

ESTUDO VISANDO A OBTENÇÃO DE DITERPENOS CLERODANOS DAS FOLHAS DE *Echinodorus grandiflorus* (Alismataceae)

Amanda Oliveira de Pinho e Edgard Antonio Ferreira

Apoio: PIVIC Mackenzie

RESUMO

O presente trabalho visou a obtenção de compostos pertencentes a classe dos diterpenos do tipo clerodano a partir do extrato bruto em hexano das folhas da espécie nativa de macrófita aquática *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltr.) Micheli, a partir de informações quimiotaxonômicas do gênero citado. Para isto, uma série de procedimentos cromatográficos e espectroscópicos foram realizados almejando o isolamento e identificação de tais compostos. Os procedimentos cromatográficos foram realizados sequencialmente iniciando a partir de cromatografia em coluna aberta de sílica-gel com modo gradiente de eluição, cromatografia por permeação em gel (Sephadex LH-20), e como última etapa, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) semi-preparativa. Como métodos de monitoramento das frações e grupos obtidos em cada uma das etapas do fracionamento cromatográficos foram utilizados cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e análise de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H). Os procedimentos resultaram no isolamento de um composto que pela análise dos dados espectrais de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C sugeriram um diterpeno do tipo clerodano. Os resultados obtidos neste estudo estão em acordo com a química do gênero estudado, enfatizando ainda mais que os diterpenos do tipo clerodano são uma das principais classes de metabolitos especiais biosintetizados pelas espécies do gênero *Echinodorus*.

Palavras-chave: Diterpeno. *Echinodorus*. Alismataceae.

ABSTRACT

This study aimed to obtain compounds belonging to the clerodane-type diterpenes class from the hexane crude extract of the leaves of the native aquatic macrophyte species *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltr.) Micheli, based on chemotaxonomic information about the cited genus. To achieve this, a series of chromatographic and spectroscopic procedures were performed to isolate and identify such compounds. The chromatographic procedures were carried out sequentially, starting with open-column silica gel chromatography with a gradient elution mode, followed by gel permeation chromatography (Sephadex LH-20), and concluding with semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). Thin-layer chromatography (TLC) and hydrogen nuclear magnetic resonance (^1H NMR) spectroscopy were used to monitor the fractions and groups obtained at each stage of the chromatographic fractionation. These procedures resulted in the isolation of a compound whose ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data suggested it to be a clerodane-type diterpene. The results obtained in this study are consistent with the chemistry of the studied genus, further emphasizing that clerodane-type diterpenes are one of the main classes of specialized metabolites biosynthesized by species of the *Echinodorus* genus.

Keywords: Diterpene. *Echinodorus*. Alistemaceae.

1. INTRODUÇÃO

A flora brasileira é notoriamente rica em número e diversidade espécies distribuídas por todos os biomas. Estas espécies vegetais possuem diferentes formas de adaptação ao ambiente em que vivem, como as macrófitas aquáticas que se desenvolvem em ambientes aquáticos. Estima-se que há cerca de 600 e 700 espécies de macrófitas aquáticas no Brasil, um número considerável, especialmente quando se leva em conta a restrição fitogeográfica para o crescimento dessas plantas. No entanto, os estudos sobre a composição química e os efeitos biológicos dos compostos biosintetizados por estas espécies ainda são escassos e há ainda muito o que investigar.

Dentro do grupo das macrófitas aquáticas, o gênero *Echinodorus*, pertencente à família Alismataceae, é de particular interesse. Esse gênero conta com 27 espécies (Matias, 2007), das quais 17 foram identificadas no Brasil, sendo nove no estado de São Paulo. No entanto, apenas duas dessas espécies foram objeto de estudos fitoquímicos, a *E. grandiflorus* e a *E. macrophyllus*. Ambas são conhecidas popularmente como chapéu-de-couro e tem sido tradicionalmente utilizada na medicina popular por suas propriedades diuréticas e anti-inflamatórias (Tanaka et al., 1997; Pimenta, et al., 2006; Tibiracá et al., 2007). Os poucos estudos existentes indicam a presença de diterpenos do tipo clerodano como os principais constituintes (Kobayashi et al., 2000a; Kobayashi et al., 2000b; Kobayashi et al., 2000c; Marques et al., 2017; Shigemori et al., 2002). Esta classe exibem uma ampla gama de atividades biológicas, como ação citotóxica, anti-inflamatória e antifúngica. (Lima et al., 2022; Martínez-Casares et al., 2023).

O problema central desta pesquisa reside na lacuna de conhecimento sobre a composição química detalhada e os potenciais efeitos biológicos dos diterpenos clerodanos extraídos de *Echinodorus grandiflorus*. Embora já se conheça a presença desses compostos na planta (Marques et al., 2017), a extensão e o impacto das propriedades bioativas, além da possibilidade de obter substâncias inéditas ainda não foram adequadamente explorados e carece de estudos mais detalhados. Portanto, como ponto de partida, a obtenção e caracterização dos compostos constituintes da espécie é fundamental.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é isolar e caracterizar compostos da classe dos diterpenos clerodanos a partir das folhas da *Echinodorus grandiflorus*. Esta investigação busca contribuir para descoberta de novas moléculas que auxiliar no entendimento quimiotaxonômico do gênero *Echinodorus*, além de ponto de partida para avaliar o potencial terapêutico destas moléculas e/ou fornecer protótipos moleculares para a síntese de novas moléculas potencialmente bioativas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Família Alismataceae

A família Alismataceae é composta por 13 gêneros de plantas aquáticas e semiaquáticas e conta com cerca de 80 espécies. Os gêneros mais conhecidos dessa família são *Echinodorus* e *Sagittaria*, sendo os gêneros com maior número de espécies (Lehtonen, 2006; Matias, 2007).

