

KLÉZIA MORAIS DA SILVA BELLETTI



FARMACOGNOSIA DAS FOLHAS DE
***Averrhoa carambola* L., OXALIDACEAE**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de Pós-Graduação em Botânica, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Cid Aimbiré de Moraes Santos
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Márcia do Rocio Duarte

CURITIBA
2000

KLÉZIA MORAIS DA SILVA BELLETTI

FARMACOGNOSIA DAS FOLHAS DE
***Averrhoa carambola* L., OXALIDACEAE**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo Curso de Pós-Graduação em Botânica, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Cid Aimbiré de Moraes Santos
Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Márcia do Rocio Duarte

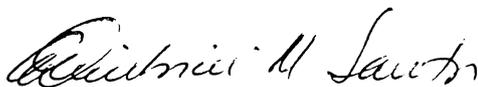
CURITIBA
2000

**“ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE FOLHAS DE *Averrhoa carambola* L.,
OXALIDACEAE”**

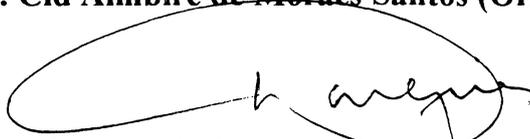
por

Klézia Moraes da Silva Belletti

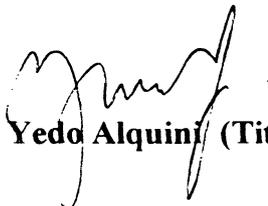
**Dissertação aprovada como requisito parcial
para obtenção do grau de mestre no Curso de
Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão
formada pelos Professores:**



Prof. Dr. Cid Aimbiré de Moraes Santos (Orientador)



Prof. Dr. Luís Carlos Marques (Titular)



Prof. Dr. Yedo Alquin (Titular)

Curitiba, 26 de maio de 2000

Para
Minha Família

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
AGRADECIMENTOS	vii
NOTA BIOGRÁFICA	viii
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 CONSIDERAÇÕES GERAIS	4
2.1 POSIÇÃO SISTEMÁTICA DA ESPÉCIE.....	4
2.2 FAMÍLIA OXALIDACEAE.....	4
2.3 GÊNERO <i>AVERRHOA</i>	5
2.4 <i>AVERRHOA CARAMBOLA</i> L.	6
2.5 DIABETES.....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 ESTUDO ANATÔMICO	15
3.2 ESTUDO FITOQUÍMICO	17
3.3 ENSAIOS FARMACOLÓGICOS	18
4 RESULTADOS.....	20
4.1 ESTUDO ANATÔMICO	20
4.2 ESTUDO FITOQUÍMICO	36

4.3 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA	37
5 DISCUSSÃO	40
5.1 ESTUDO ANATÔMICO	41
5.2 ESTUDO FITOQUÍMICO.....	43
5.3 ESTUDO FARMACOLÓGICO	66
6 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

RESUMO

Averrhoa carambola L., Oxalidaceae é uma espécie vegetal vulgarmente conhecida por carambola, cujas folhas têm sido empregadas na medicina popular para o tratamento do diabetes. Foi realizado estudo das folhas avaliando aspectos anatômicos, isolando e identificando compostos químicos e investigando a atividade farmacológica experimental do uso popular. A anatomia foliar foi estudada em lâminas permanentes e semipermanentes preparadas a partir de técnicas usuais de anatomia vegetal. O estudo dos constituintes químicos levou à identificação, por métodos espectrofotométricos, de três compostos: β -sitosterol, 3-O-(β -D-glucopiranosil)-sitosterol e uma di-hexose. A investigação farmacológica foi feita usando extrato aquoso seco e infuso das folhas em animais hiperglicêmicos, induzidos por aloxana, e normoglicêmicos. Os resultados sugerem que os extratos não apresentam efeito hipoglicemiante e anti-hiperglicemiante significante.

ABSTRACT

Averrhoa carambola L., Oxalidaceae is a species known as starfruit. The leaves have been used in the folk medicine for its hypoglycaemic properties. A study of its anatomical aspects, isolation and characterisation of the constituents and an investigation of its popular activity were done. The leaf anatomy was carried out in permanent and semipermanent slides prepared using current procedures of anatomical techniques in vegetal. The study of the chemical constituents led to identification, by spectroscopic methods, of three compounds: β -sitosterol, 3-*O*- (β -D-glucopiranosil)-sitosterol and a dihexose. The pharmacological investigation was carried out using the dried aqueous extract and the infusion from the leaves in normoglycaemic and hyperglycaemic animals, induced by aloxana. The results suggest that the extracts have no significant effect.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Cid A. M. Santos pela amizade, confiança, empenho e incentivo ao trabalho e pela liberalidade em dividir conhecimentos. Aos professores Márcia R. Duarte pelo auxílio na elaboração do trabalho; Yedo Alquini pela colaboração no estudo anatômico e intermediação com o Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná e Elisabeth Schwarz pela identificação taxonômica da espécie estudada. Aos Departamentos de Farmácia e Botânica da Universidade Federal do Paraná que tornaram possível a realização deste trabalho. Em especial, às colegas do Laboratório de Controle da Qualidade/Convênios pelo incentivo e ajuda. Por terem ensinado e proporcionado o estudar, aos meus pais e irmãs. Com carinho ao meu esposo pelo apoio, companheirismo e otimismo em todos os momentos.

NOTA BIOGRÁFICA

A autora graduou-se em Farmácia Industrial pela Universidade Federal de Goiás em 1993. Nesse mesmo ano foi aprovada em concurso público e admitida como farmacêutica no Departamento de Tecnologia Farmacêutica da mesma instituição. Especializou-se em homeopatia pelo Instituto Homeopático François Lamasson em 1994 na cidade de Ribeirão Preto - SP. Em 1997 iniciou trabalho junto ao Laboratório de Controle da Qualidade/Convênios (Departamento de Farmácia) da Universidade Federal do Paraná. Em 2000 foi admitida como Analista de Laboratório Sênior na empresa O Boticário. Desde 1998, desenvolve pesquisa sobre as folhas de *Averrhoa carambola* L., cujos resultados estão contidos neste trabalho.

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α	alfa
δ	delta
β	beta
λ	lambda
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
^{13}C	isótopo de carbono-13
<i>Ca</i>	aproximadamente
^1H	próton
CHCl_3	clorofórmio
CDCl_3	clorofórmio deuterado
CI	“Chemical ionization”
cm	centímetro
d	duplete
DCM	diclorometano
dl	decilitro
EI	“Energy ionization”
EM	espectro de massa
EtOAc	acetato de etila
h	hora
Hz	hertz
g	grama
IV	infra-vermelho
IUPAC	“International Union of Pure and Applied Chemistry”
<i>J</i>	constante de acoplamento
M^+	íon molecular
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MeOH	metanol
MF	microscopia fotônica
min	minutos

mg	miligrama
MHz	mega hertz
NH ₄ ⁺	cátion amônio
nm	nanômetro
pf	ponto de fusão
PR	Paraná
RNM	ressonância nuclear magnética
s	singlete
SI	“Système Internationale d’Unités”
t	tripleto
UV	ultravioleta

LISTA DE TABELAS

1. Pesquisa de metabólitos secundários nas folhas de <i>Averrhoa carambola</i> L.	36
2. Glicemia dos ratos tratados com infuso das folhas de <i>Averrhoa carambola</i> L.	38
3. Dados do espectro ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) do composto AC-002	44
4. Dados do espectro ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do composto AC-002	45
5. Dados do espectro ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) do composto AC-003 Ac	51
6. Dados do espectro ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do composto AC-003	52

LISTA DE FIGURAS

1. Aspecto geral da <i>Averrhoa carambola</i> L.	07
2. Folhas e frutos de <i>A. carambola</i> L.	09
3. Vista frontal da face adaxial da epiderme foliar de <i>A. carambola</i> L.	20
4. Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de <i>A. carambola</i> L. ; detalhes dos tricomas e estômatos	21
5. Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de <i>A. carambola</i> L.; detalhe dos depósitos de cera e tricomas (MEV) /=0,1 mm	21
6. Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de <i>A. carambola</i> L. ; detalhe dos depósitos de cera e estômato (MEV) /=10 µm	22
7. Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de <i>A. carambola</i> L. ; detalhes dos estômatos paracíticos	22
8. Secção transversal da lâmina foliar de <i>A. carambola</i> L.; detalhe do traqueíde	23
9. Secção transversal da lâmina foliar de <i>A. carambola</i> L.; detalhe do feixe vascular.....	24
10. Secção transversal da nervura mediana do folíolo de <i>A. carambola</i> L. após reação com cloreto férrico.....	25
11. Secção transversal da nervura mediana do folíolo de <i>A. carambola</i> L.....	25
12. Secção transversal da nervura mediana do folíolo de <i>A. carambola</i> L. detalhe do feixe vascular.....	26
13. Secção transversal do pecíolo de <i>A. carambola</i> L. após reação com floroglucinol clorídrico	27
14. Secção transversal do pecíolo de <i>A. carambola</i> L. após reação com floroglucinol clorídrico; detalhe do feixe vascular.....	28
15. Secção transversal do pecíolo de <i>A. carambola</i> L. após reação com cloreto férrico; detalhe do feixe vascular.....	28
16. Secção transversal do pecíolo de <i>A. carambola</i> L.; detalhe do tricoma.....	29
17. Secção transversal do pecíolo de <i>A. carambola</i> L.; detalhe do cristal de oxalato de cálcio	30
18. Secção transversal do pecíólulo de <i>A. carambola</i> L., após reação com floroglucinol clorídrico.....	31

19. Secção transversal do peciólulo de <i>A. carambola</i> L; detalhes do feixe vascular e cristais de oxalato de cálcio.....	32
20. Secção transversal do peciólulo de <i>A. carambola</i> L; detalhe do tricoma	33
21. Venação do folíolo de <i>A. carambola</i> L. na região da nervura mediana	34
22. Venação do ápice do folíolo de <i>A. carambola</i> L.	34
23. Detalhe das aréolas do folíolo de <i>A. carambola</i> L.....	35
24. Detalhe da ramificação das aréolas do folíolo de <i>A. carambola</i> L.....	35
25. Detalhe das terminações vasculares e da bainha parênquimática do folíolo de <i>A. carambola</i> L.	36
26. Glicemia dos ratos tratados com extrato seco do infuso das folhas de <i>Averrhoa carambola</i> L.	38
27. Espectro de ¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) de AC-002.....	46
28. Espectro de massa EI e CI de AC-002.....	47
29. Espectro de ¹³ C RMN (75 MHz, CDCl ₃) de AC-002.....	48
30. Espectro de massa (- ve eletrospray) de AC-003 Ac.....	53
31. Espectro de ¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) de AC-003 Ac.....	54
32. Espectro de ¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) COSY de AC-003 Ac.....	55
33. Espectro de ¹³ C RMN (75 MHz, CDCl ₃) de AC-003 Ac.....	56
34. Espectro de massa de AC-005.2 Ac.....	59
35. Espectro de ¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) de AC-005.2Ac.....	60
36. Espectro de massa de AC-006 Ac.....	62
37. Espectro de ¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) de AC-006 Ac.....	63
38. Espectro de ¹ H RMN (300 MHz, CDCl ₃) COSY de AC-006 Ac.....	64
39. Espectro de ¹³ C RMN (75 MHz, CDCl ₃) de AC-006 Ac.....	65

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são consideradas o primeiro recurso terapêutico utilizado pelo homem, que inicialmente fez uso da transmissão oral para veicular de geração para geração o conhecimento adquirido. Hoje essa cultura de emprego de plantas para tratamento de moléstias está registrada em livros da área médica, publicações científicas, bem como em revistas populares que sugerem plantas milagrosas que curam todo o tipo de doenças, além de inúmeros *sites* facilmente encontrados na Internet.

O uso de plantas medicinais pela população brasileira tem crescido nos últimos anos, em virtude de uma preferência pelo "natural", acreditando-se na falsa idéia de que "mal não faz", pelo baixo custo dessa terapêutica e pela facilidade de se obter o fitoterápico. Este muitas vezes está próximo das pessoas, como por exemplo, no quintal das casas, nos vidros de condimentos da cozinha e, porque não, como enfeites em jardins, floreiras e vasos ornamentais.

Somente 23% da população consome 60% de todas as drogas processadas. A maioria dos brasileiros usa medicamentos à base de plantas, feitos em casa, como principal fonte de sua medicação (DI STASI, 1996). Cerca de 80% da população brasileira utiliza-se desse tratamento, muitas vezes empírico, conhecido por tratamento "natural".

A saúde dos usuários dessa terapia milenar não tem sido beneficiada como poderia ser, em virtude do uso indiscriminado, sem acompanhamento médico, do incentivo à automedicação já inserido na nossa cultura, da ausência de estudos químicos e farmacológicos das plantas de uso medicinal e da crença que plantas não provocam efeitos colaterais. No Brasil, a prática da medicina tradicional em pequenas comunidades étnicas ou sociais induz o consumidor a tomar um produto por boa fé, sem saber se existem nele princípios benéficos ou nocivos. Sem dúvida, a confiança num produto cujo uso foi benéfico para outros membros do grupo é um importante ingrediente do tratamento (GOTTLIEB, 1993).

O uso de plantas medicinais é inquestionavelmente de grande importância, tendo em vista a deficiência geral nos serviços de saúde e o custo proibitivo dos

medicamentos industrializados para a maioria da população. No Brasil, a Comissão Interministerial de Planejamento e Coordenação (Ciplan) resolveu, em 1988, implantar a fitoterapia como prática oficial de medicina nos serviços de saúde, em caráter complementar, mas buscando sua inclusão no Sistema Unificado e Descentralizado de Saúde, depois denominado Sistema Único de Saúde (SUS) (GOTTLIEB, 1993). Em 1991, a Organização Mundial de Saúde (OMS) incluiu a fitoterapia em seus programas de saúde (OMS, 1991).

No serviço público municipal de saúde da cidade de Curitiba (PR), a fitoterapia foi implantada no ano de 1996, propondo um estímulo ao uso terapêutico criterioso de várias plantas medicinais, em um sistema de saúde que valorize o cuidado primário, atingindo especialmente a população carente. Essa medida tem diminuído os custos da prefeitura com a obtenção de medicamentos. Teve sua origem observando as dificuldades no modelo biomédico atual, tais como, a pouca valorização dos aspectos psíquicos do doente, o aumento dos efeitos colaterais, em frequência e gravidade, e o custo excessivo, sendo tudo agravado pelo incentivo à automedicação e à grande falha estrutural do sistema de saúde predominante (GRAÇA, 1987).

O resgate dessa cultura popular provocou um aumento do número de estudos e receitas, tendo como consequência a produção desenfreada de medicamentos à base de plantas. No DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS 96/97 encontramos noventa e uma plantas diferentes, em diversas associações medicamentosas. Muitas delas comercialmente conhecidas apenas pelos nomes populares, sem nenhum estudo que comprove seus efeitos ou sequer avalie sua toxicidade. Segundo SOLDATI (1997), estima-se que em 1997 o comércio mundial de produtos fitoterápicos de venda livre alcançaram valores em torno de US\$10 bilhões, com crescimento anual previsto na ordem de 6,5%.

A indústria farmacêutica está atenta e ávida por esse grande filão de mercado. Visando o seu maior objetivo, obter lucros, lançam no mercado farmacêutico produtos que não atendem as especificações de controle da qualidade. Produzem, a partir de plantas sem identificação botânica, sem identificação e doseamento dos princípios ativos e sem obedecer as boas práticas de fabricação, não raro, sem os mínimos cuidados básicos de higiene.

Se faz necessário estudar as plantas medicinais com a mesma seriedade que requer o estudo de um medicamento. Para DI STASI (1996), a pesquisa com plantas medicinais requer um caráter multi e interdisciplinar, a fim de se obter trabalhos mais elaborados, profundos e, conseqüentemente, de maior credibilidade científica e menores probabilidades de erros; seja pesquisando as plantas como recurso natural potencialmente ativo na forma de fitoterápico padronizado e eficaz ou como fonte inesgotável de substâncias potencialmente ativas.

A Farmacognosia, termo idealizado por Seydler, em 1815, se ocupa em estudar a planta medicinal, como medicamento, em seus três aspectos básicos: botânico, químico e farmacológico. Esse tripé de sustentação para o estudo de plantas medicinais é necessariamente multidisciplinar. Qualquer pesquisa objetivando produtos vegetais farmacologicamente ativos depende da integração desses três aspectos acima citados (RATES, 1998).

O emprego das folhas de carambola, *Averrhoa carambola* L., Oxalidaceae para o tratamento de diabetes é difundido em alguns países (MARLES, 1995). LIMA (1996) relata o uso dessa espécie como alimento e medicamento pela população da Área de Proteção Ambiental da região de Guaraqueçaba - PR. A população do centro sul do Brasil, em especial da região de Antonina - PR, utiliza as folhas dessa planta, fresca ou desidratada, em forma de infusão para o tratamento de diabetes (ANDRIGHETTI, 1997).

O presente trabalho teve por objetivo fornecer informações sobre os aspectos farmacognósticos das folhas de *Averrhoa carambola* L., Oxalidaceae, abordando portanto, a anatomia foliar, os seus constituintes químicos e a análise farmacológica experimental do seu uso popular.

2. CONSIDERAÇÕES GERAIS

POSIÇÃO SISTEMÁTICA DA ESPÉCIE

Classificação taxônômica da espécie *Averrhoa carambola* L.:

Segundo Engler (JOLY,1985):

Divisão: Angiospermae (Anthophyta)

Classe: Dicotyledoneae

Subclasse: Archichlamydeae

Ordem: Geraniales (= Gruinales)

Família: Oxalidaceae

Gênero: *Averrhoa*

Espécie: *Averrhoa carambola* L.

Segundo CRONQUIST (1988):

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Subclasse: Rosidae

Ordem: Geraniales

Família: Oxalidaceae (Averrhoaceae, Hypseocharitaceae, Lepidobotryaceae)

Gênero: *Averrhoa*

Espécie: *Averrhoa carambola* L.

FAMÍLIA OXALIDACEAE

O nome da família é derivado do nome do gênero *Oxalis*. Esse gênero lineano é o tipo da família. É também conhecida por família das azedinhas, provavelmente em função de seu conteúdo em ácido oxálico.

A família compreende seis gêneros com cerca de 950 espécies. Encontram-se presentes tanto em regiões tropicais como frias e também nas montanhas, sendo bem difundidas na América do Sul e na África. No Brasil ocorrem quatro gêneros, com aproximadamente 144 espécies, dessas 136 se encontram no gênero *Oxalis* (BARROSO, 1991).

O seus representantes são árvores, arbustos ou ervas. As folhas são compostas com dois ou três folíolos, podendo ainda ser do tipo penada. No caule, as folhas se dispõem de diversas formas como alternadas ou rosetadas. As estípulas podem ou não estar presentes, apresentando-se separadas ou parcialmente soldadas. Em geral possuem inflorescências do tipo cima, apresentam-se às vezes como assimétricas e localizando-se na região axilar das folhas ou ligadas diretamente no tronco (*Averrhoa*) (ANGELY, 1959; LOURTEIG, 1983).

A polinização em algumas espécies ocorre quando as flores estão fechadas, caracterizando como flores cleistógamas. As flores dos integrantes dessa família são hermafroditas e apresentam pelo menos dois planos de simetria, ou seja, são actinomorfas. As sépalas raramente estão presentes, quando estão, são do tipo dialissépala e o cálice é pentâmero. Apresentam corola com cinco pétalas hipóginas, livres ou soldadas na parte mediana. As pétalas possuem contornos muito alargados, são coloridas e apresentam base estreita. Possuem cinco ou dez estames férteis, com filetes mais curtos alternados com filetes mais longos, quase livres ou unidos num tubo na base. As anteras são ovóides, com duas tecas, longitudinalmente deiscentes. O pistilo é único; o ovário é súpero, tri ou pentalocular, cada lóculo com um a muitos óvulos.

O fruto é do tipo cápsula loculicida ou septicida em *Oxalis*, *Biophytum* e *Eichleria*, ou do tipo baga angulosa em *Averrhoa*. No gênero *Oxalis* os lóculos são deiscentes por fendas longitudinais, ficando os carpelos concrecidos entre si e com a coluna central; em *Biophytum* a cápsula tem válvulas radiais. As sementes são muito pequenas, envolvidas externamente por uma membrana lisa, geralmente elástica, e internamente, apresenta-se um tegumento crustáceo, rugoso e verrucoso. O endosperma é carnoso, o embrião é axial e reto. Os cotilédones são suborbiculares e plano-convexos. A radícula é ascendente (LOURTEIG, 1983; QUER FONT, 1985; BARROSO, 1991; VIDAL, 1995).

GÊNERO *AVERRHOA*

O nome do gênero *Averrhoa* foi dedicado ao célebre médico e filósofo Averrhoes de Córdoba (1149-1217), que traduziu Aristóteles para o árabe.

O gênero compreende duas espécies que habitam as regiões tropicais. É originário do Oriente e muito difundido através da cultura. No Brasil é somente cultivado. Tem como tipo *A. carambola* L., nome vernáculo da planta.

Os seus representantes são árvores pequenas ou até muito grandes e ramificadas. As folhas são imparipenadas. Possuem inflorescências do tipo cima reunida em cacho ou em fascículo. Estão dispostas nas axilas das folhas ou em ramos reduzidos, podendo até, estarem inseridas diretamente no caule.

As flores são heterostíleas ou seja, possuem estames de tamanhos diferentes. Apresentam sépalas imbricadas, levemente unidas na base. As pétalas estão dispostas abaixo do nível do ovário, portanto, hipóginas; são dialipétalas ou estão unidas perto do meio. Possuem dez estames férteis ou cinco férteis e cinco estaminódios. O ovário é pentalocado; os carpelos possuem de dois a sete óvulos.

O fruto é do tipo baga indeiscente. Apresentam duas ou mais sementes em cada carpelo. O albúmem é carnosos e o tegumento externo pode estar presente ou ausente (LOURTEIG, 1983).

***AVERRHOA CARAMBOLA* Linnaeus**

A espécie *Averrhoa carambola* L. é popularmente conhecida por vários nomes, tais como: carambola, caramboleira, caramboleiro (CORRÊA, 1984), camerunga (CRUZ, 1985); schwindler – alemão, carámbolo, carambolero – espanhol; crambolier – francês; carambold, coromandel gooseberry, starfruit – inglês.

Essa espécie é uma árvore mediana de cinco a dez metros de altura, profusamente ramificada, formando copa arredondada densa, às vezes com ramos pendentes (Figura 1). É um vegetal exótico. Não há um consenso entre os autores sobre o local exato da sua origem. Para JOLY (1985) é originária da Malásia, porém CRUZ (1985) deixa sem especificar o país, dizendo apenas ser originária da Ásia. Para CORRÊA (1984) essa espécie nunca fora encontrada no estado silvestre, podendo ser originária da Índia, mas esse mesmo autor relata que outros autores, acreditam que *A. carambola* L. seja originária de Java. O botânico Cooke, que dirigiu trabalhos na Índia menciona que a caramboleira deve ser nativa do continente americano CORRÊA (1984).

WATSON (1999) relata ser originária da China e HARRISON (1969) afirma que essa espécie é nativa da Indonésia.



Figura 1: Aspecto geral de *Averrhoa carambola* L., Oxalidaceae.

Atualmente é vastamente difundida através do cultivo pelos trópicos. No Brasil foi introduzida em 1817, pelo agrônomo francês Paul Germain, que a trouxe para Pernambuco (CORRÊA, 1984), sendo hoje cultivada desde o extremo norte (Amazonas) até ao Estado de Santa Catarina. Neste último estado, desenvolve-se bem apenas na

zona da floresta pluvial da encosta atlântica, onde produz abundantes e saborosos frutos. Floresce durante os meses de verão, com frutos maduros no outono.

A área de dispersão no Brasil compreende os estados do Amazonas, Pernambuco, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Bahia, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (LOURTEIG, 1983).

É árvore ornamental, sobretudo na época da floração e da frutificação, quando se cobre de abundantes e vistosas flores e de belos e grandes frutos (até 5.000 frutos em cada ano) (CORRÊA, 1984). Há diversas variedades hortícolas, de frutos maiores e menores e de cor mais escura ou mais clara, desde o verde claro ao amarelo ouro; aparece também a variedade de fruto branco (LOURTEIG, 1983).

O fruto é comestível e usado para compotas, geléias e saladas de frutas para sobremesas. Fornece abundante suco agridoce e refrigerante. Ainda verde serve para conserva em vinagre na forma de pickles.

Encontram-se na literatura diversos empregos do fruto da carambola na medicina popular. Possui ácido oxálico e em vários países é empregado como excitante do apetite, antidisentérico, antiescorbútico e febrífugo, servindo ainda para tirar manchas de ferro e de tinta e até para limpar metais, empregado alhures como mordente na tinturaria (CORRÊA, 1984). Os frutos são diuréticos e até abortivos, deles sendo preparado um xarope muito emoliente, empregado como remédio para tosses, bronquites, asma e coqueluche; o suco, diluído em água, serve para curar aftas. A ingestão dos frutos é remédio para debelar eczemas, segundo CRUZ (1985). O fruto é usado no tratamento de angina, dermatoses, diarréia, gengivites, dor de cabeça, hipertensão, inflamação, reumatismo e náuseas. JABBAR (1995) relata o uso dos frutos como tônico digestivo, adstringente, antidiarréico e anti-helmíntico

ONG & NORDIANA (1999) fizeram um estudo etnobotânico no distrito de Machang na Malásia, onde obtiveram a informação de que *Averrhoa bilimbi* L., Oxalidaceae, é empregada na medicina popular. A expressão do suco de uma fruta grande ou duas frutas pequenas, tomadas uma vez ao dia, é usado para tratamento de diabetes.

As flores são comestíveis em salada (CRUZ, 1985), e a raiz e as folhas constam na farmacopéia indiana, segundo CORRÊA (1984).

As folhas chegam até 50 cm, sendo dispostas ao longo dos ramos; possuem de três a oito pares de folíolos opostos e um folíolo terminal (Figura 2). Os pecíolos apresentam de três a cinco cm são pubescentes, com diâmetro maior na base. A ráqui, de até 20 cm, é rígida e também possui tricomas. Os folíolos são alternos ou subopostos, apresentam duas ou mais cores, possuem forma variável e são **assimétricos**. Os folíolos inferiores são menores, **ovados e com ápice acuminado ou cuspidado** e a base arredondada ou truncada. Apresentam de quatro a dez pares de nervuras secundárias. Os tricomas são muito curtos e uniformes na face inferior.



