologia e são conhecidos por sua estrutura distintiva peculiar, que consiste em uma longa cadeia hidrocarbonada apolar (de 4 a 36 átomos de carbono), geralmente com um grupo carboxila (-COOH) na extremidade, componente polar. Suas variações em saturação, comprimento da cadeia e isomeria geométrica conferem uma diversidade de propriedades e funções biológicas, tornando-os componentes vitais para a vida e a saúde dos organismos (Moreira, *et al.*, 2002) (Araújo, 2012).

Os ácidos graxos podem ser classificados com base na saturação de suas cadeias hidrocarbonadas. Ácidos graxos saturados são aqueles que só possuem ligações simples carbono-carbono (C-C). Em contraste, ácidos graxos insaturados possuem uma ou mais ligações duplas (C=C) em suas cadeias, sendo que os ácidos graxos insaturados são considerados mais instáveis (Moreira, *et al.*, 2002). Quando possuem apenas uma dupla ligação são denominados monoinsaturados; com duas ou mais duplas ligações, são chamados de polinsaturados. O teor de insaturação e o comprimento da cadeia de hidrocarbonetos têm um impacto significativo nas características físicas dos ácidos graxos, tais como solubilidade e ponto de fusão. Dessa forma, por exemplo, uma cadeia de carbono mais longa e menos ligações insaturadas resultam em uma menor capacidade do ácido graxo de se dissolver em água (Moreira, *et al.*, 2002).

A nomenclatura dos ácidos graxos também é peculiar, sendo considerados duas maneiras distintas de realizá-la. A primeira convenção consiste em realizar a contagem partindo pelo grupo funcional carboxílico na extremidade (Figura 8), e a posição das ligações insaturadas identificadas no começo da nomenclatura como recomendado pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada). Enquanto a segunda forma consiste em iniciar a contagem da cadeia carbônica pelo grupo metila terminal, e a representação das ligações duplas ser associadas a letra grega ômega. Neste aspecto, a primeira dupla ligação é identificada pelo prefixo ômega em junção com a posição desta ligação na cadeia (Figura 8) (Araújo, 2012).

Figura 8: Nomenclatura de ácidos graxos.



Fonte: Ciconini, G. (2012)

A configuração *cis* e *trans* dos ácidos graxos refere-se à disposição espacial dos átomos de hidrogênio ao redor da ligação dupla que ocorre na cadeia insaturada. Essa configuração é importante pois afeta as propriedades físicas e químicas dos ácidos graxos, incluindo suas interações com proteínas e enzimas, bem como, seu impacto na saúde humana (Moreira, *et al.*, 2002).

Os ácidos graxos *trans* podem ser encontrados em pequenas quantidades na natureza, mas também são produzidos industrialmente durante o processo de hidrogenação parcial de óleos vegetais e têm sido associados a efeitos adversos na saúde, como o aumento do risco de doenças cardiovasculares. O processo de hidrogenação dos óleos vegetais foi introduzido em 1910 nos Estados Unidos, com intuito de diminuir a oxidação (gerada pelos altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados) e, consiste no aquecimento dos óleos com a presença de um metal catalítico e gás hidrogênio. Nesse sistema, algumas das duplas ligações *cis* são convertidas em *trans*, ocorrendo também formação de múltiplos isômeros e formação de ácidos graxos saturados. O resultado disso é aumento da estabilidade e diminuição da viscosidade, diminuição da rancidez e aromas não desejáveis, visando subsequente utilização industrial (Moreira, *et al.*, 2002).

A formação isomérica usualmente encontrada para os ácidos graxos provenientes de plantas é a configuração geométrica *cis*. Segundo Santos, *et al.*, (2021), alguns dos ácidos graxos mais comumente encontrados em plantas medicinais são: ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico e ácido linolênico (Santos, *et al.*, 2021).

Tabela 3: Relação de ácidos graxos descritos na literatura.

Símbolo	Nome IUPAC	Nome comum	Fórmula estrutural	T fusão (°C)
4:0	Butanóico	Butírico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	7,9
6:0	Hexanóico	Caprótico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	-3,0
8:0	Octanóico	Caprílico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	17,2
10:0	Decanóico	Cáprico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	31,0
12:0	Dodecanóico	Láurico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	4,2
14:0	Tetradecanóico	Mirístico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	52,0
16:0	Hexadecanóico	Palmítico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	63,1
16:1	9-hexadecenóico	Palmitoléico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-0,5
18:0	Octadecanóico	Esteárico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	69,1
18:1	9-cis octaecenóico	Oléico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	13,2
18:2	9,12-Octadecadienóico	Linoléico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-9,0
18:3	9,12,15-Octadecatrienóico	Linolênico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-17,0
20:0	Eicosanóico	Araquídico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	75,4
20:1	11-Eicosanóico	Eicosanóico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	----
20:4	5,8,11,14-Eicosatetraenóico	Araquidônico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{COOH}$	-49,5
20:5	5,8,11,14,17-Eicosapentaenóico	EPA	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	---
22:0	Docosanóico	Behênico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	81,0
22:1	13-Docosenoico	Erúcico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	34,7
22:5	7,10,13,16,19 - Docosapentaenoico	W3	$\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$	---
22:6	4,7,10,13,16,19 - Docosahexaenoico	Cervônico	$\text{H}_3\text{CCH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	----
24:0	Tetrasanóico	Lignocérico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	84,2
24:1	15-tetracosenóico	Nervônico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	42,5

Fonte: Adaptado de Ciconini, G. (2012).

A biossíntese de ácidos graxos inicia-se com a ingestão de carboidratos, que em excesso se transformam em gorduras, lipídios. A glicose em excesso segue a via da glicólise até formar acetil-CoA, que é convertido em malonil-CoA, tendo auxílio da enzima acetil-CoA carboxilase, que adiciona um grupo carboxila (-COOH) a esta molécula. O malonil-CoA é um precursor fundamental na síntese de ácidos graxos. A síntese de ácidos

graxos começa com a formação de um ácido graxo de dois carbonos chamado ácido acetoacético. O grupo acilo do malonil-CoA é transferido para uma molécula de acetil-CoA pela enzima ácido graxo sintase tipo II (FASE II). O ácido acetoacético é então alongado por meio de uma série de reações repetitivas que adicionam dois carbonos de cada vez na estrutura. Cada repetição envolve a adição de um novo malonil-CoA, a redução do grupo funcional e a eliminação de uma molécula de água. Após cada ciclo de alongamento, ocorre a desidratação da cadeia de ácido graxo para formar uma ligação dupla, sendo uma etapa importante para formação de ácidos graxos insaturados. A seguir, a ligação dupla recém-formada é reduzida, convertendo-a em uma ligação simples. A redução envolve a adição de hidrogênios à molécula, com auxílio da enzima reductase. A biossíntese de ácidos graxos é terminada quando a cadeia de ácido graxo atinge o comprimento desejado. O produto final é um ácido graxo saturado, geralmente o ácido palmítico (um ácido graxo de 16 carbonos) (Moreira, *et al.*, 2002) (Araújo, 2012).

O ácido palmítico desempenha um papel crucial na síntese de ácidos graxos insaturados, pois pode ser alongado para formar ácido esteárico (18:0), que contém 18 átomos de carbono (Moreira, *et al.*, 2002).

A introdução de uma dupla ligação entre os átomos de carbonos 9 e 10 é catalisada pela enzima Δ -9 dessaturase. Esta enzima está presente em plantas e animais e, converte o ácido esteárico para o ácido oleico (figura 2) (Calder, 1998; Teitelbaum e Walker, 2001). Portanto, o ácido oleico (18:1) não é um ácido essencial, conseqüentemente, pode competir com os ácidos linoleico e α -linolênico e seus produtos intermediários, para as reações mediadas por dessaturases e elongases (Woutersen *et al.*, 1999). Nas plantas, a enzima Δ -12 dessaturase converte o ácido oleico em ácido linoleico e a Δ -15 dessaturase converte o ácido linoleico em ácido α -linolênico (Calder, 1998; Teitelbaum e Walker, 2001) (Moreira, *et al.*, 2002, p.109).

Neste aspecto, um ácido graxo pode ser convertido em outro através de sucessivas reações enzimáticas. Exemplificando a situação mencionada acima nos organismos vegetais, temos:

Ácido palmítico (16:0) \rightarrow Ácido esteárico (18:0) \rightarrow Ácido oleico (19:1) \rightarrow Ácido linoleico (19:2) \rightarrow α linolênico (18:3)

Segundo Moreira *et al.* (2002), os ácidos graxos linoleico (ω 6) e alfa-linolênico (ω 3) desempenham papel essencial nas funções celulares normais, atuando como precursores para

a síntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, como o ácido araquidônico (AA), eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), que estão envolvidos em inúmeras funções celulares, incluindo a manutenção da integridade e fluidez das membranas, a regulação da atividade de enzimas de membrana, as interações entre lipídios e proteínas, bem como, a síntese de eicosanóides, como as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos (Moreira, *et al.*, 2002).

2.4.2 Metabólitos secundários

O conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células é conhecido como metabolismo. Considerando as células vegetais, estas reações se subdividem em primárias e secundárias. Compreende-se por metabolismo primário ao conjunto de processos metabólicos que desempenham funções vitais no organismo, como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos envolvidos no metabolismo primário estão presentes em todas as plantas, como os aminoácidos, nucleotídeos, lipídios, carboidratos e a clorofila. Em contraste, o metabolismo secundário produz compostos que não são universalmente encontrados, uma vez que não são essenciais para todas as plantas. Isso torna esses compostos úteis em estudos taxonômicos, área conhecida como quimiosistemática. Essas duas classificações não são independentes em si, pois o conjunto de reações metabólicas é articulado, conectado pela via metabólica principal (Taiz; Zeiger, 2010) (Peres, 2015).

O metabolismo secundário desempenha papel fundamental na interação da planta com o meio ambiente, no que tange à proteção da espécie contra ataques de patógenos e herbívoros, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como dispersores de sementes, polinizadores e microrganismos simbiotes. Além disso, as substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas também podem ser associadas a fatores ecológicos como adaptação ambiental (que envolve sazonalidade, disponibilidade hídrica e de nutrientes, temperatura, altitude, entre outros). Os produtos do metabolismo secundário são divididos em três grupos fundamentais: compostos fenólicos, compostos nitrogenados e terpenos (Peres, 2015).

Os terpenos, ou terpenóides, representam a maior classe de metabólitos secundários, estando associados principalmente à função de proteção da planta contra herbivorismo e contra infecção por microrganismos patogênicos. A estruturação básica desse grupo é a derivação de unidades pentacarbonadas (unidades C5), isto é, um esqueleto de isopentano. A classificação dos terpenos é dada pelo número de unidades C5, sendo: Monoterpenos (com 2

unidades C5 representando 10 carbonos na estrutura), sesquiterpenos (com 3 unidades C5 representando 15 carbonos na estrutura), diterpenos (com 4 unidades C5 representando 20 carbonos na estrutura), triterpenos (com 6 unidades C5 representando 30 carbonos na estrutura), tetraterpenos (40C) e politerpenoides ($n > 8$ C5) (Taiz; Zeiger, 2010).

