

MIRYAN RAMOS DE GOUVEIA



**Estudo Botânico e Fitoquímico de *Campomanesia xanthocarpa*  
Berg (Myrtaceae)**

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.

Orientadora: Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Tomoe Nakashima

CURITIBA

2001

MIRYAN RAMOS DE GOUVÊA

**Estudo Botânico e Fitoquímico de *Campomanesia xanthocarpa*  
Berg (Myrtaceae)**

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.

Orientadora: Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Tomoe Nakashima

CURITIBA  
2001



Universidade Federal do Paraná  
Setor de Ciências Biológicas – Departamento de Botânica  
Curso de Pós-Graduação em Botânica  
Centro Politécnico - Jardim das Américas – Caixa Postal 19031  
CEP: 81531-990 - CURITIBA - Paraná  
Tel. (41) 361-1625 - Fax. (41) 266-2042  
E-mail: pgbotani@bio.ufpr.br – home page: <http://www.ufpr.br>

**“Estudo Botânico e Fitoquímico de *Campomanesia xanthocarpa* Berg  
(Myrtaceae)”.**

por

*Miryan Ramos de Gouvêa*

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

  
**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Tomoe Nakashima (Orientadora/Presidente)**

  
**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Inês Janete Mattozo Takeda (Titular/UNIPAR)**

  
**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cleusa Bona (Titular/UFPR)**

**Curitiba, 27 de agosto de 2001**

À minha mãe, Aurora,  
por todo o estímulo e paciência  
e ao meu gatinho, Charles, pelas  
minhas ausências, dedico este  
trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Um trabalho científico é sempre resultado de um esforço conjunto e não apenas produto de uma ação isolada.

A todos aqueles que de um modo ou de outro contribuíram para a realização deste trabalho, quero expressar minha gratidão e meu carinho:

Agradeço a minha orientadora, **Profª Drª Tomoe Nakashima**, do Departamento de Farmácia, pelo seu apoio possibilitando a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Armando Carlos Cervi**, do Departamento de Botânica, por sua amizade e colaboração na identificação da espécie botânica estudada.

Ao **Prof. Dr. Yedo Alquini**, pela orientação na parte Botânica, por seu estímulo e paciência.

Ao **Prof. Dr. Aluizio de Abreu Marcondes**, do Laboratório de Óleos Essências e Aromas – LOEA, da Universidade Federal do Paraná, pela análise, orientação e auxílio na interpretação dos cromatogramas do óleo essencial.

Ao **Sr. Marcos Sobral**, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo carinho e colaboração científica.

A **Profª Drª Élide dos Santos Jimena**, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Botânica, por sua amizade, atenção e colaboração.

A Secretária do Curso de Pós-Graduação em Botânica, **Srta. Elisabeth França**, por sua amizade e carinho.

Aos meus colegas e amigos do Curso de Pós-Graduação em Botânica.

Ao **Prof. Dr. Carlos Augusto Moreira Junior**, Diretor do Setor de Ciências de Saúde, por sua amizade e apoio.

Aos demais professores, funcionários e colegas do **Departamento de Botânica** e do **Departamento de Farmácia**, pela colaboração durante a realização do curso.

Quero expressar um agradecimento, muito especial, a minha Mãe, **Aurora Ramos da Cunha**, por ter me concedido a vida e desta forma criado a oportunidade de eu poder viver estes momentos.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	v
<b>RESUMO</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
1.1 OBJETIVOS .....	02
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	03
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	14
3.1 ESTUDOS BOTÂNICOS .....	14
3.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS .....	16
3.2.1 Marcha Sistemática Fitoquímica .....	16
3.2.1.1 Preparo do extrato hidroalcoólico a 20% (m/v).....	16
3.2.1.2 Preparo do extrato aquoso 20% (m/v).....	17
3.2.2 Extração do óleo essencial .....	17
3.2.3 Extração dos componentes por solvente orgânico (Concreto) .....	18
3.2.3.1 Extração total por n-hexano .....	18
3.2.3.2 Extração total por metanol .....	18
3.2.3.3 Extração por partição líquido-líquido .....	19
3.2.4 Cromatografia em camada delgada (CCD) .....	20
3.2.4.1 Reveladores para as Cromatoplacas .....	25
3.2.5 Cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (CGMS) .....	25
3.2.6 Equipamentos utilizados .....	26
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
4.1 ESTUDOS BOTÂNICOS .....	27
4.1.1 Caracteres morfológicos .....	27
4.1.2 Caracteres anatômicos .....	32
4.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS .....	46
4.2.1 Marcha Sistemática Fitoquímica .....	46
4.2.2 Extração do Óleo Essencial .....	47
4.2.3 Extração dos componentes por solvente orgânico (Concreto) .....	50
4.2.3.1 Extração total por n-hexano .....	50
4.2.3.2 Extração total por metanol .....	50
4.2.4 Densidade .....	51
4.2.5 Índice de refração .....	51
4.2.6 Cromatografia em camada delgada (CCD) .....	51
4.2.7 Cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (CGMS) .....	52
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	63
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	64

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

T A B E L A	0 1	- Fases e reveladores utilizados .....	20
T A B E L A	0 2	- Fases, reveladores e frações testadas .....	22
F I G U R A	0 1	- Detalhe de ramo florido (A), flor (B), fruto (C) e fruto seccionado transversalmente (D) de <i>Campomanesia xanthocarpa</i> Berg .....	28
F I G U R A	0 2	- <i>Campomanesia xanthocarpa</i> Berg em habitat natural, no local de coleta .....	29
F I G U R A	0 3	- Detalhe de ramo florido de <i>C. xanthocarpa</i> Berg em habitat natural, no local de coleta .....	30
F I G U R A	0 4	- Detalhe do tronco de <i>C. xanthocarpa</i> Berg em habitat natural, no local de coleta .....	30
F I G U R A	0 5	- Detalhe de ramo florido de <i>C. xanthocarpa</i> Berg .....	31
F I G U R A	0 6	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme adaxial. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina, em lâmina semipermanente .....	32
F I G U R A	0 7	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme adaxial evidenciando uma glândula. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina, em lâmina semipermanente .....	32
F I G U R A	0 8	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme da face adaxial, visualizando as estrias cuticulares. Escala= 0,1mm .....	33
F I G U R A	0 9	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Detalhe da epiderme da face abaxial, vista em lupa, de destacando a presença das glândulas .....	34
F I G U R A	1 0	- Detalhe do botão floral de <i>C. xanthocarpa</i> Berg destacando a presença das glândulas .....	34
F I G U R A	1 1	- Detalhe do fruto de <i>C. xanthocarpa</i> Berg destacando a presença das glândulas .....	35
F I G U R A	1 2	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme abaxial, lupa, destacando a presença de tricomas nas axilas e ao longo das nervuras .....	35
F I G U R A	1 3	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, detalhe de um tricoma sobre a nervura. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente .....	36
F I G U R A	1 4	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal, à mão livre, do mesófilo, teste microquímico com Lugol em lâmina semipermanente .....	37
F I G U R A	1 5	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal, à mão livre, evidenciando a cutícula, mesófilo e glândula contendo óleo, teste microquímico com Sudam III em lâmina semipermanente.....	37

F I G U R A	1 6	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal do limbo. Lâmina permanente em historesina corada com Azul de Toluidina .....	38
F I G U R A	1 7	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal do limbo. Lâmina permanente em historesina corada com Fucsina Básica e Azul de Astra .....	38
F I G U R A	1 8	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal do limbo evidenciando uma glândula e um idioblasto contendo um cristal prismático. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente	39
F I G U R A	1 9	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando as glândulas. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina, em lâmina semipermanente .....	40
F I G U R A	2 0	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal da nervura principal. Lâmina permanente, corada com Azul de Toluidina emblocada em historesina .....	40
F I G U R A	2 1	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal da nervura principal. Lâmina permanente corada com Fucsina Básica e Azul de Astra, emblocada em historesina	41
F I G U R A	2 2	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando os estômatos do tipo paracítico, anisocítico e anomocítico. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente	41
F I G U R A	2 3	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando os estômatos. Escala = 10µm .	42
F I G U R A	2 4	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando um estômato. Escala = 10µm .	42
F I G U R A	2 5	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal da nervura principal. Secção à mão livre, teste microquímico com Lugol em lâmina semipermanente .....	43
F I G U R A	2 6	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal evidenciando a cutícula, mesofilo e glândula contendo óleo. Secção à mão livre, teste microquímico com Sudam III em lâmina semipermanente .....	43
F I G U R A	2 7	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal evidenciando a cutícula e o mesofilo. Secção à mão livre, teste microquímico com Sudam III em lâmina semipermanente .....	44
F I G U R A	2 8	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Secção transversal da nervura principal, à mão livre, teste microquímico com Cloreto Férrico em lâmina semipermanente .....	44
F I G U R A	2 9	- Folha de <i>C. xanthocarpa</i> Berg. Diafanizada pela técnica de FRANKLIN (1946). Lâmina permanente, emblocada em historesina, corada com Safranina 1% .....	45
T A B E L A	0 3	- Resultados obtidos através da realização dos ensaios preliminares e a marcha sistemática de análise fitoquímica do extrato hidroalcoólico e aquoso .....	46

T A B E L A 0 4	- Comparação das amostras .....	47
T A B E L A 0 5	- Alguns compostos identificados, suas classificações químicas e usos .....	48
T A B E L A 0 6	- Resultados da extração por n-hexano .....	50
T A B E L A 0 7	- Resultados da extração por metanol .....	50
CROMATOGRAMA 1	- Amostra TOMOALU.D .....	53
T A B E L A 0 8	- Composição química da amostra TOMOALU.D .....	54
CROMATOGRAMA 2	- Amostra CAMPOM1A.D – 0,5 microlitros .....	55
T A B E L A 0 9	- Composição química da amostra CAMPOM1A.D – 0,5 microlitros .....	56
CROMATOGRAMA 3	- Amostra CAMPOM1.D – 0,4 microlitros .....	57
T A B E L A 1 0	- Composição química da amostra CAMPOM1.D – 0,4 microlitros .....	58
CROMATOGRAMA 4	- Amostra CAMPOM03.D - 0,4 microlitros – seco com sulfato de sódio anidro .....	59
T A B E L A 1 1	- Composição química da amostra CAMPOM03.D - 0,4 microlitros – seco com sulfato de sódio anidro .....	60
T A B E L A 1 2	- Comparação das amostras normal e seca com sulfato de sódio anidro .....	61

## RESUMO

*Campomanesia xanthocarpa* Berg é conhecida popularmente pelas denominações de gabiroba, gavirova, guabiroba, guabiroba do mato e guabiroba do campo. É uma planta aromática pertencente à família Myrtaceae. Segundo a cultura popular a Gabiroba é utilizada na forma de decocto para o tratamento do reumatismo, leucorréia e outros males. A madeira e as folhas são usadas como lenha no processo de torrefação da erva-mate, devido ao seu aroma agradável.