2.2. *Echinodorus*

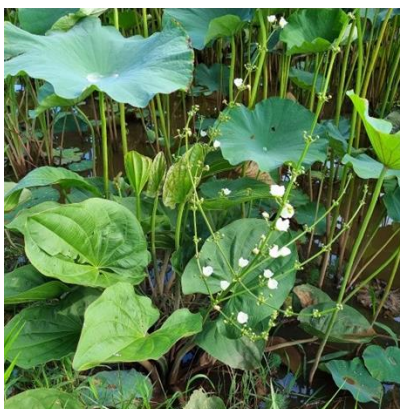
O gênero *Echinodorus* é formado por plantas aquáticas e semiaquáticas da família Alismataceae, representado por macrófitas aquáticas emergentes (Lehtonen, 2006; Matias, 2007). Esse gênero é composto por 27 espécies. São comuns nas áreas tropicais da América do Sul, predominantes da região nordeste do Brasil e presentes em lagoas e rios. Várias espécies desse gênero possuem flores brancas delicadas que podem ser utilizadas em ornamentos (Marques et al., 2017).

Várias espécies do gênero *Echinodorus*, como a *E. grandiflorus* e a *E. macrophyllus*, são utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças respiratórias, inflamatórias, infecções, dentre outras (Silva et al., 2016; Marques et al., 2017). Entretanto, são necessários estudos envolvendo os compostos isolados para atribuir as suas respectivas propriedades terapêuticas.

2.3. *Echinodorus grandiflorus*

A *Echinodorus grandiflorus* (Figura 1), conhecida popularmente como chapéu-de-couro, é uma planta aquática classificada como emergente que se desenvolve nas margens de lagos em diversas regiões do país (Marques et al., 2017).

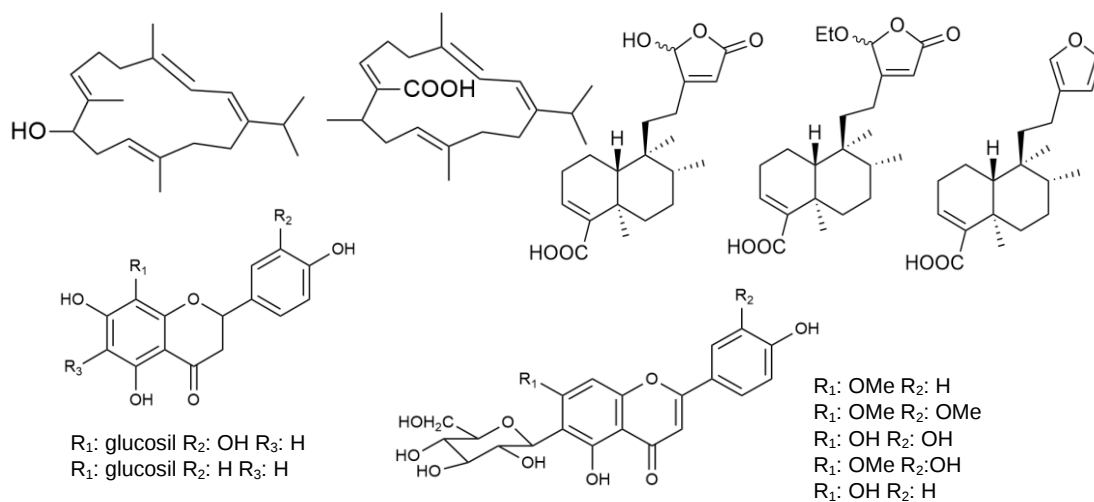
Figura 1: *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltr.) Micheli.



Fonte: Edgard Antonio Ferreira

Dentre os compostos já isolados e caracterizados quanto a estrutura química, os flavonoides e diterpenos do tipo cembranos e clerorados tem destaque (Figura 2) (Marques et al., 2017).

Figura 2: Substâncias isoladas da espécie *E. grandiflorus*.