Figura 2: Folhas e frutos de *A. carambola* L.

A inflorescência é do tipo cima pilosa e com glândulas, reunidas em racimos e, estes em fascículos, dispostas nas axilas das folhas ou caulifloras. As pétalas apresentam cor violácea, marginadas de branco, linear espatuladas. Apresentam-se unidas na zona mediana e raramente livres. Glândulas estão presentes na face ventral. Os estames são alargados em direção à base e unidos até a metade. O ovário tem

forma de elipse e possui pouca pilosidade. Os carpelos são tri ou pentaovulados; os estiletes são curtos, grossos e pilosos; o estigma é alargado e bilobulado.

O fruto é do tipo baga com coloração do verde ou amarelo, de formato oval ou elipsóide, assimétrico, com 8 - 12,5 por 5 - 6 cm. Os carpelos são desiguais, angulosos, base e ápice com cinco lóbulos, e em secção transversal apresentam-se penta-radiados. Apresenta sementes com tegumento externo (ANGELY, 1959; LOURTEIG, 1983; QUER FONT, 1985; VIDAL, 1995).

Segundo LOURTEIG (1983), o tipo dessa espécie está em Siri Lanka.

DIABETES

O diabetes mellitus é um problema crescente de saúde pública, envolvendo custos sociais e econômicos elevados associados às complicações graves e irreversíveis, que induz à necessidade de vigilância e terapêutica crônicas. É a principal causa de cegueira e de insuficiência renal terminal em indivíduos em idade produtiva, a causa mais comum de amputação dos membros inferiores, aumenta duas a quatro vezes o risco de doença coronariana e enfarte, ameaça o desenvolvimento fetal e induz à mortalidade perinatal. A prevalência na população em geral é cerca de 6%, valor que inclui os indivíduos diagnosticados e os que estão ainda por diagnosticar (ANFARMAG, 1999).

Os fatores de riscos mais importantes para diabetes são:

- histórico familiar de diabetes
- obesidade
- sedentarismo
- idade maior ou igual a 45 anos
- triglicérides acima de 250 mg/dl e HDL-colesterol menor que 35mg/dl
- hipertensão
- tolerância diminuída à glicose, identificada previamente

Os sintomas clássicos do diabetes são muita sede e fome, necessidade freqüente de urinar, perda de peso, astenia e infecções recorrentes. Porém, na maioria das vezes o doente se apresenta assintomático.

Diabetes mellitus é causado por falta de secreção de insulina pelas células beta das ilhotas de Langerhans no pâncreas, o que impede o uso normal de glicose pelo metabolismo. Em seu lugar, as gorduras são desdobradas em ácido acetoacético, e este, é metabolizado pelos tecidos em energia.

A insulina é o principal hormônio anabólico, com múltiplos efeitos sobre o metabolismo celular. Seu papel primário é o de controlar o transporte e a utilização de glicose pelos músculos e tecido adiposo. Estimula a síntese de glicogênio, proteínas e lipídios e inibe a degradação desses mesmos metabólitos (FERNANDES, 1995).

A falta de insulina se traduz nas seguintes características patológicas (GUYTON & HALL, 1997):

- utilização diminuída da glicose pelas células corporais, levando a um aumento na concentração da glicose sangüínea a níveis superiores a 120 mg/dl até 1200 mg/dl
- alteração no metabolismo das gorduras levando a deposição de colesterol nas artérias
- depleção de proteínas nos tecidos corpóreos
- perda de glicose na urina: o excesso de glicose no sangue, não consegue ser reabsorvido nos rins, sendo eliminado na urina. Comum quando a glicemia atinge níveis superiores a 180 mg/dl
- desidratação das células dos tecidos e diurese osmótica, levando o diabético a uma tendência para desenvolvimento da desidratação extra e intracelular, podendo contribuir para o desenvolvimento do choque circulatório
- acidose: quando o organismo depende quase totalmente das gorduras para energia, o nível de cetoácidos, ácido acetoacético e ácido β -hidroxibutírico nos líquidos corporais aumenta, resultando em acidose. Essa situação provoca reações fisiológicas usuais na acidose como "respiração de kussmaul" – rápida e profunda -, diminuição acentuada do conteúdo de bicarbonato dos líquidos extracelulares, coma acidótico e morte

O hormônio de crescimento também chamado de somatotropina, que é uma pequena molécula de proteína com 191 aminoácidos, induz o crescimento de quase

todos os tecidos que são capazes de crescer. Ele provoca uma diminuição do transporte de glicose para dentro da célula. Sem a captação e o uso normal da glicose pelas células, a concentração sanguínea da glicose freqüentemente sobe até 50% ou mais acima do normal, condição dita diabetes hipofisário. Mostra-se insensível ao tratamento com insulina, necessitando de grandes quantidades da mesma para provocar uma diminuição modesta da glicemia.

A glicemia alta induzida pelo hormônio de crescimento estimula as células beta das ilhotas de Langerhans a secretar insulina extra. Esse hormônio tem também efeito estimulante direto sobre as células beta. A combinação desses dois efeitos às vezes hiperestimula as células beta das ilhotas de Langerhans a ponto de não conseguirem mais exercer as suas funções, desenvolvendo o diabetes mellitus. Esse é o efeito diabetogênico do hormônio do crescimento.

Outro tipo do diabetes é o adrenal onde ocorre um aumento na taxa de gliconeogênese e redução moderada da taxa de utilização da glicose pelas células, provocando um aumento na concentração sanguínea da glicose. Essa reação é um dos efeitos do cortisol sobre o metabolismo dos carboidratos.

A insulina abaixa a concentração de glicemia, apenas moderadamente, portanto se diz que o diabetes hipofisário é fracamente sensível à insulina, o diabetes adrenal moderadamente sensível à insulina e o diabetes pancreático fortemente sensível à insulina.

O nível de açúcar sanguíneo em jejum, é normalmente de 80 a 90 mg/dl, e o valor de 110 mg/dl é considerado como o limite superior da normalidade. Um nível de açúcar no sangue em jejum acima desse valor freqüentemente indica diabetes mellitus ou, o que é menos comum, diabetes hipofisário ou diabetes adrenal (GUYTON, 1997).

O diabetes mellitus pode ocorrer em duas formas, tipo I (Diabetes Mellitus Insulino Dependente, DMID), onde as células do pâncreas sintetizadoras de insulina já estão destruídas em uma idade jovem, por uma reação auto-imune e uma forma menos severa; e o diabetes mellitus do tipo II (Diabetes Mellitus Não Insulino Dependente, DMNID), que usualmente surge em idades avançadas, decorre de uma diminuição na secreção de insulina, ou por problemas no receptor de insulina (ROBBINS, 1991).

A insulina constitui a base para o tratamento dos pacientes com diabetes do tipo I e de muitos pacientes com diabetes do tipo II. Esse hormônio pode ser administrado por via intravenosa ou intramuscular; no tratamento a longo prazo, a via de administração é a subcutânea.

Das drogas hipoglicemiantes orais, as sulfoniluréias foram as primeiras a serem empregadas. Elas produzem a hipoglicemia por estimular a liberação de insulina das células beta do pâncreas e aumentar a sensibilidade dos tecidos periféricos ao hormônio. As biguanidas também são empregadas no tratamento do diabetes, por reduzirem a glicemia, provocando efeitos semelhantes ao da insulina (GILMAN, 1991).

Dieta pobre em açúcar e carboidratos, uma vida saudável com prática diária de exercícios leves e atitudes antiestresse são imprescindíveis para o diabético.

Segundo MARLES & FARNSWORTH (1995), mais de 1.200 espécies de plantas têm sido usadas em diversas partes do mundo para o tratamento do diabetes e/ou investigação da possível atividade hipoglicêmica. Elas representam cerca de 725 gêneros dentro de 183 famílias, sendo as mais citadas: Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Liliaceae, Poaceae e Euphorbiaceae. Cerca de 80% das plantas antidiabéticas tradicionais testadas apresentaram resultados positivos. Mais de duzentos compostos puros de fontes vegetais, enquadrados em diferentes classes químicas, são relatados por mostrar uma diminuição nos níveis sanguíneos de glicose. Em 1924, Tanret isolou de *Galega officinalis* (Leguminosae) um derivado guanidínico: a galeguina (PEÑA & LATORRE, 1993), desde então empregada para o tratamento do diabetes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico foi coletado em fevereiro de 1998 na região de Foz do Chopinho em Cruzeiro do Iguaçu, Paraná, área da Usina Júlio Mesquita Filho da Companhia Paranaense de Energia Elétrica (COPEL).

Coletou-se material para confecção de exsicatas (com material fértil: flor e fruto) e para o estudo anatômico, fitoquímico e farmacológico. A identificação botânica foi determinada pela Professora Elizabeth de Araújo Schwarz, do Departamento de Botânica da UFPR. A exsicata foi registrada no Herbário desse mesmo Departamento, sob o número PCB 33548.

O material coletado (2,4 kg) foi desidratado em estufa a 40° C e triturado a pó, para a realização do estudo fitoquímico e farmacológico.

As cromatografias em camada delgada analíticas foram feitas em placas de sílica Merck pré-ativadas com 60 (F₂₅₄), visualizadas em lâmpada de UV e reveladas com solução de ácido fosfomolibdico a 10%, seguido de aquecimento a 100°C. Os sistemas utilizados estão indicados entre parênteses e as mobilidades relativas expressas pela convenção R_f. As cromatografias em colunas foram realizadas sobre sílica 60 (230-400 mesh) Merck.

As determinações de ponto de fusão foram feitas em aparelho de marca Köfler, sem correção.

Os espectros de UV foram obtidos em aparelho Shimadzu UV 1601 e os espectros de IV determinados em aparelho Perkin-Elmer P-E 1710 FT-IR. Os espectros de RNM de prótons e carbono-13 foram obtidos em espectrômetro Varian INOVA-300 de 300MHz e 75MHz, respectivamente, no Departamento de Química, da Universidade de Manchester, Inglaterra. As posições ou os centros dos multipletes são dados na escala δ com referência ao tetrametilsilano (TMS), como padrão interno. As multiplicidades, tipos de prótons e as constantes de acoplamento estão indicadas. Os espectros de massa foram realizados em espectrômetro Kratos Concept, usando ionização elétrica (EI) e química (CI). As fórmulas moleculares foram determinadas a partir de medida de massa de precisão.

Solventes e reagentes foram purificados, antes do uso, por meio de métodos padrões. Soluções orgânicas foram secas através de lavagem com solução saturada de cloreto de sódio e repouso sobre sulfato de sódio anidro (AMARENGO & PERRIN, 1996). A vidraria usada foi seca em estufa e esfriada em dessecador antes do uso.

Unidades e símbolos estão baseados no *Système Internationale d'Unités* (SI), de acordo com a recomendação da IUPAC.

Acetilação de compostos

Os compostos foram acetilados em anidrido acético (aprox. 10 cm³/g) e piridina (aprox. 5 cm³/g) à temperatura ambiente, por 12 horas. Após evaporação sob pressão reduzida e mistura azeotrópica com tolueno, o resíduo foi suspenso em clorofórmio, lavado com solução de ácido clorídrico a 5%, solução de bicarbonato de sódio a 10%, seco e percolado através de coluna de alumina (tipo UG1 desativada por 5% de solução aquosa de ácido acético a 10%). O produto acetilado foi então obtido por evaporação do solvente.

ESTUDO ANATÔMICO

Para o estudo anatômico e para os testes histoquímicos, o material botânico coletado foi fixado em FAA 70 (JOHANSEN, 1940) por sete dias e posteriormente estocado em etanol 70° GL (BERLYN & MIKSCHE, 1976). Lâminas semipermanentes e permanentes foram preparadas com os folíolos, pecíolos e peciólulos de *A. carambola* L. As regiões mediana e marginal do terço médio, do segundo folíolo direito, foram determinadas aleatoriamente para se fazer a secções.

As lâminas semipermanentes foram preparadas a partir de secções transversais e paradérmicas à mão livre, com o auxílio de um suporte de isopor (QUINTAS, 1963). Os cortes foram clarificadas, empregando-se hipoclorito de sódio a 20%. A coloração foi efetuada com fucsina básica e azul de astra (ROESER, 1962) ou azul de toluidina (HADDAD, 1989). As lâminas foram montadas com glicerina diluída a 50% (BERLIN & MIKSCHE, 1976) e para a lutagem utilizou-se esmalte incolor.

Para o preparo de lâminas permanentes, o material foi desidratado em série etanólica crescente, 70%, 96% e 100%. O material foi então, infiltrado e emblocado em

glicolmetacrilato (GMA) (FEDER & O'BRIEN, 1968; BENNET, 1976) e segundo informações contidas no kit JB4-Polysciences/USA. Os blocos foram seccionados em micrótomo rotatório, obtendo-se cortes de 9 μm de espessura em secção transversal. A coloração do material foi à base de fucsina básica e azul de astra, de acordo com BRITO & ALQUINI (1996), empregando-se Entellan® como meio de montagem.

Também foram feitas preparações permanentes, onde o material fixado foi desidratado em série etanólica, diafanizado em série de etanol-xilol, submetido a emblocamento em parafina (SASS, 1951) e seccionado conforme anteriormente citado. Os cortes obtidos foram distendidos e aderidos segundo BISSING (1974), submetidos à desparafinização pelo xilol, corados com os corantes já citados e montados em Entellan®.

A descrição dos estômatos e tricomas foram baseadas na classificação de METCALFE & CHALK (1979).

Para a análise da venação foliar, foi executada a técnica de FRANKLIN (1945), sendo interrompida antes da dissociação completa dos tecidos. Na descrição do tipo de venação foliar, adotou-se o sistema de classificação de HICKEY (1973).

Para a realização de testes histoquímicos, foram obtidas secções transversais à mão livre do pecíolo, peciólulo e da região mediana do folíolo. Os reativos empregados foram: solução de floroglucinol clorídrico para verificação de lignina (FOSTER, 1949), Sudan III para lipídios, cutina e suberina (SASS, 1951), cloreto férrico para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940) e lugol para amido (BERLYN & MIKSCHE, 1976).

As fotomicrografias foram executadas em microscópio fotônico. Uma escala micrométrica foi fotografada e ampliada nas mesmas condições das fotos.

Para a microscopia eletrônica de varredura, as amostras fixadas em FAA 70 (JOHANSEN, 1940), foram desidratadas em série etanólica crescente. Esse material foi submetido ao ponto crítico no equipamento Balzers CPD 010" (SILVEIRA, 1989) e após montagem em suporte metálico, foi submetido à metalização com ouro, em aparelho Balzers Sputtering SDC 030".

As eletromicrografias foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura SEM 505 Phillips e as escalas foram projetadas nas mesmas condições fotônicas.

ESTUDO FITOQUÍMICO

Triagem Fitoquímica

A perda por dessecação foi determinada pela diferença de pesos do material vegetal antes e depois da desidratação em estufa por 3 h à 40° C.

Para se obter informações sobre os grupos de metabólitos secundários produzidos por *Averrhoa carambola* L., Oxalidaceae, foram feitos os testes de triagem segundo EVANS (1996).

Isolamento Químico

Extração

O material moído (404 g) foi extraído por turbólise (10 min) com etanol 80°GL.

Toda a mistura de planta mais solvente foi quantitativamente transferida para o percolador. Após o período de maceração (sete dias), o percolato foi recolhido e um extrato bruto hidroalcoólico em forma pastosa foi obtido após evaporação do solvente, a vácuo, a temperatura de 50° C.

Partição com Solventes Orgânicos

O extrato bruto hidroalcoólico (144,14 g) foi suspenso em água gelada na proporção 8:1. Essa mistura foi submetida à agitação mecânica (10 h), em banho de gelo constante e posteriormente deixada em repouso (15 h/4°C) e filtrada.

Em um funil de separação, fez-se a extração do filtrado com os seguintes solventes, seguindo a ordem crescente de polaridade: *n*-hexano, clorofórmio e acetato de etila, previamente purificados e secos.

Fracionamento do extrato em *n*-hexano

Extrato hexânico (3,17 g) foi submetido a uma coluna cromatográfica. As frações de 23 a 31 foram reunidas e o composto AC002 foi isolado a partir dessas frações. O acetato de etila eluído dessa mesma coluna, foi concentrado a vácuo. Durante esse processo, formou-se precipitado branco que foi separado por filtração a vácuo (AC003). Esse precipitado foi submetido à acetilação, denominado então por AC-003 Ac.

Estudo com o extrato hidroalcoólico

O extrato bruto hidroalcoólico (4 g) foi inicialmente deixado em agitação em CHCl_3 (100 ml) por 5 h em temperatura ambiente, seguido de filtração. O filtrado foi concentrado e separado para estudos posteriores. O material insolúvel (*ca* 3,5 g) foi submetido a acetilação com piridina e anidrido acético e o produto filtrado por coluna cromatográfica empacotada com alumina (Merck) desativada para eliminar o excesso de ácido e anidrido acético. O produto foi suspenso em água (200 ml) e particionado com CHCl_3 (3 x 50 ml) e as frações orgânicas reunidas e concentradas em rotavapor, rendendo 4 g.

Parte do produto acetilado foi dissolvido em DCM e submetido à cromatografia de coluna, tendo como eluente DCM, DCM- CHCl_3 (1:1), CHCl_3 -EtOAc (3:1) e CHCl_3 -EtOAc (1:1), e as frações acompanhadas por CCD (CHCl_3 -EtOAc 3:1). As frações comuns foram reunidas e purificadas, resultando no isolamento de dois compostos denominados de AC-005Ac (23 mg) e AC-006Ac (47 mg).

Após análise de RNM de protons, o produto AC-005 mostrou-se uma mistura de pelos menos dois compostos principais, tendo sido posteriormente purificado por cromatografia preparativa (ciclo-hexano-EtOAc 2:1) separando-se em dois compostos AC-005.1Ac (R_f 0,30) e AC-005.2Ac (R_f 0,23).

ENSAIOS FARMACOLÓGICOS *IN VIVO*

Animais Utilizados

Os testes foram realizados em ratos machos da linhagem Wistar, obtidos do Biotério do Departamento de Ciências Biológicas da UFPR. Trabalhou-se com animais saudáveis, com peso aproximado de 170 g, mantidos em ciclo claro/escuro (12/12 h), em temperatura ambiente e com água e alimentação *ad libitum*.

Indução da Hiperglicemia

A indução do estado deficiente de insulina foi obtido pela administração na veia peniana de 4,5 mg de aloxana hidratada por 100 g de peso corporal. O veículo foi salina (SINGH, 1990). Após cinco dias avaliou-se a glicemia dos animais. Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia acima de 150 mg/dl.

Administração da Amostra Teste

A atividade hipoglicemiante das folhas de carambola foi testada com duas metodologias diferentes. Na primeira foi utilizado o extrato seco do infuso de *A. carambola* L., dissolvido em água destilada e administrado por gavagem, na concentração de 1 g de extrato por kg de peso corpóreo. Os animais estavam de jejum de 12 h. No outro método, os animais com glicemia acima de 250 mg/dl no tempo zero foram tratados com infuso das folhas de carambola a 1,5%. A água desses animais foi substituída pelo infuso durante as duas semanas de tratamento.

Nas duas metodologias foram utilizados ratos hiperglicêmicos tratados com água e normoglicêmicos tratados com as folhas de carambola, como controle.

Coleta de Sangue

Na primeira metodologia, o sangue do tempo zero foi coletado a partir de um corte com bisturi na cauda do animal. A amostra foi administrada na seqüência. O animal foi anestesiado com tionembutal, administrado via intraperitoneal. Após 10 min, fez-se a dessecção da jugular e introduziu-se uma cânula de silicone no interior da mesma. Os demais tempos: 30, 60, 90 e 120 min, após a administração do extrato seco de infuso das folhas de carambola, foram coletadas diretamente da veia cava.

Na segunda metodologia testada, o sangue foi coletado através de um corte com bisturi na extremidade da cauda, após o animal ter sido adormecido em uma campânula saturada com éter sulfúrico. Amostras de sangue foram coletadas no tempo zero e após duas semanas de tratamento (substituição da água por infuso das folhas de carambola).

Doseamento da Glicemia

A glicose foi doseada a partir do soro, separado por centrifugação refrigerada. O método foi o espectrofotométrico com leitura no comprimento de onda de 505 nm. Foram seguidas as instruções do fabricante do kit de doseamento de glicose (Biolab) para o procedimento do teste.

4. RESULTADOS

ESTUDO ANATÔMICO

Lâmina foliar

No limbo de *A. carambola* L., em vista frontal, as células epidérmicas apresentam formato praticamente poligonal na duas faces (Figuras 3 e 4). Possuem uma cutícula lisa com depósitos de cera com aspecto de filamentos na face abaxial (Figuras 5 e 6). Somente a face abaxial possui complexos estomáticos, caracterizando a folha como hipoestomática. Os estômatos são do tipo paracítico, com duas células subsidiárias envolvendo o estômato paralelamente ao eixo longitudinal das células-guarda (Figura 7) e estão no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figura 9). Nesta face, estão presentes tricomas tectores simples, unicelulares e curtos (Figura 4). Em secção transversal, apresentam-se com a sua base inclusa na epiderme (Figura 16).

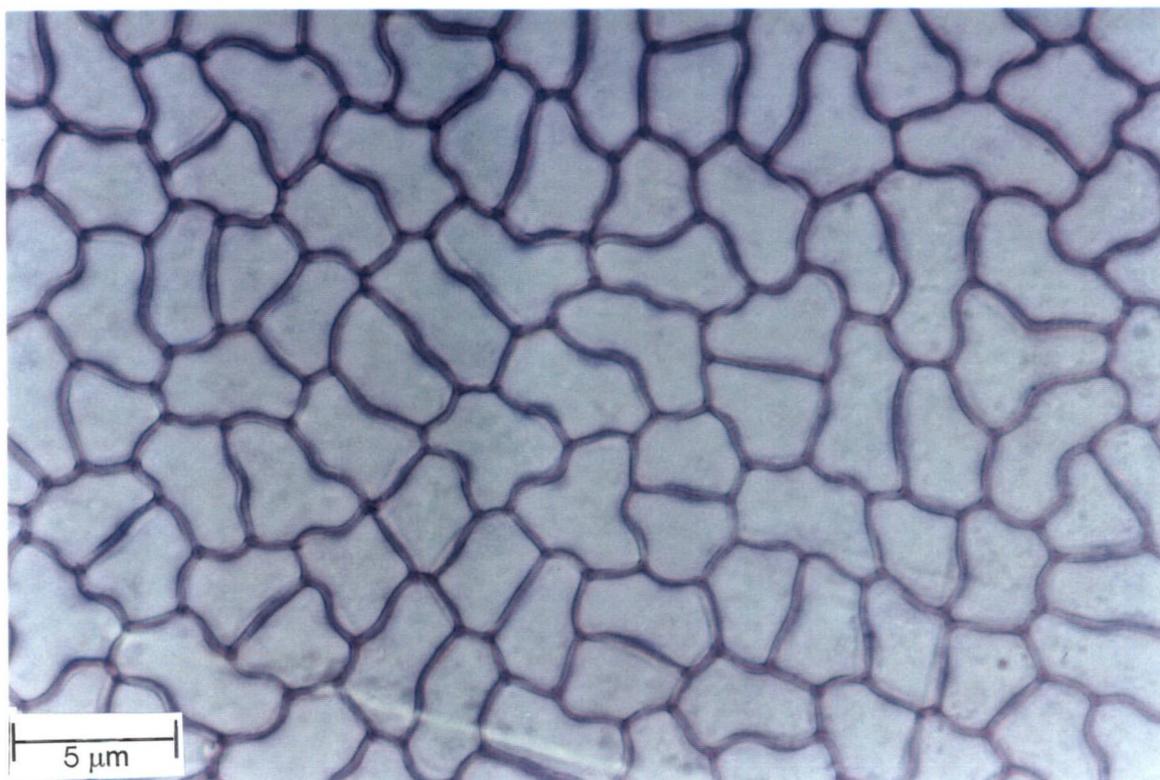


Figura 3: Vista frontal da face adaxial da epiderme foliar de *A. carambola* L.

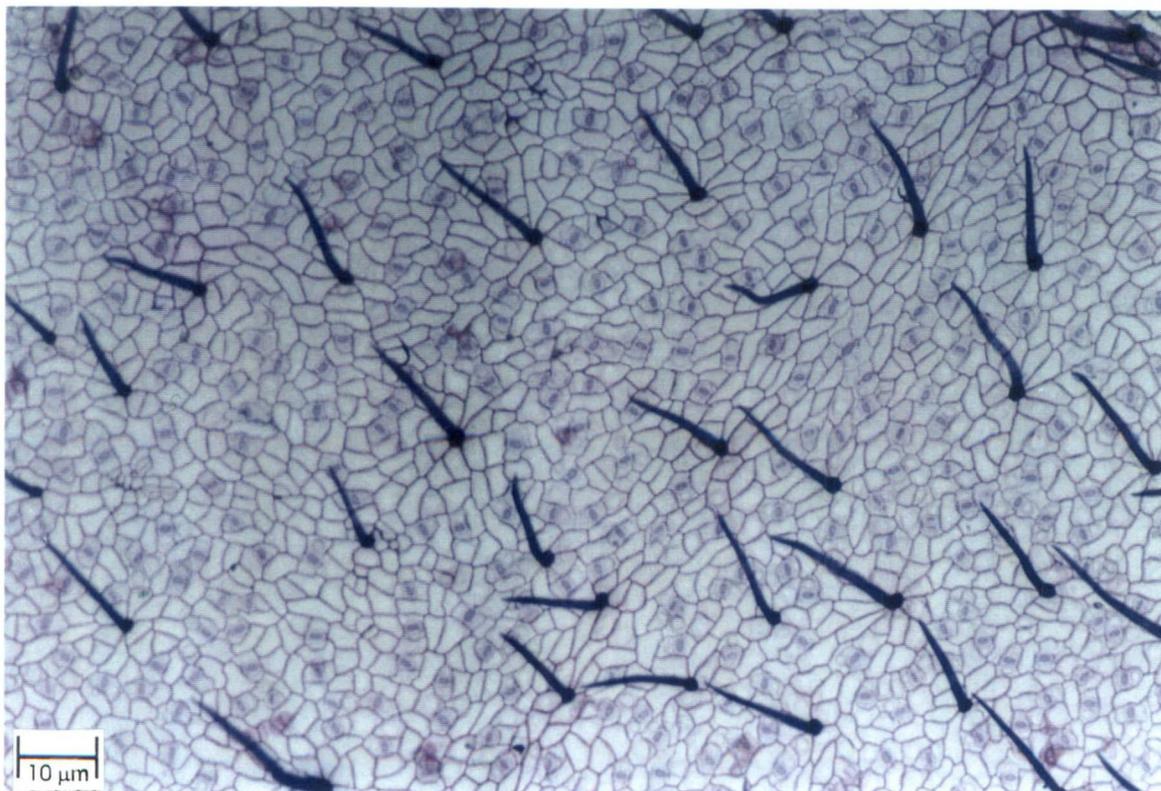


Figura 4: Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de *A. carambola* L.; detalhes dos tricomas e estômatos.