Os objetivos deste trabalho são analisar a estrutura anatômica das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* Berg a fim de contribuir para a sua melhor caracterização e auxiliar no controle de qualidade. Localizar as secreções celulares através de testes histoquímicos. Analisar qualitativamente a composição química das folhas. Extrair, isolar, caracterizar e dosar os principais metabólitos secundários presentes. Extrair, por hidrodestilação e por solvente orgânico, o óleo essencial das folhas e realizar a análise cromatográfica para determinação dos compostos majoritários.

A extração do óleo essencial foi realizada através de hidrodestilação, empregando-se o Aparelho de Clevenger, modificado (USP, XXIII, 1995) e a análise dos componentes químicos presentes através de diversos processos fitoquímicos. Os extratos hidroalcoólico e aquoso foram obtidos por maceração das folhas rasuradas. Os resultados obtidos na abordagem fitoquímica foram: glicosídeos antociânicos, saponínicos, aminogrupos, ácidos fixos, taninos, glicosídeos flavônicos, esteróides e/ou triterpenóides e um rendimento em óleo essencial de 0,20%. A análise da composição química foi determinada através do Aparelho CG-MS HP5970. Na amostra TOMOALU.D foram isolados 63 componentes sendo 18 não identificados. Na amostra CAMPOM1A.D foram isolados 60 componentes ficando 12 sem identificação. Na amostra CAMPOM1.D foram isolados 22 componentes e apenas 1 não identificado, e finalmente na amostra CAMPOM03.D foram isolados 39 componentes ficando 8 sem identificação. As propriedades físico-químicas do óleo essencial foram realizadas segundo a Farmacopéia Brasileira IV (1994) e Pharmacopea Helvetica VII (1995). A CCD realizada em cromatoplasmas de sílica gel do extrato metanólico demonstrou um perfil cromatográfico indicando a presença de compostos fenólicos mais precisamente compostos flavônicos, comparados com padrões e visualizados com revelador (Reativo de NEU). A espécie em estudo apresenta composição química interessante, o que sugere a continuidade, visando os aspectos farmacológicos e a identificação dos demais metabólitos isolados.

Palavras-chave: *Campomanesia xanthocarpa* Berg; Myrtaceae; Guabiroba; Óleo essencial; Cromatografia CG/MS

## ABSTRACT

*Campomanesia xanthocarpa* Berg it is known popularly by the denominations of gabirola, gavirola, guabirola, guabirola of the weeds and guabirola of the field. It is an aromatical plant of the Myrtaceae family. According to popular culture the Gabirola is used in the form of decocto for the handling of the reumatism, leukorrea and others diseases. The wood and the leves are used as firewood in the process of toasting of grass-kills, due to pleasant its aroma. One objectified with this work the extration of the essential oil and the phytochemical analysis of leves of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. The extration of the essential oil was carried through hydrodistillation, using itself the Device of Clevenger (USP, XXIII, 1995), modified and the analysis of the chemical components gifts through diverse phytochemicals processes. The extracts hydro-alcoholic and watery had been gotten by maceration of scraps leaves. The results gotten in the phytochemical boarding had been: anthocians, saponins, aminogroups, acid fixtures, flavonoids, esteroids and/or triterpenoids and an income in essential oil of 0.20%. The analysis of the chemical composition of the essential oil was determined by CG and CG-MS (MSD HP5890/5970) and the properties carried through physicist-chemistries according to Farmacopéia Brasileira IV (1994) and Pharmacopea Helvetica VII (1995). The CCD carried through in chromatoplacs of silica gel of the metanolic extract demonstrated a chromatographic profile more necessarily indicating the phenolic composite presence flavonics composites, compared with visualized standards and with developer (Reactive of NEU). The results had demonstrated that it has interest in isolating and identifying the chemical composition of *C. xanthocarpa* Berg, and suggest the continuity, aiming at the botanical and pharmacologicals aspects.

## 1. INTRODUÇÃO

O mundo com suas múltiplas enfermidades tão fáceis de se contrair é um vasto hospital, e a Natureza, com sua infinidade de plantas, é uma farmácia em que todo homem pode encontrar um bálsamo para qualquer espécie de dor (BALBACH, ca 1970).

O emprego dos vegetais como alimento, medicamento para a recuperação ou conservação da nossa saúde ou cosmético, se perde na história do homem na face da Terra. Os estudos da arqueologia demonstram que há mais de três mil anos as ervas eram utilizadas para esses fins. Muitas foram as fontes que facilitaram a origem do conhecimento do homem sobre as virtudes das plantas: a inspiração, o instinto, o ensinamento dos animais, as analogias de cor, forma exterior e gosto, este conjunto de modalidades que constitui o empirismo, sobre o qual, queira-se ou não, se estabelece sempre à medicina (BALBACH, ca 1970; TESKE e TRENTINI, 1995).

Cada vegetal, em essência, deve ser alimento e medicamento. A distinção entre as substâncias alimentícias, medicamentosas e tóxicas existe somente em relação à dose e finalidade que são empregadas. A questão se reduz a um oportunismo científico, que somente a observação pode aconselhar. Dizemos que a maioria das plantas venenosas o é devido à dose e às manipulações que sofrem nos laboratórios, de onde se extraem e aumentam, de maneira poderosa, seus princípios ativos (MORGAN, 1979).

A botânica médica atravessou um longo período de crise. Esta crise não adveio do desuso a que o público pudesse tê-la relegado, mas pelo despreço, pela ignorância e pela conveniência com que uma grande parte da classe médica a tratavam como curandeirismo ou charlatanismo. Mas, bastaria lançar um olhar sobre os antigos livros de medicina para convencer-se do imenso arsenal de medicamentos simples e eficazes que o reino vegetal fornecia a nossos pais (MORGAN, 1979).

Em todos os países, tanto desenvolvidos como em desenvolvimento, as plantas medicinais são utilizadas. Nos primeiros, as plantas não só constituem matérias-primas para a produção industrial de derivados químicos puros, mas, como nos países em desenvolvimento, fazem parte de extratos ou compostos fitoterápicos utilizados no tratamento das mais diversas enfermidades (TESKE e TRENTINI, 1995).

Hoje, porém, graças ao progresso das investigações científicas, a medicina vegetal se acha elevada à dignidade de Fitoterapia (BALBACH, ca 1970).

A EMBRAPA em 1995, encaminhou ao Laboratório de Fitoquímica, do Departamento de Farmácia, da Universidade Federal do Paraná, as folhas de uma planta não identificada, que segundo eles estavam sendo usadas na adulteração da erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire, família *Aquifoliaceae*), pois vinham misturadas, em sacos, com as folhas de mate.

As folhas foram identificadas como pertencentes a *Campomanesia xanthocarpa* Berg que é uma planta aromática da família *Myrtaceae*.

Em pesquisa bibliográfica descobriu-se que as folhas encerram matéria gomosa, amarela e amarga, clorofila e ácido tânico, sendo utilizadas como adstringentes, úteis contra a diarreia, o catarro da bexiga e da uretra, contra o reumatismo e leucorréia (BALBACH, ca 1970; CORRÊA, 1984; CHERNOVIZ, 1996; LORENZI, 1998).

## 1.1 OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivos analisar a estrutura anatômica das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* Berg a fim de contribuir para a sua melhor caracterização e auxiliar no controle de qualidade. Localizar as secreções celulares através de testes histoquímicos. Analisar qualitativamente a composição química das folhas. Extrair, isolar, caracterizar e dosar os principais metabólitos secundários presentes. Extrair, por hidrodestilação e por solvente orgânico, o óleo essencial das folhas e realizar a análise cromatográfica para determinação dos compostos majoritários.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

A espécie em estudo pertence à divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Myrtales, família Myrtaceae R. Br., gênero *Campomanesia* Ruiz et Pav., espécie *Campomanesia xanthocarpa* Berg (MARTIUS, 1906; INDEX KEWENSIS, 1960-; CRONQUIST, 1988).

A família Myrtaceae é constituída por cerca de 3.000 espécies subordinadas a aproximadamente 100 gêneros. Estão distribuídas nos trópicos, subtropicais, principalmente na Austrália e na América do Sul. Raras espécies ocorrem nas regiões temperadas (GOLA, NEGRI e CAPPELLETTI, 1965; BARROSO, 1984; JOLY, 1993; TAKHTAJAN, 1997).