Possivelmente os terpenos mais conhecidos industrialmente são os óleos essenciais, que constituem uma mistura de monoterpenos e sesquiterpenos voláteis, que conferem aroma às folhas de plantas, sendo utilizados comercialmente como aromatizantes de cosméticos, perfumes e alimentos (Taiz; Zeiger, 2010).

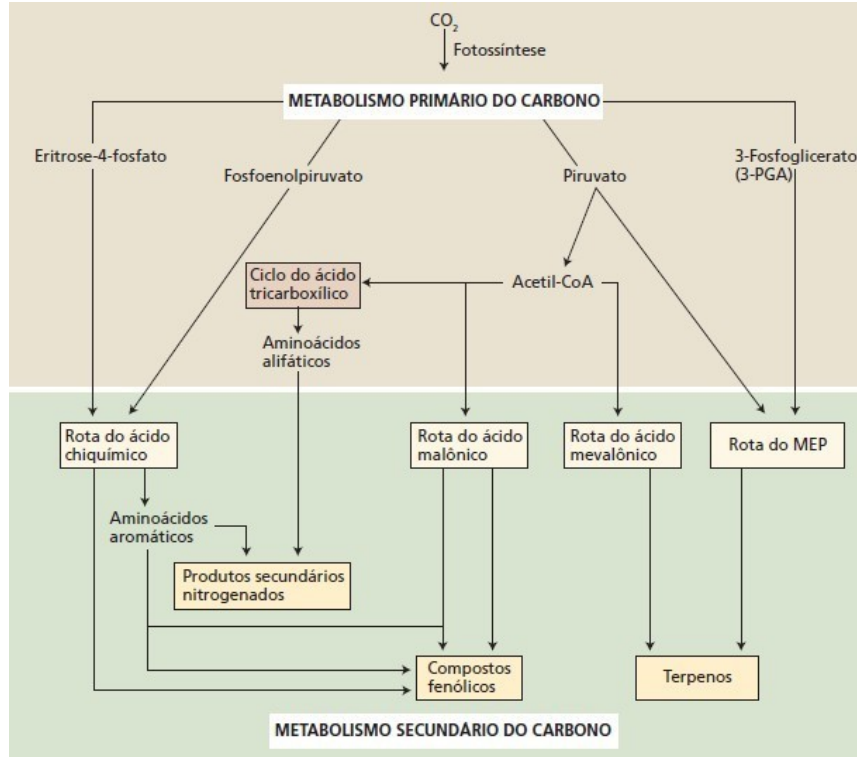
O grupo dos compostos fenólicos compreende uma classe diversa quimicamente, com aproximadamente 10.000 compostos, nos quais a estrutura básica representa um grupo hidroxila funcional ligado ao anel aromático, estando associados a aromas e sabores típicos industrialmente. Devido a extensa heterogeneidade, os compostos desta classe apresentam diversificadas funções e propriedades, dentre elas estão: proteção da planta contra raios UV, defesa contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores ou dispersores de frutos, suporte mecânico e como ação alelopática (Taiz; Zeiger, 2010).

Dentre os compostos fenólicos a lignina é um dos mais conhecidos, sendo a segunda substância orgânica mais abundante nas plantas. Os flavonoides são uma classe de compostos fenólicos que são organizados estruturalmente em dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três carbonos, esse grupo é subdividido em antocianinas, flavonas, flavonóis e as isoflavonas, que desempenham diversas funções nos vegetais, incluindo pigmentação e defesa (Taiz; Zeiger, 2010).

A classe dos compostos nitrogenados compreende todas as substâncias que possuem nitrogênio na estrutura, sendo que a maioria delas é sintetizada por aminoácidos comuns. A maior classe dentro desse grupo são os alcalóides com mais de 15.000 mil substâncias, que possuem caráter alcalino ($\text{pH} \sim 7$) devido à presença de átomos de N com par de elétrons desemparelhado. Nesta grande classe são conhecidos socialmente os alcalóides tóxicos, como cocaína, a nicotina e outros utilizados como estimulantes, como a cafeína, assim como, os empregados para uso medicinal como a morfina e a escopolamina (Taiz; Zeiger, 2010).

O esquema simplificado abaixo ilustra a formação dos metabólitos secundários a partir da ligação com o metabolismo primário, mostrando também as conexões existentes que uma via metabólica pode gerar, isto é, como uma única via pode produzir diferentes grupos de substâncias.

Figura 9: Rota metabólica de produtos secundários.



Fonte: TAIZ, ZEIGER, 2010.

Os terpenos são sintetizados por duas rotas metabólicas diferentes: a rota do ácido mevalônico e a rota do metileritritol fosfato (MEP). O ácido mevalônico é formado pela ligação de 3 moléculas de Acetil Co-A. Esse composto é pirofosforilado, descarboxilado e desidratado para formar isopentil difosfato (IPP^2), que é considerado a unidade básica de formação dos terpenos. Essa molécula também pode ser produzida pela rota do MEP. A condensação do gliceraldeído 3-fosfato com dois átomos de carbono derivados do piruvato produz o composto intermediário 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato, que sob ação de sucessivos rearranjos e reduções, origina o 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP), que é convertido eventualmente em isopentil difosfato (IPP^2). Essa molécula juntamente com seu isômero, o dimetilalil difosfato (DMAPP), se unem para formar moléculas maiores, originando todas as classes de terpenóides conhecidas (Taiz; Zeiger, 2010).

Os compostos fenólicos podem ser sintetizados por diferentes rotas metabólicas, mas as duas principais compreendem a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico. (Peres, 2015). O ácido chiquímico é formado pela junção de 2 metabólitos da glicose: o Fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato. A rota do ácido chiquímico gera aminoácidos aromáticos como o triptofano, fenilalanina e tirosina. Dentre esses, a maior abundância de compostos fenólicos vem da fenilalanina que sofre a perda de uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico, sendo a reação catalisada pela enzima fenilalanina amônia liase

(PAL). Nas reações subsequentes, catalisadas pela mesma enzima, adiciona-se mais grupos hidroxilas e outros substituintes, resultando em compostos fenólicos simples (com um anel aromático) conhecidos como fenilpropanóides, nos quais os ácidos trans-cinâmico e ρ – cumárico são exemplos. Os fenilpropanóides constituem-se como importantes unidades para estruturação dos compostos fenólicos mais complexos (Taiz; Zeiger, 2010).

A síntese dos compostos nitrogenados ocorre por meio da rota do ácido chiquímico, mais precisamente quando ocorre a formação dos aminoácidos comuns, como lisina, tirosina, triptofano e ornitina, que por reações consecutivas geram os alcalóides (Taiz; Zeiger, 2010).

Enquanto a ornitina é precursora dos alcalóides pirrolidínicos e tropânicos, a lisina dá origem aos alcalóides piperidínicos. A tirosina e o triptofano são formados na via do ácido chiquímico e dão origem aos alcalóides isoquinolínicos e indólicos, respectivamente (Peres, 2015, p.14).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterização química das principais substâncias presentes nas folhas da planta *Bryophyllum pinnatum* sp.

3.2 Objetivos Específicos

- Levantamento de dados por meio de revisão bibliográfica sobre os compostos químicos da espécie *B. pinnatum*.
- Coletar, preparar as amostras e realizar a extração com etanol.
- Efetuar a partição com solventes dos extratos obtidos.
- Identificar as substâncias químicas presentes na fração do extrato por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas.
- Apontamento das substâncias encontradas com potencial de bioatividade.

4. METODOLOGIA

4.1 Material Vegetal

As folhas de *Bryophyllum pinnatum* sp. foram coletadas em jardim residencial (imagem 1) localizado na zona urbana do município de Araguaína-TO, em agosto de 2022, considerando abordagem etnofarmacológica. As coordenadas geográficas definidas através de GPS manual são: (7°.12'21.7"S 48°11'57.3"W).

Após a coleta, as folhas foram encaminhadas ao laboratório de Química Inorgânica e Físico Química (B04) no Centro de Ciências Integradas (CCI-Cimba) da UFNT. As folhas selecionadas foram trituradas, utilizando tesoura devidamente esterilizada e, em seguida, foram secas em estufa a 100°C por aproximadamente 24h para retirada de umidade. Após a secagem, o material foi acondicionado em recipiente estéril adequado ao abrigo de luz e umidade.

4.2 Preparação do extrato

Na preparação do extrato bruto (EB) utilizou-se o método extrativo à quente com solventes em sistema fechado, com uso do equipamento Soxhlet. A amostra foi pesada em balança analítica de precisão (cerca de 10g em cada extração) em cartucho de celulose e colocada no extrator com cerca de 400 mL de etanol (álcool etílico 92,8%). Após 5 horas de refluxo, foi realizada a retirada do solvente e a amostra foi armazenada para posteriores etapas.

4.3 Particionamento do extrato

A partição do extrato obtido na etapa anterior foi realizada em capela com utilização de funil de decantação e dois tipos de solventes: hexano (98,5% de pureza), fração apolar (representado por EHS -extrato hexano saião) e acetato de etila (99,5% de pureza), fração de média polaridade (representado por EAS – extrato acetato de etila saião), visando extrair os principais compostos químicos solúveis em cada solvente. Para posterior análise no GC-MS evaporou-se os solventes utilizando rotaevaporador da marca Lucadema, modelo 001 de tensão 230V e potência 70W. O extrato concentrado foi diluído em hexano e uma alíquota de 1mL foi colocado em recipiente (vaio) específico para posterior análise.

4.4 Caracterização Química por GC-MS

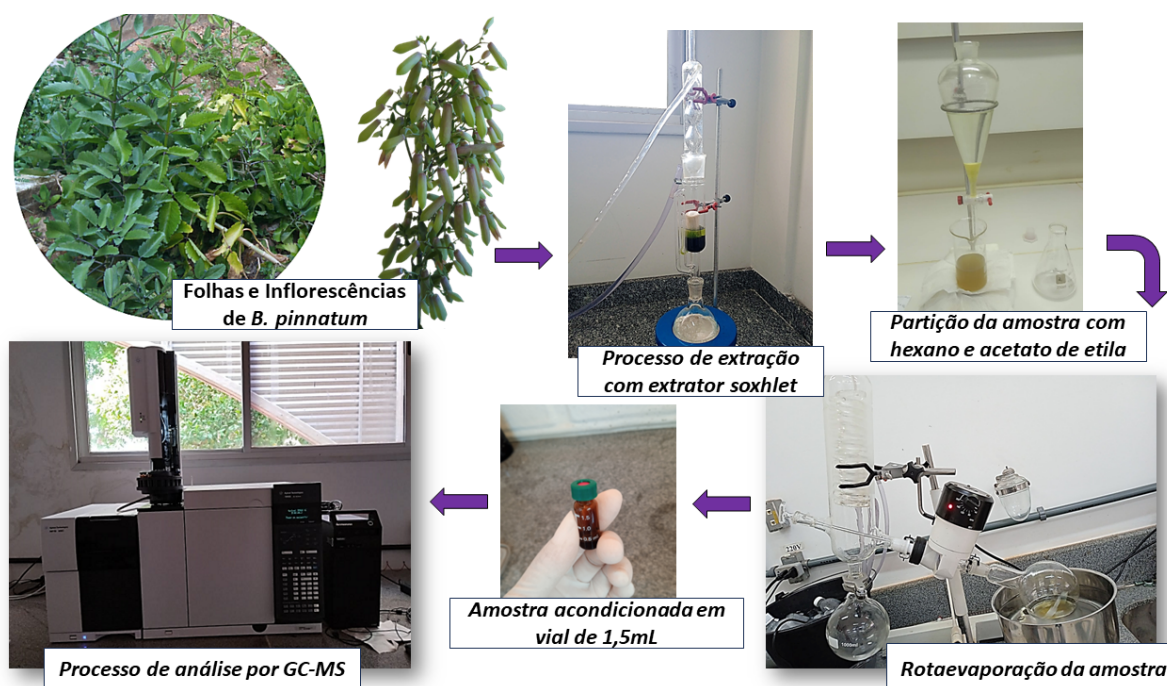
A caracterização das amostras EHS e EAS foi realizada usando um cromatógrafo a gás Agilent Technologies 7890B acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS) 5977B.