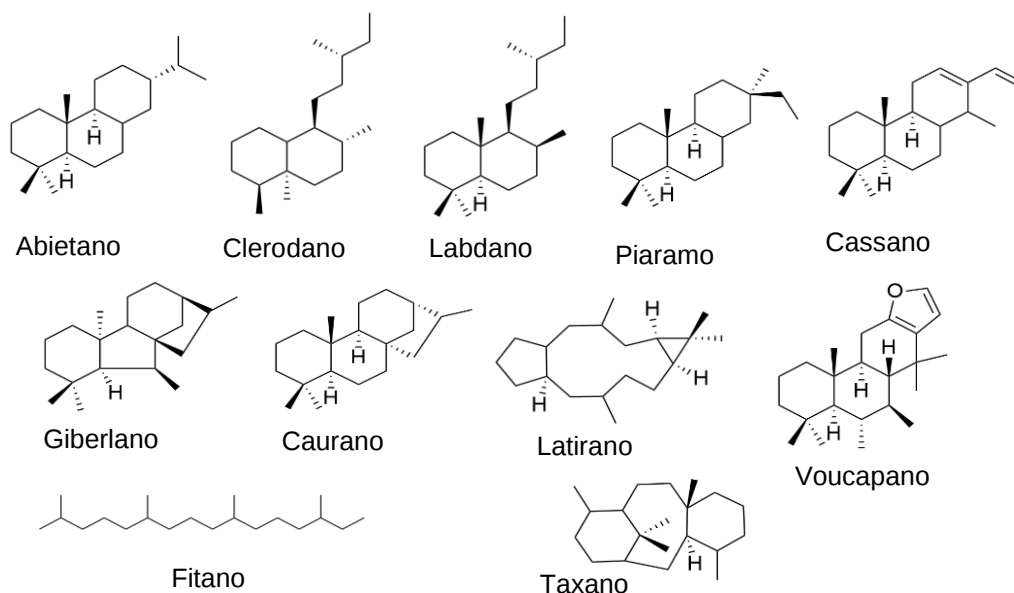


Fonte: Marques et al., 2017

2.4. Diterpenos

Os diterpenos são uma classe de metabólitos especiais com diversos compostos conhecidos e encontrados em espécies vegetais, fungos, cianobactérias (Santana et al., 2020; Banik et al., 2022). São constituídos por 20 átomos de carbono e de acordo com a conectividade destes átomos durante a biossíntese, subclasses de diterpenos são formadas, como clerodanos, cembranos, labdanos, entre outros (Figura 3).

Figura 3: Estruturas gerais de subclasses de Diterpenos.



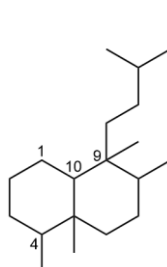
Fonte: Banik et al., 2022

São vários os relatos sobre as potencialidades farmacológicas destes compostos, que incluem efeitos anti-inflamatório, anticâncer, antiviral, bactericida, dentre outros. (Lin, et al., 2020; Banik et al., 2022; Martínez-Casares et al., 2023).

2.4. Diterpenos clerodanos

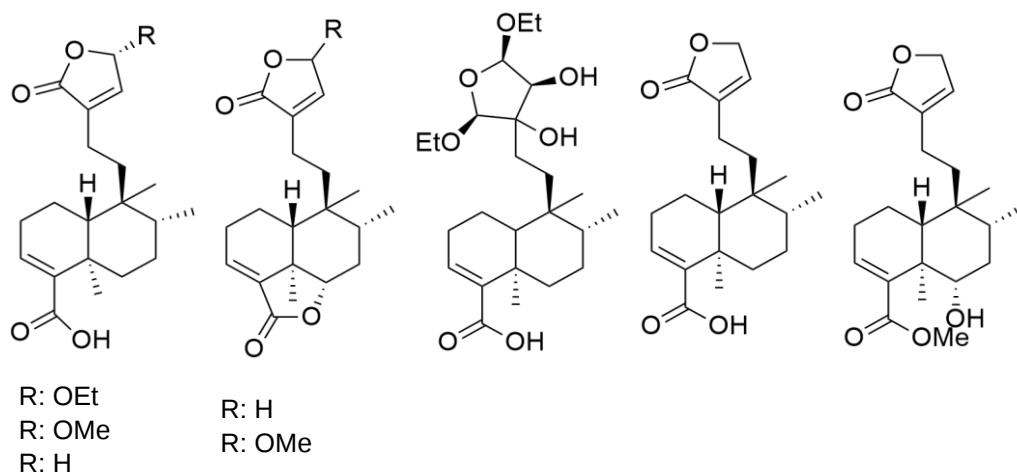
Diterpenos do tipo clerodanos são metabólitos especiais que podem ser encontrados em espécies de plantas. Eles possuem uma estrutura básica de um anel fundido do tipo decalina (C1-C10) e na posição C9 uma cadeia lateral formada por seis átomos de carbono (Figura 4) (Martínez-Casares et al., 2023).

Figura 4: Estrutura básica de diterpenos clerodanos.



Esta subclasse de diterpenos são ampla ocorrência em espécies vegetais, como na *Callicarpa hypoleucophylla* (Figura 5) (Lin et al., 2020; Lima et al., 2022).

Figura 5: Estruturas moleculares de diterpenos clerodanos obtidos da *C. hypoleucophylla*.



Fonte: Lin et al., 2020



3. METODOLOGIA

3.1 Materiais

Os solventes utilizados nas extrações, e fracionamento cromatográfico foram hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) de grau PA da marca Lab Synth.

Para a concentração dos extratos foi utilizado rotaevaporador BUCCHI, sob pressão reduzida, equipado com bomba de vácuo BUCCHI modelo V- 700/710.

Para a coluna cromatográfica aberta foi utilizada sílica gel do tipo 60, com partículas 63-200 μm da Merck. Para a cromatografia de permeação em gel foi utilizado Sephadex LH-20 da Sigma-Aldrich.

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em Cromatógrafo Agilent Technologies 1200 Infinity Series com detector por varredura de espectro no Ultravioleta por arranjo de fotodiodos (DAD-UV/VIS), modelo 1260 Infinity Series e módulo de tratamento de dados ChemStation Edition.