A família Myrtaceae é constituída por plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com córtex que pode ou não se esfoliar. As folhas geralmente apresentam mesofilo isobilateral ou centrico, particularmente nas folhas laminares e nas cilíndricas. Folhas simples, sem estípulas, oposta ou alterna, e às vezes oposta cruzada, de bordo inteiro, peninérveas, geralmente com nervura marginal, glabras ou pilosas, com indumento de pêlos simples, unicelulares ou raramente, escamosos. O mesofilo é composto de parênquima lacunoso, contendo fibras esclerenquimáticas e cristólitos. Estômatos usualmente ocorrem em ambas as superfícies das folhas que apresenta estrutura isobilateral ou centrada. Glândulas aromáticas, que se situam internamente a epiderme das folhas, conferem a esse órgão um pontilhado transparente. Essas glândulas, que contêm taninos ou óleos, também ocorrem nas flores, frutos e sementes, conferindo aroma característico às diversas espécies. As flores são actinomorfas e hermafroditas, heteroclamídeas, de simetria radial, muitas vezes com receptáculo bem desenvolvido, com as sépalas e pétalas em número 4-5, pétalas brancas, ou às vezes vermelhas, efêmeras, pequenas, raramente de tamanho reduzido ou abortado, tem estames numerosos, com filetes em geral brancos relativamente compridos, reunidos em grupos, raramente em número definido; ovário é semi-ífero até ífero, raramente súpero, com muitos óvulos; 2, 5 ou muitos carpelos concrescidos com o tálamo, com um só estilete e de um ou muitos rudimentos seminiais. Os frutos são muito variados, podendo ser: baga, drupa, cápsula, aquênio, pixídio, seco e indeiscente; e as sementes, em geral carecem de albúmem (MACVAUGH, 1963; METCALFE e CHALK, 1965; GOLA, NEGRI e

CAPPELLETTI, 1965; KAUSEL, 1966; SCHULTZ, 1968; JOLY, 1993; AGAREZ, RIZZINI e PEREIRA, 1994).

O gênero *Campomanesia* conta com 26 espécies, sendo 24 descritas no Brasil (LANDRUM, 1986; MARCHIORI e SOBRAL, 1997).

A distribuição do gênero *Campomanesia* é desde o nordeste Argentino até Trinidad e da costa Brasileira até os Andes, Peru, Equador e Colômbia (LANDRUM, 1986).

A espécie *C. xanthocarpa* é uma árvore de 4-20m de altura, com caule de 30-60cm de diâmetro, geralmente tortuoso com caneluras e casca descamante, fissuras leves, estreitas e pouco profundas, esgalhamento tortuoso e copa arredondada densa. Folhas opostas, verde-claras na face adaxial, longo-pecioladas (6-11mm), ovadas ou ovado-oblongas, acuminadas ou agudas, cartáceas, opacas, diáfanos quando jovens, pelúcido-punctuadas, pubescente na axila das nervuras da face abaxial, aromática. Flores axilares, dispostas em pedúnculos opostos, solitários, unifloros. Fruto baga glabra, amarela (1-2 cm de diâmetro) (LEGRAND, 1938; LEGRAND E KLEIN, 1977; CORRÊA, 1984; LANDRUM, 1986).

Alguns autores, como LANDRUM (1986) e LORENZI (1998) incluem a *Campomanesia littoralis* Legrand, como sinonímia de *Campomanesia xanthocarpa* Berg, mas MARCHIORI e SOBRAL (1997) relatam que, embora sob a denominação de variedades distintas, os hábitos de ambas são diferentes, por isso optaram por mantê-las separadas; assim como *Campomanesia malifolia* Berg, citada na obra de LEGRAND (1961) e MATTOS (1983), é considerada distinta de *Campomanesia xanthocarpa* Berg.

No Brasil, esta espécie ocorre no Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, e Rio Grande do Sul, principalmente no planalto do Sul do Brasil. É encontrada também no Paraguai, no extremo norte do Uruguai, no nordeste da Argentina até a província de Tucumán (LEGRAND, 1961; LEGRAND E KLEIN, 1977; LANDRUM, 1986; MARCHIORI E SOBRAL, 1997; LORENZI, 1998).

No Paraná, próximo a Curitiba, a espécie se desenvolve na floresta ombrófila mista (Floresta com Araucárias) (LANDRUM, 1986), sendo menos freqüente na floresta ombrófila densa da encosta atlântica do Sul do Brasil (LEGRAND E KLEIN, 1977; LORENZI, 1998)

*C. xanthocarpa* floresce durante os meses de setembro, outubro e novembro e frutifica a partir de outubro (LEGRAND E KLEIN, 1977; JOLY, 1993; LORENZI,

1998). Produz anualmente grande quantidade de sementes que são amplamente disseminadas pela avifauna (LORENZI, 1998).

BARROSO (1984) afirma que o nome do gênero *Campomanesia* Ruiz et Pav. foi dado em homenagem a P. Rodrigues de Campomanes, explorador espanhol. Segundo LEGRAND E KLEIN (1977) *xanthocarpa* deriva do grego *xanthos* = amarelo e *carpos* = fruta, significando fruta amarela; o nome vernacular deriva do tupi *guavi* ou *guabi* = para comer, ou fruta e *roba* = amarga, significando fruta amarga. Segundo CORRÊA (1984) guabirobeira do tupi *gua-bir-oba* e o sufixo português *eira*.

*C. xanthocarpa* apresenta copa piramidal densa bastante decorativa, podendo ser empregada no paisagismo em geral, cujo único inconveniente para logradouros públicos é a sujeira provocada pela queda dos frutos (LORENZI, 1998).

A madeira dessa espécie é branca, bastante resistente, utilizada para instrumentos de música, cabo de ferramentas e tabuado em geral; a lenha, graças ao seu aroma agradável, é utilizada para a secagem e torrefação da erva-mate (LEGRAND E KLEIN, 1977; CORRÊA, 1984).

SCHMEDA-HIRSCHMANN (1995) em seu estudo sobre plantas de uso medicinal no combate a problemas digestivos, antihipertensivas, redução do colesterol e ácido úrico, cita a espécie *C. xanthocarpa*; obtendo resultados favoráveis quanto à composição de flavonóides (myricitrin (myricetin 3-O-rhamnoside) e rutin (quercetin 3-O-rhamnoside)). Menciona que esta espécie em particular não é utilizada comumente na medicina corrente do Paraguai.

LIMBERGER, et al. (2001) em seu estudo sobre a composição química dos óleos essenciais das espécies de *Campomanesia*, trabalhando com a *C. xanthocarpa* obteve um rendimento de 0,2% de óleo essencial, cuja composição rica em sesquiterpenos, dentre eles o spathulenol (9,9%), globulol (6,2%), epi-globulol (2,0%); o monoterpene identificado foi o linalol (17,2%).

As flores são muito visitadas pelas abelhas. Os frutos, cuja polpa é agradável e aromática, com alto teor vitamínico, gozam de apreço das crianças e mais ainda de vários animais domésticos e selvagens; sendo consumidos *in natura* e usados para preparo de licores (CORRÊA, 1984; CHERNOVIZ, 1996, LORENZI, 1998).

## 2.1 ÓLEOS VOLÁTEIS

Óleos voláteis são definidos pela International Standard Organization – ISO como produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (Rutaceae). De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também podem ser chamadas de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências. Essas denominações derivam de algumas de suas características físico-químicas, como, por exemplo, a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, advindo daí, a designação de óleo. Entretanto, sua principal característica é a volatilidade, diferindo-se, assim, dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidas geralmente de sementes. Outra característica importante é o aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis, sendo, por isso, também chamados de essências. Eles também são solúveis em solventes orgânicos apolares, como éter, recebendo, por isso, a denominação de óleos etéreos ou, em latim *aetheroleum*. Em água, os óleos voláteis apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas hidrolatos (SIMÕES et al. 1999).

Outras características importantes para a identificação e controle de qualidade dos óleos são o sabor, que é geralmente acre (ácido) e picante; a cor, que varia de incolor ao ligeiramente amarela quando recém extraídos. São poucos os óleos que apresentam coloração. São instáveis, principalmente, na presença de ar, luz, calor, umidade e metais. São opticamente ativos (SIMÕES et al. 1999).

Os constituintes do óleo variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre. Na mistura tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades - traços.(SIMÕES et al. 1999).

Os óleos voláteis podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como em pêlos glandulares (Lamiaceae = Labiadas); células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae); canais oleíferos (Apiaceae = Umbelíferas, Compostas = Asteraceae) ou em bolsas lisígenas (constituídas pela

dissolução da membrana entre as células formando um espaço para o acúmulo da substância secretada), esquizógenas (constituídas pela separação e afastamento das células, deixando entre si um espaço intercelular) (Myrtaceae) ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae, Burseraceae) (SIMÕES et al. 1999; BRUNETON, 1991; RAWITSCHER, 1972).

Os óleos voláteis podem estar estocados em certos órgãos, tais como nas flores (laranjeira, bergamoteira), folhas (capim-limão, eucalipto, louro) ou ainda nas cascas dos caules (canelas), madeira (sândalo, pau-rosa), raízes (vetiver), rizomas (cúrcuma, gengibre), frutos (anis-estrelado, funcho, erva-doce) ou sementes (noz-moscada). Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização. Por exemplo, o óleo das cascas de canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que os das folhas e das raízes desse mesmo vegetal são ricos em eugenol e cânfora respectivamente (SIMÕES et al. 1999; BRUNETON, 1991; RAWITSCHER, 1972).

Cabe lembrar que a composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo (SIMÕES et al. 1999).

As substâncias odoríferas em plantas foram consideradas por muito tempo como “desperdício fisiológico”, ou mesmo produtos de desintoxicação, como eram vistos os produtos do metabolismo secundário. Atualmente, considera-se a existência de funções ecológicas especialmente como inibidores da germinação; na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra a perda de água e aumento da temperatura, entre outras. As abelhas e borboletas são insetos frequentemente atraídos por aromas de diversas flores. Planta com polinização noturna ou crepuscular possuem aromas particularmente intensos, pois nesses horários, o estímulo atrativo visual torna-se impraticável, podem atrair morcegos e mariposas (BRUNETON, 1991; SIMÕES et al. 1999).