Os cromatógrafos utilizam colunas capilares HP-5MS com as seguintes especificações: comprimento de 30 metros, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme

de 0,25 μm . O gás de arraste empregado foi Hélio (99,999%), mantido em um fluxo constante de 1,0 mL/min na coluna cromatográfica. As temperaturas do injetor, linha de transferência do massas, quadrupolo e da fonte foram mantidas a 300°C, 250°C, 150°C e 230°C, respectivamente. A temperatura do forno foi inicialmente de 100°C por 1min, tendo uma elevação constante de 5,0 °C/min até 270°C e mantido nessa temperatura por 10 min.

A seleção e análise dos picos gerados pelo espectrômetro de massa dos compostos detectados foi realizada através da correspondência com o banco de dados da biblioteca NIST 8 (2014), obtido no software do equipamento analítico, sendo um total de vinte picos selecionados para análise de cada fração da amostra. O nome do composto, tempo de retenção e área percentual do pico foram determinados e compilados na tabela 3.

Imagem 1 - Fluxograma com as etapas para a separação e identificação química de folhas frescas de *B. pinnatum* cultivadas em jardim privado em Araguaína-TO.

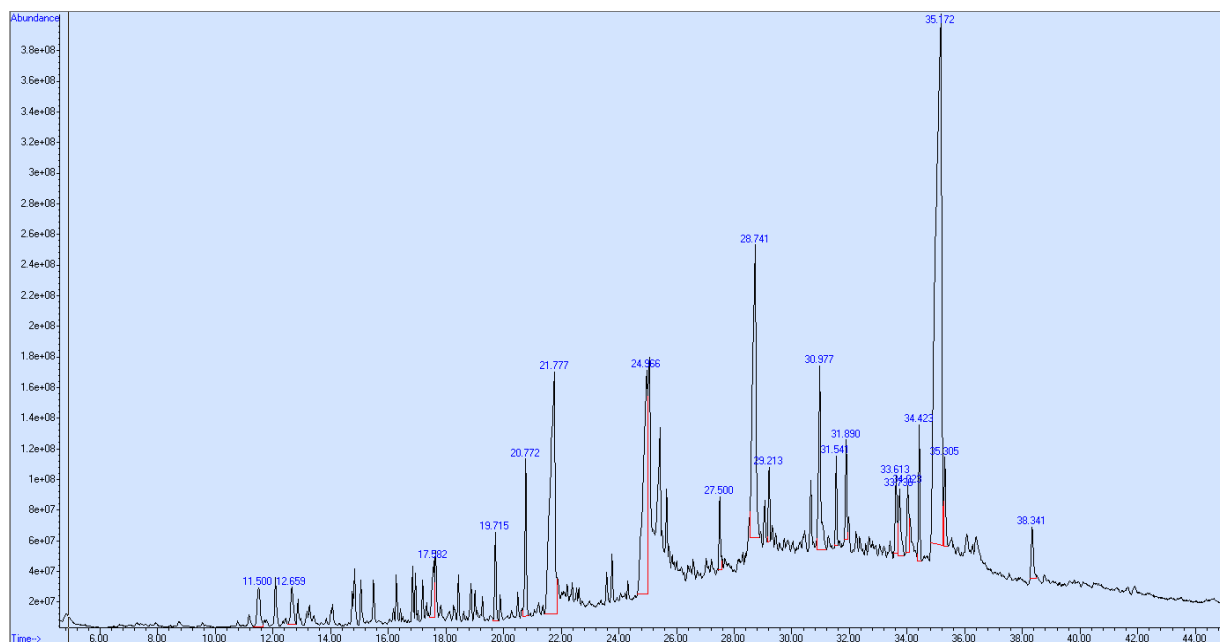


Fonte: Autora, 2023.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O cromatograma de íons totais para a fração hexânica (EHS) é demonstrado abaixo, onde apresenta-se os 20 maiores picos obtidos na análise, sendo observados a partir do tempo de retenção de 11 minutos.

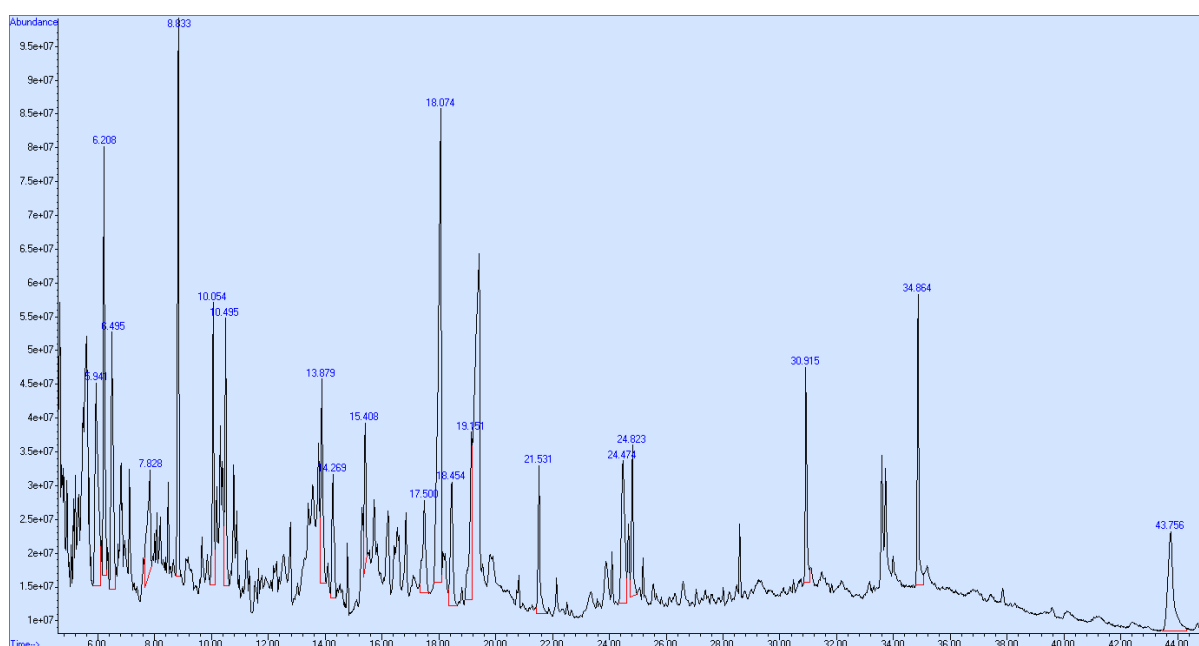
Figura 10: Cromatograma de íons totais para a fração hexânica.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Semelhantemente, o cromatograma de íons totais para a fração de acetato de etila (EAS) é demonstrado abaixo, onde apresenta-se os 20 maiores picos obtidos na análise, sendo observados a partir do tempo de retenção de 5 minutos.

Figura 11: Cromatograma de íons totais para a fração de acetato de etila.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Os dados obtidos a partir do cromatograma do software do aparelho de GC-MS das amostras: EHS e EAS estão apresentados na tabela 4 abaixo, em ordem crescente de tempo de retenção (RT).

Tabela 4: Listagem de compostos obtidos da análise GC-MS para as frações EHS e EAS

COMPOSTO QUÍMICO	EHS			EAS	
	Fórmula Molecular	RT (min)	Área%	RT (min)	Área%
1,2 Benzenodiol	C ₆ H ₆ O ₂	nd	-	5.941	6,682%
2-metilbenzaldeído	C ₈ H ₈ O	nd	-	6.208	6,442%
5-hidroximetilfurfural	C ₆ H ₆ O ₃	nd	-	6.495	6,163%
Ácido 2-hidroxitetradecanóico	C ₁₄ H ₂₈ O ₃	nd	-	7.828	3,541%
2,6-dimetoxifenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	nd	-	8.833	8,004%
ácido hexanóico, 2-isopropil-2-metil-5-oxo-, éster metílico	C ₁₁ H ₂₀ O ₃	nd	-	10.054	4,395%
Tetraciclo[4.4.1.1(7,10).0(2,5)]dodec-3-en-11-ol	C ₁₂ H ₁₆ O	nd	-	10.495	4,195%
2,2,7,7-Tetrametiltriciclo[6.2.1.0(1,6)]undec-4-en-3-ona	C ₁₅ H ₂₂ O	11.500	1,829%	nd	-
2-Propeno-1-ol, 3-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexeno-1-il)	C ₁₂ H ₂₀ O	12.659	1,495%	nd	-
Biciclo [2,2,1] heptano-2-ol, 2 alil-1,7,7-trimetil	C ₁₃ H ₂₂ O	nd	-	13.879	3,931%
Spiro[4.5]decan-7-ona, 1,8-dimetil-8,9-epoxi-4-isopropil	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	nd	-	14.269	2,831%

Acetato de 7-metil-Z-tetradecen-1-ol	$C_{17}H_{32}O_2$	nd	-	15.408	2,633%
6-Hidroxi-4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetrahidrobenzofurano-2(4H)-ona	$C_{11}H_{16}O_3$	nd	-	17.500 ; 18.074	3,108% ; 14,703%
Ácido tetradecanóico	$C_{14}H_{28}O_2$	17.582	1,778%	nd	-
Acetamida, n-metil-N-[4-(3-hidroxi pirrolidinil)-2-butinil]	$C_{11}H_{18}N_2O_2$	nd	-	18.454	3,353%
Ácido benzoico, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi	$C_9H_{10}O_5$	nd	-	19.151	4,897%
ácido 1,2-benzenodicarboxílico, éster bis(2-metilpropil)	$C_{16}H_{22}O_4$	20.772	3,383%	nd	-
7,9-di-terc-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-dieno-2,8-diona	$C_{17}H_{24}O_3$	20.792	-	nd	-
Ácido n-hexadecanóico	$C_{16}H_{32}O_2$	21.777	16,685%	21.531	3,006%
1-heptatriacontanol	$C_{37}H_{76}O$	nd	-	24.474	5,251%
Ácido 9,12-octadecadienóico	$C_{18}H_{32}O_2$	24.966	13,782%	nd	-
ácido 9,12,15-octadecatrienóico, éster 2,3-dihidroxi propílico	$C_{21}H_{36}O_4$	nd	-	24,823	2,671%
17-pentatriaconteno	$C_{35}H_{70}$	27.500 ; 38.341	1,427% ;1,621%	nd	-
9-octadecenamida	$C_{18}H_{35}NO$	28.741	14,692%	nd	-
Z-5-Metil-6-heneicosen-11-ona	$C_{22}H_{42}O$	29.213	1,371%	nd	-

Ácido hexadecanóico, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil)etílico	$C_{19}H_{38}O_4$	30.977	6,009%	30.915	3,600%
9-(2,2-dimetilpropanol hidrazono)-3,6-dicloro-2,7-bis-[2-(dietilamino)-etoxi] fluoreno	$C_{30}H_{42}Cl_2N_4O_3$	31.541	1,635%	nd	-
cis-11-eicosenamida	$C_{20}H_{39}NO$	31.890	2,053%	nd	-
Ácido 9,12-octadecadienóico (Z,Z)-, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil)etílico	$C_{21}H_{38}O_4$	33.613	2,117%	nd	-
E,E,Z-1,3,12-nonadecatieno-5,14-diol	$C_{19}H_{34}O_2$	33.736	1,953%	nd	-
ácido octadecanóico, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil)etílico	$C_{21}H_{42}O_4$	34.023	1,946%	nd	-
ácido 1,3-benzenodicarboxílico, éster bis(2-etilhexil)	$C_{24}H_{38}O_4$	34.423	2,680%	nd	-
13-docosenamida (Z)	$C_{22}H_{43}NO$	35.172 ; 35.305	19,800% ; 1,796%	34.864	4,742%
Jaceosidina	$C_{17}H_{14}O_7$	nd	-	43.756	5,853%

RT: tempo de retenção em minutos; Área: área de pico proporcional; nd: não detectado; - não tem área.