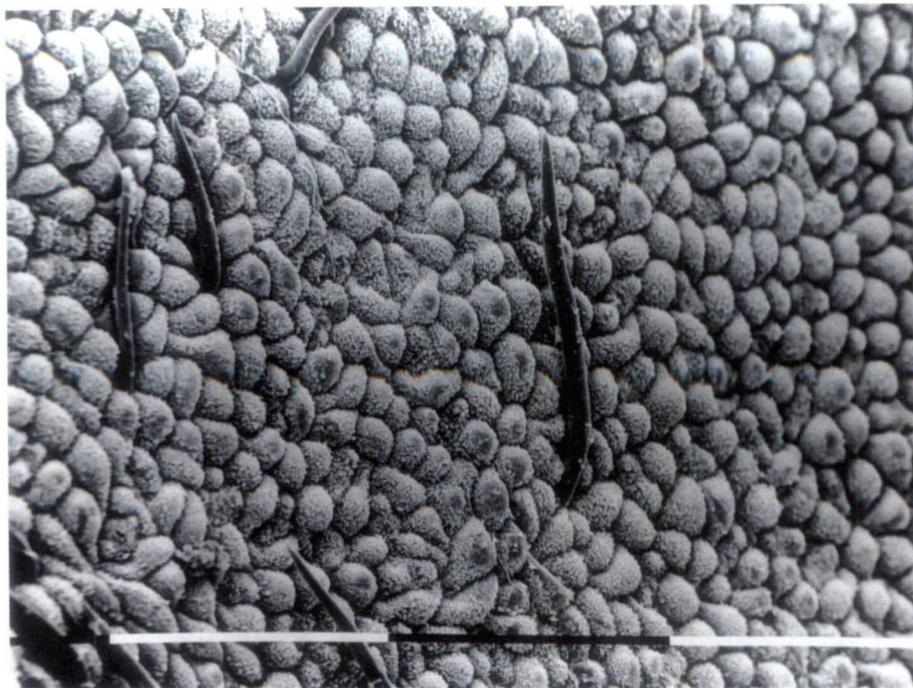


Figura 5: Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de *A. carambola* L.; detalhe dos depósitos de cera e tricomas. (MEV) /=0,1 mm

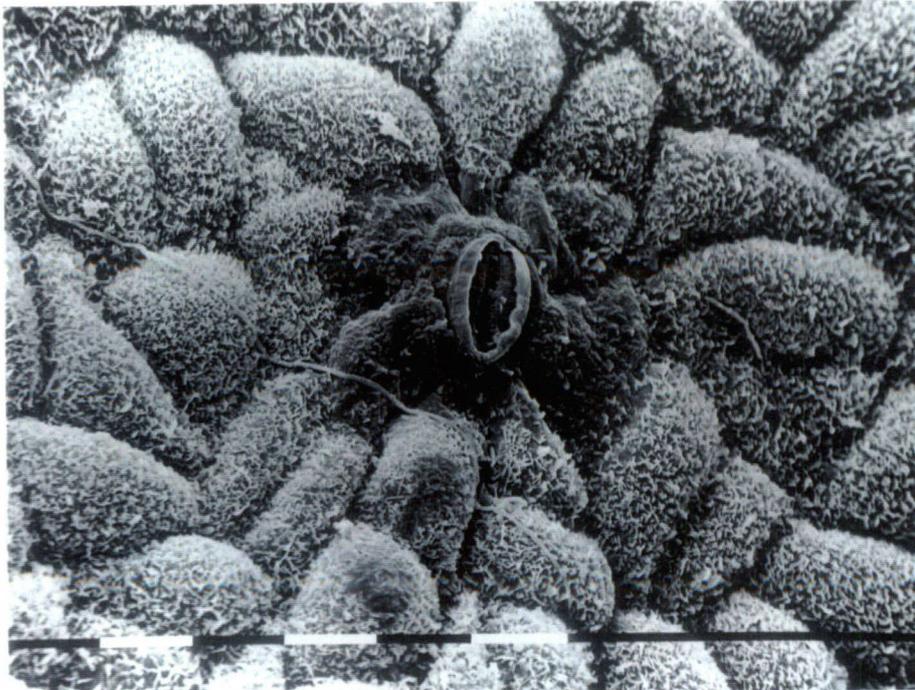


Figura 6: Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de *A. carambola* L.; detalhe dos depósitos de cera e estômato. (MEV) $\times=10\ \mu\text{m}$

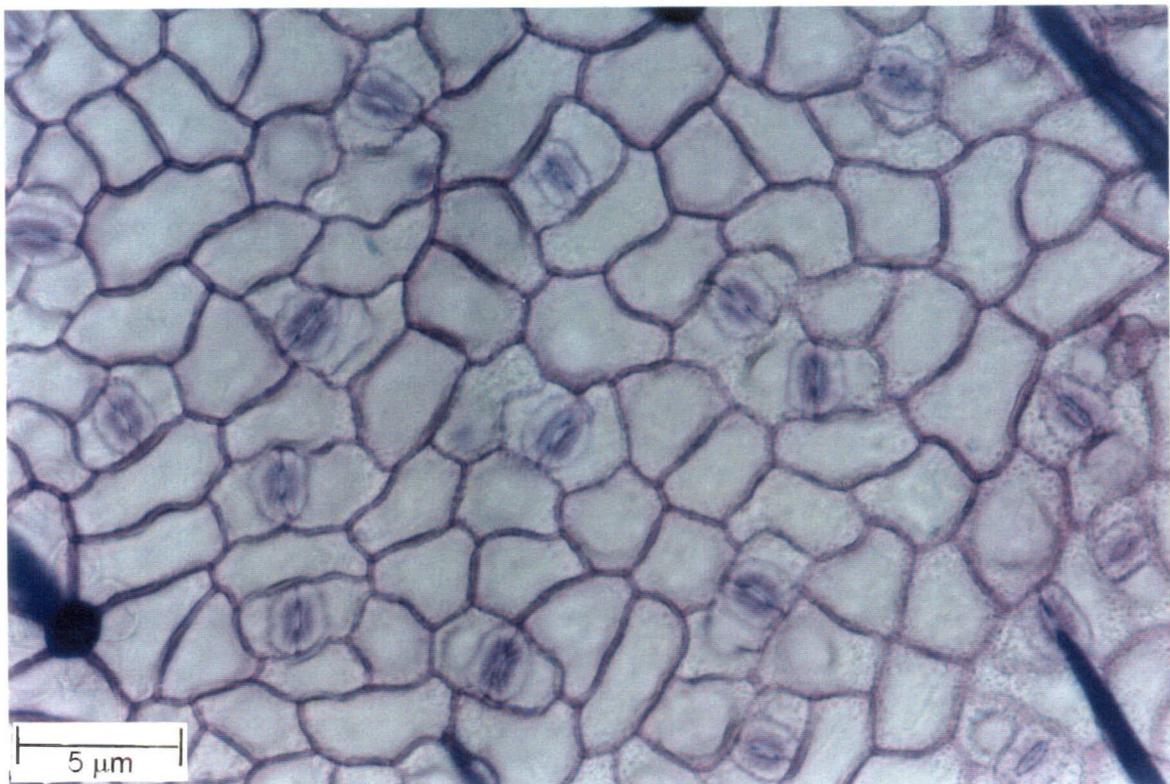


Figura 7: Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar de *A. carambola* L.; detalhes dos estômatos paracíticos.

Em secção transversal (Figuras 8 e 9), a epiderme revela um estrato de células que se apresentam recobertas por cutícula lisa e relativamente delgada. Na face adaxial as células apresentam as paredes periclinais externas retas e na face abaxial, estas se apresentam convexas, revelando um formato lenticular, que se assemelha a uma papila.

A lâmina foliar tem organização dorsiventral ou bifacial, com parênquima paliçádico e lacunoso definidos. O mesofilo apresenta dois a três estratos de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso multiestratificado, provido de grandes lacunas. As células do parênquima paliçádico têm formato atípico, sendo menos alongadas e mais arredondadas, e as do lacunoso apresentam-se com formato arredondado. Estão presentes em todo o mesofilo, cristais cúbicos de oxalato de cálcio (Figura 9).

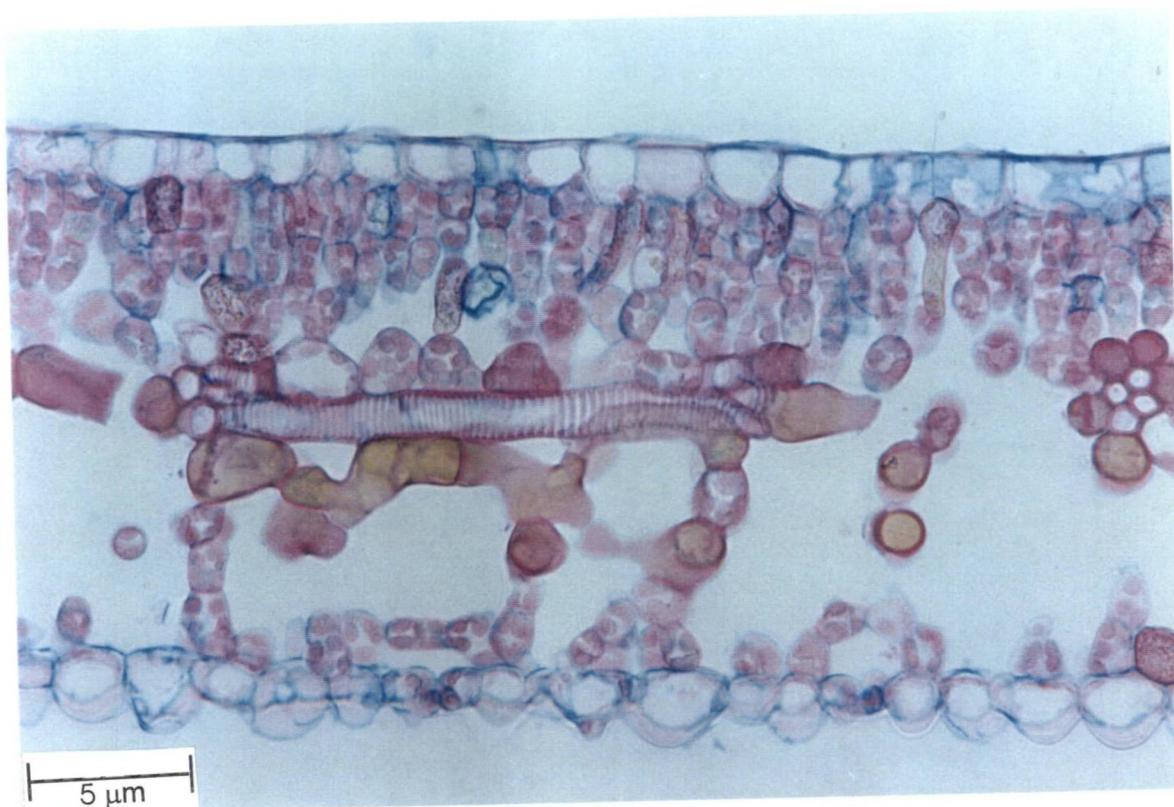


Figura 8: Secção transversal da lâmina foliar de *A. carambola* L.; detalhe do traqueíde.

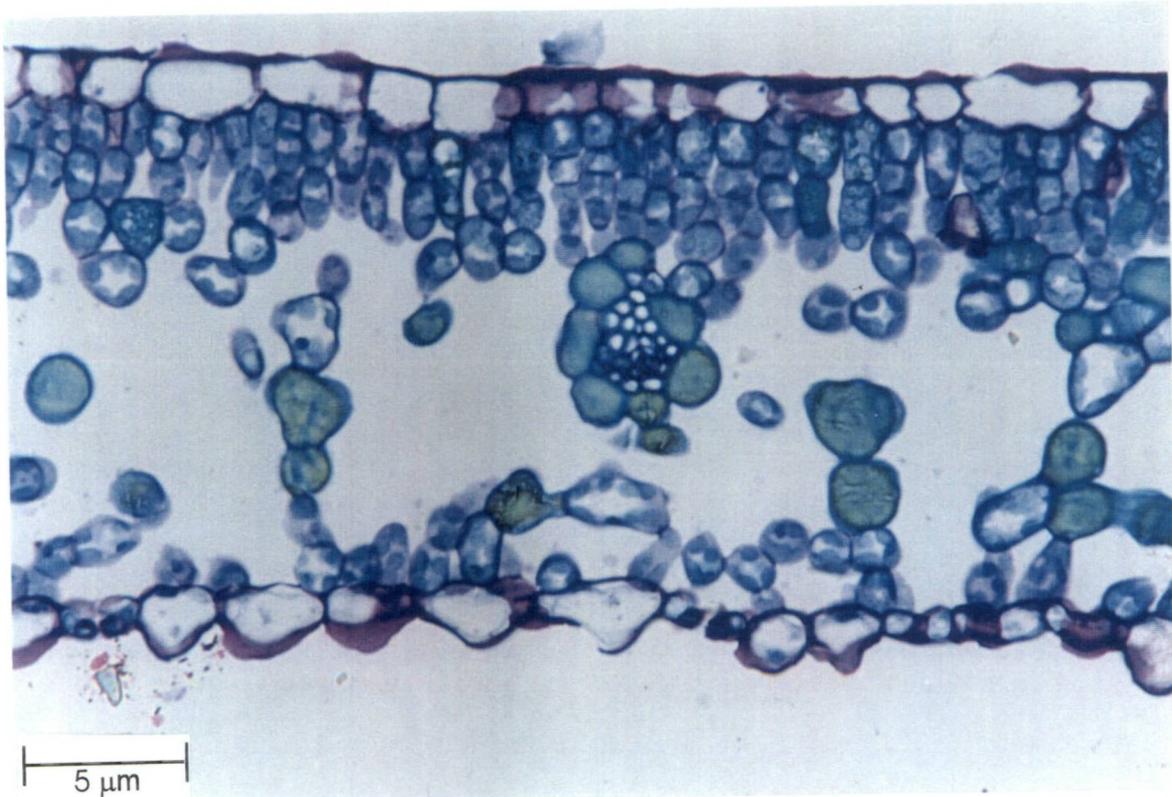
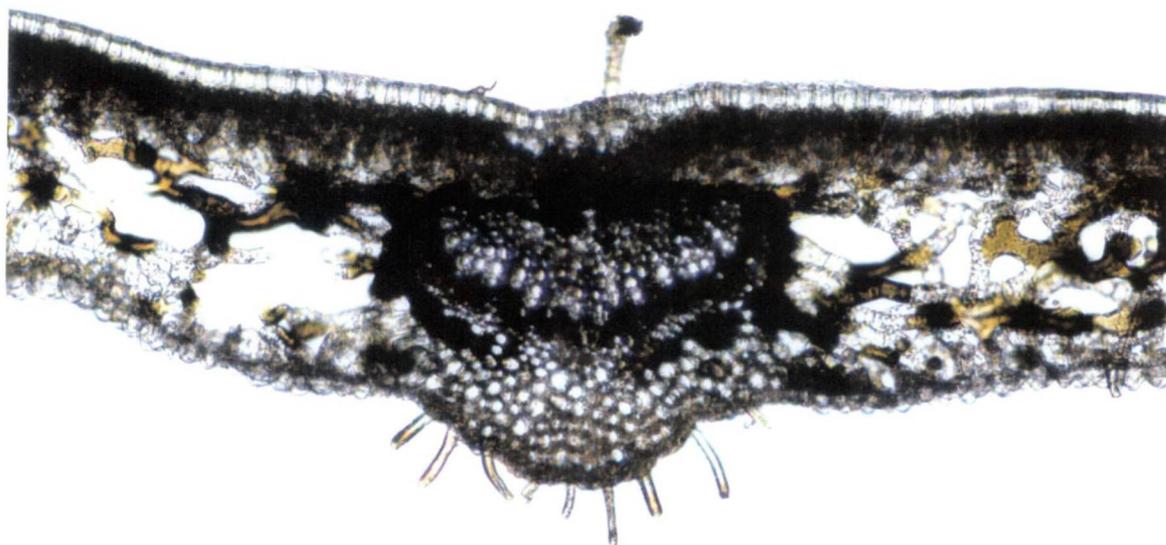


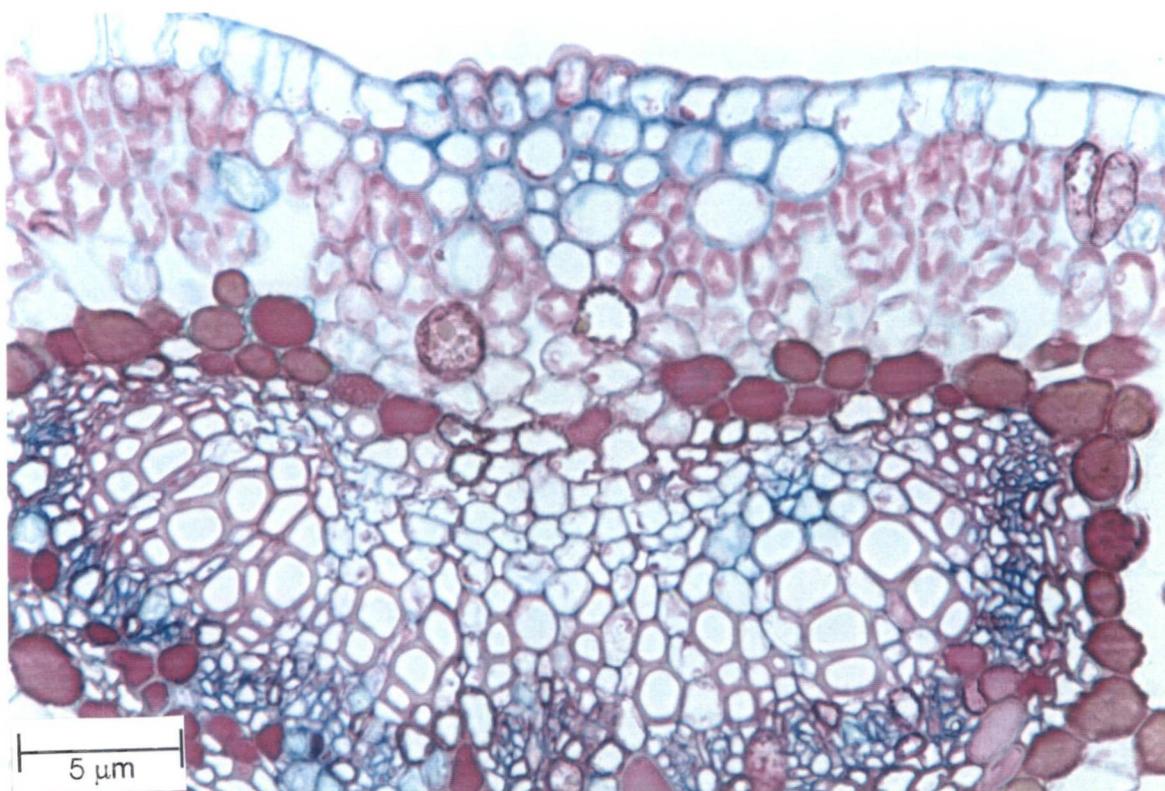
Figura 9: Secção transversal da lâmina foliar de *A. carambola* L.; detalhe do feixe vascular.

A nervura mediana, em secção transversal, apresenta formato plano convexo, com maior proeminência na face abaxial. As células da epiderme da face adaxial apresentam o mesmo tamanho comparativamente às do limbo, sendo que na face abaxial elas se tornam menores. Subjacentemente à epiderme, encontra-se uma região de colênquima angular. No parênquima fundamental nota-se o feixe vascular do tipo colateral, com o formato de um arco, cuja a abertura está voltada para a face adaxial. O feixe apresenta-se circundado por uma bainha parenquimática incompleta constituída de idioblastos portadores de compostos fenólicos. Os elementos traqueais do xilema (elemento de vaso e traqueídes com espessamento de parede helicoidal) dispõem-se em fileiras radiais, sendo intecalados por células parenquimáticas. No sistema floemático são observados elementos condutores do floema, células parenquimáticas e idioblastos contendo compostos fenólicos.(Figuras 10 a 12)



10 μm

Figura 10: Secção transversal da nervura mediana do folíolo de *A. carambola* L., após reação com cloreto férrico.



5 μm

Figura 11: Secção transversal da nervura mediana do folíolo de *A. carambola* L.

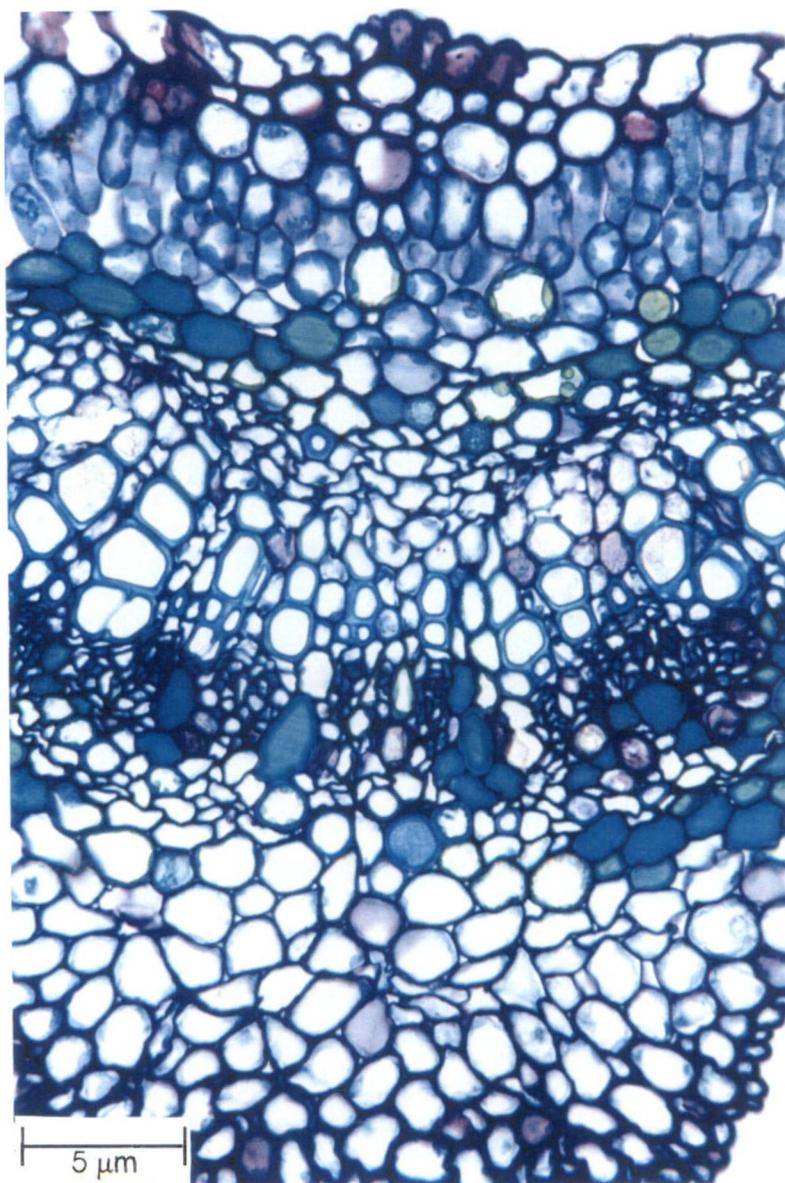


Figura 12: Secção transversal da nervura mediana do folíolo de *A. carambola* L.; detalhe do feixe vascular.

Pecíolo

O pecíolo apresenta, em secção transversal, contorno circular. As células epidérmicas dispõem-se em um único estrato e são revestidas por cutícula relativamente delgada. As células são pequenas e com formatos irregulares. Tricomas tectores, simples e curtos são observados em todo o contorno do pecíolo, no mesmo nível das demais células da epiderme. Uma faixa de colênquima angular localiza-se contiguamente à epiderme e apresenta idioblastos contendo cristais cúbicos de oxalato de cálcio e compostos fenólicos. Mergulhado no parênquima fundamental, nota-se o feixe vascular colateral que possui um formato de arco bem fechado. O floema é

constituído por uma faixa quase contínua circundando o xilema e apresenta idioblastos com compostos fenólicos. O xilema possui células dispostas em fileiras radiais, com o diâmetro celular aumentando em direção ao floema. Os elementos traqueais são intercalados por raios parenquimáticos. A região medular é constituída por parênquima fundamental com células menores na periferia e maiores na parte central. Circundando o feixe vascular, nota-se uma bainha completa de fibras com paredes espessas. (Figuras 13 a 17)



Figura 13: Secção transversal do pecíolo de *A. carambola* L., após reação com floroglucinol clorídrico.



Figura 14: Secção transversal do pecíolo de *A. carambola* L., após reação com floroglucinol clorídrico; detalhe do feixe vascular.