Efeitos alelopáticos têm sido registrados para terpenos voláteis tais como 1,8-cineol e cânfora (*Salvia leucophylla* Greene) e  $\alpha$ -tujona e isotujona (*Artemisia californica* Less.), entre outros, como responsáveis pelo efeito inibitório que estas plantas causam em outras, impedindo seu crescimento (SIMÕES et al. 1999).

Existem trabalhos demonstrando que a toxicidade de alguns componentes dos óleos volátil constitui uma proteção contra predadores e infestantes. Mentol e mentona,

por exemplo, são inibidores de crescimento de vários tipos de larvas. Também existem evidências de que alguns insetos utilizam óleos voláteis seqüestrados de plantas para defenderem-se de seus predadores. Assim, os vapores de certas substâncias como citronelal (utilizada por formigas) e  $\alpha$ -pineno (utilizado por cupins) podem causar irritação suficiente em um predador para fazê-lo desistir de um ataque. Certos himenópteros, por exemplo, seqüestram, sem alteração química,  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno, entre outros componentes, de *Pinus sylvestris* L. (uma conífera européia), dessa forma, as larvas desses insetos se defendem de predadores como as formigas (HARBORNE, 1993; SIMÕES et al. 1999).

Pode-se confundir a atividade de um óleo essencial, com a da planta da qual este óleo procede. Esta superposição dista muito de ser possível em todos os casos: a ação colerética atribuída ao alecrim pode estar relacionada com a presença de ácidos fenólicos, enquanto que o óleo essencial é anti-séptico (BRUNETON, 1991).

Os efeitos dos monoterpenos e dos sesquiterpenos, isoladamente, já são conhecidos, mas o resultado dificilmente se pode dizer da essência, mistura complexa e variável (BRUNETON, 1991).

O poder anti-séptico do óleo se manifesta frente a variadas bactérias patógenas e inclusive certas cepas antibiorresistentes. Alguns óleos essenciais, também são ativos frente a fungos inferiores responsáveis por micoses, e inclusive, frente a leveduras (*Candida*). As doses ativas, em geral são baixas e as que se determinam por experimentação *in vitro* são diretamente transportados para uso por via externa ou, *a fortiori*, como conservador. As espécies mais anti-sépticas são: canela, tomilho, lavanda e eucalipto. Compostos como o citral, geraniol, linalol ou timol são respectivamente 5,2; 7,1; 5 e 20 vezes mais anti-séptico que o fenol (BRUNETON, 1991).

Produtos como a essência de terebintina, utilizados por via externa, provocam aumento da microcirculação, rubefação importante, sensação de calor e em certos casos, ligeira ação anestésica local: isto é o que se pretendia antigamente com os unguentos. Na atualidade, todavia são numerosas as pomadas, cremes e géis a base de óleos essenciais, destinados a aliviar torcicolos, agulhadas, distensões e outras dores articulares ou musculares (BRUNETON, 1991).

Os óleos essenciais administrados por via interna, desencadeiam fenômenos de irritação a diferentes níveis. O eucalipto e o pinho estimulam as células de muco e aumentam os movimentos do epitélio ciliado no nível da árvore brônquica. De maneira

análoga, alguns óleos essenciais podem, a nível renal, produzir vasodilatação, causando um efeito diurético: é o caso do zimbro. Os óleos essenciais com anetol, (umbelíferas, mentas ou verbena), se mostram eficazes para diminuir ou suprimir os espasmos gastrointestinais. Esses, freqüentemente intensificam a secreção gástrica, pelo que são classificados como digestivos e estomáquicos, com todas as conseqüências que podem derivar desta eupepsia: melhora de determinadas insônias e de transtornos psicossomáticos diversos. Esse fato pode explicar o freqüente emprego dos mesmos tanto pela medicina popular como pelas medicinas oficiais. Alguns óleos essenciais apresentam tropismo neurovegetativo e exercem ação neurosedante (lavanda, melissa) (BRUNETON, 1991).

Sobre o aspecto de toxicidade dos óleos essenciais este conhecimento é muito importante devido ao desenvolvimento de certas práticas como a aromaterapia (definida como o tratamento das enfermidades pelas essências das plantas). A conotação “produto natural” (exemplo: a medicina pelas flores) destinada às essências e o anúncio de que muitas são expeditas ao público, fora do setor farmacêutico, portanto, sem nenhum controle sério, levam a utilização às vezes abusiva, a uma automedicação perigosa (BRUNETON, 1991).

Os dados de que se dispõe sobre a toxicidade crônica das essências, são muito fragmentados, não se tem estudado seus possíveis efeitos secundários, nem tão pouco se tem demonstrado a ausência de efeitos cancerígenos ou teratogênicos. A toxicidade aguda está mais estudada (BRUNETON, 1991).

Óleos essenciais como tujona (tanacetol = *Tanacetum vulgare* L., Compositae; tuya = *Thuja occidentalis* L., Cupressaceae; certas variedades de salvia = *Salvia officinalis* L., Lamiaceae), ou com (-)-pinocanfona (hisopo, *Hyssopus officinalis* L., Lamiaceae) são tóxicas. Estas cetonas monoterpênicas, são psicoanalépticas que, ingeridas, em doses demasiado elevadas, desencadeiam crises epileptiformes e tetaniformes, transtornos psíquicos e sensoriais. A essência de hisopo tem causado, nos últimos anos, hospitalizações conseqüentes de automedicações abusivas. A intoxicação está dominada por crises epileptiformes. Tem-se demonstrado no animal, que doses baixas, mas repetidas, desencadeiam da mesma forma contrações miocrônicas (BRUNETON, 1991).

O mentol também apresenta toxicidade apenas dois gramas podem ser mortais para um adulto; em uma criança, gotas nasais de mentol, podem induzir espasmos da

glote com conseqüente risco de asfixia reflexa. São igualmente tóxicos, o cis-anetol (convulsões), a essência de Sabina (hemorragias uterinas), a essência de zimbro (hematúrias) (BRUNETON, 1991).

Os métodos de identificação dos constituintes dos óleos essenciais são métodos cromatográficos: cromatografia em camada delgada - CCD e cromatografia gasosa - CG. A CCD utiliza solventes como benzeno, diclorometano, ou misturas de benzeno-acetato de etila, benzeno-diclorometano. A revelação se efetua com aldeídos aromáticos (vanilina, anisaldeído) em meio sulfúrico (BRUNETON, 1991).

Em farmácia são empregados ao natural (infusão), ou em forma de preparações galênicas. Alguns dos óleos essenciais possuem interesse medicamentoso, outros, a grande maioria, servem essencialmente para a aromatização de especialidades (BRUNETON, 1991).

Em perfumaria os óleos essenciais, essências concretas (ou simplesmente concretas) se obtém por extração de vegetais frescos com ajuda de solventes. Resinóides se obtém por extração com ajuda de solventes, a partir de substâncias vegetais dessecadas, resinas, gomo-resinas e bálsamos (BRUNETON, 1991).

Em alimentação se utiliza ao natural (espécies e aromatizantes), óleos essenciais, concretas, resinóides e também mais recentemente formas hidrossolubilizadas (BRUNETON, 1991).

Em diversas indústrias, sobretudo químicas, os produtos isolados são matérias primas básicas para a síntese de princípios ativos terapêuticos, vitaminas, intermediários e “cheiros” adquiridos a bom preço (BRUNETON, 1991).

Na atualidade, o mercado das plantas com essência e dos produtos que delas se obtém, é importante, pois não a atinge diretamente a indústria do medicamento. A perfumaria e a indústria agro-alimentícia são os principais consumidores (BRUNETON, 1991).

## 2.2 FLAVONÓIDES

Os flavonóides estão entre os compostos naturais mais disseminados em plantas, estando registrados mais de dois mil deles, tanto em estado livre quanto como glicosídeos. Esses compostos são responsáveis em sua maioria pela coloração de numerosas flores e de alguns frutos (BRUNETON, 1991; ROBBERS, SPEEDIE e TYLER, 1997).

A estrutura química dos flavonóides baseia-se num esqueleto de carbono C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, com um anel de cromano ostentando um segundo anel aromático na posição 2, 3, ou 4. As principais categorias estruturais gerais são as flavonas, as flavanonas, os flavonóis, as antocianidinas e as isoflavonas. Em alguns casos, o anel heterocíclico de seis membros é substituído por um anel de cinco membros (auronas) ou aparece numa forma isomérica de cadeia aberta (chalconas). Além dos derivados glicosilados, também ocorrem derivados metilados, acilados, prenilados ou sulfatados (ROBBERS, SPEEDIE e TYLER, 1997).

Os flavonóides se encontram amplamente distribuídos no reino vegetal, geralmente na forma solúvel de heterosídeos. Ausentes nas Algas, mas presentes nas Briófitas. Encontram-se em Fetos e Gimnospermas, mas sua variedade estrutural é pequena. São amplamente representados nas Angiospermas, onde a sua variedade estrutural é máxima (BRUNETON, 1991).

Provavelmente sintetizados ao nível dos plastídios citoplasmáticos, os flavonóides se acumulam no suco vacuolar. Encontram-se no mesófilo e na epiderme das folhas, na cutícula dos frutos, e também em outros órgãos. Encontra-se no vinho, em cereais e ocasionalmente em corantes alimentares. Esses metabólitos possuem preferência por órgãos jovens (BRUNETON, 1991; SIMÕES et al. 1999).

Foram atribuídas diferentes funções na natureza a vários flavonóides: compostos antimicrobianos, produtos de estresse de metabólitos ou moléculas sinalizadoras (ROBBERS, SPEEDIE e TYLER, 1997).