As amostras injetadas para análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram previamente filtradas em filtro de seringa de Nylon (0,22 μm).

Como fase estacionária foi utilizada coluna Supelco Ascentis de fase reversa C18 (250 x 10 mm) e 5 μm de diâmetro de partícula. Para as análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizado acetonitrila (ACN) de grau cromatográfico (Merck).

Para cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), foram utilizadas placas comerciais de sílica gel 60 PF₂₅₄, sobre suporte de alumínio da Merck. As placas de CCDA e CCDF serão reveladas sob lâmpada ultravioleta (254 e 365 nm).

Os espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) foram obtidos em um espectrômetro Bruker DRX 300 localizado na central analítica do Instituto de Química da USP/São Paulo. A amostra submetida aos experimentos de RMN foi solubilizada em uma mistura de CDCl_3 e MeOD da Sigma-Aldrich.

3.2 Espécie Vegetal

As partes aéreas da espécie *Echinodorus grandiflorus* foram coletadas no município de Suzano/SP junto a um produtor de plantas ornamentais para lagos artificiais em 18/11/2021. A espécie teve a confirmação de sua identidade do herbário municipal de São Paulo, pela botânica Sumiko Honda e uma exsicata foi depositada no mesmo herbário sob código 21770 e inserido no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob código A14C313.

3.3 Extrato bruto e fracionamento cromatográfico

O extrato bruto foi obtido pela maceração de 336,0 g das folhas secas em hexano, que após a remoção do solvente resultou em 10,27 g de extrato bruto seco. O respectivo extrato foi então submetido a um fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel com eluição no modo gradiente em ordem crescente de polaridade, a partir de uma solução de Hexano e Acetato de Etila (1:1) até 100% de metanol resultando em 10 grupos identificados de A a J, respectivamente.

3.4 Fracionamento cromatográfico do grupo A

O grupo A (2,90 g) foi submetido a um fracionamento cromatográfico em coluna aberta de sílica gel (4,0 x 29,0 cm) utilizando o modo gradiente de eluição.

Os solventes utilizados foram adicionados em ordem crescente de polaridade utilizando hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), nas seguintes proporções: (8:2, 6:4, 4:6, 2:8), AcOEt 100%, MeOH 100%. Esse procedimento gerou 85 frações que foram reunidas em 8 subgrupos (A1 – A8) após análise por CCDA, utilizando uma solução de Hex:AcOEt (6:4) como fase móvel e revelação sob radiação ultravioleta ($\lambda=425$ nm) (Tabela 1).

Tabela 1: Subgrupos obtidos a partir do fracionamento cromatográfico da fração A.

Grupo	Fração	Massa (g)
A1	1 – 19	1,2739
A2	20 – 26	0,2736
A3	27 – 40	0,5723
A4	41 – 59	0,5422
A5	60 – 70	0,1763
A6*	71 – 77	0,0950
A7*	78 – 81	0,0755
A8	82 – 85	0,1778

Fonte: A autora

3.5 Fracionamento cromatográfico do subgrupo A6

O subgrupo A6 (85 mg) foi submetido há um fracionamento por permeação em gel em coluna de dimensões 3,0 x 73,0 cm, e eluída por uma solução de CHCl_3 e MeOH (1:1). Esse procedimento resultou em 18 frações, que foram analisadas CCDA utilizando uma solução de Hex:AcOEt 3:7 como fase móvel, a fim de reunir as frações que obtiveram deslocamento similar na cromatoplaça após revelação sob radiação ultravioleta ($\lambda=425$ nm). Desse modo, as frações resultaram em 5 subgrupos (A6a – A6e) (Tabela 2).

Tabela 2: Grupos do fracionamento cromatográfico da fração A6.

Grupo	Fração	Massa (mg)
A6a	1 - 7	2,64
A6b	8 – 9	5,90
A6c	10 – 16	1,50
A6d*	17	2,30
A6e*	18	7,00

Fonte: A autora

3.6 Fracionamento cromatográfico dos subgrupos A7

Da mesma maneira para o subgrupo A7, 69,0 mg foi submetido a um fracionamento por permeação em gel com coluna com dimensões de 3,0 x 73,0 cm e eluido com uma solução de CHCl_3 e MeOH (1:1). Esse procedimento resultou em 23 frações, que foram analisadas por CCDA utilizando uma solução de Hex:AcOEt (4:6), para reunir as frações que obtiveram deslocamento similar na cromatoplaça após revelação sob radiação ultravioleta ($\lambda=425$ nm). Desse modo, as frações resultaram em 4 subgrupos (A7a – A7d) (Tabela 3).

Tabela 3: Grupos do fracionamento cromatográfico da fração A7.

Grupo	Fração	Massa (mg)
A7a	1 – 9	33,3
A7b	10 – 11	6,70
A7c	12 – 21	18,6
A7d*	22 – 23	2,10

Fonte: A autora

3.4. Análise cromatográfica por CLAE dos subgrupos A6d, A6e e A7d

Os subgrupos A6d, A6e e A7d, foram analisados por CLAE com o intuito de obter o perfil cromatográfico e realizar a última etapa de purificação.