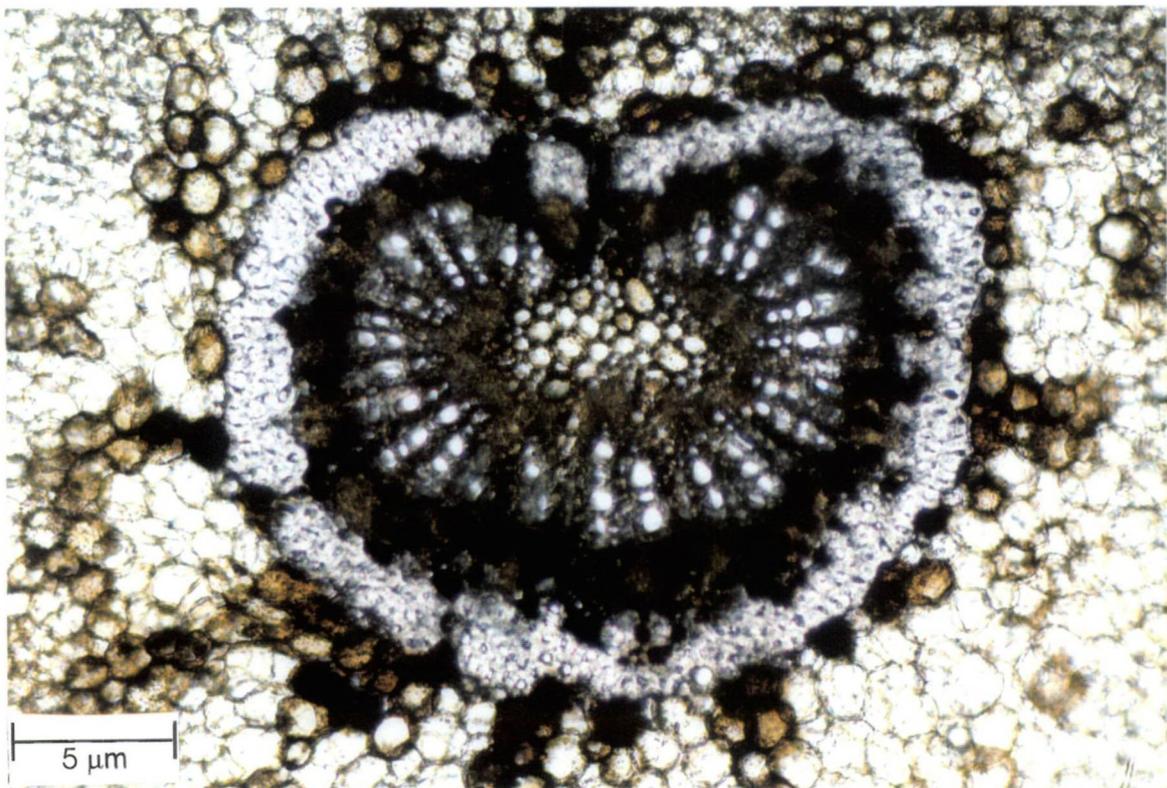


Figura 15: Secção transversal do pecíolo de *A. carambola* L., após reação com cloreto férrico; detalhe do feixe vascular.

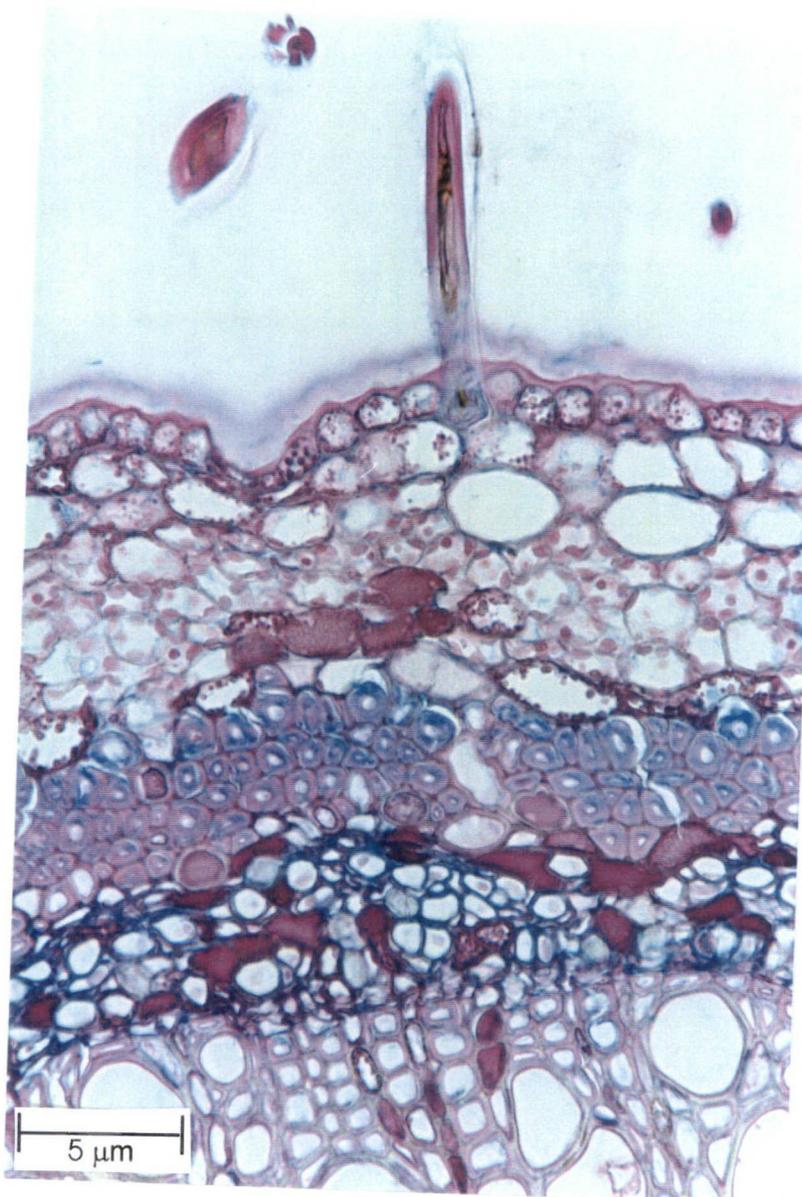


Figura 16: Secção transversal do pecíolo de *A. carambola* L.; detalhe do tricoma.

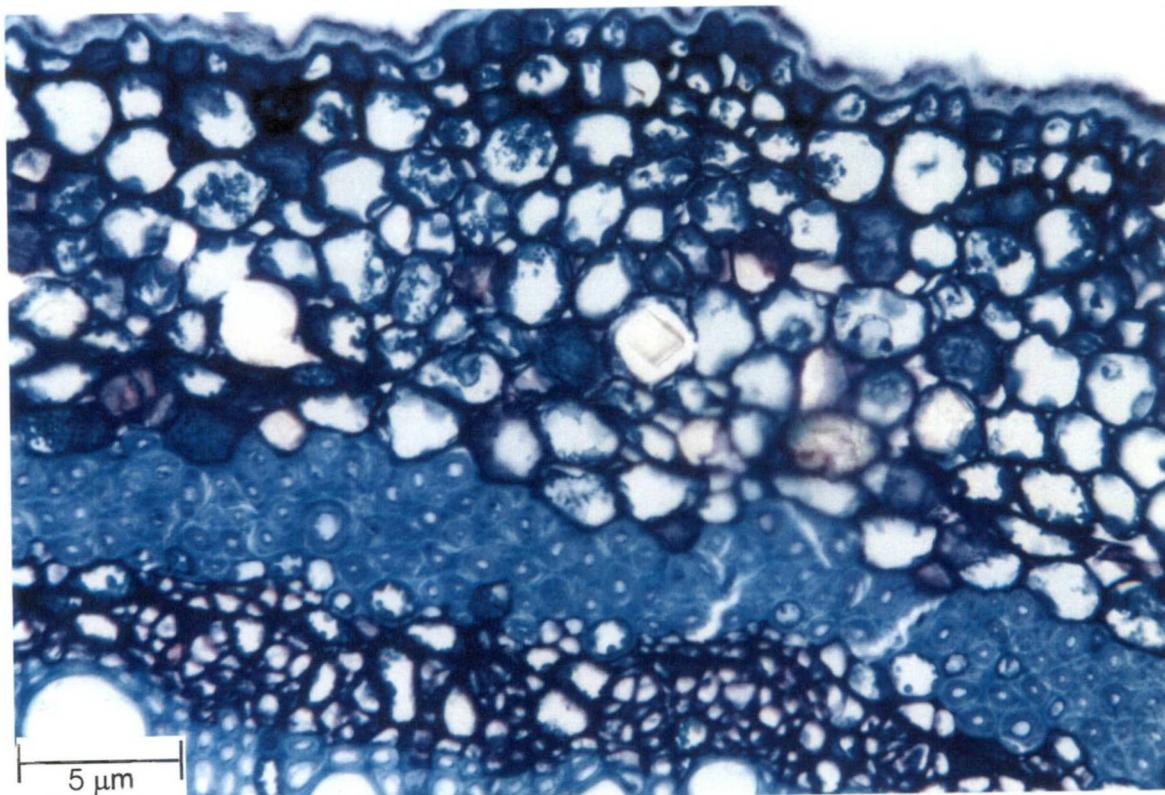


Figura 17: Secção transversal do pecíolo de *A. carambola* L.; detalhe do cristal de oxalato de cálcio

Peciólulo

Em secção transversal, o peciólulo apresenta-se com contorno circular. As células epidérmicas dispõem-se em um único estrato e são revestidas por cutícula lisa relativamente espessa. As células são pequenas e com formatos irregulares. Tricomas tectores simples e curtos estão presentes em todo o contorno do peciólulo, estando no mesmo nível das demais células da epiderme. No parênquima fundamental estão presentes idioblastos com cristais cúbicos de oxalato de cálcio e idioblastos com compostos fenólicos, sendo estes mais freqüentes ao redor da bainha esclerenquimática. Esta é constituída de várias camadas de fibras, com paredes fortemente espessadas, em diferentes estágios de lignificação, e envolve o feixe vascular, que apresenta um formato de um arco aberto. O xilema apresenta os elementos traqueais dispostos em fileiras radiais, intercaladas por raios parenquimáticos. O floema, além dos elementos crivados e células parenquimáticas, é constituído por idiblastos contendo compostos fenólicos (Figuras 18 a 20).



Figura 18: Secção transversal do peciólulo de *A. carambola* L., após reação com floroglucinol clorídrico.

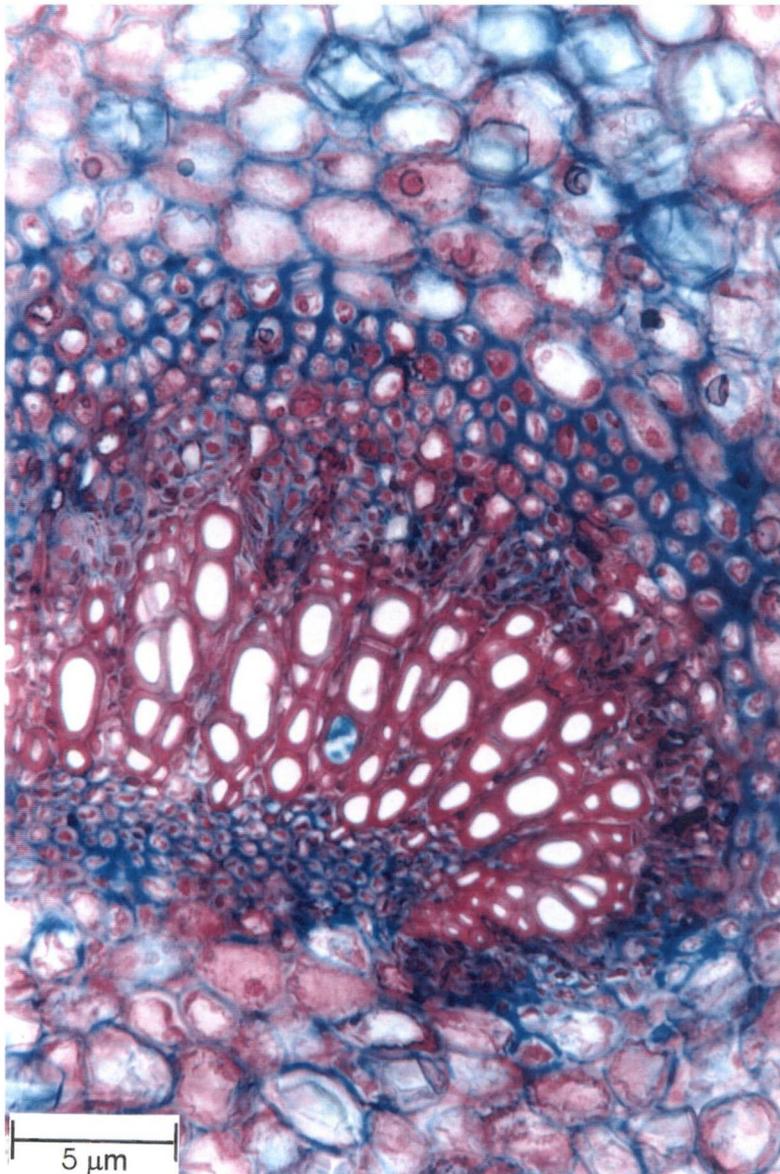


Figura 19: Secção transversal do peciólulo de *A. carambola* L.; detalhes do feixe vascular e cristais de oxalato de cálcio.

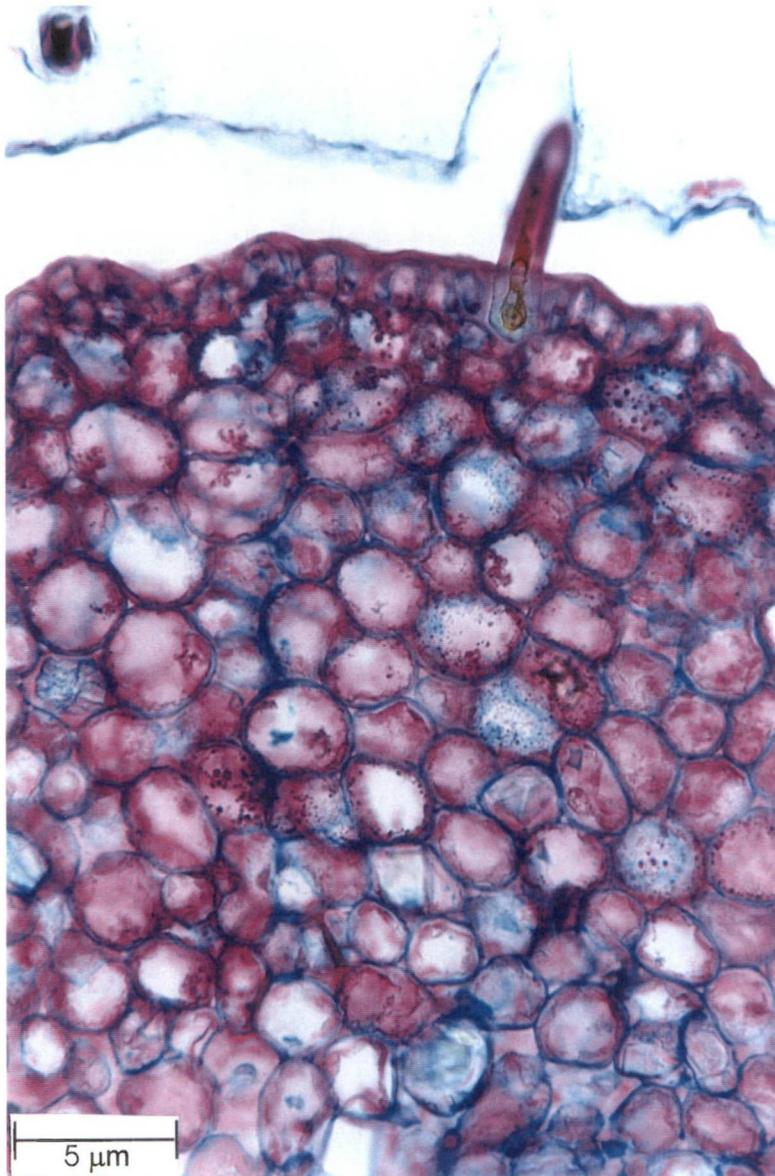


Figura 20: Secção transversal do peciólulo de *A. carambola* L.; detalhe do tricoma.

Venação

A venação do folíolo é do tipo pinada camptódroma e broquidódroma, onde as nervuras secundárias não terminam na margem, se unindo em uma série de arcos. As últimas ramificações delimitam no mesofilo pequenas áreas ou aréolas do tipo poligonal. Nas aréolas ocorrem terminações vasculares livres e intensamente ramificadas (Figura 21 a 25).

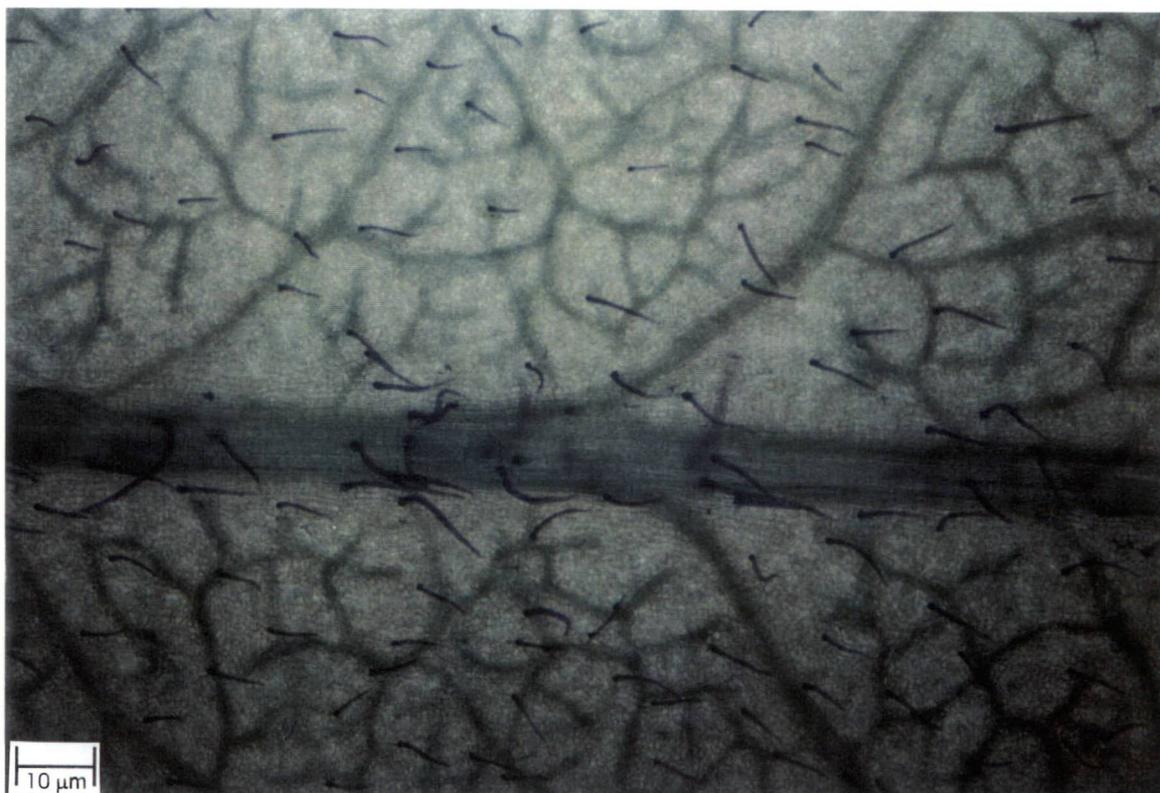


Figura 21: Venação do folíolo de *A. carambola* L. na região da nervura mediana.

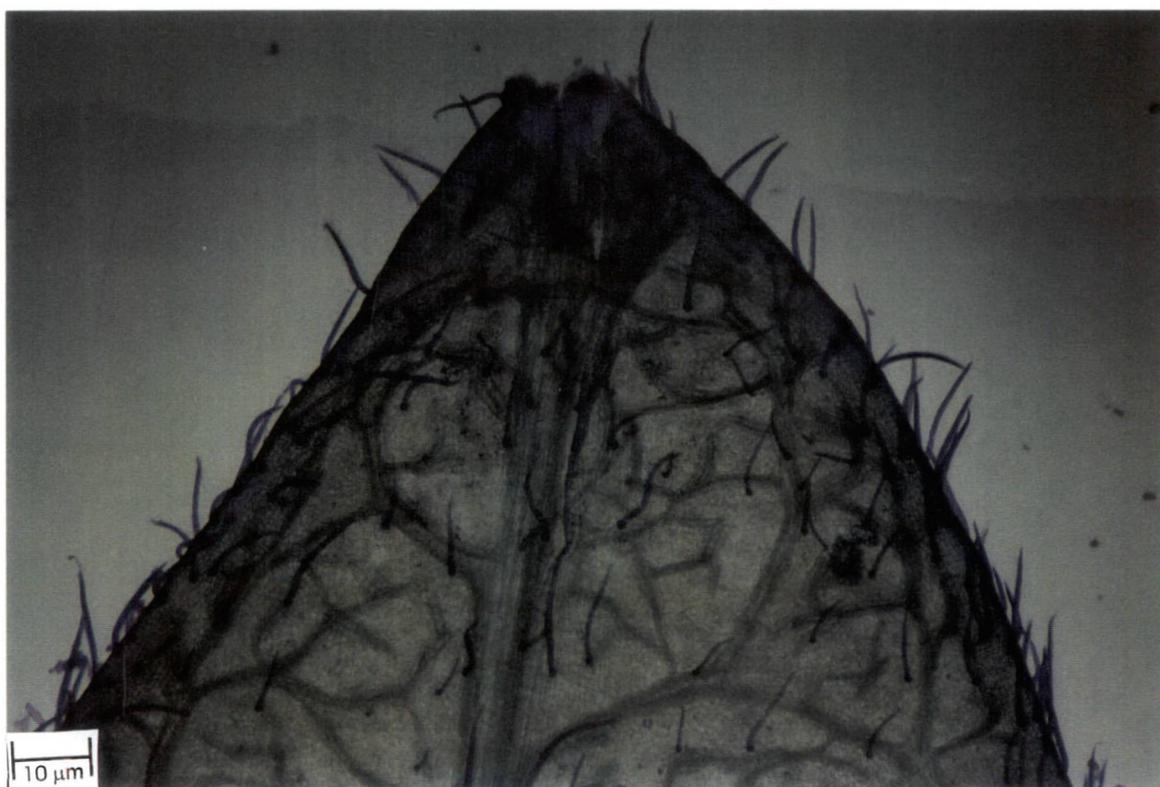


Figura 22: Venação do ápice do folíolo de *A. carambola* L.

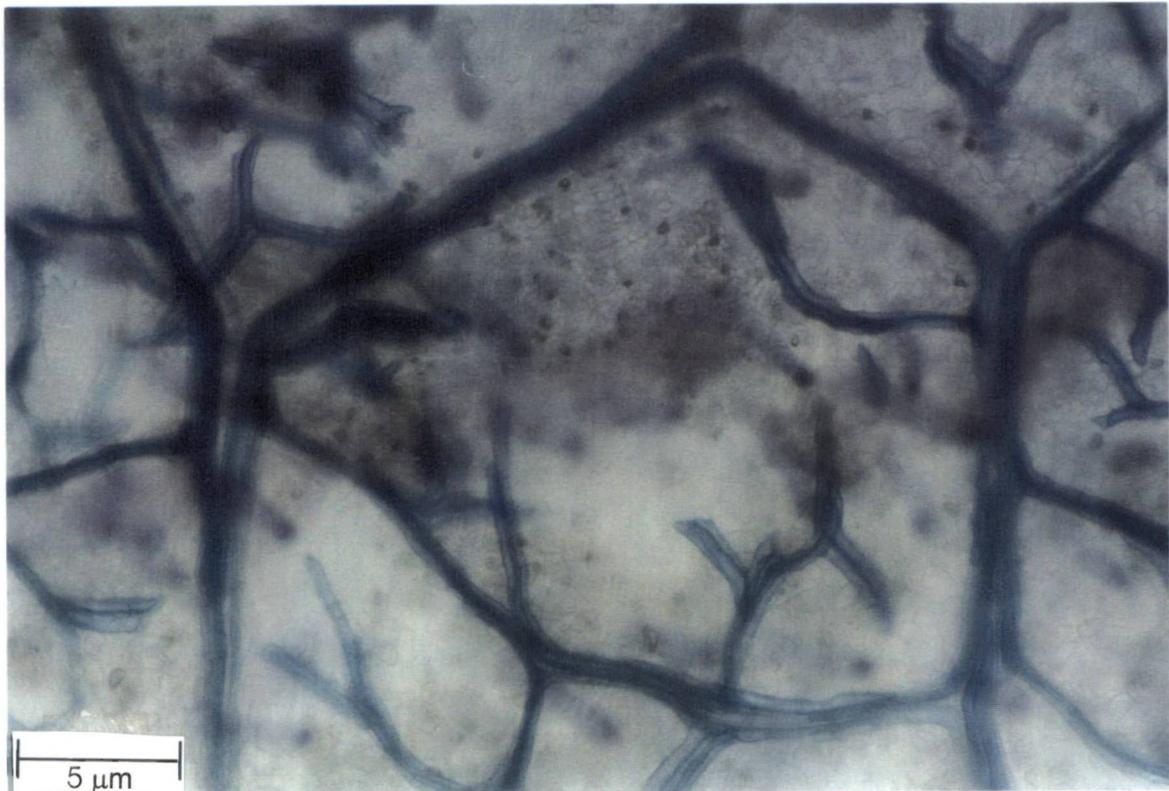


Figura 23: Detalhe das aréolas do folíolo de *A. carambola* L.

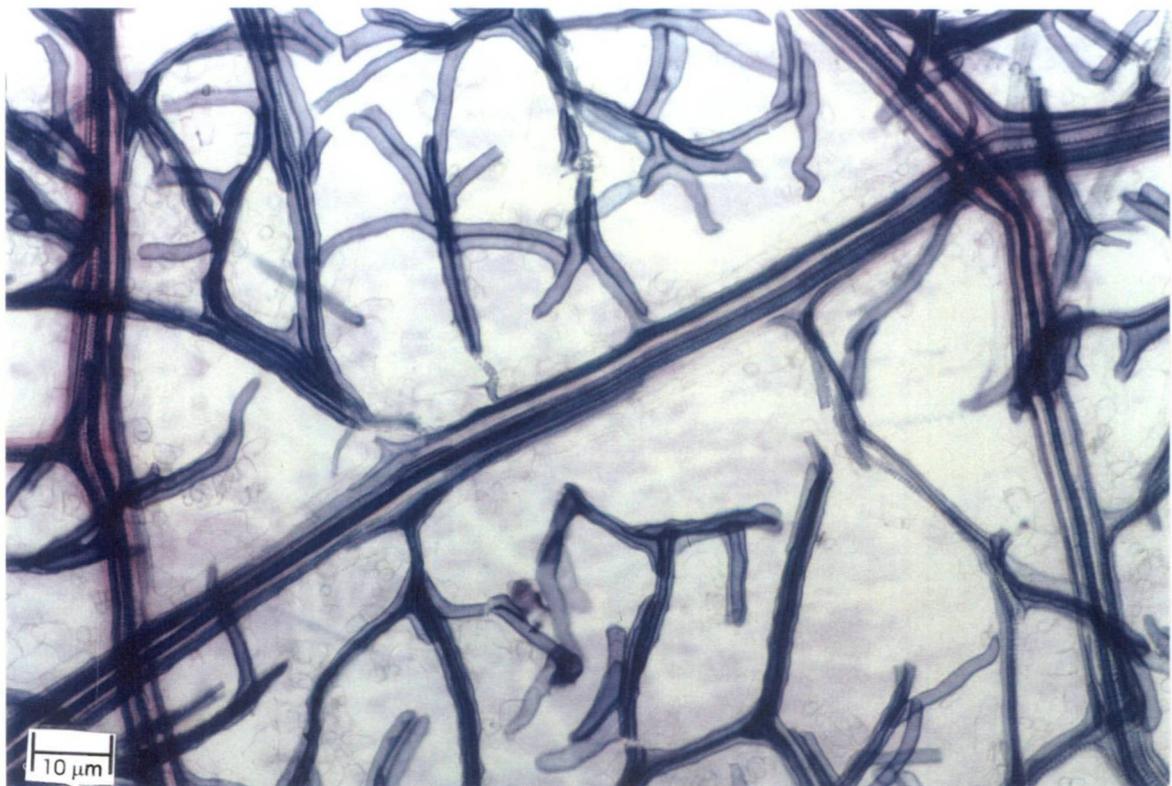


Figura 24: Detalhe da ramificação das aréolas da folha de *A. carambola* L.