O emprego de flavonóides em terapêutica é vasto e ainda empírico, uma vez que a prática de uso é mais antiga que o desenvolvimento de análises farmacológicas modernas. Embora alguns resultados tenham mostrado que os flavonóides podem apresentar efeito mutagênico, em geral são considerados como benéficos. Alguns medicamentos contêm flavonóides, indicados, em particular, para o tratamento de

doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator da vitamina C. Outras pesquisas sugerem que alguns flavonóides possuem ação anticancerosa considerável, podendo ser agentes antivirais, anti-hemorragicos entre outros abordados (SIMÕES et al. 1999).

A grande abundância e a diversidade dos flavonóides sugere que sejam importantes para as plantas superiores. Contudo não está claro que também o sejam para o homem. De fato, podemos sugerir que os seres humanos ingerem muitas gramas de flavonóides diariamente. Entretanto, não há, até o momento, comprovação evidente de que esses metabólitos sejam imprescindíveis à alimentação humana (SIMÕES et al. 1999).

A propriedade mais importante atribuída aos flavonóides é a propriedade “vitamínica P”. Apesar de a natureza vitamínica destes compostos serem duvidosas (pelo que é preferível sem dúvida designar-lhe com o qualificativo de “fator vitamínico P” ou por “fator P”). Deve-se salientar que alguns organismos como FDA (Food and Drug Administration), não reconhecem nenhuma atividade para os flavonóides. Ainda que os tratados de farmacologia, não atribuam apenas valor terapêutico, sem dúvida se prescrevem amplamente e são numerosos os clínicos que admitem seu efeito benéfico em diversas patologias circulatórias (BRUNETON, 1991).

Historicamente, a noção de fator P, se deve a seguinte observação: certas manifestações hemorrágicas do escorbuto, curadas administrando suco de limão, não cedem por administração única de ácido ascórbico. Este não pode atuar mais que na presença de um fator “P” ou “C2”, a citrina. Se bem que esta experiência inicial não se tem podido reproduzir, as propriedades do fator P são atribuídas a diversos polifenóis: flavonóides, antocianosídeos, oligômeros flavônicos. A experiência demonstra que todos estes compostos são capazes de diminuir a permeabilidade dos capilares e reforçar sua resistência (BRUNETON, 1991).

A espectroscopia no ultravioleta é a principal técnica tanto para a detecção quanto para o monitoramento da pureza de derivados flavônicos durante os processos de isolamento. Possuem espectros de absorção característicos no ultravioleta, determinados pelo núcleo comum da benzopirona, com dois máximos de absorção: um ocorrendo entre 240-285 nm (banda II) e outro entre 300-400 nm (banda I) (SIMÕES et al. 1999).

Em geral, outras técnicas espectroscópicas, tais como infravermelho e ressonância magnética nuclear, são reservadas para compostos puros. A espectrometria

de massas é importante para a determinação do peso molecular e, quando associada à cromatografia gasosa, constitui-se em um importante método de identificação, podendo ser útil também durante o processo de *screening* (SIMÕES et al. 1999).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

A coleta do material para o estudo botânico, fitoquímico e preparação de exsicata de herbário (UPCB sob nº 41954) foi realizada no Campus do Centro Politécnico, da Universidade Federal do Paraná, município de Curitiba, Paraná, Brasil.

#### 3.1 ESTUDOS BOTÂNICOS

Para o estudo anatômico foram feitas secções à mão livre e preparação de lâminas semipermanentes. Essas foram efetuadas de acordo com a metodologia de SASS (1951) e BERLYN e MIKSCHE (1976). As folhas foram seccionadas utilizando-se isopor como suporte (QUINTAS, 1963).

As folhas de *Campomanesia xanthocarpa* Berg utilizadas para se executar esta técnica, foram, coletadas a partir do 4º nó, fixadas em F.A.A (JOHANSEN, 1940 e FERREIRA et al. 1985), sendo depois, conservadas em etanol 70% (v/v).

Para corar o material utilizou-se o corante Fucsina Básica em solução aquosa e o Azul de Astra em solução aquosa (ROESER et al. 1980).

Para a montagem das lâminas semipermanentes, colocou-se uma gota de glicerina a 40% (PURVIS, COLLIOR e WALLS, 1964). Cobriram-se as secções com lamínula, efetuando-se a lutagem com esmalte de unhas incolor (BEÇAK e PAULETE, 1976).

Outra coloração utilizada foi o Azul de Toluidina 0,05% em solução aquosa (O'BRIEN e MCCULLY, 1981).

Para os testes microquímicos utilizou-se Sudam III, para lipídeos (SASS, 1951); azul de metileno, para mucilagem (SAKAI, 1973); glicerina iodada, para amido (BERLYN e MIKSCHE, 1976); cloreto férrico, para taninos (JOHANSEN, 1940).

Utilizou-se a técnica de dissociação de tecidos para análise de venação foliar, de acordo com FRANKLIN (1946).

A técnica utilizada para a preparação de lâminas permanentes, em parafina, foi a proposta por JOHANSEN (1940), FOSTER (1949) e SASS (1951). As secções foram efetuadas em micrótomo com navalha de aço do tipo "C", na espessura de 10 micrômetros. Para a montagem das lâminas utilizou-se o adesivo proposto por

BISSING (1979). Os corantes utilizados foram Fucsina Básica (lignina) e Azul de Astra 1% (celulose) (ROESER et al. 1980).

A técnica de inclusão em historesina – GMA - Glicol Metacrilato (comercializado com o nome de JB4 (Polysciences/ USA) utilizada, foi proposta por FEDER e O'BRIEN (1968) e GUERREIRO (1995), e de acordo com as especificações do fabricante. Para a microtomização do material, utilizou-se um micrótomo rotatório com navalha de aço tipo "C"; a espessura para as secções foi de 10 micrômetros. O material foi fixado segundo KARNOVSKY (1965). A coloração utilizada foi solução aquosa de Azul de Toluidina 0,05% (O'BRIEN e MCCULLY, 1981). Outra coloração utilizada foi a combinação de Fucsina Básica com Azul de Astra (BRITO e ALQUINI, 1996).

As fotomicrografias foram feitas em Microscópio Fotônico Zeiss, acoplado a máquina fotográfica e o filme utilizado foi Kodak ASA100.

A técnica de microscopia eletrônica de varredura utilizada foi a proposta por HADDAD (1989). O material foi submetido ao ponto crítico no equipamento BALZER CPD-010, a fim de retirar todo o álcool e substituí-lo por CO<sub>2</sub>, desidratando por completo o material. Após, efetuou-se a metalização com ouro em equipamento BALZER SCD-030. As eletromicrografias foram efetuadas em Microscópio Eletrônico de Varredura modelo PHILIPS SEM-505. O filme utilizado foi Kodak VP120.

### 3.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS

Na investigação fitoquímica, o material utilizado compreende as folhas de *C. xanthocarpa* Berg. Após a coleta das folhas verdes (tanto de sol, quanto de sombra), estas foram secas e estabilizadas na estufa de ar quente com temperatura controlada por termostato (40° C), do Curso de Farmácia, da Universidade Federal Paraná. Após secas e estabilizadas, as folhas foram fragmentadas para aumentar a superfície de contato da planta com os solventes usados na marcha fitoquímica, e acondicionadas em recipientes apropriados, ao abrigo da luz e umidade.

#### 3.2.1 Marcha Sistemática Fitoquímica Segundo MOREIRA (1979), MATOS (1988) Modificada por NAKASHIMA (1993)

##### 3.2.1.1 Preparo do extrato hidroalcoólico a 20% (m/v)

O extrato hidroalcoólico foi preparado pesando-se 20g de folhas secas e estabilizadas e colocadas em etanol a 70% (v/v) pelo método de maceração, por um período de 7 dias. Com este extrato procederam-se às observações organolépticas (cor, odor, sabor), a determinação do pH e as pesquisas fitoquímicas.

A pesquisa fitoquímica consistiu em determinar os principais grupos químicos constituintes dos metabólitos secundários dos vegetais e que podem ser isolados por este tipo de extração sendo eles os glicosídeos flavônicos (Reação de Shinoda ou da Cianidina); esteróides e/ou triterpenóides (Reação de Liebermann-Bouchardt); alcalóides (utilizando-se os Reativos Gerais para Alcalóides - Reativos de Mayer, Dragendorff, Bertrand e Bouchardat); aminogrupos (Reação de Ninhidrina (Hidrato de Tricetohidrendeno) segundo Fanny e col.); glicosídeos antraquinônicos (Reação de Bornträeger) e cumarinas.

Ainda com este extrato procedeu-se à determinação do Resíduo Seco.

### 3.2.1.2 Preparo do extrato aquoso a 20% (m/v)

O extrato aquoso foi preparado pesando-se 20g de folhas secas e estabilizadas e colocadas em água deionizada (q.s.p. 100ml) pelo método de maceração, em banho-maria a 60°C, por 2 horas. Com este extrato procederam-se as observações organolépticas (cor, odor, sabor), determinação do pH e as pesquisas fitoquímicas que foram efetuadas no prazo máximo de 24 horas, pois após este período as substâncias isoladas sofrem oxidação.

A pesquisa fitoquímica consistiu em determinar os principais grupos químicos constituintes dos metabólitos secundários dos vegetais, que podem ser isolados por este tipo de extração sendo eles os glicosídeos antociânicos; glicosídeos saponínicos; glicosídeos cianogénicos; taninos (Reações com Sais de Ferro – Cloreto Férrico 1% e Sulfato de Ferro Amoniacal, desenvolvimento de coloração azul, verde, cinza, marrom ou precipitado indica a presença de taninos; Reação com Solução de Gelatina 2,5% - obtenção de precipitado indica presença de taninos; Acetato de Chumbo 10%; Reação de Formol Clorídrico - Reação de Stanishy); aminogruppo (Reação de Ninhidrina (Hidrato de Tricetohidrendo) segundo Fanny e col); ácidos fixos (Reagente de Nessler segundo MORITA e ASSUMPÇÃO (1972)); e ácidos voláteis (através de papel indicador de pH suspenso em um tubo de ensaio contendo o extrato com adição de ácido sulfúrico, e colocado no banho-maria).