A análise foi realizada com utilização de coluna Supelco Ascentis de fase reversa C18 (250 x 10 mm e 5 μm), a fase móvel constituída de acetonitrila (ACN) e água ultrapura, com um fluxo de 2,5 mL/min (Tabela 4). A detecção foi realizada no comprimento de onda 210 nm.

Tabela 4: Gradiente de eluição das frações A6d, A6e e A7d da *E. grandiflorus*.

Tempo (min)	ACN (%)	H ₂ O (%)
0,0	66,0	34,0
5,0	66,0	34,0
12,0	70,0	30,0



13,0	85,0	15,0
14,0	85,0	15,0
15,50	66,0	34,0

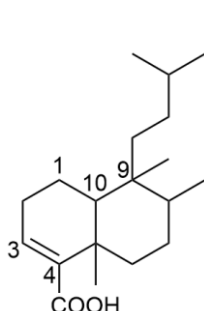
Fonte: A autora

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

O presente estudo teve como início a análise de RMN de ^1H dos grupos A-J obtidos pelo fracionamento cromatográfico do extrato bruto em hexano.

Após análise de todos os grupos por RMN de ^1H , foi identificado a presença de um sinal de hidrogênio olefínico em δ 6,80 ppm característico de diterpenos do tipo clerodano que possuem um sistema α,β insaturado de um ácido carboxílico nas posições 3 e 4, que condiz com a estrutura geral dos diterpenos já relatados para o gênero no grupo A. Portanto, os fracionamentos cromatográficos foram monitorados com base na presença deste sinal característico (Figura 6).

Figura 6: Sistema α,β insaturado de um diterpeno do tipo clerodano.

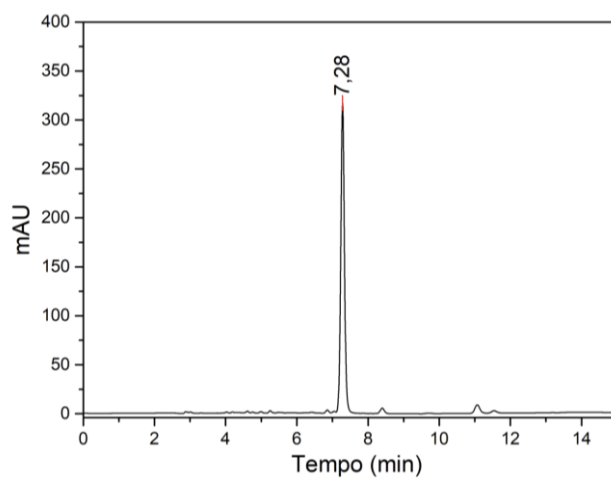


Desta forma, o grupo A foi selecionado para dar continuidade dos procedimentos visando a purificação de substâncias.

Como etapa inicial, o grupo A foi submetido a cromatografia em coluna aberta de sílica-gel em que o resultado gerou dois subgrupos com os respectivos sinais de δ 6,80 ppm, indicativo dos diterpenos (A6 e A7).

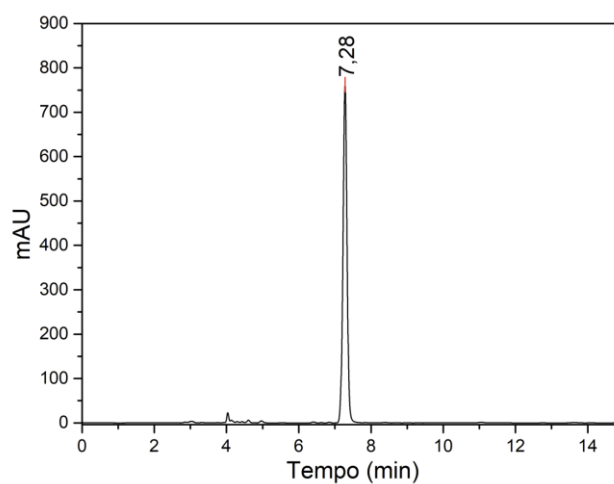
Individualmente os dois subgrupos foram submetidos a uma abordagem em que o mecanismo de separação foi a exclusão molecular (Sephadex LH-20) visando um mecanismo de separação que pudesse conduzir ao isolamento ou subgrupos com elevada concentração do composto de interesse, assim foram gerados três subgrupos contendo diterpenos, A6d, A6e e A7d. Estes subgrupos tiveram seus perfis cromatográficos obtidos por CLAE, onde foi constatado elevado grau de pureza (Figuras 7 a 9).

Figura 7: Perfil cromatográfico dos subgrupo A6d.



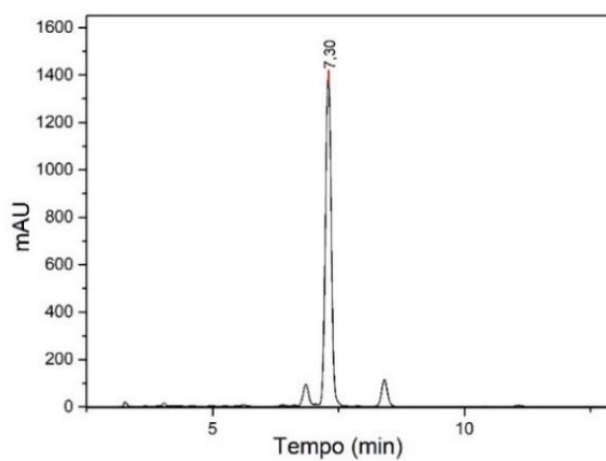
Fonte: A autora

Figura 8: Perfil cromatográfico do subgrupo A6e.