Fonte: Autora, 2023.

5.1 Composições químicas da fração hexânica das folhas de *B. pinnatum* analisada por GC-MS

Dentre os compostos observados, os com quantidade majoritária representam:

O composto 13-docosenamida [1], (figura 12), com área percentual de 19,800%, e massa molecular de 337,6 g/mol, é conhecido como erucamida sendo uma amida graxa primária resultante da condensação formal do grupo carboxila do ácido erúcico com amônia, estando funcionalmente relacionada com o ácido erúcico (22:1 ou ômega-9), com propriedades como um alto ponto de fusão e viscosidade. É comumente utilizada como um

aditivo deslizante na indústria de fabricação de plástico, filmes e revestimentos, ajudando a reduzir o atrito e a aderência em superfícies. É naturalmente encontrada em óleos vegetais, como o óleo de colza (Silva, 2010).

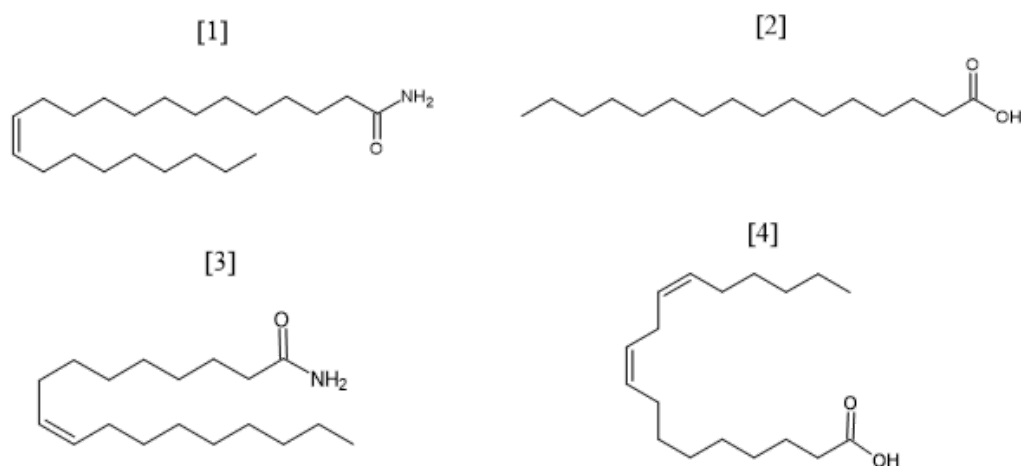
Ácido n-hexadecanóico [2], com área percentual de 16,685%, também conhecido como ácido palmítico, constitui-se como um ácido graxo de cadeia saturada com 16 carbonos na estrutura. O ácido palmítico é encontrado em muitos óleos vegetais e gorduras animais. É um componente comum em óleos de palma, manteiga de cacau, óleo de coco e em várias gorduras de origem animal. Devido às suas propriedades físicas e químicas, o ácido palmítico é utilizado em várias indústrias na fabricação de sabonetes, detergentes, velas, cosméticos e produtos de cuidados pessoais (Moreira *et al*, 2002). Os estudos de Assiwe (2021) com preparação de extrato utilizando acetato de etila (EAS) para as folhas de *B. pinnatum*, detectaram o mesmo composto (0,0418%) e outros derivados deste, assim como, no presente trabalho, também foi encontrado o composto ácido hexadecanóico e éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil) etílico para a fração de EHS e EAS. Os estudos de Uchegbu (2017) com extrato etanólico das folhas de *B. pinnatum* também detectaram a presença de ácido palmítico no perfil químico da amostra, constituindo 17,38% do extrato.

O composto 9-Octadecenamida [3], com área percentual de 14,692%, conhecido comumente como oleamida, representa uma amida derivada do ácido graxo insaturado, ácido oleico, que é encontrado em óleos vegetais, com uma insaturação na nona posição da estrutura carbônica. Naturalmente é associada a atividades cognitivas e de aumento da atividade da colina acetiltransferase, uma enzima essencial na produção de acetilcolina. Os resultados obtidos por Ribeiro, et al. (2003) sugerem que a oleamida deve ser um agente quimiopreventivo útil contra a doença de Alzheimer. A oleamida sintética é frequentemente utilizada em várias aplicações, como agentes antiaderentes e deslizantes em plásticos, filmes, revestimentos e outros produtos, devido às suas propriedades físicas específicas (Silva, 2010). O mesmo composto foi identificado por Adibe, et al., 2019 com área percentual de 5,63% nas folhas e 20,25% nos caules.

O ácido 9-12-octadecadienóico [4], com área percentual de 13,782%, conhecido popularmente como ácido linoléico, é o ácido graxo poli-insaturado ômega-6 com 18 carbonos e duas insaturações na estrutura. Este ácido graxo está associado com propriedades anti-inflamatórias pois auxilia na redução dos níveis de colesterol (LDL) no organismo, ajudando a prevenir doenças como a aterosclerose e ataques cardíacos. Além disso, também é considerado como detentor de propriedades antioxidantes, atuando na melhora da sensibilidade da insulina, promovendo controle nos níveis de açúcar no sangue e prevenindo

o aparecimento de diabetes. Além deste ácido graxo, encontrou-se também um derivado, o ácido 9,12-octadecadienóico (Z,Z)-, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil) etílico que é conhecido como β - monolinoleico (Moreira, *et al.*, 2002).

Figura 12: Compostos majoritários no EHS.



Fonte: Autora, 2023.

Outros compostos interessantes encontrados na análise da fração hexânica são:

O composto cis-11-Eicosenamida, com área percentual de 2,053%, é conhecido popularmente como gondamida, sendo uma amida primária resultante da condensação formal do grupo carboxi do ácido graxo insaturado eicosenóico. A cis-11-eicosenamida é frequentemente encontrada em fontes naturais, como óleos vegetais. Pode desempenhar um papel em vários processos biológicos (possuindo atividade antibacteriana) e é utilizada em diversas aplicações industriais, como aditivo em revestimentos polivalentes e como inibidor de corrosão em produtos automotivos (PubChem, 2023). O ácido tetradecanóico, com área percentual de 1,778%, conhecido usualmente como ácido mirístico, corresponde a um ácido graxo saturado com cadeia longa de 14 carbonos. Está presente em diversas gorduras animais e vegetais, e apresenta propriedades emolientes e hidratantes, sendo largamente utilizado na indústria de cosméticos para fabricação de pomadas, loções, sabonetes e cremes (Moreira, *et al.*, 2002).

O composto ácido octadecanóico, éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil) etílico, com área percentual de 1,946%, é um éster do ácido octadecanóico, conhecido popularmente como ácido esteárico. O ácido esteárico possui propriedades emolientes e protetoras e é facilmente absorvido pela pele, sendo assim um excelente hidratante e umidificante, sendo empregado em cremes e cosméticos (Moreira, *et al.*, 2002).

5.2 Composições químicas da fração de acetato de etila das folhas de *B. pinnatum* analisada por GC-MS.

Dentre os compostos observados, os com quantidade majoritária representam:

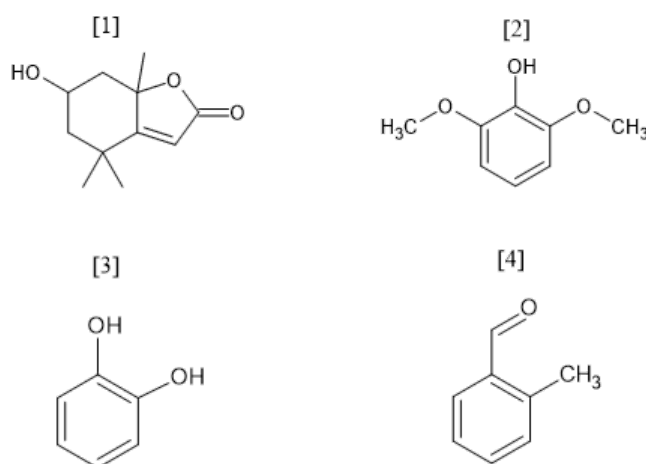
O composto 6-Hidroxi-4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetrahydrobenzofurano-2(4H)-ona [1], figura 13, com área percentual de 14,703%, é um membro dos benzofuranos, constituindo-se de um composto heterocíclico de anéis de benzeno e furano, sendo encontrado em diversos organismos vegetais como um metabólito secundário. Os benzofuranos são utilizados como precursores sintéticos orgânicos para a produção de moléculas bioativas polifuncionalizadas e podem ser associados a diversas ações terapêuticas, com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Brant, 2003).

O composto 2,6-Dimetoxifenol [2], com área percentual de 8,004%, também conhecido como siringol, é um membro da classe dos fenóis, sendo substituído por grupos metoxi nas posições 2 e 6. Constitui-se como um metabólito secundário derivado da pirólise da lignina e, um componente da fumaça de madeira e carvão. Constitui-se como o principal princípio aromático de alimentos defumados e grelhados. (Merk, 2023).

O composto 1,2 Benzenodiol [3], com área percentual de 6,682% e massa molar de 110 g/mol, é um composto químico pertencente à classe dos dióis aromáticos, sendo conhecido popularmente como pirocatecol. Alguns produtos da auto oxidação desta molécula, como a benzoquinona, são potentes agentes antimicrobianos naturais, protegendo a planta contra ataques patogênicos. Além disso, é utilizado em diversas sínteses químicas na indústria farmacêutica e alimentícia (ChemBK, 2023).

O composto 2-Metilbenzaldeído [4], com área percentual de 6,442%, também conhecido como o-Tolualdeído, é considerado um aldeído aromático que tem diversas aplicações industriais, sobretudo como aromatizante e flavorizante, devido ao seu odor frutal, sendo também utilizado como um bloco de construção em diferentes sínteses químicas. Pode ser extraído de uma série de fontes naturais, como as amêndoas. (ChemicalBook, 2023).

Figura 13: Compostos majoritários no EAS.



Fonte: Autora, 2023.