Ainda com este extrato procedeu-se à determinação do Resíduo Seco.

### 3.2.2 Extração do Óleo Essencial

Para extração do óleo essencial foram utilizadas folhas secas, estabilizadas e fragmentadas, e folhas frescas e fragmentadas. Estes materiais foram submetidos a hidrodestilação em aparelho de Clevenger (USP, XXIII, 1993), modificado por WASICKY e OKUDA (1963), anotando-se o rendimento bruto após funcionamento ininterrupto do aparelho por um período de 6 horas.

As determinações das análises físico-químicas do óleo essencial seguiram as metodologias específicas. A densidade foi determinada segundo a FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV (1994). O índice de refração foi determinado no Refratômetro de

ABBE, segundo a FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV (1994). A solubilidade foi determinada segundo a PHARMACOPEA HELVETICA (1995).

No procedimento de coleta do óleo essencial, destilado pelo Clevenger, muitas vezes não se consegue retirar apenas o óleo, arrastando-se um pouco de água, sendo eliminada utilizando-se de sulfato de sódio anidro segundo ADAMS (1995) e AMAREGO e PERRIN (1996).

### 3.2.3 Extração dos Componentes por Solvente Orgânico (Concreto) (BRUNETON, 1991)

A extração do óleo essencial por solvente orgânico foi de forma sucessiva sobre a planta, carregando todos os componentes apolares até o esgotamento total. O solvente utilizado foi concentrado em rotavapor e o resíduo final obtido foi submetido à extração por hidrodestilação.

#### 3.2.3.1 Extração total por n-hexano

Partindo-se de 880g de planta seca, estabilizada e reduzida a fragmentos, procedeu-se à extração por maceração com n-hexano. As trocas do solvente foram efetuadas a cada 48 horas e o final ou esgotamento total verificado pela ausência de pontos em cromatografia em camada delgada (CCD).

#### 3.2.3.2 Extração total por metanol

Após a extração por maceração com n-hexano as folhas foram colocados em banho-maria (70°C) para evaporar o excesso de n-hexano. A seguir, as folhas, isentas de n-hexano, foram colocadas em maceração com metanol, com trocas sucessivas a cada 48 horas e o final ou esgotamento total, verificado pela ausência de reação positiva através da Reação de Shinoda.

Com o extrato metanólico procedeu-se a CCD para compostos fenólicos.

### 3.2.3.3 Extração por partição líquido-líquido

O método de extração por partição baseou-se em extrações com diferentes solventes formando um gradiente de polaridade crescente.

Do extrato metanólico total obtido procedeu-se a concentração parcial do solvente, metanol, em rotavapor, e posteriormente a evaporação total do solvente em banho-maria. A dissolução do extrato seco obtido foi com água quente. Filtrou-se a quente e com o filtrado (fração aquosa) procedeu-se à extração líquido/líquido.

Todo procedimento foi acompanhado por CCD com o objetivo de verificar em que fração os compostos fenólicos seriam extraídos e a determinação do esgotamento total.

A fração aquosa foi transferida para um funil de separação e agitada com o n-hexano, o primeiro líquido extrator. Separou-se a fração hexânica, acondicionou-se em um frasco previamente tarado e evaporou-se à secura no banho-maria.

Após a extração a fração aquosa foi colocada em banho-maria (65°C) para a evaporação total do solvente utilizado (n-hexano).

A fração aquosa isenta de n-hexano foi transferida novamente para um funil de separação e tratada com clorofórmio, segundo líquido extrator. A fração clorofórmica foi recolhida em frasco previamente tarado, levada a secura em banho-maria.

Novamente, após a extração, a fração aquosa foi colocada em banho-maria (65°C) para a evaporação total do solvente utilizado (clorofórmio).

As extrações subseqüentes foram com acetato de etila e n-butanol, efetuando-se os mesmos procedimentos descritos para a primeira e segunda extração.

A fração aquosa restante foi transferida para um frasco previamente tarado, levada a secura em banho-maria.

Cada uma das frações obtidas foi corretamente identificada, pesada e guardada em frasco bem fechado. Com estas frações foram preparadas CCD em fases móveis diferentes em função da polaridade de cada líquido extrator, junto com padrões autênticos.

### 3.2.4 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) foi aplicada em todos os extratos obtidos, com diferentes fases móveis para os óleos essenciais, esteróides e triterpenóides, flavonóides e taninos.

As placas utilizadas foram preparadas em vidro com sílica gel G. Utilizou-se ainda cromatoplasmas de sílica gel 60F254, 0,2mm, da marca Merck®, placas de poliamida 11F254, da marca Merck®, e placas de celulose 5552, 0,1mm, da marca Merck® (MERCK, 1996).

Frente a grande quantidade de fases fixas e móveis que são utilizadas nos processos de análise cromatográfica selecionou-se algumas, para a utilização neste trabalho, que são descritas na TABELA 01 segundo GUENTHER (1950); STAHL (1969); MABRY (1970) e WAGNER (1996).

TABELA 01 - FASES E REVELADORES UTILIZADOS

Continua		
FASE FIXA	FASE MÓVEL	REVELADOR
Poliamida	Acetona / Água 1 : 1	NEU
Sílica Gel G	Acetato de Etila / Metanol / Água 100 : 13,5 : 10	NEU
Sílica Gel G	Acetona / Butanol / Água 10 : 10 : 5	NEU
Celulose	Ácido Acético 5%	Amônia
Celulose	Ácido Acético 10%	Amônia
Celulose	Ácido Acético 15%	Amônia
Celulose	Ácido Acético 20%	Amônia
Celulose	Ácido Acético 25%	Amônia
Celulose	Ácido Acético 40%	Amônia
Sílica Gel G	Butanol / Acetato de Etila / Água 4 : 1 : 5 Fase superior * Fase inferior	NEU
Sílica Gel G	Butanol / Água / Metanol 70 : 20 : 5	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Acetona / Ácido Fórmico 7 : 2 : 1	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Acetona / Ácido Fórmico 70 : 17 : 9	NEU

		Conclusão
FASE FIXA	FASE MÓVEL	REVELADOR
Sílica Gel G	Clorofórmio / Acetona / Ácido Fórmico 75 : 16,5 : 1	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Etanol / Água 4 : 1 : 5	NEU
Sílica Gel G	Fase superior e Fase inferior * Clorofórmio / Metanol 7 : 3	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol 85 : 15	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol 90 : 1	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol 92 : 8	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol 98 : 2	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol / Água 5 : 25 : 4	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol / Ácido Fórmico 80 : 2 : 1	NEU
Sílica Gel G	Clorofórmio / Metanol / Água 65 : 25 : 4	NEU
Poliamida	Clorofórmio / Metanol / Butan-2-one 12 : 2 : 1	NEU
Poliamida	Isopropanol / Água 3 : 2	NEU
Poliamida	Metanol / Ácido Acético / Água 90 : 5 : 5	NEU
Poliamida	Metanol / Água 4 : 1	NEU
Sílica Gel G	n – Hexano / Acetato de Etila 85 : 15	Vanilina sulfúrica
Sílica Gel G	n – Hexano / Acetato de Etila 93 : 7	Vanilina sulfúrica
Sílica Gel G	n – Hexano / Acetato de Etila / Éter 85 : 15 : 0,5	Vanilina sulfúrica
Sílica Gel G	n – Hexano / Acetato Etila 85 : 15	Vanilina sulfúrica
Sílica Gel G	Tolueno / Acetato de Etila 90 : 1	Vanilina sulfúrica
Sílica Gel G	Tolueno / Acetato de Etila 93 : 7	Vanilina sulfúrica
Sílica Gel G	Tolueno / Acetato de Etila / Ácido Acético 18 : 2 : 1	Vanilina sulfúrica

\* NEU = Narturstoff

Tendo-se selecionado as fases e reveladores procedeu-se aos testes das frações obtidas durante os métodos de extração (TABELA 02).

TABELA 02 – FASES, REVELADORES E FRAÇÕES TESTADAS

Continua

FASE MÓVEL	REVELADOR	FRAÇÕES TESTADAS
Acetona / Água 1 : 1	NEU	Todas do F3MeOH
Acetato de Etila / Metanol / Água 100 : 13,5 : 10	NEU	Todas do F3MeOH
Acetona / Butanol / Água 10 : 10 : 5	NEU	F2EtOH pl fresca, F2H <sub>2</sub> O, F2EtOH, F2MeOH, F3, F3EtOH pl fresca, F3 EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3MeOH, F4', F4, F4EtOH, F4EtOH pl fresca, F4H <sub>2</sub> O, F4MeOH, resíduo da retirada do F1 Todas do F3MeOH
Ácido Acético 5%	Amônia	F3MeOH, F4MeOH, F5MeOH Todas do F3MeOH
Ácido Acético 10%	Amônia	F3H <sub>2</sub> O, F3EtOH pl fresca, F3EtOH, F3MeOH, F4', F4, F4 resíduo do BuOH em MeOH, F4H <sub>2</sub> O, F4EtOH pl fresca, F4EtOH, F4MeOH, F5, F5H <sub>2</sub> O, F5EtOH pl fresca, F5EtOH, F5MeOH, F6 Todas do F3MeOH
Ácido Acético 15%	Amônia	F3MeOH, F4MeOH, F5MeOH Todas do F3MeOH
Ácido Acético 20%	Amônia	F3H <sub>2</sub> O, F3EtOH pl fresca, F3EtOH, F3MeOH, F4', F4, F4 resíduo do BuOH em MeOH, F4H <sub>2</sub> O, F4EtOH pl fresca, F4EtOH, F4MeOH Todas do F3MeOH
Ácido Acético 25%	Amônia	F3H <sub>2</sub> O, F3EtOH pl fresca, F3EtOH, F3MeOH, F4', F4, F4 resíduo do BuOH em MeOH, F4H <sub>2</sub> O, F4EtOH pl fresca, F4EtOH, F4MeOH Todas do F3MeOH
Ácido Acético 40%	Amônia	Todas do F3MeOH
Butanol / Acetato de Etila / Água 4 : 1 : 5 Fase superior * Fase inferior	NEU	F2, F3, F3EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3EtOH pl fresca, F3MeOH F4, F4', F4EtOH, F4H <sub>2</sub> O, F4EtOH pl fresca, F4MeOH F5H <sub>2</sub> O, F5EtOH, F6, F5EtOH pl fresca, F5MeOH Todas do F3MeOH