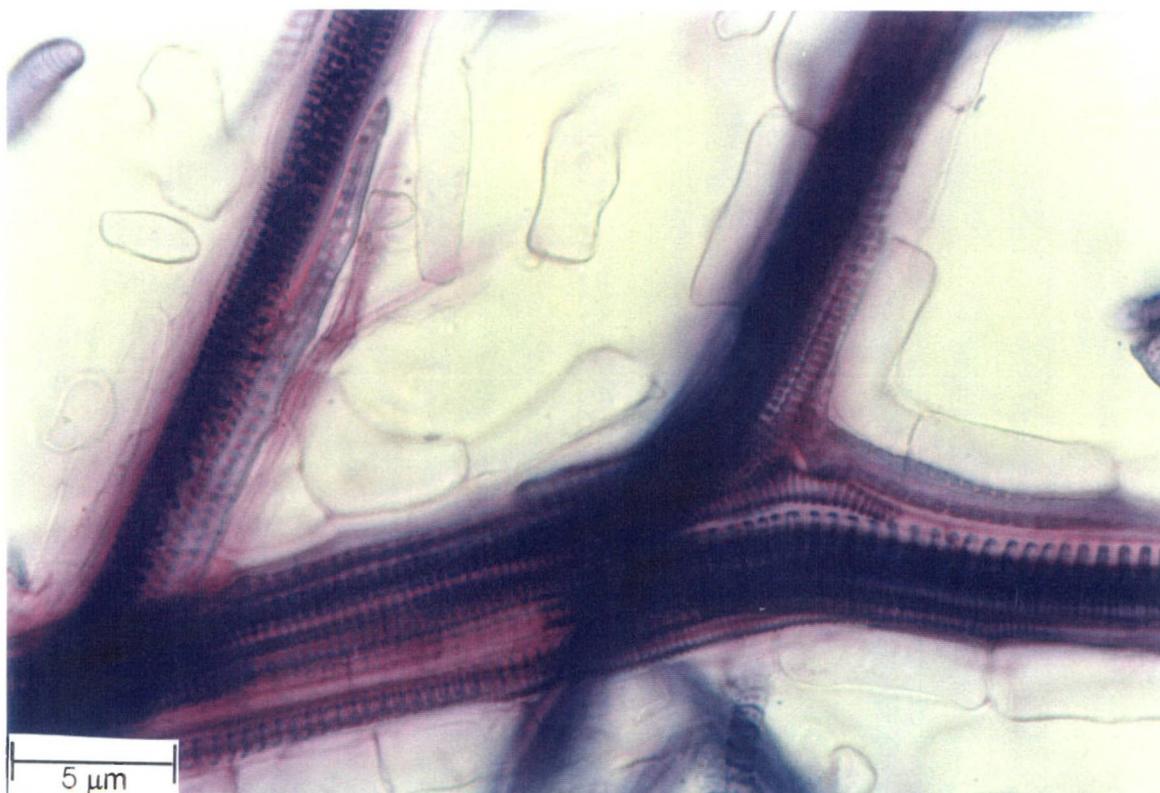


Figura 25: Detalhe das terminações vasculares e da bainha parênquimática do folíolo de *A. carambola* L.

ESTUDO FITOQUÍMICO

A amostra continha 31,4% de água.

A pesquisa dos grupos de metabólitos secundários das folhas de *Averrhoa carambola* L., Oxalidaceae tem seus resultados sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1: Pesquisa de Metabólicos Secundários nas Folhas de *Averrhoa carambola* L, Oxalidaceae.

Grupo Metabólico Secundário	Resultado
Glicosídeo antraquinônico	Negativo
Glicosídeo cardiotônico	Negativo
Glicosídeo flavônico	Positivo
Glicosídeo saponosídico	Positivo
Tanino	Positivo
Alcalóide	Negativo

Extração com Solventes Orgânicos

O extrato seco hexânico (5,51 g), o extrato seco clorofórmico (0,23 g) e o extrato seco de acetato de etila (0,77 g) foram tratados separadamente nos processos de purificação de compostos. Trabalhou-se com os dois primeiros extratos. O primeiro por possuir maior quantidade de material, sendo o segundo utilizado preferencialmente ao terceiro por possuir menor polaridade.

Purificação de Compostos

Foram isolados e purificados três compostos principais codificados como AC-002, AC-003 e AC-006. Um quarto composto, AC-005.2, foi isolado mas não foi possível obter um grau de pureza suficiente para ser caracterizado.

Os dados dos compostos identificados estão descritos na discussão deste

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

O gráfico abaixo apresenta os resultados obtidos no primeiro método empregando o extrato seco do infuso das folhas de carambola:

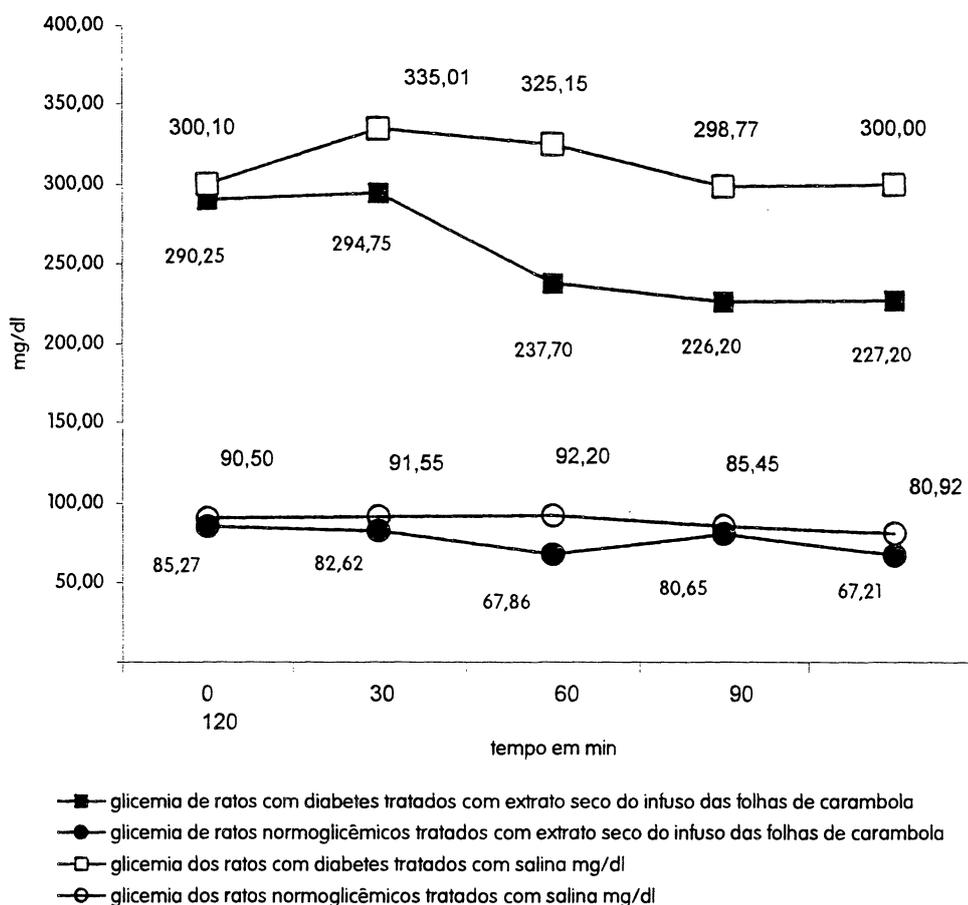


Figura 26: Glicemia dos ratos tratados com extrato seco do infuso das folhas de carambola (1 g/kg). Resultado expresso por grupos de cinco animais.

O segundo método foi testado em dois lotes de ratos em um total de vinte animais. Os resultados do primeiro lote estão na tabela abaixo.

Tabela 2: Glicemia dos ratos tratados com infuso (1,5%) das folhas de carambola

rato	glicemia 0	glicemia 1	glicemia 2
d	444,25 ± 158,08	407,00 ± 141,70	454,00 ± 96,70
ad	555,00 ± 21,90	+	+
nt	102,66 ± 6,40	100,70 ± 4,90	93,30 ± 23,10
na	100,55 ± 5,30	99,7 ± 10,10	95,00 ± 20,00

+ = óbito

d = animal diabético tratado com chá

ad = animal diabético tratado com água

nt = animal normoglicêmico tratado com chá

na = animal normoglicêmico tratado com água

No segundo lote de animais, todos estavam com glicemia no tempo zero acima de 250 mg/dl. Após duas semanas de tratamento os ratos com diabetes que tomavam água morreram, dos que estavam tomando chá só sobreviveram três que tiveram a glicemia acima de 200 mg/dl.

5. DISCUSSÃO

A espécie em questão foi escolhida baseada em uma abordagem etnofarmacológica, ou seja, selecionada a partir do uso terapêutico alegado por um determinado grupo étnico, que segundo DI STASI (1996), é a seleção que mais oferece oportunidades de descobrir novas substâncias com novas atividades.

Um medicamento é colocado no mercado para cada 22.900 substâncias sintetizadas. Quando a pesquisa farmacológica é feita com substâncias obtidas a partir de plantas com uso tradicional, essa relação é 50 vezes menor, ou seja de 1:400 (DI STASI, 1996).

A pesquisa farmacológica com plantas medicinais deve ter um tratamento diferenciado daquela realizada com produtos sintéticos. Existem modelos experimentais validados para o estudo farmacológico de substâncias sintetizadas, que diferem dos modelos experimentais que avaliam extratos vegetais. O desafio está em utilizar um modelo experimental em animais de laboratório que mimetize o efeito farmacológico popularmente descrito. A via de administração da espécie estudada deve ser compatível com aquela empregada no modelo experimental (DI STASI, 1996).

Princípios ativos de plantas medicinais são metabólitos secundários, isto é, a planta não utiliza estas substâncias para a sua nutrição, desenvolvimento ou em sua economia direta (WILLIAMS *et al.*, 1989). Essas substâncias são produzidas pela planta para melhorar suas condições de sobrevivência. Assim, solos pobres, alterações climáticas freqüentes, predadores, dentre outros fatores, fariam que estas substâncias fossem biossinteticamente produzidas pelo vegetal.

Por não participarem de sua economia direta, as quantidades de metabólitos secundários nas plantas não são abundantes e as concentrações acima de 1% são exceções, não regra, o que dificulta ainda mais a análise farmacológica de plantas, sendo necessário grandes quantidades de material vegetal para o estudo.

Embora a maior segurança de atividade biológica ao se estudar plantas de uso popular, nem sempre elas têm seu efeito comprovado com métodos experimentais de laboratório, como o caso das 21 plantas selecionadas pela Central de Medicamentos – CEME, com uso popular consagrado, onde dez tiveram seu uso comprovado

cientificamente e outras nove não tiveram comprovação científica do seu uso popular (ELISABETSKY, 1987).

As folhas de carambola são empregadas para o tratamento de diabetes em várias regiões do país como Mato Grosso do Sul e litoral paranaense. Em entrevista com a população de Antonina - Paraná, foi relatado o uso do chá das folhas tanto secas como frescas, para tratamento da diabetes. Foi relatado também, que o uso por várias semanas tem como efeito "diminuir a diabetes".

ESTUDO ANATÔMICO

Existe uma escassez de informações sobre a anatomia das folhas de *A. carambola* L. na literatura pesquisada. Foram encontradas somente referências mais antigas e sem muitos detalhes anatômicos.

Na lâmina foliar, a face abaxial da epiderme apresenta células com a parede periclinal externa convexa semelhante a uma papila, em concordância com METCALFE (1988) que relata que a família Oxalidaceae apresenta epiderme papilosa na face abaxial.

Tricomas tectores simples e unicelulares estão presentes na face abaxial. Conforme METCALFE & CHALK (1950), tricomas simples, não ramificados e de tamanho variável estão presentes na família Oxalidaceae. De acordo com MAUSETH (1988), a epiderme abaxial freqüentemente é coberta com tricomas, que têm a função de retardar a perda de água pelas folhas.

Foi observado estômato paracítico, coincidentemente com o relato de METCALFE (1988) e CRONQUIST (1981) para as plantas da família Oxalidaceae. Segundo METCALFE & CHALK (1950), os estômatos no gênero *Averrhoa* possuem uma ou duas células subsidiárias paralelas ao poro.

A presença de cutícula lisa foi observada. MAUSETH (1988; 1995) relata que a cutícula que recobre as paredes das células epidérmicas retém água e dificulta a digestão por parte de fungos.

ESAU (1977), FAHN (1982), JUNIPER & JEFFREE (1983) e CUTTER (1986) afirmam que a deposição de ceras é comum na superfície vegetal. Foram encontrados depósitos de ceras, com aspecto de filamentos sobre a superfície abaxial dos folíolos. A deposição

de cera sobre a superfície da cutícula pode aparecer em várias formas morfológicas, dando o aspecto aveludado de muitas folhas e frutos, sendo importante na redução da perda de água das superfícies foliares (FAHN, 1990). Segundo este mesmo autor, a estrutura e a quantidade de cera epicuticular afeta a permeabilidade cuticular e o grau que a superfície pode ser umedecida.

De acordo com MAUSETH (1988), quando a folha é achatada dorsiventralmente, as faces pertencem a ambientes distintos, podendo apresentar características diversas, por exemplo, referentes ao tamanho das células e a frequência de anexos epidérmicos. Na espécie em questão, observa-se a presença de estômatos e tricomas somente na face abaxial.

Traqueídes com espessamento de parede helicoidal foram encontrados nos feixes vasculares de médio porte. Feixes vasculares das nervuras providos com grandes traqueídes terminais estão presentes nos gêneros *Averrhoa*, *Biophytum* e *Eichleria*, segundo METCALFE & CHALK (1950).

Uma bainha de idioblastos contendo compostos fenólicos foi observada. ESAÚ (1985) atribui ao tecido que circunda o feixe, ou seja, a bainha, a função de transporte entre o feixe vascular e os demais tecidos do mesofilo, também um provável papel mecânico, bem como função de reserva e defesa.

A anatomia do pecíolo é de interesse em taxonomia, uma vez que pode revelar diversos padrões de feixes vasculares (METCALFE & CHALK, 1979, MAUSETH, 1988), sendo que o arranjo desses feixes geralmente se assemelha ao da nervura mediana (FAHN, 1982).

No pecíolo, o xilema e o floema formam cilindros praticamente contínuos, envolvendo uma medula parenquimatosa, segundo METCALFE & CHALK (1950), em concordância com a observação realizada. Estes mesmos autores relatam que o feixe vascular é envolto por uma bainha de fibras, conforme foi observado. Segundo METCALFE & CHALK (1988), a família Oxalidaceae possui raios medulares primários largos ou estreitos.

Células com cristais cúbicos foram encontradas. Segundo METCALFE & CHALK (1950), estes cristais únicos estão presentes em espécies do gênero *Oxalis*. Para as do gênero *Averrhoa* encontraram células com cristais acompanhando e formando uma

bainha para os feixes vasculares das nervuras. CRONQUIST (1981) também relata a presença de cristais de oxalato na família Oxalidaceae.

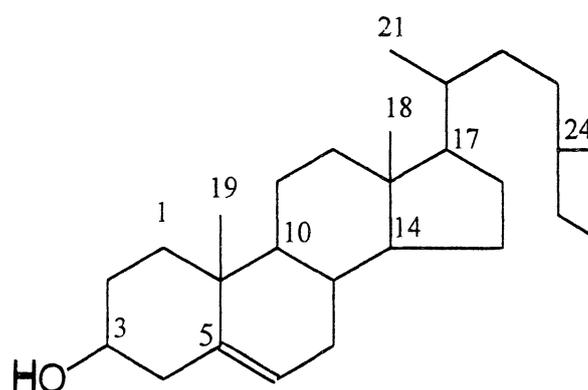
De acordo com MAUSETH (1988), estabelecer o tipo de nervação é importante em taxonomia, porque os padrões formados pelas nervuras são constantes e freqüentemente característicos. Como a maioria das dicotiledôneas, a espécie em questão possui uma nervação do tipo pinada, sendo também camptódroma e broquidódroma.

VAN WELZEN & BAAS (1984), em seu trabalho sobre Linaceae, conclui que o gênero *Lepidobotrys* apresenta uma anatomia foliar semelhante à família Oxalidaceae, destacando os estômatos paracíticos, células contendo cristais solitários, presença de fibras marginais aos feixes vasculares nos pecíolos.

ESTUDO FITOQUÍMICO

O composto AC-002 apresentou-se na forma de cristais brancos, p.f. 134-136°C (CHCl₃-MeOH). O espectro de infra-vermelho indicou a presença de grupo OH apresentado no pico em 3.447 cm⁻¹ e o espectro de ultravioleta não apresentou absorção entre 200 e 400 nm.

O espectro de ¹H-RNM (300 MHz, CDCl₃) (Figura 27) apresentou sinais típicos de compostos triterpenóides indicados pela presença de picos concentrados na região entre δ 0,8-2,2 e um sinal característico de dupla ligação entre os carbonos C-5 e C-6 na forma de duplete em δ 5,40 ($J = 5,08$ Hz). Um multiplete centrado em δ 3,56 ($J = 5,22$ e 5,08 Hz) foi atribuído ao próton em C-3, ligado a uma hidroxila, restando a determinação dos prótons das metilas terminais em C-18 e C-19 para caracterizar a estrutura do composto. O espectro de massa de AC-002 (Figura 28) apresentou picos em m/z 415 ($M^+ + 1$), 414 (M^+) e 413 ($M^+ - 1$), com fragmentos importantes em m/z 397 ($M^+ - OH$) e 329, 303 e 255. Baseado nessas informações e consultando a literatura (SAKAKIBARA, 1983 e KOJIMA, 1990), pode-se sugerir a estrutura do β -sitosterol (II) para o composto AC-002.



1

Para confirmar a suposição, pode-se observar nos espectros de ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) e ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) (Figura 29) e sinais que confirmam com os dados da literatura, conforme discriminados nas Tabelas 1 e 2, especialmente pela presença de um triplete em δ 0,88 ($J = 7,14$) referente à metila em C-29 e dois dupletos em δ 0,88 e 0,86 ($J = 6,45$ e $6,60$) atribuídos às metilas em C-26 e C-27, respectivamente.

Tabela 3: Dados do espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) do composto AC-001 isolado de *A. carambola*.

Próton	δ	Multiplicidade	Integração	Acoplamento
H-3	3,56	m	1H	5,22 e 5,08
H-4	2,33	m	1H	-
H-6	5,40	d	1H	5,08
H-7	1,88	m	2H	5,77 e 3,02
Me-18	0,66	s	3H	-
Me-19	1,02	s	3H	-
Me-21	0,96	d	3H	6,59
Me-26	0,84	d	3H	6,45
Me-27	0,86	d	3H	6,66
Me-29	0,88	t	3H	7,14

Tabela 4: Dados do espectro de ^{13}C RNM (75 MHz, CDCl_3) do composto AC-001 isolado de *A. carambola* L.

Carbono	ppm	Carbono	ppm
1	37,1	16	28,17
2	29,06	17	56,97
3	71,73	18	11,78
4	39,69	19	19,32
5	140,66	20	36,40
6	121,64	21	18,07
7	31,83	22	33,86
8	31,83	23	25,98
9	50,04	24	45,75
10	36,42	25	29,05
11	21,00	26	18,95
12	39,30	27	19,74
13	42,24	28	22,98
14	56,68	29	11,90
15	24,23		

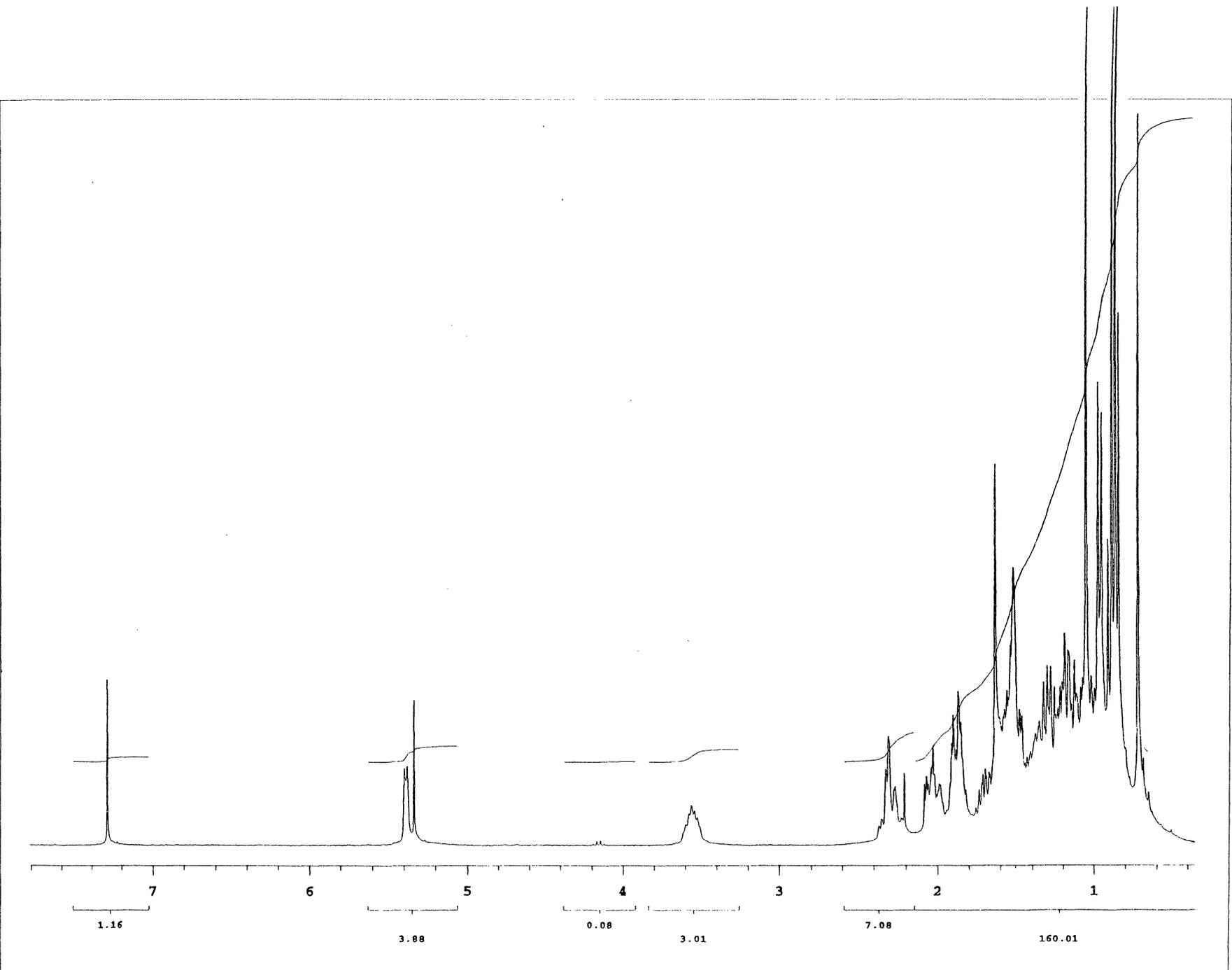


Figura 27: Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de AC-002.

Figura 28: Espectro de massa (EI e CI) de AC-002.