Ademais, outros compostos interessantes encontrados durante a análise química da fração de acetato de etila compreendem:

O ácido 2-hidroxitetradecanóico, com área percentual de 3,541%, é um derivado do ácido tetradecanóico (ácido mirístico) com um substituinte hidroxila no C-2 e com cadeia idêntica de 14 carbonos. Essa modificação química pode levar a propriedades e atividades biológicas diferentes em comparação com o ácido graxo original. A adição do grupo hidroxila torna o ácido 2-hidroxi tetradecanóico mais polar em comparação com o ácido tetradecanóico não modificado. Isso pode afetar suas propriedades físicas, como solubilidade. As propriedades do ácido 2-hidroxi tetradecanóico e seus derivados indicam que os ácidos graxos hidroxilados podem ter propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, o que pode ter implicações para a saúde. O ácido tetradecanóico e seus derivados é frequentemente utilizado em produtos cosméticos e farmacêuticos, devido às suas propriedades emolientes e emulsificantes. Ele pode ajudar a melhorar a textura e a estabilidade de produtos como cremes, loções e pomadas (Moreira, *et al.*, 2002).

Jaceosidina, com área percentual de 5,853%, está alocada no grupo dos flavonóides, sendo uma trihidroxiflavona com grupos hidroxila nas posições 5, 7 e 4' e grupos metoxi nas posições 3' e 6. Foi encontrada em diversas plantas como *Salvia tomentosa* e *Artemisia asiática*, sendo responsável por propriedades antialérgicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas e anticancerígenas (Nageen, 2021).

O composto Acetamida, N-metil-N-[4-(3-hidroxipirrolidinil)-2-butilil], com área percentual de 3,353%, é um alcaloide do grupo pirrolidínico associado a efeitos estimulantes, sedativo e tranquilizante em organismos humanos (TAIZ; ZEIGER, 2010).

6. CONCLUSÃO

As análises das frações hexânica e de acetato de etila das folhas da espécie vegetal *B. pinnatum* sp. por GC-MS indicaram a presença de ácidos graxos e metabólitos secundários, que de forma geral, sinalizam para as atividades terapêuticas destinadas a espécie. Dentre os compostos obtidos para a fração hexânica, destacam-se: 13-Docosenamida (19,800%), Ácido n-hexadecanóico (16,685%), 9-Octadecenamida (14,692%) e Ácido 9,12- octadecadienóico (13,782%). Entre os compostos obtidos para a fração de acetato de etila, destacam-se: 6-Hidroxi-4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetrahidrobenzofurano-2(4H)-ona (14,703%), 2,6-Dimetoxifenol (8,004%), 1,2 Benzenodiol (6,682%), 2-Metilbenzaldeído (6,442%). A variedade de compostos presentes na planta medicinal podem atender a indústria farmacêutica, indústria de cosméticos, indústria de plastificantes e alimentícia, como apontado na discussão dos resultados obtidos.

Diante disso, o presente estudo visa contribuir nas pesquisas científicas dos principais constituintes químicos da espécie, sendo que diante dos dados satisfatórios obtidos, as perspectivas futuras para a pesquisa sobre a planta são promissoras. Em relação aos estudos futuros salientamos a importância de realização de pesquisas *in vitro* e *in vivo* para confirmar propriedades terapêuticas, como potencial de cicatrização e antiinflamatória de alguns compostos químicos identificados em nossa pesquisa. O prosseguimento de pesquisas exploratórias deverá conduzir ao desenvolvimento de novos produtos que atendam as necessidades da sociedade, como fármacos ou cosméticos, a partir das partes aéreas desta espécie medicinal.

REFERÊNCIAS

- ABDELLAOUI, S.; *et al.* Bioactive molecules in *Kalanchoe pinnata* leaves: extraction, purification and identification. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 398, p. 1329–1338, 2010.
- ADESANWO, J.K.; *et al.* Antiulcer activity of methanolic extract of *Bryophyllum pinnatum* in rats. **J. Biol. Sci.** v. 7, p. 409–412, 2007.
- AFZAL, M.; *et al.* Anti-inflammatory and analgesic potential of a novel steroidal derivative from *Bryophyllum pinnatum*. **Fitoterapia** v. 83, p. 853–858, 2012.
- AFZAL, M.; *et al.* Effect of *Bryophyllum pinnatum* Lam. on N-diethylnitrosamine induced hepatic injury in rats. **Pharmacologia** v. 4, p. 82–88, 2013.
- AGOSTINHO, A.G.; *et al.* Estudo da ação do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum*. **Arq. Med. ABC** v.15, p.14–18, 1992.
- AGYARE, C.; *et al.* An ethnopharmacological survey and in vitro confirmation of the ethnopharmacological use of medicinal plants as anthelmintic remedies in the Ashanti region, in the central part of Ghana. **J. Ethnopharmacol.** v. 158, p. 255–263, 2014.
- AIBINU, I. E. *et al.* In Vitro Antimicrobial Activity of Crude Extracts from Plants *Bryophyllum Pinnatum* and *Kalanchoe Crenata*. **Afr. J. Tradit. CAM.** v. 4, n. 3. p. 338 - 344. 2007.
- AKINPELU, D.A. Antimicrobial activity of *Bryophyllum pinnatum* leaves. **Fitoterapia** v. 71, p. 193–194, 2000.
- AKINSULIRE, O.R.; *et al.* In vitro antimicrobial activity of crude extracts from plants *Bryophyllum pinnatum* and *Kalanchoe crenata*. **Afr. J. Tradit. CAM** v. 4, p. 338–344, 2007.
- ALHAJI, U.I.; *et al.* In vitro antitrypanosomal activity, antioxidant property and phytochemical constituents of aqueous extracts of nine Nigerian medicinal plants. **Asian Pac. J. Trop. Dis.** vol. 4, p. 348–355., 2014.
- ALMEIDA, A.P.; *et al.* Isolation and chemical analysis of a fatty acid fraction of *Kalanchoe pinnata* with a potent lymphocyte suppressive activity. **Planta Med.** v. 66, p. 134–137, 2000.
- ANADOZIE, S.O.; *et al.* *Bryophyllum pinnatum* inhibits arginase II activity and prevents oxidative damage occasioned by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats. **Biomed. Pharmacother.** v. 101, p. 8–13, 2018.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Fundação Oswaldo Cruz, 2010.
- AOKI, C.; HARTATI, S.; *et al.* Isolation and identification of substances with anti-hepatitis C virus activities from *Kalanchoe pinnata*. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci.** v. 6, p. 211–215, 2014.

AQIL, F.; AHMAD, I. Broad-spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants. **World J. Microbiol. Biotechnol.** v. 19, p. 653–657, 2003.

ARANSIOLA, E. F. *et al.* Anti-Diabetic Effect of *Bryophyllum pinnatum* Leaves. **International Journal of Biotechnology and Bioengineering.** v. 8, n. 1. 2014.

ARAÚJO, E.R.D.; *et al.* Gastroprotective and antioxidant activity of *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* leaf juices against indomethacin and ethanol-induced gastric lesions in rats. **Int. J. Mol. Sci.** v. 19, 2018.

ARAÚJO, M. E. M. Química dos Produtos Naturais: Ácidos Gordos e Derivados. **DQB.** p. 11. 2012.

ASIWE, E. S. *et al.* Characterization of Chemical Composition of *Bryophyllum pinnatum* Leaf Ethyl Acetate Fraction. **AJARR**, vol. 15 n. 4, 2021, p. 15-24.

BISWAS, S.K.; *et al.* Phytochemical investigation with assessment of cytotoxicity and antibacterial activities of chloroform extract of the leaves of *Kalanchoe pinnata*. **Am. J. Plant Physiol.** v.7, p. 41–46, 2012.

BOPDA, O.S.M.; *et al.* Antihypertensive activities of the aqueous extract of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) in high salt-loaded rats. **J. Ethnopharmacol.** v.153, p. 400–407, 2014.

BRANT, A. J. C. Flavonóides, Cumarinas e Benzofuranos como Marcadores Quimiotaxonômicos em Asteraceae. Dissertação de Mestrado- **Universidade de São Paulo.** p. 185. 2003.

BRASIL. **Ministério da Saúde.** Plantas Medicinais de Interesse ao SUS- Rénisus. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnmpf/ppnmpf/renisus>. Acesso em: 15 ago. 2023.

BRASIL. **Ministério da Saúde.** Tipos de Produtos e Conceitos. Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnmpf/orientacao-ao-prescritor/tipos-de-produtos-e-conceito>. Acesso em: 18 out. 2023.

BRAZ, D.C.; OLIVEIRA, L.R.S.; VIANA, A.F.S.C. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso da *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. **Rev. Bras. Plantas Med.** v.15, p. 86–90, 2013.

CHEMBK. Características do 1,2 Benzenediol, 2023. Disponível em: <https://www.chembk.com/en/chem/1,2-Benzenediol>. Acesso em: 18 nov. 2023.

CHEMICALBOOK. Propriedades do 2-metilbenzaldeído. CAS. 16 ago. 2023. Disponível em: [2-Metilbenzaldeído | 529-20-4 \(chemicalbook.com\)](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty.aspx?cid=529-20-4). Acesso em 26 nov. 2023.

CHIBLI, L.A.; *et al.* Anti-inflammatory effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken ethanol extract in acute and chronic cutaneous inflammation. **J. Ethnopharmacol.** v.154, p. 330–338, 2014.

CHOWDHURY, A.; *et al.* Investigation of cytotoxicity and antifungal activities of petroleum ether and aqueous extracts of leaves and stems of *Kalanchoe pinnata* L. (Crassulaceae). **Asian J. Plant Sci** v.10, p. 274–277, 2011.

CRUZ, E.A.; SILVA, S.A.G.; *et al.* Immunomodulatory pretreatment with *Kalanchoe pinnata* extract and its quercitrin flavonoid effectively protects mice against fatal anaphylactic shock. **Int. Immunopharmacol.** v.8, p.1616–1621, 2008.

CRUZ, E.A.; REUTER, S.; *et al.* *Kalanchoe pinnata* inhibits mast cell activation and prevents allergic airway disease. **Phytomedicine** v.19, p.115–121, 2012.

CUNHA, A. P. Farmacologia e Fitoquímica: Cumarinas. Lisboa, **Fundação Calouste Gulbenkian**, p. 226-231, 2009.

FEITOSA, C.M.; *et al.* Acetylcholinesterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants. **Braz. J. Biol.** v. 71, p. 783–789, 2011.

FERNANDES, J. M. *et al.* *Kalanchoe laciniata* and *Bryophyllum pinnatum*: an updated review about ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **Rev. Bras. de Farmacognosia.** vol. 29, n. 4. p. 529–558. 2019.

FERNANDES, J.M.; *et al.* Inhibitory effects of hydroethanolic leaf extracts of *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae) against local effects induced by *Bothrops jararaca* snake venom. **PLOS ONE** v. 11, 2016.

FERREIRA, R.T.; *et al.* Mechanisms underlying the antinociceptive, antiedematogenic and anti-inflammatory activity of the main flavonoid from *Kalanchoe pinnata*. **Evid. Based Complement. Altern. Med.**, 2014.

GHASI, S.; *et al.* Assessment of the medical benefit in the folkloric use of *Bryophyllum pinnatum* leaf among the Igbos of Nigeria for the treatment of hypertension. **Afr. J. Pharm. Pharmacol.** v.5, p.83–92, 2011.