Continuação

FASE MÓVEL	REVELADOR	FRAÇÕES TESTADAS
Butanol / Água / Metanol 70 : 20 : 5	NEU	F3, F3EtOH pl fresca, F3 EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F4EtOH, F5, F4H <sub>2</sub> O
Butanol / Etanol / Água 40 : 10 : 50 Fase superior * Fase inferior	NEU	Resíduo da retirada do F1 em n-hexano, F2, F3, F4, F4', F5, EtOH pl. fresca ressuspendido em EtOH, papel de filtro n-Hexano em MeOH, papel de filtro MeOH em MeOH, papel de filtro n-hexano em EtOH, resíduo do MeOH dissolvido em água quente F2EtOH pl fresca, F2H <sub>2</sub> O, F2EtOH, F2MeOH, F3, F3EtOH pl fresca, F3EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3MeOH, F4', F4, F4EtOH, F4EtOH pl fresca, F4H <sub>2</sub> O, F4MeOH, F4BuOH em MeOH, F6, F5, F5EtOH, F5EtOH pl fresca, F5H <sub>2</sub> O, F5MeOH F1- EtOH, F1- H <sub>2</sub> O, F1- EtOH pl. fresca, F1 (91,3-91,35), F1- MeOH, n-hexano Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Acetona / Ácido Fórmico 7 : 2 : 1	NEU	
Clorofórmio / Acetona / Ácido Fórmico 70 : 17 : 9	NEU	Papel de filtro MeOH em MeOH, F1MeOH, F2MeOH, F3MeOH, F4MeOH, F5MeOH
Clorofórmio / Acetona / Ácido Fórmico 75 : 16,5 : 1	NEU	F1MeOH, F2MeOH, F3MeOH, F4MeOH, F5MeOH Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Etanol / Água 4 : 1 : 5 Fase superior e Fase inferior *	NEU	F3, F3EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3EtOH pl fresca, F3MeOH F4, F4', F4EtOH, F4H <sub>2</sub> O, F4EtOH pl fresca, F4MeOH F5H <sub>2</sub> O, F5EtOH, F6, F5EtOH pl fresca, F5MeOH Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Metanol 7 : 3	NEU	F1, F2, F3, F4', F5
Clorofórmio / Metanol 85 : 15	NEU	F1, F2, F3, F4', F5 Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Metanol 90 : 1	NEU	Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Metanol 92 : 8	NEU	F1, F2, F3, F4', F5 Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Metanol 98 : 2	NEU	F1, F2, F3, F4', F5 Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Metanol / Água 5 : 25 : 4	NEU	Todas do F3MeOH
Clorofórmio / Metanol / Ácido Fórmico 80 : 2 : 1	NEU	

Continuação

FASE MÓVEL	REVELADOR	FRAÇÕES TESTADAS
Clorofórmio / Metanol / Água 65 : 25 : 4	NEU	F1- EtOH, F1- H <sub>2</sub> O, F1- EtOH pl. fresca, F1 (91,3-91,35), F1- MeOH, n-hexano, F2EtOH pl fresca, F2H <sub>2</sub> O, F2EtOH, F2MeOH, F3, F3EtOH pl fresca, F3 EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3MeOH, F4', F4, F4EtOH, F4EtOH pl fresca, F4H <sub>2</sub> O, F4MeOH, F4BuOH em MeOH, F6, F5, F5EtOH, F5EtOH pl fresca, F5H <sub>2</sub> O, F5MeOH EtOH pl. fresca ressuspendido em EtOH, papel de filtro n-Hexano em MeOH, papel de filtro MeOH em MeOH, papel de filtro n-hexano em EtOH, resíduo do MeOH dissolvido em água quente
Clorofórmio / Metanol / Butan-2-one 12 : 2 : 1	NEU	Todas do F3MeOH
Isopropanol / Água 3 : 2	NEU	Todas do F3MeOH
Metanol / Ácido Acético / Água 90 : 5 : 5	NEU	Todas do F3MeOH
Metanol / Água 4 : 1	NEU	Todas do F3MeOH
n – Hexano / Acetato de Etila 85 : 15	Vanilina sulfúrica	Frações de coleta do óleo essencial (n-hexano, éter etílico, etanol) e resíduo etanol F1- EtOH, F1- H <sub>2</sub> O, F1- EtOH pl. fresca, F1 (91,3-91,35), F1- MeOH, n-hexano
n – Hexano / Acetato de Etila 93 : 7	Vanilina sulfúrica	F1, F2, F3, F4', F5 F1H <sub>2</sub> O, F2H <sub>2</sub> O Todas do F3MeOH
n – Hexano / Acetato de Etila / Éter 85 : 15 : 0,5	Vanilina sulfúrica	F1- EtOH, F1- H <sub>2</sub> O, F1- EtOH pl. fresca, F1 (91,3-91,35), F1 MeOH, n-hexano Todas do F3MeOH
n – Hexano / Acetato Etila 85: 15	Vanilina sulfúrica	F1- EtOH, F1- H <sub>2</sub> O, F1- EtOH pl. fresca, F1 (91,3-91,35), F1 – MeOH, n-Hexano
Tolueno / Acetato de Etila 90 : 1	Vanilina sulfúrica	F2EtOH pl fresca, F2H <sub>2</sub> O, F2EtOH, F2MeOH, F3, F3EtOH pl fresca, F3 EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3MeOH, F4', F4, F4EtOH, F4EtOH pl fresca, F4H <sub>2</sub> O, F4MeOH, resíduo da retirada do F1 Todas do F3MeOH

		Conclusão
FASE MÓVEL	REVELADOR	FRAÇÕES TESTADAS
Tolueno / Acetato de Etila 93: 7	Vanilina sulfúrica	Frações de coleta do óleo essencial (n-hexano, éter etílico, etanol) e resíduo etanol F2EtOH pl fresca, F2H <sub>2</sub> O, F2EtOH, F2MeOH, F3, F3EtOH pl fresca, F3 EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3MeOH, F4', F4, F4EtOH, F4EtOH pl fresca, F4H <sub>2</sub> O, F4MeOH, resíduo da retirada do F1 F1, F2, F3, F4, F4', F5 F1- EtOH, F1- H <sub>2</sub> O, F1- EtOH pl. fresca, F1 (91,3-91,35), F1- MeOH, n-hexano
Tolueno / Acetato de Etila / Ácido Acético 18 : 2 : 1	Vanilina sulfúrica	F3, F3EtOH pl fresca, F3 EtOH, F3H <sub>2</sub> O, F3MeOH, F4', F4, F4EtOH, F4EtOH pl fresca, F4H <sub>2</sub> O, F4MeOH

\* NEU = Narturstoff

3.2.4.1 Reveladores para as Cromatoplas (GUENTHER, 1950; STAHL, 1969; MABRY, 1970 e WAGNER, 1996)

Para os compostos fenólicos foi utilizado como revelador o Reativo de NEU (Narturstoff) (nebuliza-se a placa e observa-se na câmara de luz ultravioleta (U.V.) a 365 nm).

Para os esteróides e terpenos foram utilizados como reveladores o anisaldeído sulfúrico (nebuliza-se a placa e deixa-se na estufa a 110°C durante 5 a 10 minutos); e vanilina sulfúrica (nebuliza-se a placa e deixa-se na estufa a 100°C durante 5 a 10 minutos).

3.2.5 Cromatografia Gasosa Acoplada a um Detector de Massas - CGMS (CIOLA, 1973; PACHALY, 1983; SILVERSTEIN, BASSLER e MORRIL, 1987; COLLINS, BRAGA e BONATO, 1990)

Injetaram-se as amostras de óleo essencial das folhas de *C. xanthocarpa* no cromatógrafo a gás HP5890A acoplado ao detector de massas HP5970 Series e Computador Vectra XM série 4/5/133 com biblioteca Wiley-Windows.

Injetou-se a amostra associada a um padrão de 25 alcanos com tempos de retenção conhecidos. Obteve-se o cromatograma e a pesquisa a partir dos 20 mais

prováveis dos dados do Wiley-Windows para os componentes, foram calculados os índices de retenção e retenção relativa através de equação de Van Der Dool e Kovatz, que comparado com os dados da literatura e espectros de massas, tornou possível a identificação de uma série de compostos dos óleos essenciais (ADAMS,1995).

### 3.2.6 Equipamentos Utilizados

- Espectrofotômetro ultravioleta Shimadzu UV1601 com impressora Citizen 200 GX;

- cromatógrafo a gás HP5890A com coluna capilar de metil silicona do tipo PONA, com 50m X 0,2mm X 0,5 $\mu$ m de filme líquido, com injetor do tipo Split/splitless. FID, He, H e AR sintético.

- câmara de luz ultravioleta de 254 e 360 nm;

- evaporador rotatório com válvula para vácuo, modelo Fisatom acoplado a um banho-maria;

- balança Mettler;

- balança analítica Mettler;

- deionizador de água, modelo Permutation;

- banho-maria Ética equipamentos científicos S.A.;

- estufa Soc. Fabbe Ltda & Fanem Ltda.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ESTUDOS BOTÂNICOS

#### 4.1.1 Caracteres Morfológicos

*Campomanesia xanthocarpa* Berg é uma árvore de aproximadamente 5m de altura (FIGURA 02).