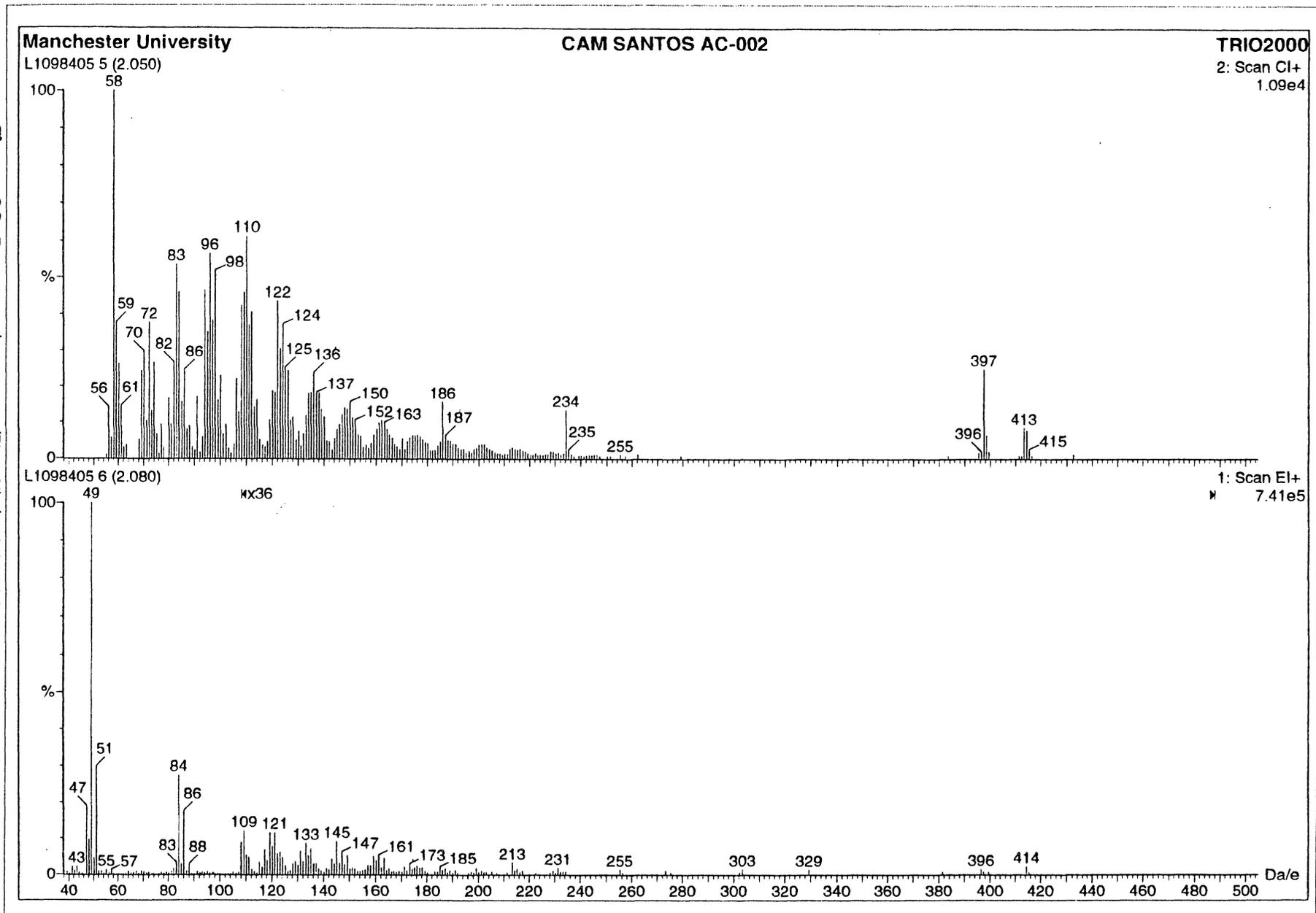
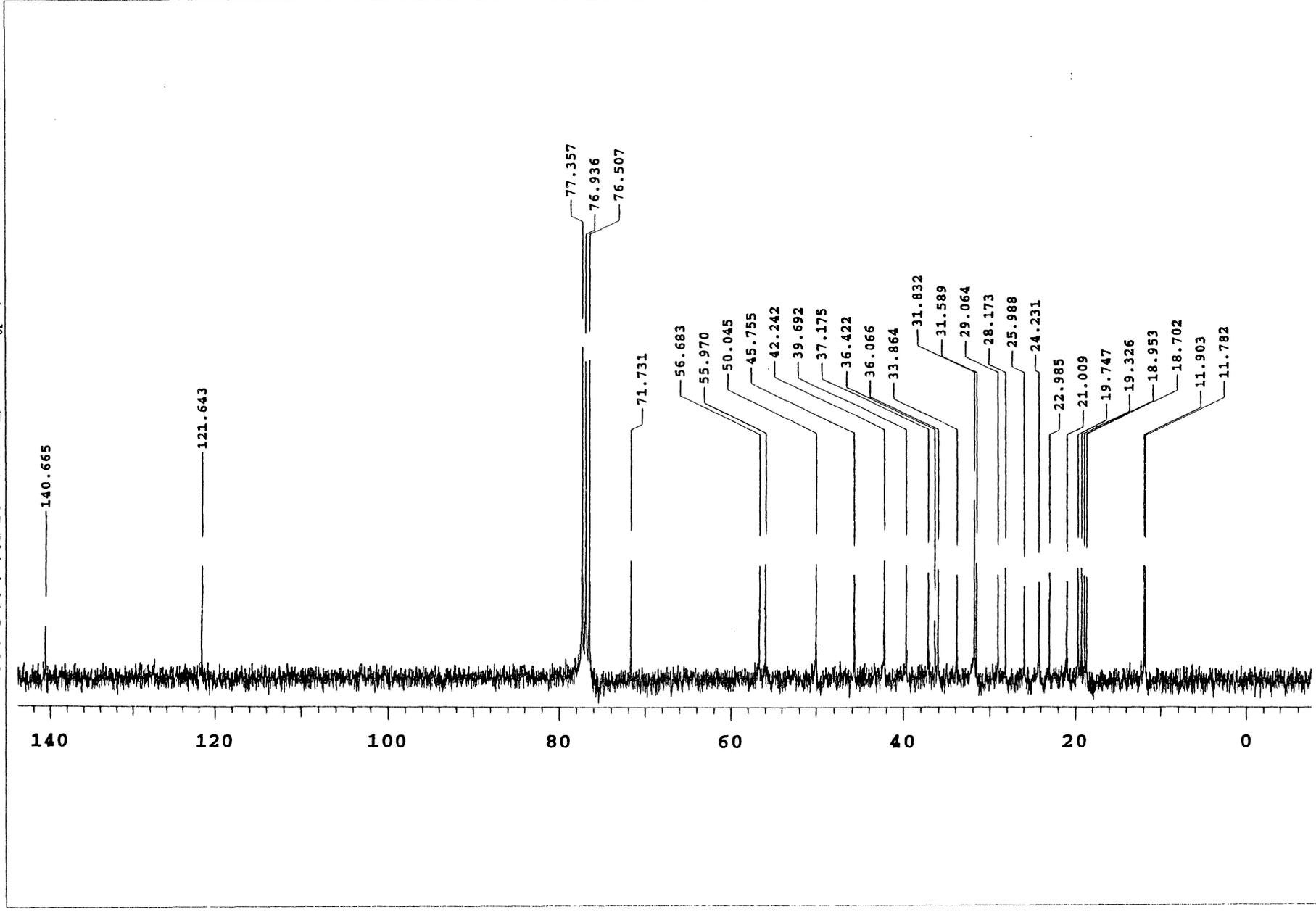


Figura 29: Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) de AC-002.



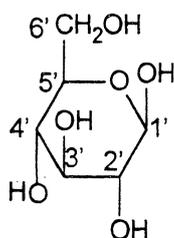
O composto AC-003 acetilado (AC-003Ac) apresentou em seu espectro de infravermelho picos na região de 1745-1755 cm^{-1} referente às carbonilas dos radicais acetatos, sem que o espectro de ultravioleta apresentasse picos acima de 200 nm.

O espectro de massa de AC-003Ac usando técnica de *-ve electrospray* (Figura 30) mostrou um pico em m/z 611, sugerindo uma massa molecular de m/z 576 ($\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$, calculado: 576,4389; observado: 576,4366), devido à adição de um íon Cl^- , o que corrobora com os espectros de massa com ionização química que apresentou um pico em m/z 595 ($\text{M}^+ + 1 + \text{NH}_4$). Também apresentou picos importantes em m/z 396 ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}$, calculado: 396,3756; observado: 396,3744), 331 e 180, sendo os dois últimos típicos em compostos glicosídeos com a glucose acetilada na porção glicona. Esses dados confirmam o peso molecular para a aglicona com um pico em m/z 413 correspondente a perda de um grupo hexose de m/z 575.

O espectro de ^1H RNM (300 MHz, CDCl_3) (Figura 31) apresentou sinais típicos de composto triterpênico, mas também com sinais característicos entre δ 3,6 e 5,2 de uma porção glicosídica que, geralmente, se encontra ligado em C-3 nessas moléculas. Além do duplete atribuído a H-6 em δ 5,3 ($J = 4,54$ Hz) e quatro singletes referentes às metilas dos acetatos em δ 1,92, 1,94, 1,98 e 2,00.

Um triplete em δ 5,14 ($J = 9,47$) foi atribuído ao próton em C-3', o qual pelo espectro de COSY (Figura 32), mostrou um acoplamento com outro triplete em δ 5,04 ($J = 9,48$ Hz) que foi assinalado para H-4'. Um duplo duplete em δ 4,90 ($J = 9,48$ e 7,97 Hz) foi marcado para H-2' por apresentar acoplamentos com o sinal para H-3' e com um duplete centrado em δ 4,52 ($J = 7,97$ Hz), atribuído a H-1'. Um outro duplo duplete em δ 4,2 ($J = 12,22$ e 4,81 Hz) com acoplamento com outro duplo duplete em δ 4,04 ($J = 12,22$ e 2,34 Hz) foram atribuídos aos protons em C-6', para H_a e H_b , respectivamente. Esses sinais mostraram também no espectro de COSY acoplamento com um duplo duplo duplete em δ 3,61 com constante de acoplamento de $J = 9,48$, 4,81 e 2,34 Hz, sinal este atribuído a H-5'.

Esses dados permitem concluir que a estrutura da hexose é a D-glucose (**2**). A configuração anomérica para a glucose foi confirmada pela constante de acoplamento do duplete em δ 4,52 no espectro de ^1H RNM de $J = 7,97$ Hz (AHMAD, 1992; FUJITA,1993).

**2**

Os outros dados do espectro de ^1H RNM, sumarizados na Tabela 5, somados aos dados do espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) (Figura 33) (Tabela 6), foram, em geral, os mesmos apresentados para o composto AC-002, salvo diferenças em função de AC-003 ter sido acetilado. Esses dados permitem concluir pelas evidências a estrutura do β -sitosterol-3- O - β -glucopiranosídeo (**3**) para o composto AC-003 (BASNET, 1993; LIN, 1998).

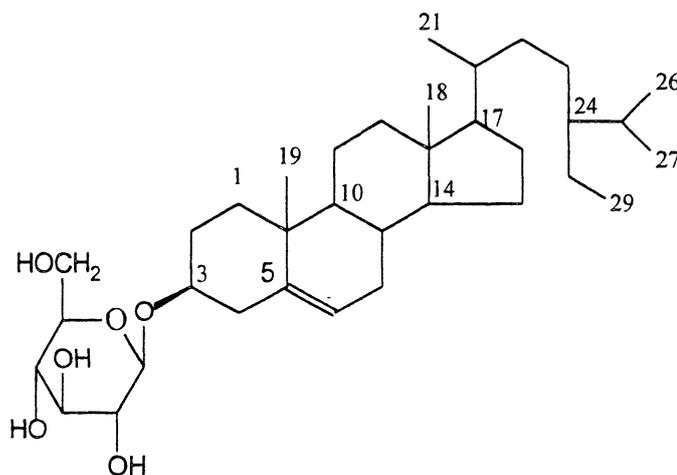
**3**

Tabela 5: Dados do espectro de ^1H RNM (300 MHz, CDCl_3) do composto AC-003Ac isolado de *A. carambola* L.

Próton	δ	Multiplicidade	Integração	Acoplamento
H-6	5,30	d	1H	5,08
H-3'	5,14	t	1H	9,47
H-4'	5,04	t	1H	9,48
H-2'	4,89	dd	1H	9,48 e 7,97
H-1'	4,54	d	1H	7,97
H-6' _a	4,19	dd	1H	12,22 e 4,81
H-6' _b	4,04	dd	1H	12,22 e 2,34
H-5'	3,60	ddd	1H	12,22, 4,81 e 2,34
H-3	3,42	m	1H	6,04, 10,98 e 4,95
H-4	2,16	m	2H	-
Me-19	0,94	s	3H	-
Me-21	0,84	d	3H	6,45
H-29	0,79	t	3H	7,14
H-26 ou 27	0,76	D	3H	6,59
H-26 ou 27	0,74	D	3H	7,10
H-18	0,60	S	3H	-

Tabela 6: Dados do espectro de ^{13}C RNM (75 MHz, CDCl_3) do composto AC-003Ac isolado de *A. carambola* L.

Carbono	ppm	Carbono	ppm
1	37,60	16	28,60
2	29,05	17	55,95
3	79,98	18	11,76
4	39,60	19	20,52
5	140,90	20	36,03
6	122,10	21	18,69
7	31,67	22	34,30
8	31,60	23	26,50
9	50,07	24	45,74
10	36,62	25	29,50
11	19,73	26	18,94
12	38,60	27	19,27
13	42,23	28	22,97
14	56,66	29	11,89
15	24,60		
4 x C=O	169, 169, 170,01 e 170,03	4 x $\text{CH}_3\text{-C=O}$	20,67, 20,63, 20,55 e 20,52
1'	99,98	4'	68,20
2'	71,59	5'	72,40
3'	71,40	6'	62,10

Figura 30: Espectro de massa (-ve electrospray) de AC-003AC.

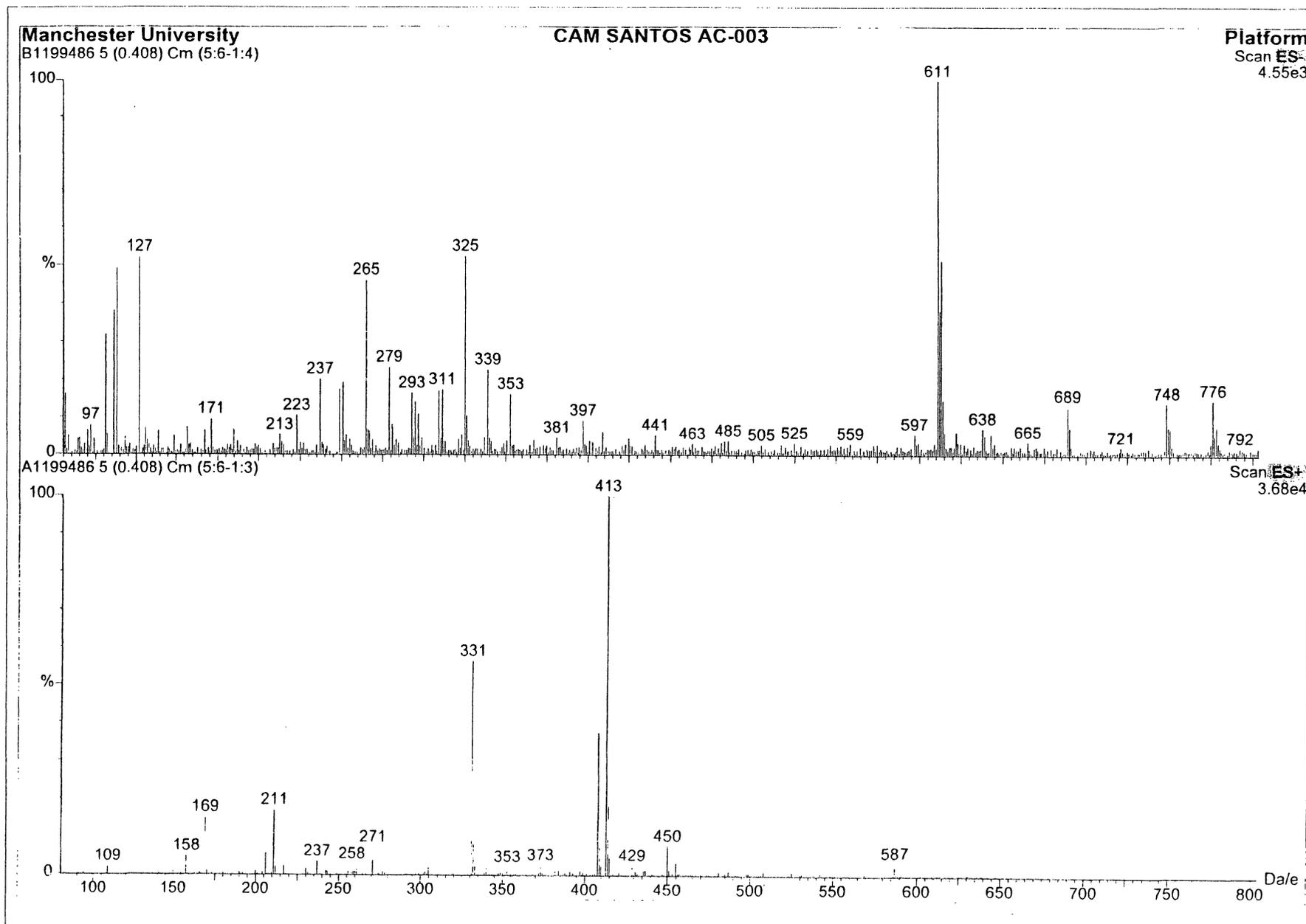
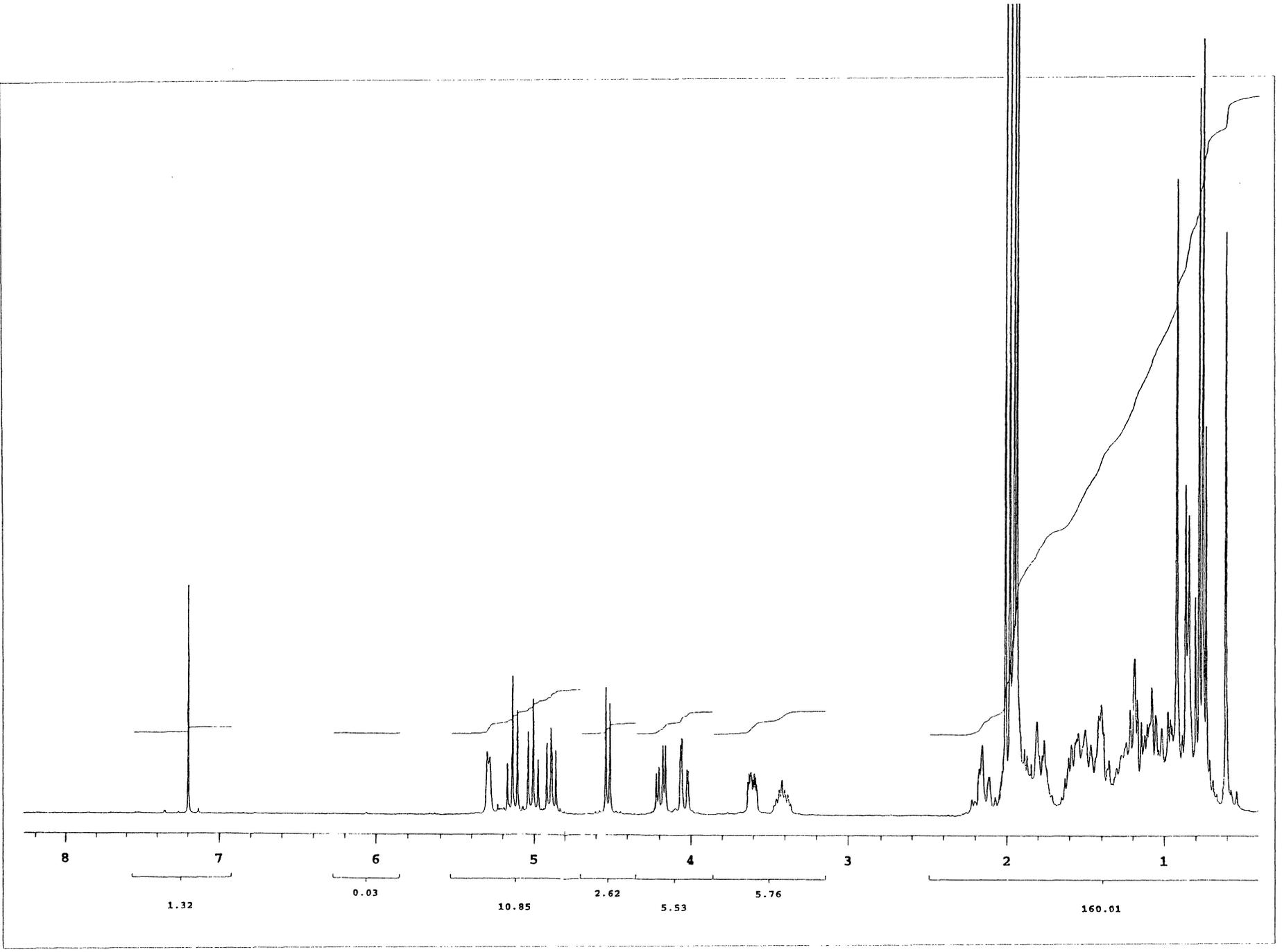


Figura 31: Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de AC-003AC.



CID SANTOS AC-003B
STANDARD 1H OBSERVE

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
Sample #1
File: 102
DATE Feb 20 99
INNOVA-300 "athos"

PULSE SEQUENCE: hspcosy
Relax. delay 1.500 sec
Acq. time 0.431 sec
Width 2374.2 Hz
2D Width 2374.2 Hz
Single scan
256 increments
OBSERVE H1, 299.845890 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.054 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.054 sec
FT size 2048 x 512
Total time 8 minutes

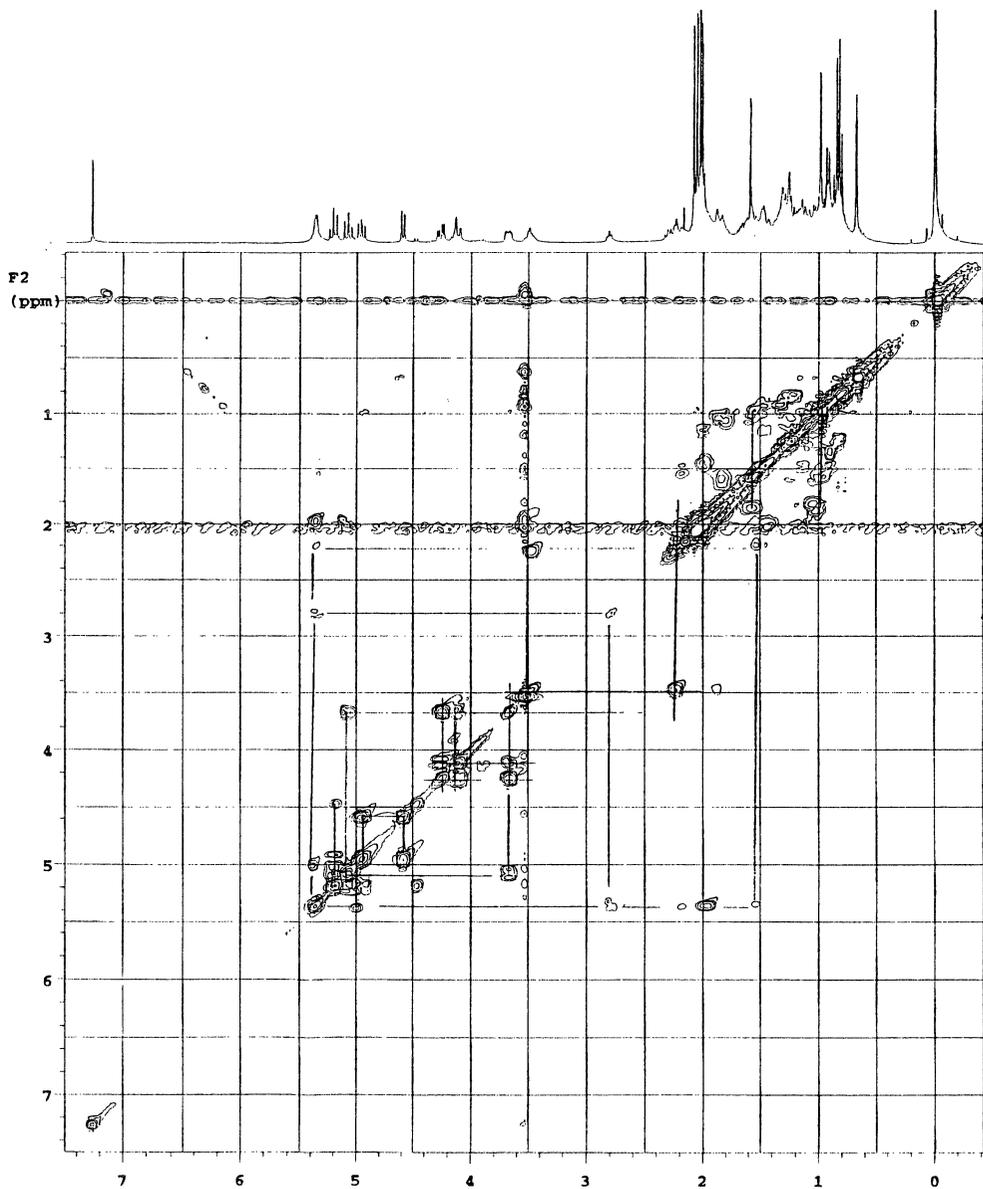
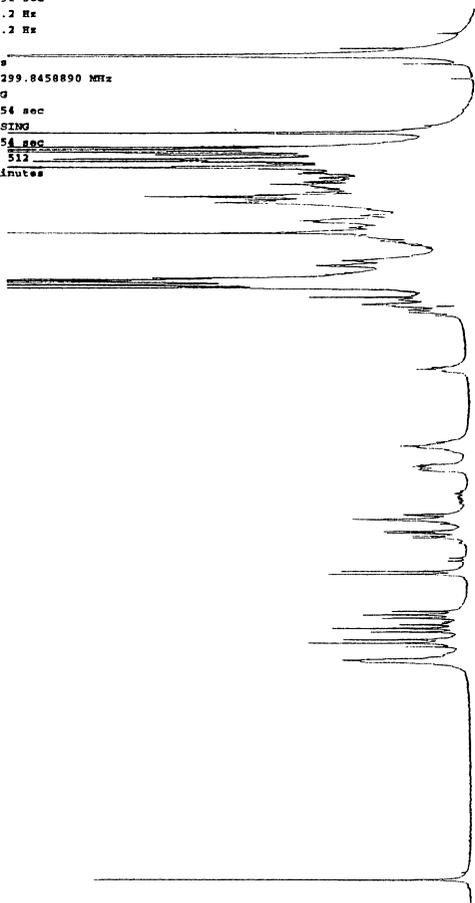


Figura 32: Espectro ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) (COSY) de AC-003Ac.