Fonte: A autora

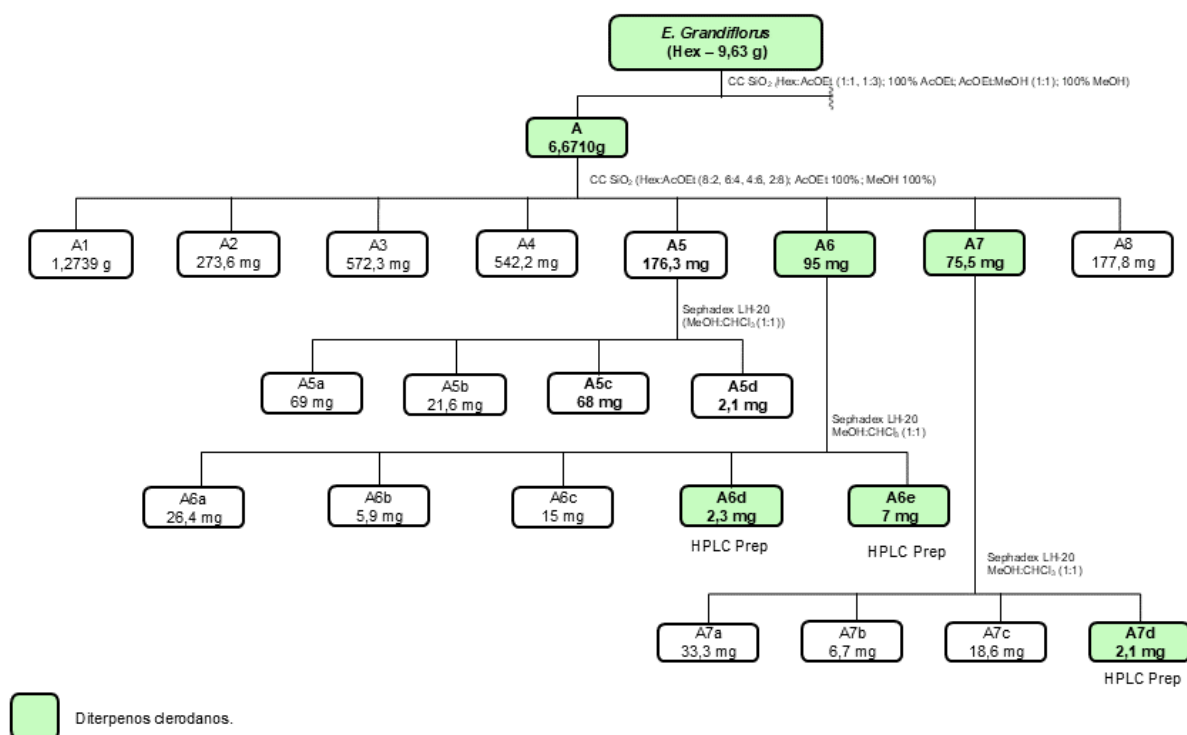
Figura 9: Perfil cromatográfico do subgrupo A7d.



Fonte: A autora

Mesmo com o alto grau de pureza, ainda havia a presença de impurezas. Portanto, os três subgrupos foram submetidos a etapa final de purificação por CLAE semi-preparativo. Outra observação surge dos tempos de retenção similares, o que sugere a presença do mesmo composto dos três subgrupos. As etapas do fracionamento cromatográfico estão sumarizadas no fluxograma da Figura 10.

Figura 10: Fluxograma do fracionamento cromatográfico do grupo A da espécie *E. grandiflorus*.



Fonte: A autora

Após a purificação, os espectros de RMN de ¹H e RMN de ¹³C (Figuras 11 e 12) foram registrados e constatou-se que como já indicado pela análise por CLAE o mesmo diterpeno estava presente nos três subgrupos. Com isto, a massa resultante do diterpeno foi de 10 mg.

Figura 11: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *E. grandiflorus*.