GOMES, D.C.O.; *et al.* Effectiveness of the immunomodulatory extract of *Kalanchoe pinnata* against murine visceral leishmaniasis. **Parasitology** v. 137, p. 613–618, 2009.

GUPTA, R.; *et al.* Anti-inflammatory activity of extracts and isolated alkaloidal fraction from leaves of *Bryophyllum pinnatum*. **Pharmacologyonline** v.2, p. 873–886, 2009.

GUPTA, S.; *et al.* In-vitro efficacy of *Bryophyllum pinnatum* leaf extracts as potent therapeutics. **Prep. Biochem. Biotechnol.** v.46, p.489–494, 2015.

GWEHENBERGER, B. *et al.* Effect of *Bryophyllum pinnatum* versus fenoterol on uterine contractility. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.** v.113, p. 164–171, 2004.

HARA, K.; *et al.* Antioxidant activities of traditional plants in Sri Lanka by DPPH free radical scavenging assay. **Data Brief** v.17,p. 870-875, 2018.

HARLALKA, G.V.; PATIL, C.R.; PATIL, M.R. Protective effect of *Kalanchoe pinnata Pers* (Crassulaceae) on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. **Indian J. Pharmacol.** v.39, p. 201–205, 2007.

JAIN, V.C. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of *Bryophyllum calycinum* Salisb leaf. **Pharmacologyonline** v.1, p. 393–405, 2010.

KHAN, M.; PATIL, P.A.; SHOBHA, J.C. Influence of *Bryophyllum pinnatum (Lam.)* leaf extract on wound healing in albino rats. **J. Nat. Remedies** v.4, p.41–46, 2004.

KAEWPIBOON, C. *et al.* Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. **BMC Complement. Altern. Med.** 2012a.

LEBEDEVA, A.A.; *et al.* Bactericide immunomodulating, and wound healing properties of transgenic *Kalanchoe pinnata* synergize with antimicrobial peptide cecropin P1 in vivo. **J. Immunol. Res.**, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**, 2008.

MABEKU, L. B. K. *et al.* Treatment of *Helicobacter pylori* infected mice with *Bryophyllum pinnatum*, a medicinal plant with antioxidant and antimicrobial properties, reduces bacterial load. **Biologia Farmacêutica.** v. 55, n. 1. p. 603-610. 2017.

MAHATA, S.; *et al.* Anticancer property of *Bryophyllum pinnata (Lam.)* Oken. Leaf on human cervical cancer cells. **BMC Complement. Altern. Med.** 2012.

MAJAZ, Q.; KHURSHID, M.; NAZIM, S.; RAHIL, K.; SIRAJ, S. Evaluation of antioxidant activity of *Kalanchoe pinnata* roots. **Int. J. Res. Ayurveda Pharm.** v.2, p. 1772–1775, 2011.

MALDONADO, G. Estudo Sobre os Métodos de Extração de Óleos Essenciais – Uma Revisão Integrativa. Monografia- **Universidade Tecnológica Federal do Paraná.** Ponta Grossa. p. 63. 2022.

MANS, D.R.A.; *et al.* Evaluation of Surinamese medicinal plants for their potential bronchospasmolytic effects in isolated guinea pig tracheal chains. **Red. J. Med. Plant** v. 9, p. 14–23, 2015.

MARINHO, L. C. de M.; CORDEIRO, S. Z. *Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers.* Universidade Federal do Estado do Rio De Janeiro. 2020.

MATTHEW, S.; *et al.* Antidiabetic activity of *Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers* in alloxan induced diabetic rats. **J. Chem. Pharm. Sci.** v.6, p. 1–7, 2013a.

MATTHEW, S.; *et al.* Antidepressant activity of ethanolic extract of plant *Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers* in mice. **Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.** v.1, p. 153–155, 2013b.

MENEZES, S. L. M. Plantas e Metabólitos Secundários: Uma Proposta para o Ensino de Química Orgânica. Dissertação (Mestre em Química)- **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**. Medianeira, Pr. 2020. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/28885/1/plantasmetabolitossecundariosensino.pdf>. Acesso em: 18 out 2023.

MENON, N.; SPARKS, J.; OMORUYI, F. Hypoglycemic and hypocholesterolemic activities of the aqueous preparation of *Kalanchoe pinnata* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.** v.5, p. 3–9, 2015.

MENON, N.; SPARKS, J.; OMORUYI, F.O. Oxidative stress parameters and erythrocyte membrane adenosine triphosphatase activities in streptozotocin-induced diabetic rats administered aqueous preparation of *Kalanchoe pinnata* leaves. **Pharmacogn. Res.** v.8, p.85–88, 2016.

MERK. Características do composto 2,6-dimetoxifenol. **Flavors & Fragrances Sigma Aldrich**. 2023. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/aldrich/w313726>. Acesso em: 26 nov 2023.

MORA-PÉREZ, A.; *et al.* Actividad anticonvulsivante del extract metanólico de tallo y raíz de *Kalanchoe pinnata* Lam. en ratones: comparación con diazepam. **Neurologia** v.31, p. 161–168, 2016.

MOREIRA, N.X.; CURTI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutrire; rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr.** São Paulo, SP., v.24, p. 105-123, dez., 2002.

MORSHERED, A.; *et al.* Evaluation of antinociceptive activity of two Bangladeshi medicinal plants, *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. and *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. **Adv. Nat. Appl. Sci.** v.4, p. 193–197, 2010.

MUNÕZ, V.; SAUVAIN, M.; BOURDY, G.; CALLAPA, J.; ROJAS, I.; VARGAS, L.; TAE, A.; DEHARO, E. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by Mosekene Indians. **J. Ethnopharmacol.** v.69, p. 139–155, 2000.

MUZITANO, M.F.; CRUZ, E.A.; *et al.* Quercitrin: an antileishmanial flavonoid glycoside from *Kalanchoe pinnata*. **Planta Med.** v.72, p. 81–83, 2006.

MUZITANO, M.F.; *et al.* Oral metabolism and efficacy of *Kalanchoe pinnata* flavonoids in a murine model of cutaneous leishmaniasis. **Planta Med.** v.75, p. 307–311, 2009.

NAGEEN B. *et al.* Jaceosidina: Uma flavona natural com atividades farmacológicas e biológicas versáteis. **Curr Pharm Des.** v. 27, n. 4, p. 456-466. 2021.

NASCIMENTO, L.B.S.; *et al.* Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) Persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. **J. Photochem. Photobiol. B** v.89, p. 391–399, 2015.

NASSIS, C.Z.; *et al.* Efeitos do suco extraído de folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb (Crassulaceae) sobre o aprendizado da esQUIVA ativa, em ratos. **Arq. Med. ABC** v.1, p. 7–9, 1995.

NASSIS, C.Z.; *et al.* Efeito do suco extraído das folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb (Crassulaceae) sobre a liberação de gonadotrofinas. **Arq. Med. ABC** v.1, p. 6–10, 1996.

NWADINIGWE, A.O. Antimicrobial activities of methanol and aqueous extracts of the stem of *Bryophyllum pinnatum* Kurz (Crassulaceae). **Afr. J. Biotechnol.** v.10, p. 16342–16346, 2011.

NAYAK, B.S.; MARSHALL, J.R.; ISITOR, G. Wound healing potential of ethanolic extract of *Kalanchoe pinnata* Lam. leaf – a preliminary study. **Indian J. Exp. Biol.** v.48, p. 572–576, 2010.

OBASEIKI-EBOR, E.E.; *et al.* Antimutagenic activity of extracts of leaves of four common edible vegetable plants in Nigeria (West Africa). **Mutat. Res.** v.302, p. 109–117, 1993.

OGBONNIA, S.O.; ODIMEGWU, J.I.; ENWURU, V.N. Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of aqueous ethanolic extracts of *Treculia africana* Decne and *Bryophyllum pinnatum* Lam. and their mixture on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **Afr. J. Biotechnol.** v.7, p. 2535–2539, 2008.

OJEWOLE, J.A.O. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. **J. Ethnopharmacol.** v. 99, p. 13–19, 2005.

OKWU, D. E; NNAMDI, F. U. Two novel flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and their antimicrobial Activity. **J. Chem. Pharm. Res.** vol. 3, n. 2. p. 1-10. 2011.

OZOLUA, R.I.; *et al.* Effects of aqueous leaf extract of *Bryophyllum pinnatum* on guinea pig tracheal ring contractility. **Niger. J. Physiol. Sci.** v.25, p. 149–157, 2010.

PAL, S.; CHAUDHURI, A.K.N.. Studies on the anti-ulcer activity of a *Bryophyllum pinnatum* leaf extract in experimental animals. **J. Ethnopharmacol.** v.33, p. 97–102, 1991

PHATAK, R.S.; HENDRE, A.S. Free radical scavenging activities of different fractions of *Kalanchoe pinnata*. **Int. J. Pharm. Tech. Res.** v.8, p. 854–863. 2015.

PHATAK, R.S.; HENDRE, A.S. In vitro antiurolithiatic activity of *Kalanchoe pinnata* extract. **Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.** v.7, p. 275–279, 2015b.

PEREIRA, K. M.. F. *et al.* Chemical Composition and Cytotoxicity of *Kalanchoe pinnata* Leaves Extracts prepared using Accelerated System Extraction (ASE). **Natural Product Communications**, v. 13, n. 2. p. 163-166. 2018.

PERES, L. E. P. Metabolismo Secundário. Óleos Essenciais. [2015?.] Disponível em: <https://www.oleosessenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas/#introducao>. Acesso em: 18 out. 2023.

PUBCHEM. Resumo do composto PubChem para 5365374 CID, cis-11-eicosenamida. **Centro Nacional de Informação em Biotecnologia**. 2023. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cis-11-Eicosenamide>.

RIBEIRO, ADRIANA *et al.* Efeitos da oleamida na colina acetiltransferase e atividades cognitivas. **Biociência, Biotecnologia e Bioquímica**. Vol. 67, n 6. p. 1284–1291. jan. de 2003.

RODRIGUES, F. A. *et al.* Obtenção de Extratos de Plantas do Cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v.13 n.23. p. 870. 2016.

RODRIGUES, M. V. N. *et al.* O emprego de técnicas hifenadas no estudo de plantas medicinais. **Multi Ciência**. Campinas, SP. p. 14. 2006.

RODRIGUES, V. Apresentação- Métodos de Extração. Slideshare. 25 slides. 25 de fev. 2013. Disponível em: <https://pt.slideshare.net/vanessaracele/mtodos-de-extrao>. Acesso em: 18 out. 2023.

SALADAHDEEN, H. M.; YEMITAN, O. K. Neuropharmacological Effects of Aqueous Leaf Extract of *Bryophyllum Pinnatum* in Mice. **African Journal of Biomedical Research**. v. 9. p. 101 - 107. 2006.

SALAMI, E.O.; *et al.* Studies on the anti-asthmatic and antitussive properties of aqueous leaf extract of *Bryophyllum pinnatum* in rodent species. **Asian Pac. J. Trop. Med**. v.6, p. 421–425, 2013.

SANTOS, L. C. D. *et al.* Ácidos Graxos Vegetais: Composição Química, Atividade Biológica e Potencial Biotecnológico. *In: Trabalhos nas áreas de fronteira da química 2*. PANIAGUA, C. E. da S. org. **Atena**. Ponta Grossa - PR. 2021.