Cid Santos AC-003B
STANDARD IN OBSERVE

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
Sample #6
File: 602
Queue name Mar06a
DATE Mar 6 99
INOVA-300 "athos"

PULSE SEQUENCE
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.638 sec
Width 20000.0 Hz
1024 repetitions

OBSERVE C13, 75.3963141 MHz
DECOUPLE H1, 299.8473785 MHz
Power 40 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 27 minutes

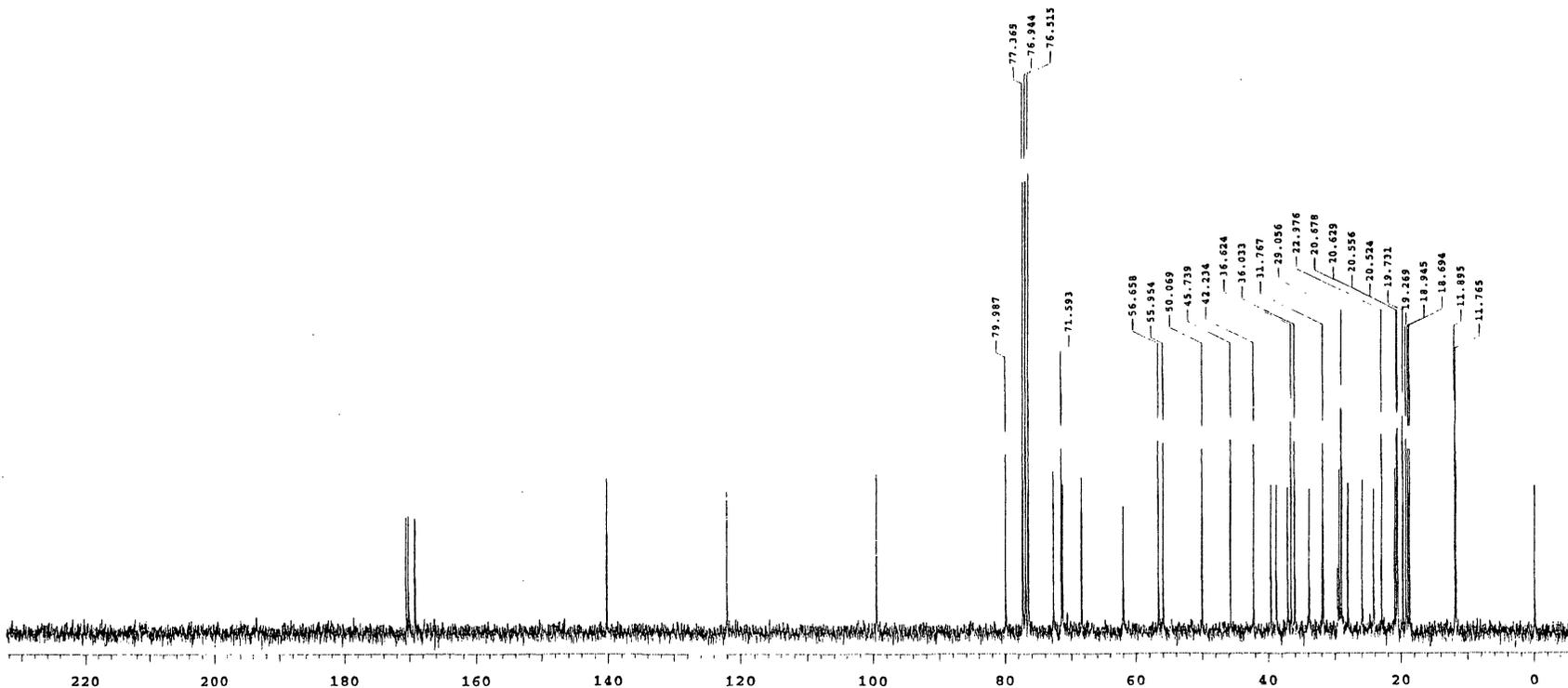
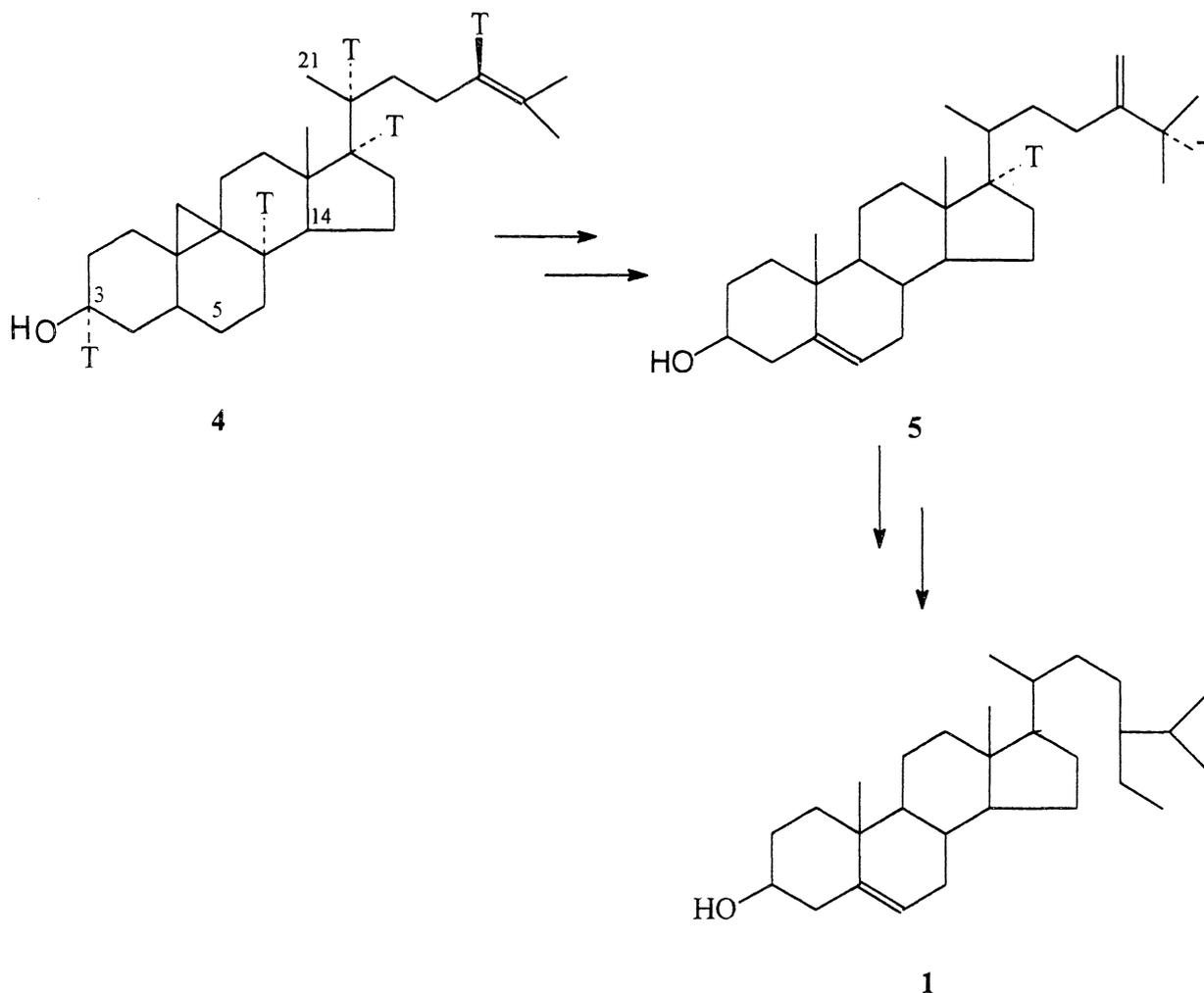


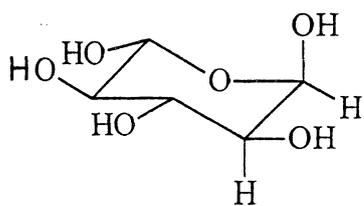
Figura 33: Espectro de ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) de AC-003AC.

Estudos realizados por Goodwin e colaboradores (LENTON, 1975) usando trítio para marcar as posições C-3, 5, 8, 17, 20 e 24, mostram que os esteróides como o β -sitosterol (**1**) é biossinteticamente proveniente do cicloartenol (**4**), tendo como intermediário o composto 28-isofucoesterol (**5**) (Esquema 1).

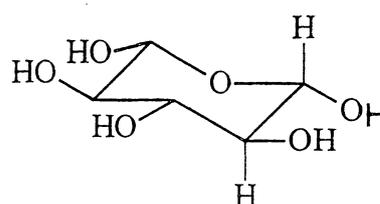


O espectro de massa (Figura 34) do composto AC-005.2 apresentou íon molecular em m/z 450 e fragmentos em m/z 331, característico de tetracetato de glucose, corroborado pelos dupletes em δ 6,36 ($J = 3,70$) e 5,72 ($J = 8,24$) apresentado no espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) (Figura 35), correspondente aos isômeros α -

(6) e β -D-glucose (7), respectivamente, em função das constantes de acoplamentos dos dupletes (WILLIAMS, 1995). Esses sinais, na proporção de 1:2, são atribuídos aos prótons anoméricos da glucose, quando acetilada. Um duplete em δ 5,86 ($J = 4,12$) demonstra a possível presença de um outro próton anomérico, mas os outros sinais não permitem, no momento, identificar a estrutura desse composto. Novos estudos e possivelmente uma nova purificação deverão ser feitas para caracterizar AC-005.2.



6



7

Figura 34: Espectro de massa de AC-005.2AC.

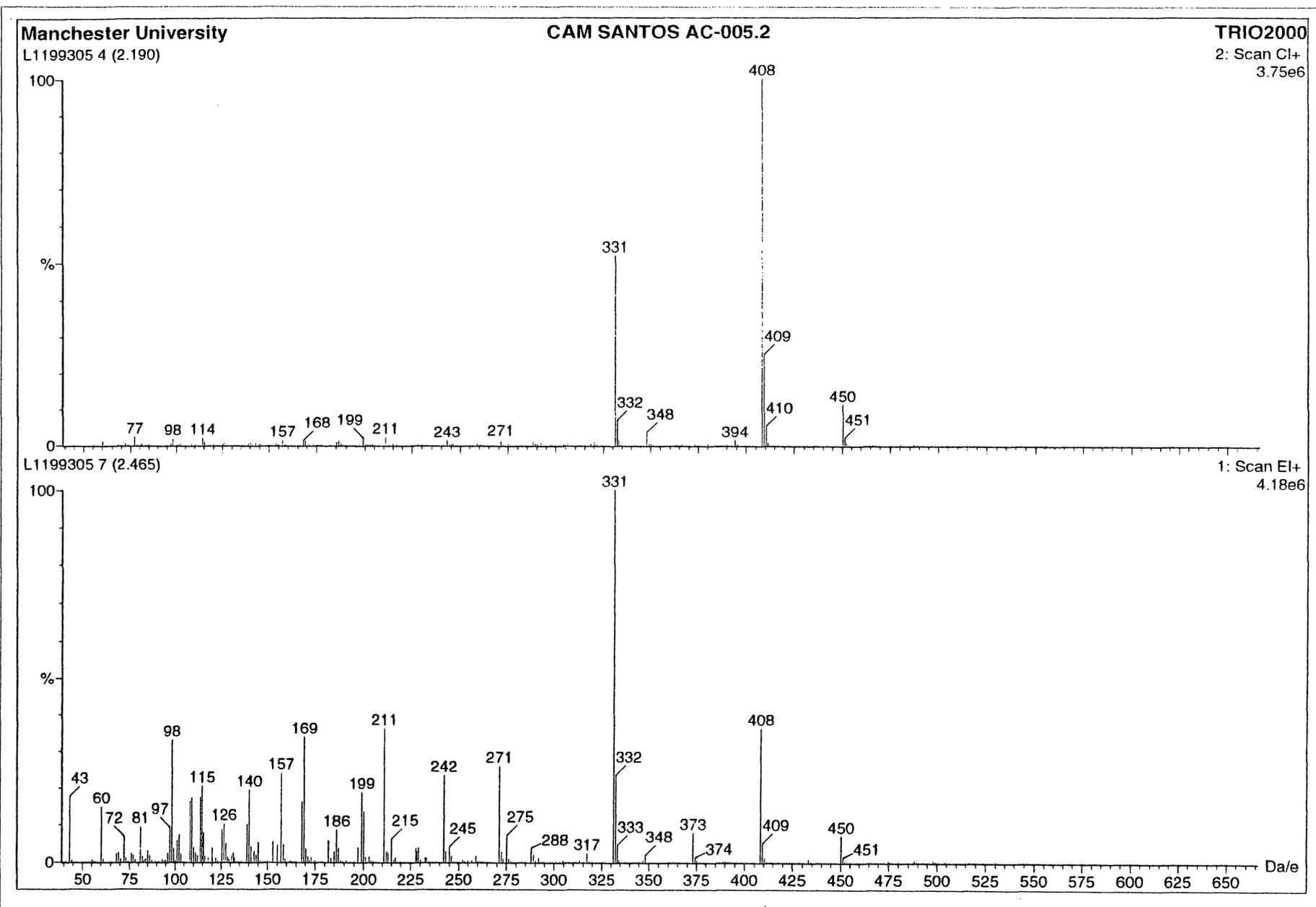
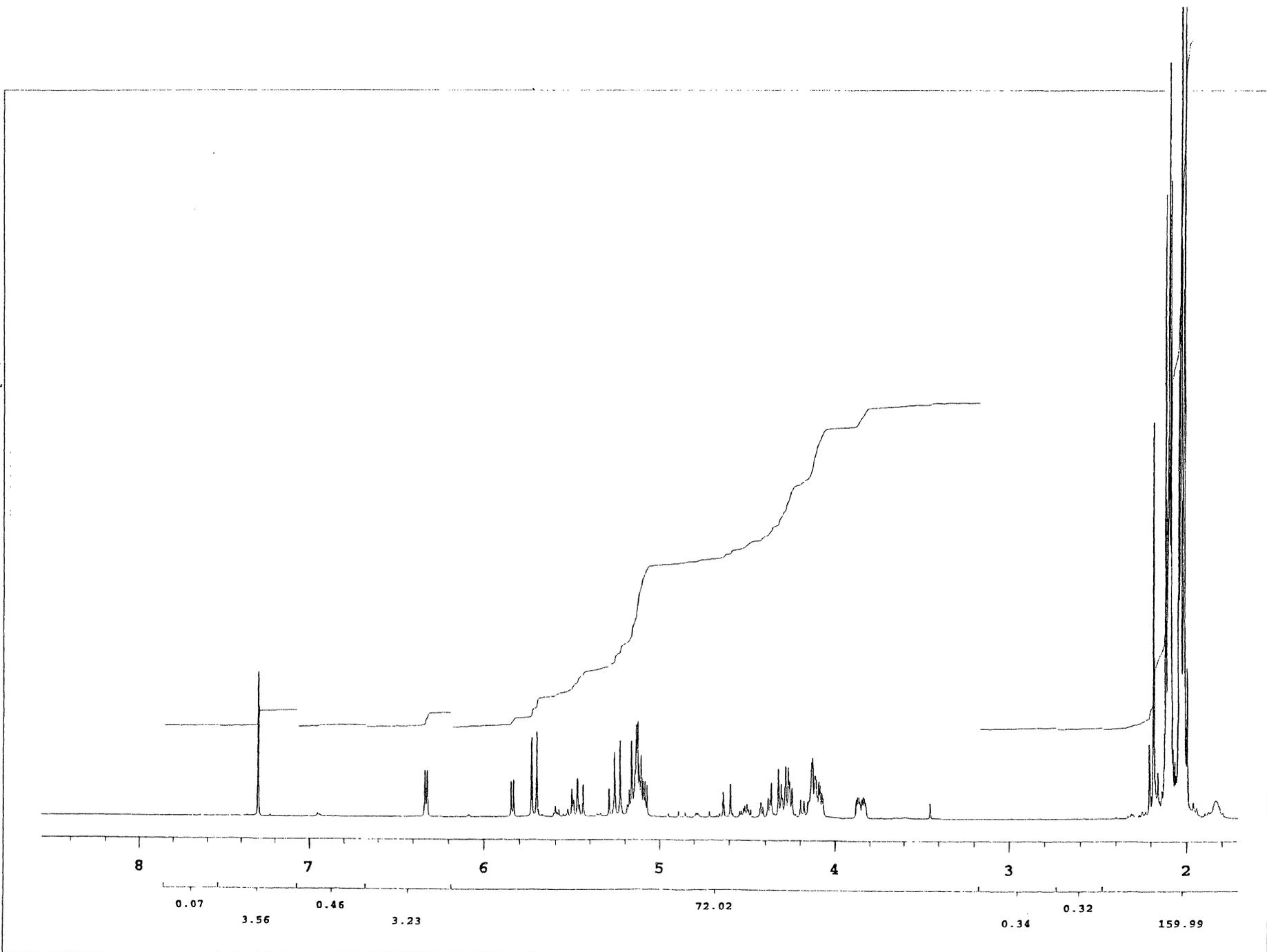


Figura 35: Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de AC-005.2AC.



O composto AC-006Ac apresentou íon molecular em m/z 696 no espectro de massa com ionização química com amônia (Figura 36), de onde pode-se deduzir uma massa molecular de 678 ($696 - 18$ da amônia) para o composto AC-006Ac, com fragmento em 331, característico de glucose acetilada.

O espectro de infra-vermelho apresentou apenas picos de carbonila referente aos acetatos entre 1754 e 1746 cm^{-1} e o espectro de infravermelho absorção em 210 nm .

O espectro de ^1H RNM (300 MHz , CDCl_3) (Figura 37) apresenta sinais característicos de açúcar acetilado, com oito singletes na região de 2 ppm , o que corrobora com o íon molecular de m/z 678 para um octaacetato de di-hexosídeo. O espectro de COSY (Figura 38) sugere em função das correlações dos acoplamentos, uma estrutura de um 1,2,3-acetil- α -glucopiranosídeo, com uma ligação etérea em C-4 com possivelmente C-1', uma vez que não é possível observar nenhum sinal outro próton anomérico no espectro de próton da outra porção açúcar. Há, provavelmente, outros três álcoois acetilados. Um triplete em δ $5,1$ ($J = 9,88$) sugere um acoplamento axial-axial, o que poderia ser atribuído para os protons em C-2' ou C-4'.

O espectro de ^{13}C RNM (75 MHz , CDCl_3) (Figura 39) mostra a presença de doze carbonos, além dos sinais para os carbonos dos acetatos. A presença de doze sinais para carbonos pode confirmar a suposição de ser AC-006Ac uma di-hexose octaacetilada. Com base nos dados obtidos até o presente pode-se sugerir a estrutura **8** como a possível dihexose AC-006Ac. Para confirmar essa proposta é necessário a obtenção de um espectro de próton de 500 MHz para expandir a região entre $4,0$ e $4,5\text{ ppm}$ e verificar a existência de sinal para próton anomérico, H-1'.

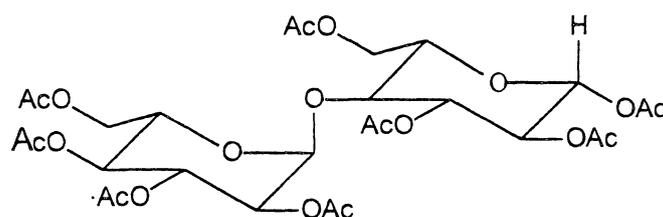


Figura 36: Espectro de massa de AC-006AC.

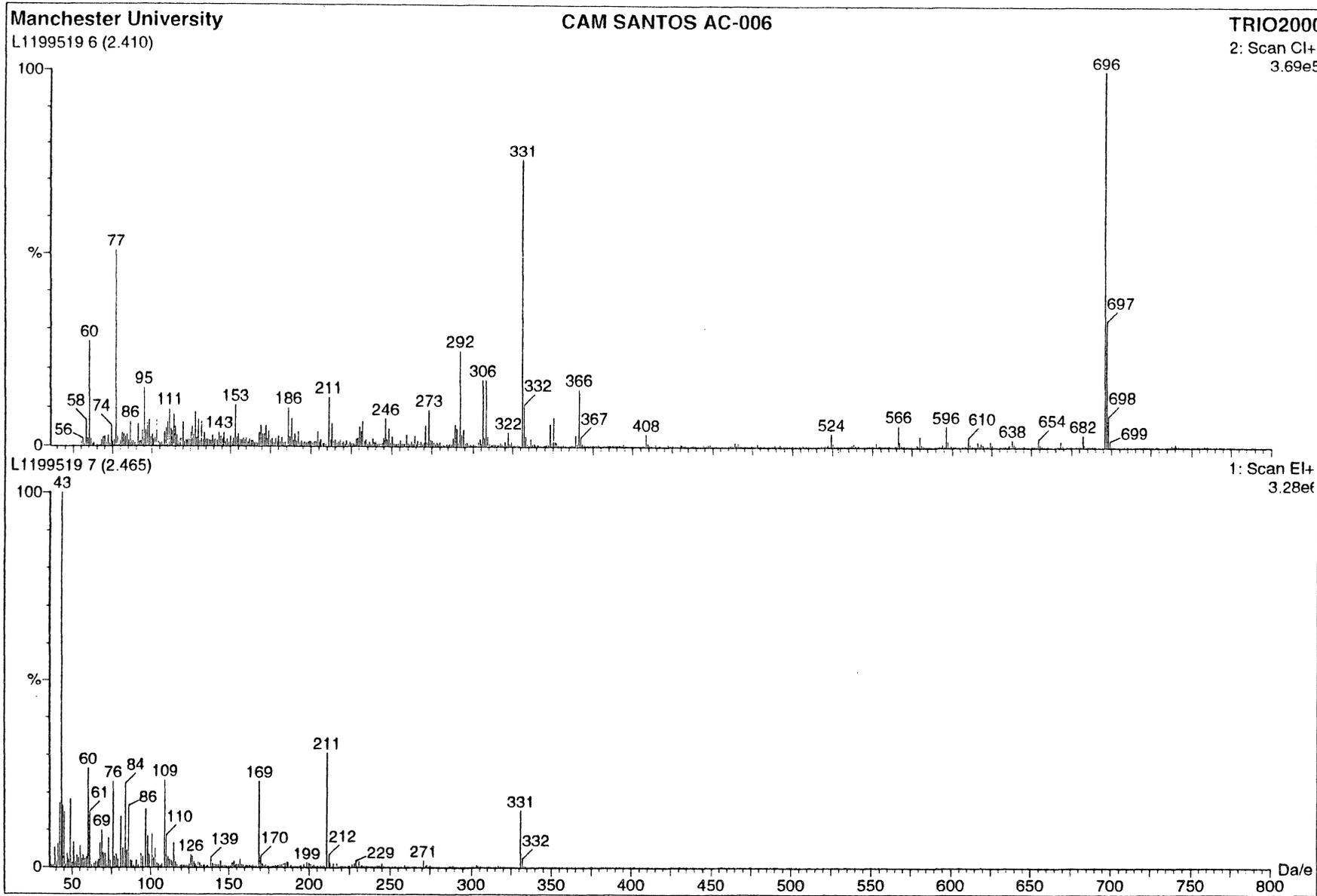
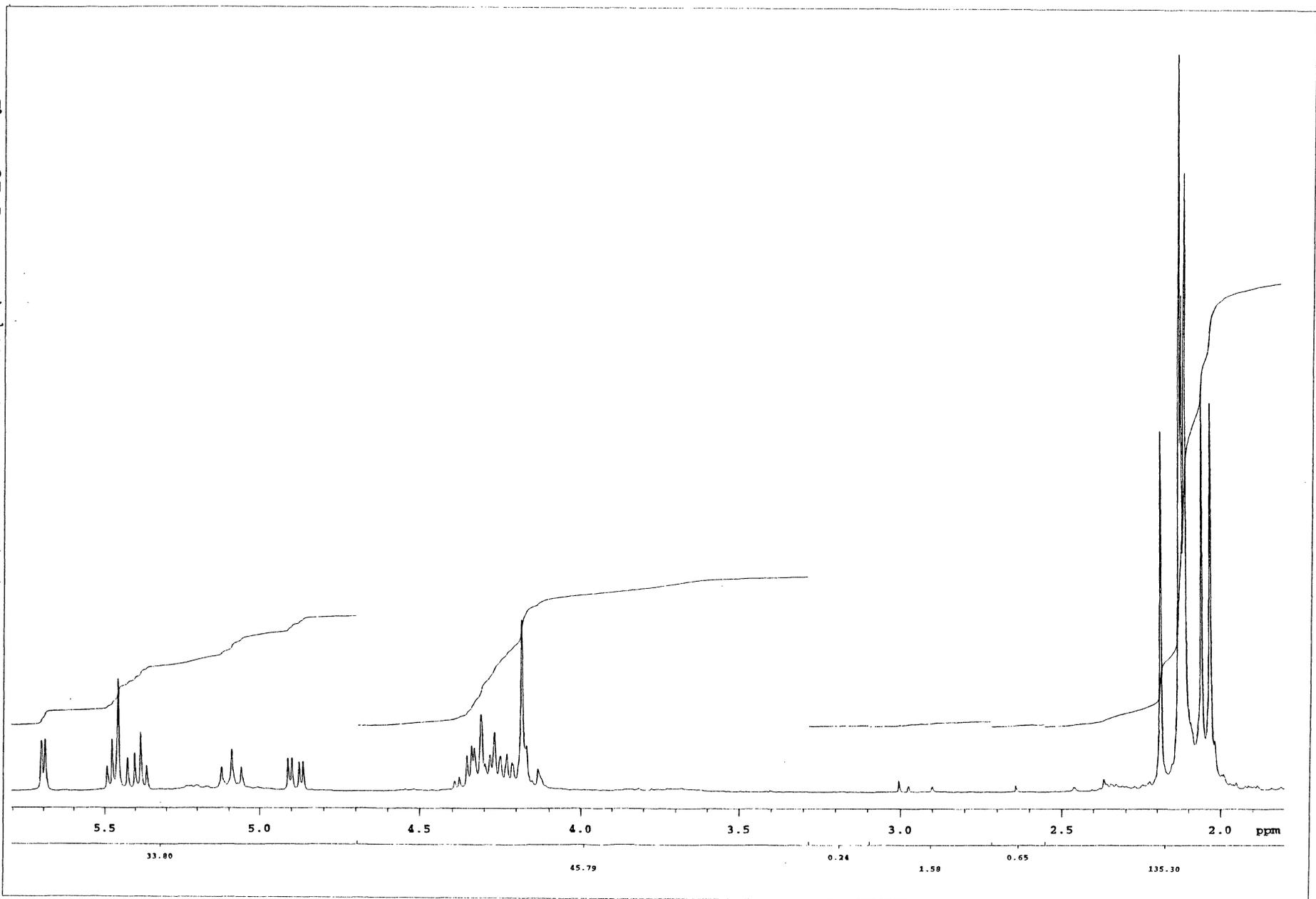


Figura 37: Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de AC-006Ac.