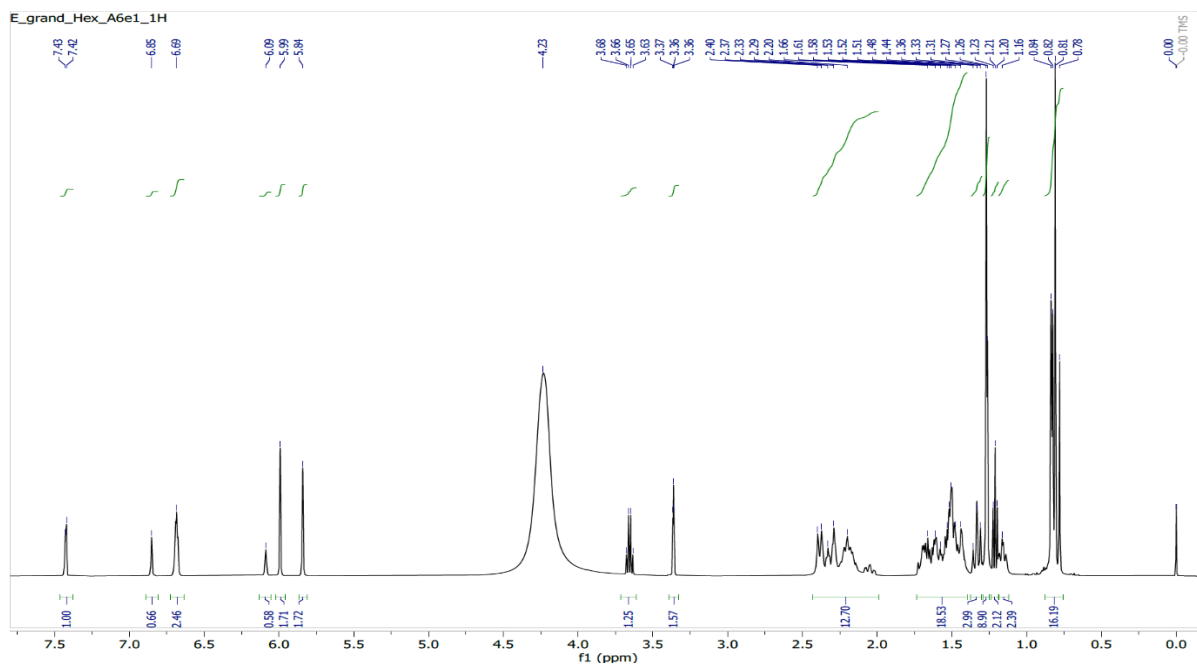
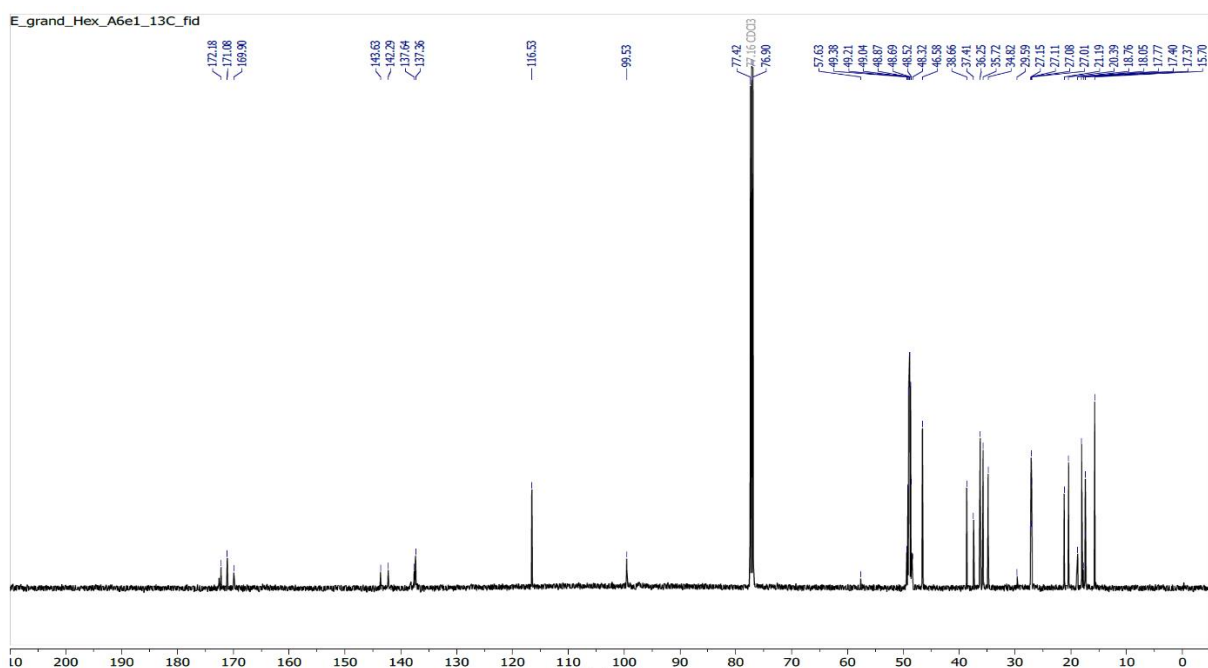


Figura 12: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *E. grandiflorus*.



O espectro de RMN de ^1H revelou como observado desde o início do fracionamento cromatográfico um sinal em δ 6,85 ppm correspondente a presença de um hidrogênio olefínico compatível com um sistema α,β insaturado comum a diterpenos do tipo clerodano já identificados no gênero, o ácido patagônico (Lin, et. al., 2020; Bi, et.al., 2023) e o ácido

clerodérmico (Rivera-Cháves, et.al., 2020; Ren, et.al, 2023), além de sinais que abrangem uma ampla faixa do espectro entre δ 0,78 e 2,50 ppm que correspondem aos hidrogênios do anel decalina. O espectro de RMN de ^{13}C também apresenta sinais em regiões características para a classe dos diterpenos, como a região entre δ 15 e 40 ppm para grupos metilênicos, 135 a 145 para carbonos olefínicos e na região entre 165 e 175 para carbonilas e carbonos olefínicos conjugados com carbonila.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho resultou na obtenção de uma substância da classe dos diterpenos do tipo clerodano, a partir das folhas da espécie *Echinodorus grandiflorus*, o que estabelece a tendência de as espécies deste gênero produzir compostos desta classe. Tais compostos apresentam uma grande quantidade de relatos na literatura sobre suas potencialidades farmacológicas, o que evidencia a importância de estudos para obtenção e avaliação dos efeitos biológicos. O presente composto ainda não teve sua estrutura molecular completamente elucidada, no entanto esforços estão sendo empregados para a definição da estrutura molecular.