SANTOS, M. T. dos, *et al.* Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM) e suas Diversas Aplicações. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE*. p. 9. 2016.

SILVA, S.A.G.; *et al.* Therapeutic effect of oral *Kalanchoe pinnata* leaf extract in murine leishmaniasis. **Acta Trop**. v.60, p. 201–210, 1995.

SILVA, C. M. da. Minimização da geração de resíduos líquidos através da mudança de metodologia cromatográfica para determinação de deslizantes em polipropileno. Monografia: Curso de Química Industrial- **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, p. 37. 2010.

SHARMA, A.; *et al.* In vitro antibacterial and antioxidant activity of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci**. v.6, p. 558–560, 2014a.

SHARMA, A.L.; *et al.* Gastroprotective effect of aqueous extract and mucilage from *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. **Anc. Scice Life** v.33, p. 252–258, 2014b.

SHARKER, S.M.; *et al.* Chemical and biological studies of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) growing in Bangladesh. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.**, 2012.

SINGH, N.; *et al.* Antiplasmodial activity of medicinal plants from Chhoranagpur plateau, Jharkhand, India. **J. Ethnopharmacol.** v.165, p. 152–162, 2015.

SIMÕES-WÜST, A.P.; *et al.* Juice of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) inhibits oxytocin-induced increase of the intracellular calcium concentration in human myometrial cells. **Phytomedicine** v.17, p. 980–986, 2010.

SOWEMIMO, A.A.; *et al.* Toxicity and mutagenic activity of some selected Nigerian plants. **J. Ethnopharmacol.** v.113, p. 427–432, 2007.

SUPRATMAN, U.; *et al.* Anti-tumor promoting activity of bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana* × *tubiflora*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v.65, p. 947–949, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. *In: Fisiologia Vegetal.* Artmed. 4^o ed. p. 342-372. 2010.

TATSIMO, S. J. N. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*. **BioMed Central Research Notes**, v. 5, n. 158, p. 1-13, 2012.

UCHEGBU, R. I. *et al.* Chemical Constituents Analysis of the Leaves of *Bryophyllum pinnatum* by GC-MS. **AASCIT Journal of Chemistry.** Vol. 3, No. 3, p. 19-22. 2017.

UFELLE, S.A.; *et al.* The effect of crude methanolic leaf extract of *Bryophyllum pinnatum* on some hematological parameters in Wistar rats. **Res. J. Pharmacol.** v.5, p. 14–17, 2011.

UMBUZEIRO-VALENT, G.; *et al.* Mutagenic and antimutagenic evaluation of the juice of the leaves of *Bryophyllum calycinum* (*Kalanchoe pinnata*), a plant with antihistamine activity. **Environ. Mol. Mutagen.** v.33, p. 325–327, 1999.

WÄCHTER, R.; *et al.* Leaf press juice from *Bryophyllum pinnatum* (Lamarck) Oken induces myometrial relaxation. **Phytomedicine** v. 19, p. 74–82, 2011.

YADAV, N.P.; DIXIT, V.K. Hepatoprotective activity of leaves of *Kalanchoe pinnata* Pers. **J. Ethnopharmacol.** v. 86, p. 197–202, 2003.

YADAV, M.; *et al.* *Bryophyllum pinnatum* leaf extracts prevent formation of renal calculi in lithiatic rats. **Anc. Sci. Life** v. 36, p. 90–97, 2016.

YASIR, F.; WAQAR, M.A. Effect of indigenous plant extracts on calcium oxalate crystallization having a role in urolithiasis. **Urol. Res.** v. 39, p. 345–350, 2011.

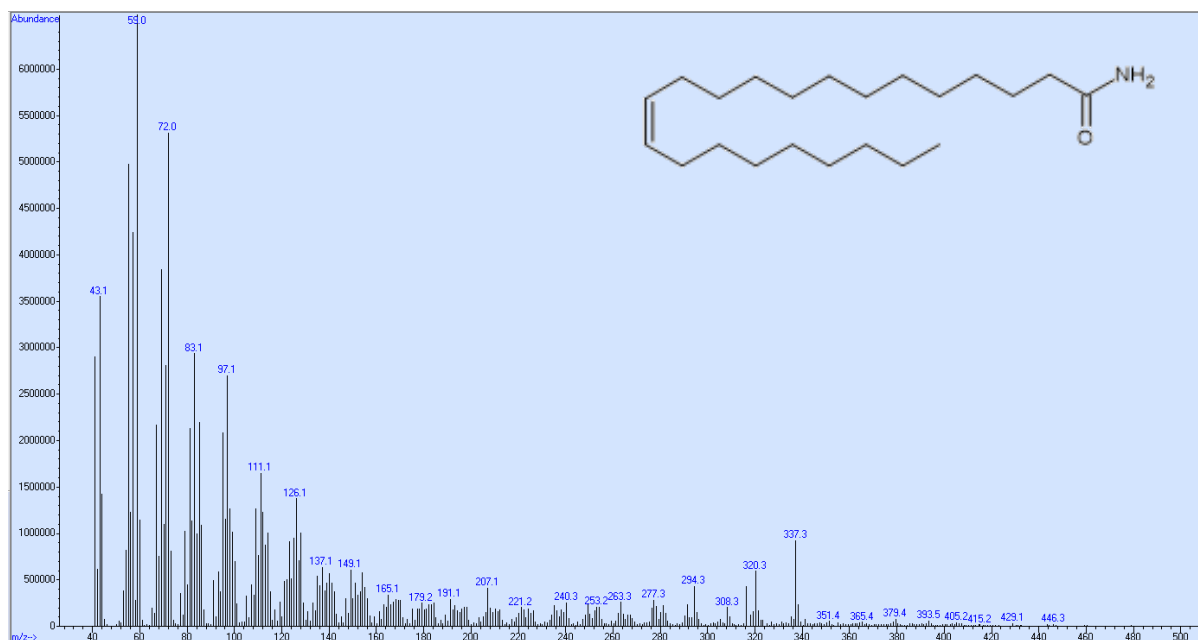
YEMITAN, O.K.; SALAHDEEN, H.M. Neurosedative and muscle relaxant activities of aqueous extract of *Bryophyllum pinnatum*. **Fitoterapia** v. 76, p. 187–193, 2005.

ZAKHARCHENKO, N.S.; *et al.* Immunomodulating and Revascularizing Activity of *Kalanchoe pinnata* Synergize with Fungicide Activity of Biogenic Peptide Cecropin P1. **J. Immunol. Res.** p. 1–9, 2017.

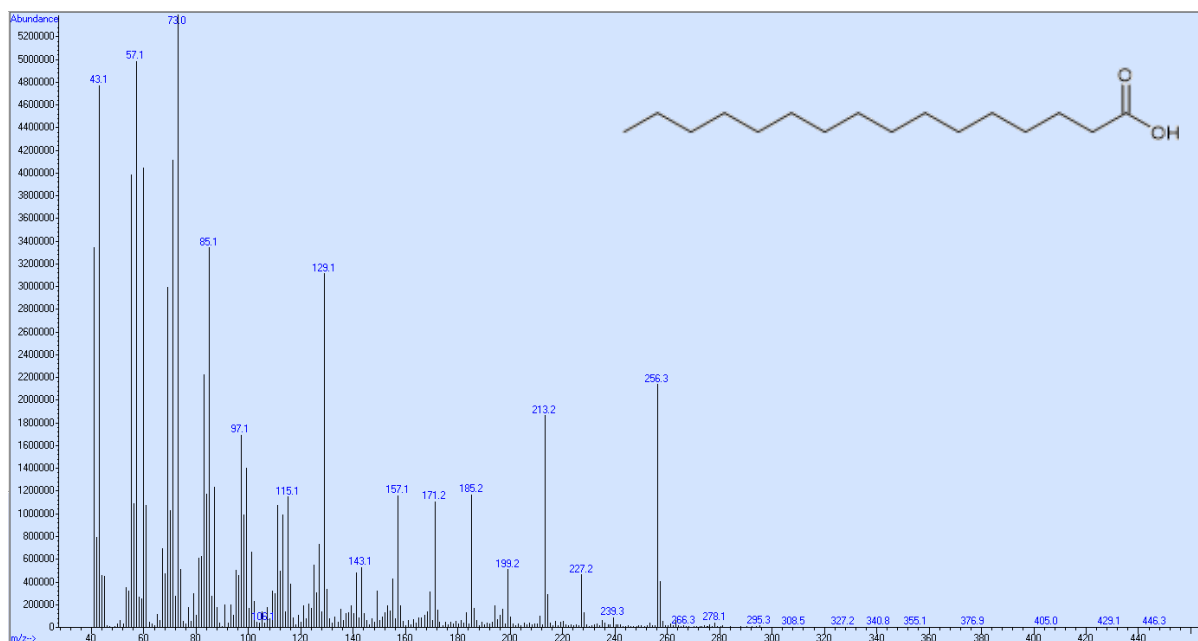
ANEXOS

ANEXO A - Conjunto de espectro de massas, gerados por ionização de impacto eletrônico de 70 eV, dos compostos majoritários para a fração EHS.

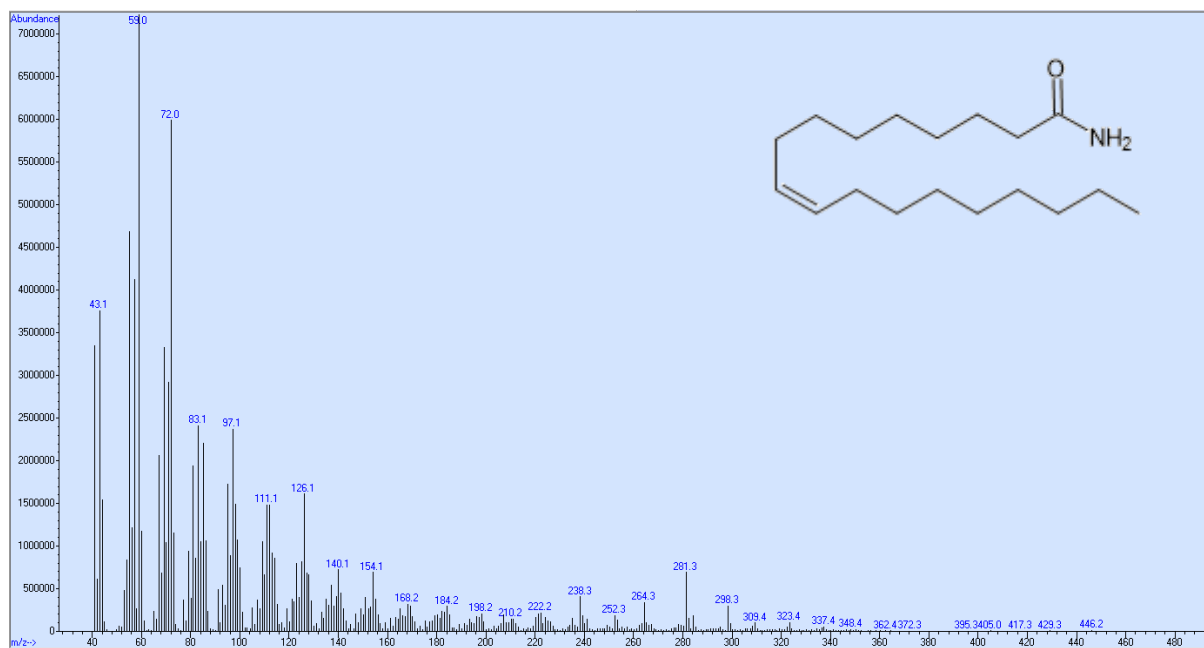
Espectro de massas do composto 13-docosenamida (EHS)