Cid Santos AC-006.1
STANDARD IN OBSERVE

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
Sample #22
File: 2202
DATE Dec 17 99
INNOVA-300 "athos"

PULSE SEQUENCE: hspcosy
Relax. delay 1.500 sec
Acq. time 0.250 sec
Width 4102.6 Hz
2D Width 4102.6 Hz
Single scan
256 increments

OBSERVE H1, 209.8258793 MHz

DATA PROCESSING
Sine bell 0.031 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.031 sec
FT size 2048 x 512
Total time 7 minutes

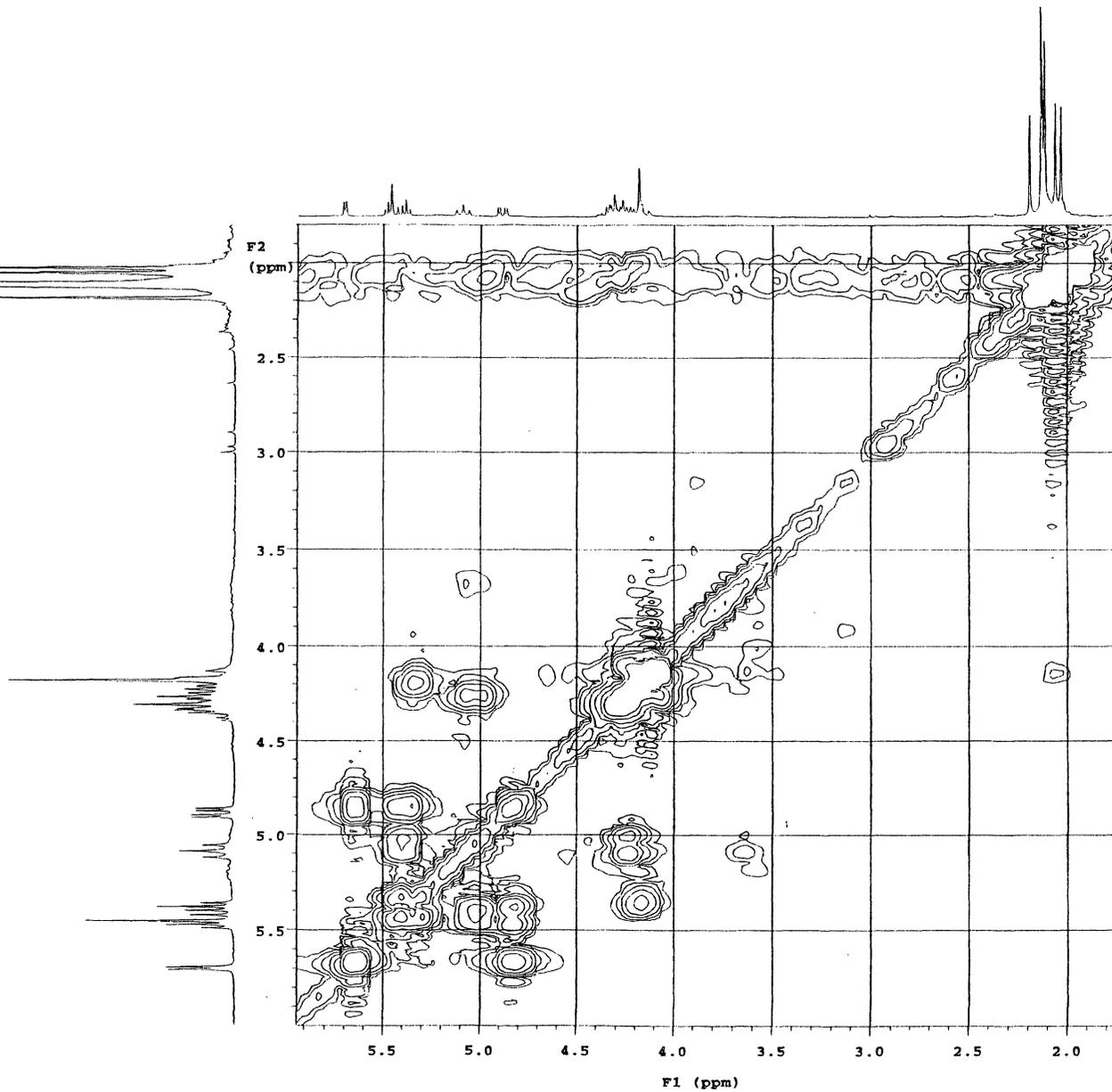
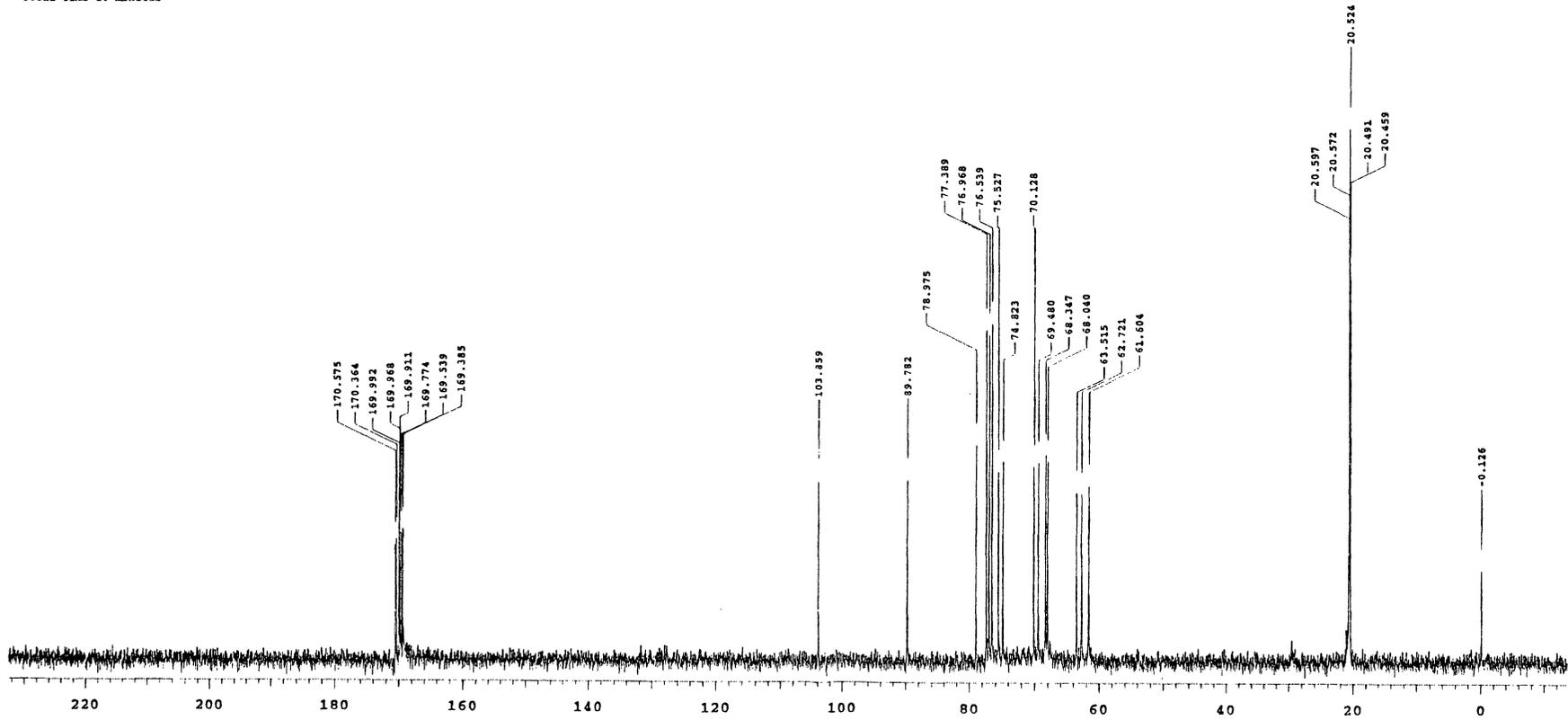


Figura 38: Espectro de ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) COSY de AC-006-Ac.

Figura 39: Espectro de ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) de AC-006-AC

Cid Santos
13C OBSERVE

Solvent: CDCl₃
Ambient temperature
Sample #7
File: 701
Queue name Nov23c
DATE Nov 24 99
INOVA-300 "athos"
PULSE SEQUENCE
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.638 sec
Width 20000.0 Hz
544 repetitions
OBSERVE C13, 75.3963141 MHz
DECOUPLE H1, 299.8473785 MHz
Power 40 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 14 minutos



Dos frutos de *A. carambola* L. foram isolados 5-hidroximetil 2-furfural e relatada a presença de flavonóides, antraquinonas, cianidina e β -sitosterol (JABBAR *et al.* 1995).

Em extrato benzênico de cascas de *A. carambola* L. foi encontrado β -sitosterol, lupeol e um terpenóide não identificado e, do extrato alcoólico, um novo glicosídeo antraquinônico: 1,5-dihidroxi-6,7-dimetoxi-2-metil-antraquinona-3-O- β -D-glicopiranosídeo, segundo RANGANAYAKI (1980). CHAN (1975) obteve 1,15% de açúcares nos frutos de *A. carambola* L.

Dentre os poucos estudos com folhas de carambola temos o de LONG *et al.* (1996) onde encontraram 0,93% de saponinas, 1,17% de flavonóides, taninos e ácidos orgânicos em folhas de *A. carambola* L. no Vietnã.

Foram detectados os ácidos fenólicos, *p*-hidroxibenzóico, círico, *p*-cumárico, ferúlico, mandélico, salicílico, em extratos etéreos das folhas de *A. carambola* L. e os aminoácidos livres, DL-2-amino-*n*-butírico, L-ornitina, DL-fenilalanina, DL-valina em extratos metanólicos das folhas de carambola (DEVI, 1990).

ESTUDO FARMACOLÓGICO

Existem diferentes metodologias para estudo farmacológico de substâncias anti-hiperglicemiantes. O mais popular modelo *in vivo* para diabetes emprega a aloxana ou a estreptozotocina. A primeira possui uma instabilidade química e uma dificuldade em estabelecer uma relação entre dose/concentração no pâncreas. Fatores como dieta, idade, espécie e características do próprio indivíduo afetam o seu rápido metabolismo (MARLES, 1995), o que explica a diferença de glicemia no tempo zero num mesmo grupo de animais ($444,25 \pm 158,01$). Deve ser considerada também, a dificuldade na administração da droga.

Em 1996, MIURA *et al.* utilizaram animais tratados com estreptozotocina e observaram uma redução da glicemia de 550mg/dl para 350mg/dl após sete horas de tratamento, com 3400mg/kg de extrato de *Sheishin-kanro-to* (mistura de plantas de uso tradicional para diabetes na medicina popular chinesa).

Nesse mesmo ano no Brasil, SILVA *et al.* (1996) avaliaram o extrato fluido de uma trepadeira, *Cissus sicyoides* L. Vitaceae, planta farmacopéica conhecida por insulina. A hiperglicemia foi provocada pela ingestão de solução de glicose

a 50% e a medida da glicemia, através de fitas reagentes, foi realizada 60, 120 e 180 minutos após a administração de 1,0 e 2,0 g/kg de extrato vegetal. Foi observada uma ligeira tendência à queda de glicemia (100,0 ± 10,0 para 93,33 ± 2,89 com 2g/kg e de 90,±5,0 para 115,0 ± 21,79 com 1g/kg de extrato) mas sem diferença significativa com o controle (93,33 ± 8.76 para 112,5 ± 20,92). A conclusão foi que o emprego popular não se justifica pelos resultados obtidos e propõe novos estudos com o chá, a forma farmacêutica empregada pela a população.

MARLES (1995) fez uma revisão das plantas usadas no tratamento de diabetes e relatou que *A. carambola* L. não apresenta em nenhum país, um emprego tradicional para o tratamento de diabetes; em animais normais a planta se mostrou inativa quando avaliada a atividade antidiabética (não induziu a hipoglicemia), sendo que as partes da planta testada foram as aéreas e a via de administração foi a oral. Relata que a carambola apresenta uma toxicidade questionável.

No seu trabalho, ANDRIGHETTI (1997), encontrou pequena atividade hipoglicemiante empregando a fração aquosa da extração das folhas de carambola em Soxhlet (445,6 para 247,75 mg/dl após seis horas) quando administradas intraperitonealmente em animais hiperglicêmicos induzidos pela aloxana. A glicemia foi medida através de fitas reagentes encontradas no comércio.

Testes antidiabéticos foram feitos com extrato de partes aéreas de plantas indianas. Administrou-se 250 mg/kg de um extrato etanol:água (1:1) em ratos normoglicêmicos. Ocorreu uma queda no nível sanguíneo de glicose menor do que 30%, assim este foi considerado inativo (DHAWAN *et al.*, 1977).

O primeiro modelo experimental adotado não diminuiu significativamente a hiperglicemia produzida em ratos tratados com aloxana. No tempo zero a glicemia estava de 290,25 mg/kg e após 120 minutos a glicemia estava em 227,2 mg/dl. A atividade hipoglicemiante também não foi definida nesse experimento onde foi iniciado com glicemia média de 85.27 mg/dl e a esta variou durante o experimento chegando após 120 minutos a 67,21 mg/dl. Os ratos normais tratados com água também apresentaram valores semelhantes.

Os valores variaram de forma a não definir a atividade terapêutica do extrato seco do infuso das folhas de carambola. Esse modelo experimental foi testado com

drogas sintéticas e mostrou-se capaz de definir a atividade dessas substâncias sobre a glicemia do animal e foi testado também com o extrato de *Syzygium cumini* (SINGH, 1990) que conseguiu demonstrar a sua ação na diminuição da glicemia.

O segundo método foi escolhido por mimetizar melhor as condições em que a população emprega. Em diálogo com pessoas da região que fazem uso do chá de carambola para diabetes, eles descreveram fazer uso crônico do infuso e o resultado se observa “logo na semana seguinte”. Como o primeiro método não apresentou resultados conclusivos decidiu-se por trocar a metodologia e avaliar a ação crônica do infuso das folhas de carambola. Como a população relatou fazer uso constante do chá “por semanas”, foi testado o segundo método. Segundo ELISABETSKY (1987), a idéia de estudar o chá, e não os extratos, está baseada em duas premissas: a primeira é por ser uma forma farmacêutica de baixo custo e boa conveniência para o paciente e segundo por que os efeitos dos chás relatados pela população nem sempre são confirmados por estudos com os extratos.

Com a glicemia do tempo zero de $444,25 \pm 158,01$ mg/dl passando para $454 \pm 96,7$ mg/dl, foi observado que o infuso de folhas de carambola a 1,5% não apresentou atividade anti-hiperglicemiante possível de detectar com esta metodologia empregada. Foram utilizados animais com glicemia inicial de 230 a 600 mg/dl, com o objetivo de observar a ação do chá das folhas de carambola em diferentes intensidades da diabetes. Notou-se que em diabetes grave ou severa a ação sobre a glicemia é a mesma por isso foi feita uma média só e o valor do desvio padrão apresentado foi alto.

Em comparação com a trabalho de ANDRIGHETTI (1997) existem diferenças na metodologia que explicam a diferença nos resultados, em especial a via de administração (intraperitoneal e oral), a forma de preparação do extrato (soxhlet e infusão), a dose (100 mg/kg e 1 g/kg), o método da leitura da glicemia (fitas reagentes e método espectrofotométrico) além da época e local de coleta (novembro/litoral e fevereiro/sul do estado) do material vegetal.

A planta é um ser vivo que está sujeito a estresse por fatores ambientais variáveis, como fertilidade do solo, umidade, radiação solar, vento, temperatura, herbivoria, poluição atmosférica e do solo. Além da fase do seu ciclo vegetativo por

ocasião da coleta, esses e outros fatores ainda mais sutis podem influenciar e alterar a composição química do vegetal (GOTTLIEB, 1993).

Não se pode ainda afirmar que as folhas de *A. carambola* L. não tenham efeito diante do diabetes, mas não conseguimos detectá-lo com os métodos experimentais empregados.

Vale ressaltar que os estudos feitos por BASNET *et al.* (1993) avaliando a atividade hipoglicemiante de *Morus insignis* também foram isolados β -sitosterol e 3-*O*- β (glucopiranosideo)-sitosterol.

6. CONCLUSÃO

Os estudos anatômicos permitem concluir que o limbo de *A. carambola* L. apresenta células epidérmicas com formato praticamente poligonal e possuem uma cutícula delgada com depósitos filamentosos de cera. Somente a face abaxial possui, estômatos, que são do tipo paracítico e tricomas tectores simples, unicelulares e curtos. A lâmina foliar tem organização dorsiventral. O mesofilo apresenta dois a três estratos de parênquima paliádico e parênquima lacunoso multiestratificado, provido de grandes lacunas e cristais cúbicos de oxalato de cálcio. Na nervura mediana, o feixe vascular apresenta-se circundado por uma bainha parenquimática incompleta, constituída de idioblastos portadores de compostos fenólicos. O feixe é colateral, em forma de arco, com abertura voltada para a face adaxial.

O pecíolo apresenta contorno plano-convexo, possuindo tricomas tectores, simples e curtos em todo o contorno. O feixe vascular é colateral e constitui praticamente um cilindro.

O peciólulo apresenta-se com contorno plano-convexo com tricomas tectores, simples e curtos. O feixe vascular colateral apresenta um formato de um arco, envolto por uma bainha completa de fibras de parede espessa, em diferentes estágios de lignificação. Observam idioblastos contendo cristais cúbicos de oxalato de cálcio e compostos fenólicos.

A venação do folíolo é do tipo pinada, camptódroma e broquidódroma.

A análise espectroscópica dos compostos isolados da folha de *Averrhoa carambola* L. permite concluir que β -sitosterol, 3-O (β -D-glucopiranosil)-sitosterol e uma di-hexose, além de outros açúcares, são compostos presentes nas folhas dessa espécie.

O emprego das folhas de *A. carambola* L. para diabetes não pode ser justificado pelos resultados da avaliação das atividades hipoglicemiante e anti-hiperglicemiante realizados. Estudos mais aprofundados e outras metodologias são necessários para comprovar o uso popular das folhas dessa espécie vegetal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMAD, V. U.; UDDIN, G.; UDDIN, S. A triterpenoid saponin from *Zygophyllum propinquum*. **Phytochemistry**, v.31, n.3, p.1051-1054, 1992.
2. AMARENGO, W.L.F.; PERRIN, D.D. Purification of laboratory chemicals. 4.ed. Oxford: Butterworth Heinemann, 1996. 529p.
3. ANDRIGHETTI, C. R. Pesquisa da atividade hipoglicemiante da *Averrhoa carambola* L. Oxalidaceae. **Monografia de especialização**. Dep. Farmácia. UFPR. 1997.
4. ANFARMAG. Diabetes. **Revista da ANFARMAG** (associação de farmacêuticos donos de farmácias magistrais), n. 20, 1999.
5. ANGELY, J. **Dicionário de botânica**. 2.ed. Curitiba: Instituto Paranaense de Botânica. 1959, 403p.
6. BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Rio de Janeiro: Livros técnicos e científicos, v.1, 1978.
7. BASNET, P.; KADOTA, S.; TERASHIMA, S.; SHIMIZU, M.; NAMBA, T. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis*. **Chem. Pharm. Bull.**, v.41, n.7, p.1238-1243, 1993.
8. BERLYN, G. P. ; MIKSCH, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University Press, 1976.
9. BISSING, D. R. Haupt's adhesive mixed with formalin for affixing sections to slides. **Stain technology**, v. 49, n.2, p. 116-117, 1979.

10. BRITO, C.J.F.^o; ALQUINI, Y. A new method for staining material embedded in glycol methacrylate (GMA). **Arq. Bio. Tecnol.**, v. 39, n. 4, p.949-951, 1996.
11. CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro : Imprensa Nacional, v.3, 1984, p. 33.
12. CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981. 826p.
13. _____ . **The evolution and classification of flowering plants**. 2.ed. New York: The New York botanical garden, 1988.
14. DEVI, D.R.; NARAYANA, L.L. Systematic position of *Averrhoa* (Oxalidaceae). **Feddes Repertorium**. v.101, n.3-4, p.165-170, 1990.
15. DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS 96/97. 23. ed. Rio de Janeiro : Publicações Científicas, 1996.
16. DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, 1996.
17. DHAWAN, B.N.; PATNAIK, G.K.; RATOGI, R.P.; SINGH, K.K.; TANDON, J.S. Screening of Indian plants for biological activity. **Indian Journal Exp, Biol**. v. 15, p.208-219, 1977.
18. ELISABETSKY, E. Pesquisa em plantas medicinais. **Ciência e Cultura**. v. 39, n.8, p.687-702, 1987.
19. ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2.ed. New York : Willy. New York, 1977.

20. EVANS, W. C., **Trease and Evan's : Pharmacognosy**, London : Sanders, 14. ed., 1996, p.251.
21. FAHN,A. **Plant anatomy**. 4.ed. Oxford: Pergamon Press, 1990.
22. _____. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press, 1979.
23. FEDER, N. & O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique : some principles and new methods. **Amer. J. Bot.**, v.55, n.1, p.123-145, 1968.
24. FERNANDES, L. C. Alterações metabólicas causadas pelo tumor de walker 256 no músculo esquelético, linfócitos e macrófagos de ratos: possíveis mecanismos envolvidos na reversão da caquexia pela administração de insulina. São Paulo:1995. **Tese de doutorado**. Universidade de São Paulo.
25. FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, v.155, n.3924, p.51, 1945.
26. FUJITA, T.; NAKAYAMA, M. Monoterpene glucosides and other constituents from *Perilla frutescens*. **Phytochemistry**, v.34, n.6, p.1545-1548, 1993.
27. GILMAN,A G., *et al.* **Goodman & Gimán as bases farmacológicas da terapêutica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 977-990 p.
28. GOTTLLEB, O; KAPALN, M. A. Das plantas medicinais aos fármacos naturais. **Ciência Hoje**, v.15, n.89, p.51-54, 1993.
29. GRAÇA, G. M. F. **Fitoterapia: uma proposta a nível de cuidados primários de saúde em Curitiba**. Curitiba: 1987, 56p.

30. GUYTON, A. C. ; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014 p.
31. HADDAD, A. *et al.* **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. S. 1, Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, 1989.
32. HARRISON,S.G.; MASEFIELD,G.B.; WALLIS,M. **The Oxford book of food plants**. Oxford: Oxford University Press, 1969, 102 p.
33. JABBAR,A. *et al.* Hypoglycaemic activity of Dioscoretine from tubres of *Dioscorea dumetorum* in normal and alloxan diabetic rabbits. **Planta Medica**, v.56, p. 264-267, 1990
34. JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York : Mc Graw Hill Book, 1940.
35. JOLY, A. B. **Botânica : Introdução a taxonomia vegetal**. 7.Ed. São Paulo : Nacional, 1985.
36. JUNIPER,B.E.; JEFFREE,C.E. **Plant surfaces**. London: Edward Arnold, 1983.
37. KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*, **Phytochemistry**, v.29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.
38. LENTON, J. R.; GOAD,J. L.; GOODWIN, T. W. **Phytochemistry**, v.14, p.1523-28, 1975.
39. LIMA, R.X. Estudos etnobotânicos em comunidades continentais da área de proteção ambiental de Guaraqueçaba – Paraná - Brasil. **Tese de Mestrado** do curso de pós graduação em engenharia florestal. Setor de ciências agrárias Universidade Federal do Paraná. 1996

40. LIN, H.C.; DING, H.Y.; WU, Y.C. Two novel compounds from *Paeonia suffruticosa*. **J. Nat. Prod.**, v.61, p.343-346, 1998.
41. LOURTEIG, A. **Flora Ilustrada Catarinense. I Parte: Oxalidáceas**. Itajaí: Raulino Reitz: 1983. 3-9p.
42. MARLES, R.J. & FARNSWORTH, N.R., Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, v.2, n.2, p. 137-189, 1995
43. MAUSETH, J.D. **Plant anatomy**. Menlo Park: Benjamin Cummings, 1988.
44. METCALFE, C.R., CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon Press, v.2, 1950.
45. _____. _____. 2ed. Oxford: Clarendon Press, v.1, 1979.
46. MICHAELIS: **Moderno dicionário da língua portuguesa**. São Paulo: Companhia de Melhoramentos, 1998.
47. OMS-ORGANIZATION MUNDIAL DE LA SALUD. **Plantas para la evaluación de medicamentos herbáneos**. Ginebra: 1991.
48. ONG, H.C.; NORDIANA, M. Malay ethno-medico botany in Machang, Kelantan, Malaysia. **Fitoterapia**, v.70, n. 05, 502-513p, 1999.
49. PEÑA, R.C.; LATORRE, de la C. plantas com actividad hipoglucemiante empleadas en el tratamiento de la diabetes. **Revista Farmacêutica**, v.135, n. 3, p. 97-100, 1993.
50. QUER FONT. **Diccionario de botánica**. 9.ed. Barcelona: Editorial Labor, 1985. 1244 p.

51. QUINTAS, S. T. Novo material de apoio para cortes histológicos. **Rev. Fac. Agron. Ufrgs**. Porto Alegre: v.6, p.51-5, 1963.
52. RATES, S. M. K. Plantas como fonte de medicamentos. Apostila do Curso Garantia y Control de Calidad de Materias Primas Vegetales y sus Aplicaciones para Fines Farmaceuticos. Universidad Nacional de Rosário. Argentina: 1998. Asociacion de Universidades Grupo Montevideo / UNESCO.
53. ROBBINS, S.L.; COTRAN, M.D.; VINAY KUMAR, M.D. **Patologia estrutural e funcional**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 819p.
54. ROESER, K. R. Die nadel der schwarzkiefer-massenprodukt und kunstwerk der natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart: v.61, n.2, p.33-36, 1962.
55. SAKAKIBARA, J.; KAYA, T.; FUKUDA, H.; OHKI, T. 6 β -Hydroxyursolic acid and other triterpenoid of *Enkianthus cernuus*. **Phytochemistry**, v.22, n.11, p.2553-2555, 1983.
56. SASS, J. E., **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames : Iowa State College Press, 1951.
57. SINGH, N.; TYAGI, S.; GARG, V.; JONEJA, S.; AGARWAL, S.C.; and ASTHANA, A., Effect of long term feeding of different extracts of *Syzygium cumini* (L) seeds on alloxan induced diabets in albino rats. **Agricultural and Biological Research**, v. 6, n. 2, p. 80-88, 1990.
58. SOLDATI, F. The registration of medicinal plant products, what quality of documentation should be required? The industrial ponit of view. In: WORLD CONGRESS ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS FOR HUMAN WELFARE, 2, 1997. **Abstracts**. Mendoza: ICMPA/ISHS/SAIPOA, 1997. P.L-48.

59. VAN WELZEN, P.D.; BAAS,P. A leaf anatomical contribution to the classification of the Linaceae complex. **Blumea**, v.29, 453-479p, 1984.
60. VIDAL, W.N. **Botânica-organografia**. 3.ed. Viçosa : UFV. Imprensa Universitária, 1995.114p.
61. WILLIAMS, D. H.; FLEMING, I. **Spectroscopic Methods in Organic Chemistry**. 5.ed. London: Mc-Graw-Hill, 1995. 166 p.
62. WILLIAMS, D. H. et al. Why are secondary metabolites (natural products) biosynthesized **Journal of natural products**. v.52, n.6, p.1189-1208, 1989.
63. WATSON,L. DALLWITZ,M.J. **The families of flowering plants**.9.ed.Delta .1999. <http://www.keil.ukans.edu/delta/angio/www/averrhoa.htm>