6. REFERÊNCIAS

BANIK, B. K.; SAHOO, B. M.; TIWARI, A. Synthesis, and Medicinal Uses of Diterpenoids from: Terpenoids, Chemistry, Biochemistry, Medicinal Effects, Ethno-pharmacology. CRC Press, dez. 2022.

BI, D. W. et al. Callicarpanes A–L, Twelve New Clerodane Diterpenoids with NLRP3 Inflammasome Inhibitory Activity from *Callicarpa integerrima*. Chemistry & Biodiversity, v. 20, e202200985, 2023.

KOBAYASHI, J. I.; SEKIGUCHI, M.; SHIGEMORI, H.; OHSAKI, A. Echinophyllins A and B, novel nitrogen-containing clerodane diterpenoids from *Echinodorus macrophyllus*. Tetrahedron Letters, v. 41, p. 2939-2943, 2000a.

KOBAYASHI, J. I.; SEKIGUCHI, M.; SHIMAMOTO, S.; SHIGEMORI, H.; OHSAKI, A. Echinophyllins C–F, New Nitrogen-Containing Clerodane Diterpenoids from *Echinodorus macrophyllus*. Journal of Natural Products, v. 63, p. 1576-1579, 2000b.

KOBAYASHI, J. I.; SEKIGUCHI, M.; SHIMAMOTO, S.; SHIGEMORI, H.; OHSAKI, A. Chapecoderins A-C, New Labdane Derivative Diterpenoids from *Echinodorus macrophyllus*. *Journal of Natural Products*, v. 63, p. 375-377, 2000c.

LEHTONEN, S. Phylogenetics of *Echinodorus* (Alismataceae) based on morphological data. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 150, n. 3, p. 291–305, mar. 2006.

LESSA, M. A. et al. Antihypertensive effects of crude extracts from leaves of *Echinodorus grandiflorus*. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, v. 22, n. 2, p. 161–168, mar. 2008.

LIMA, J. DOS R. et al. Biological properties of clerodane-type diterpenes. v. 11, n. 2, maio 2022.

LIN, Y.-C. et al. Clerodane Diterpenoids from *Callicarpa hypoleucophylla* and Their Anti-Inflammatory Activity. *Molecules*, v. 25, n. 10, p. 2288, maio 2020.

MARQUES, A. M. et al. *Echinodorus grandiflorus*: Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological overview of a medicinal plant used in Brazil. *Food and Chemical Toxicology*, v. 109, p. 1032–1047, nov. 2017.

MARTÍNEZ-CASARES, R.M. et al. Anti-Inflammatory and Cytotoxic Activities of Clerodane-Type Diterpenes. *Molecules*, v.28, p. 4744, jun 2023.

MATIAS, L. Q. O gênero *Echinodorus* (Alismataceae) do domínio da Caatinga brasileira. *Rodriguésia*, v. 58, n. 4, p. 743–774, out. 2007.

PIMENTA, D. S.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. Essential oil from two populations of *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli (Chapéu de couro). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 78, n. 4, p. 623–628, dez. 2006.

REN, X. et al. Clerodane diterpenoids from the Uygur medicine *Salvia deserta* with immunosuppressive activity. *Phytochemistry*, v. 214, a. 113823, 2023.

RIVERA-CHÁVES, J. et al. Hydroxyneo-Clerodanes and 5,10-seco-neo-Clerodanes from *Salvia decora*. *Natural Products*, v. 83, p. 2212-2220, 2020.

SAHA, P. et al. Antimicrobial Diterpenes: Recent Development From Natural Sources. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, fev. 2022.

SANTANA et al. Efeito do Diterpeno Manool sobre a Pressão Arterial e Reatividade Vascular em Ratos Normotensos e Hipertensos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 115, n. 4, p. 669–677, out. 2020.

SHIGEMORI, H.; SHIMAMOTO, S.; SEKIGUCHI, M.; OHSAKI A.; KOBAYASHI, J. I. Echinodolides A and B, New Cembrane Diterpenoids with an Eight-Membered Lactone Ring from the Leaves of *Echinodorus macrophyllus*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 82-84, 2002.

SILVA et al. Flavonoid-enriched fraction from *Echinodorus macrophyllus* aqueous extract exhibits high in-vitro and in-vivo anti-inflammatory activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 68, n. 12, p. 1584–1596, dez. 2016.

TANAKA, C. M.A. et al. A cembrane from *Echinodorus grandiflorus*. *Phytochemistry*, v. 44, n. 8, p. 1547–1549, abr. 1997.

TIBIRIÇÁ, E. et al. Pharmacological mechanisms involved in the vasodilator effects of extracts from *Echinodorus grandiflorus*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 111, n. 1, p. 50–55, abr. 2007.

Contatos: amanda.pinho@mackenzista.com.br e edgard.ferreira@mackenzie.br