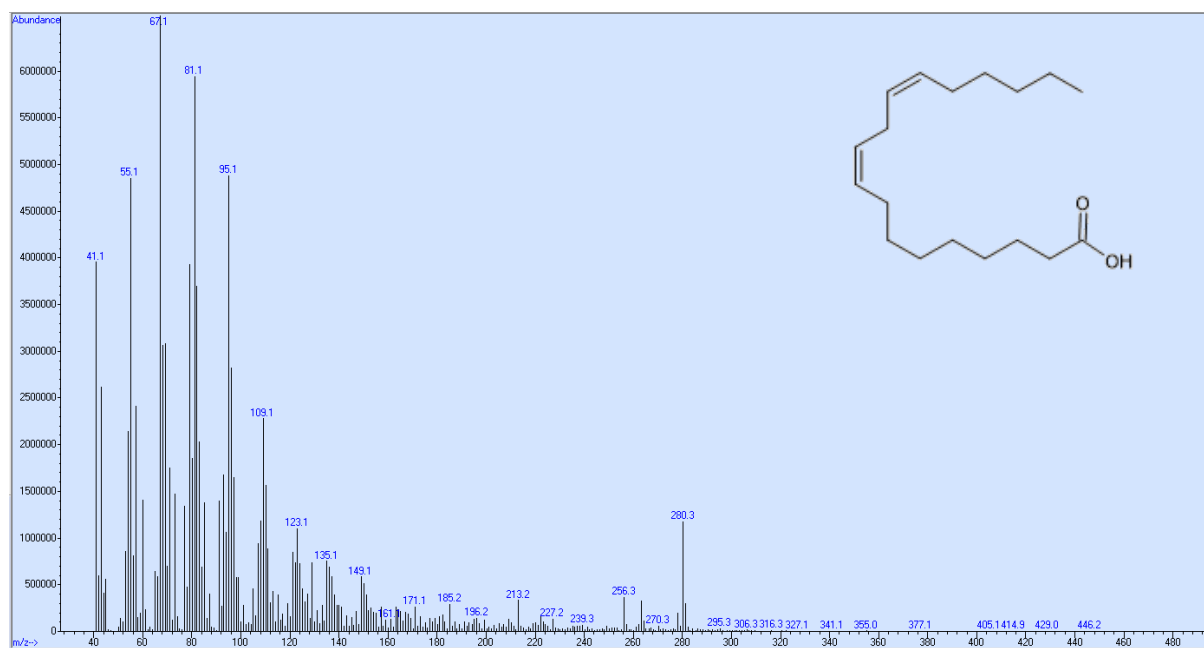
Espectro de massas do composto n-hexadecanóico (EHS)



Espectro de massas do composto 9-Octadecenamida (EHS)



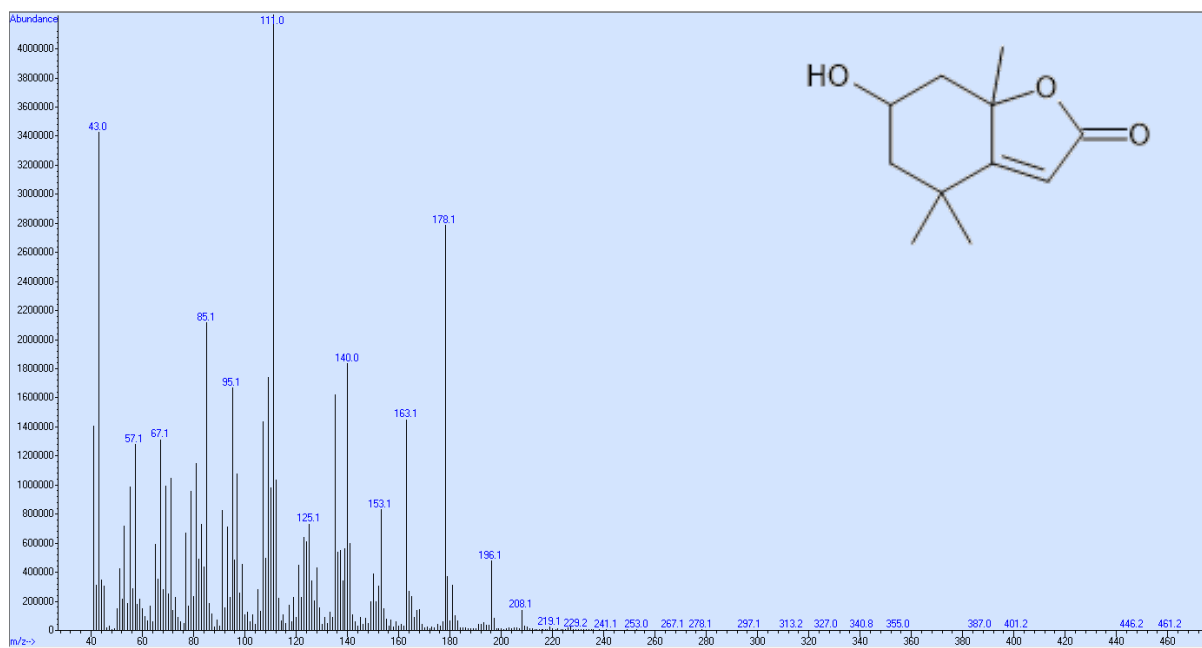
Espectro de massas do composto ácido 9-12-octadecadienóico (EHS)



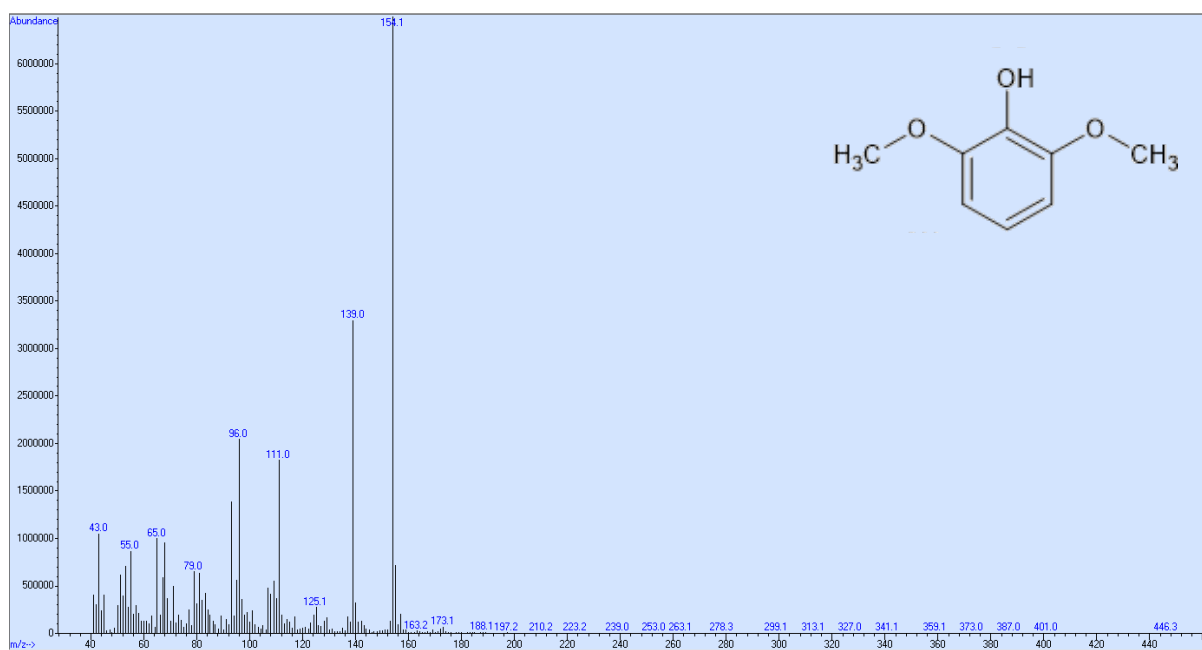
ANEXOS

ANEXO B - Conjunto de espectros de massas, gerados por ionização de impacto eletrônico de 70 eV, dos compostos majoritários da fração de acetato de etila.

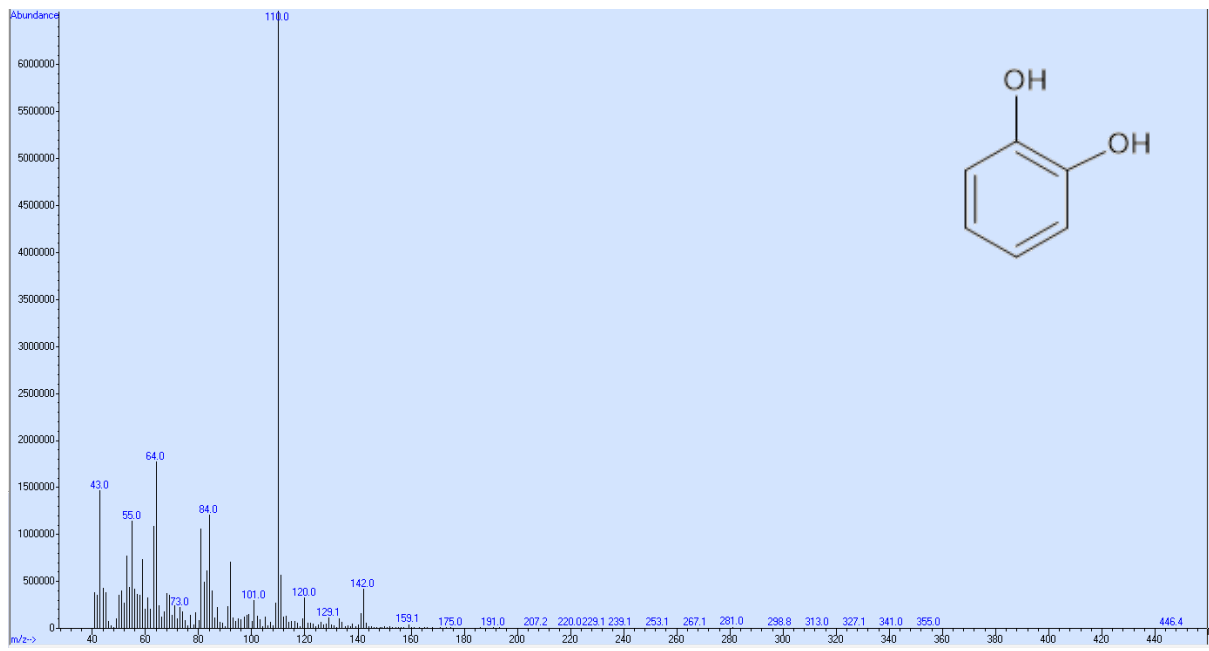
Espectro de massas do composto
6-Hidroxi-4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetrahydrobenzofurano-2(4H)-ona (EAS)



Espectro de massas do 2,6-Dimetoxifenol (EAS)



Espectro de massas do 1,2 Benzenediol (EAS)



Espectro de massas 2-Metilbenzaléido (EAS)