Caule de coloração acinzentada, tortuoso, com caneluras e casca descamante, fissuras leves, estreitas e pouco profundas, com um diâmetro de aproximadamente 50cm, esgalhamento tortuoso e copa arredondada densa (FIGURA 02 e 04).

A folha da *Campomanesia xanthocarpa* Berg de coloração verde-clara possui lâmina simétrica, forma obovada, com ápice agudo, base aguda, cuneada, margem inteira, de textura membranácea enquanto jovem e coriácea na fase adulta; de pecíolo normal; com glândulas no pecíolo e na lâmina (FIGURA 01 e 05).

As flores de coloração branca ou creme-esbranquiçado são axilares, dispostas em pedúnculos opostos, solitários, unifloros (FIGURA 01 e 05), que ocorrem durante os meses de setembro, outubro e novembro (FIGURA 03).

O fruto é uma baga glabra, verde-amarelada de 1-2cm de diâmetro, polpa suculenta, envolvendo inúmeras sementes. Os frutos amadurecem a partir do final do mês de outubro e é encontrado até final de dezembro início de janeiro (FIGURA 01 e 11).



FIGURA 01 - Detalhe de ramo florido (A), flor (B), fruto (C) e fruto seccionado transversalmente (D) de *Campomanesia xanthocarpa* Berg



FIGURA 02 - *Campomanesia xanthocarpa* Berg em habitat natural, no local de coleta



FIGURA 03 - Detalhe de ramo florido de *C. xanthocarpa* Berg em habitat natural, no local de coleta

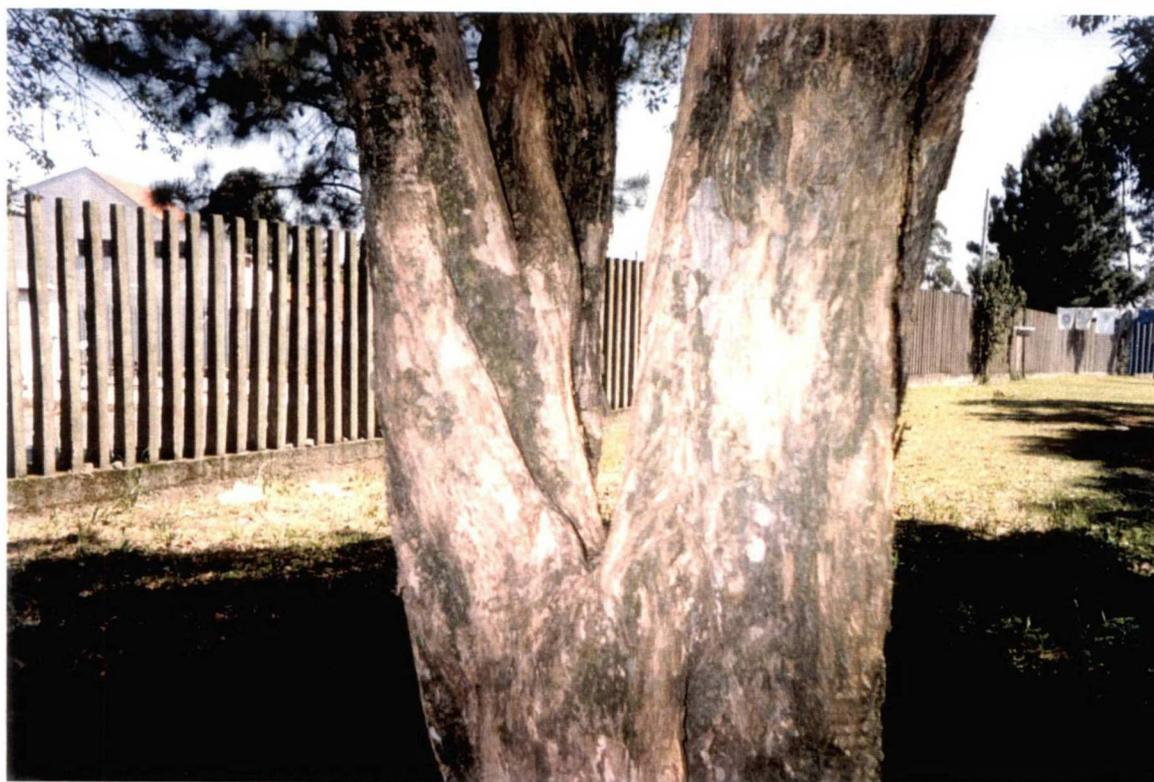


FIGURA 04 - Detalhe do tronco de *C. xanthocarpa* Berg em habitat natural, no local de coleta



FIGURA 05 - Detalhe de ramo florido de *C. xanthocarpa* Berg

#### 4.1.2 Caracteres Anatômicos

Em vista frontal, a epiderme da face adaxial e abaxial revelam células poligonais, com paredes anticlinais levemente sinuosas (FIGURA 06, 07 e 22)

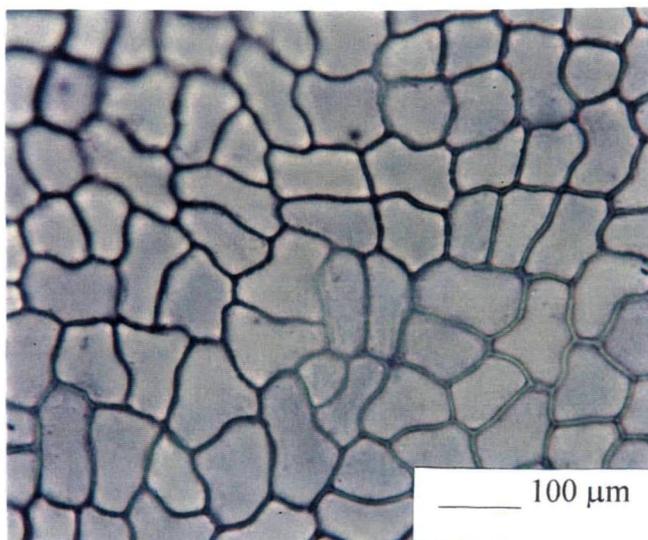


FIGURA 06 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face adaxial. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina, em lâmina semipermanente

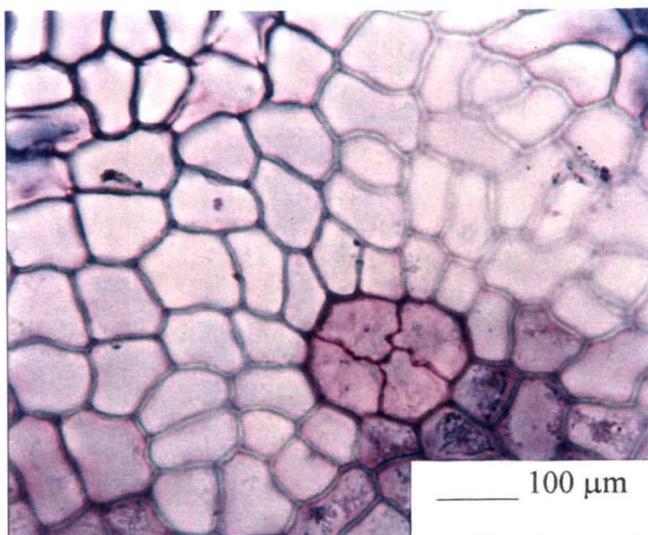


FIGURA 07 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face adaxial evidenciando uma glândula. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina, em lâmina semipermanente

Estrias cuticulares se fazem presentes na face adaxial da folha. Essas são irregulares, dispendo-se em vários sentidos sobre a lâmina (FIGURA 08).

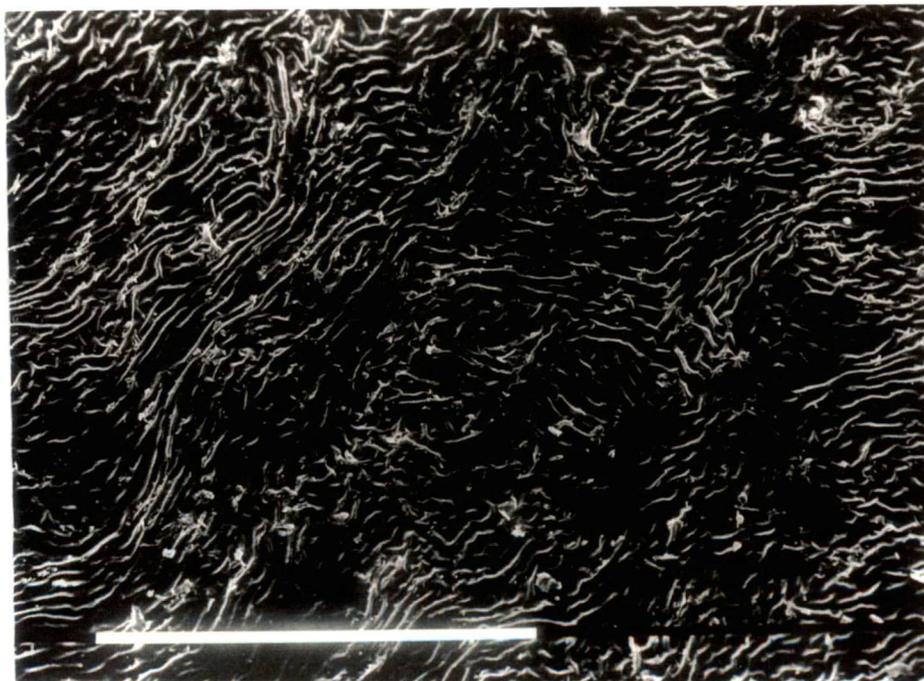


FIGURA 08 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face adaxial, visualizando as estrias cuticulares. Escala = 0,1mm

As glândulas são visíveis no limbo como pontos translúcidos de cor amarelada ou acastanhada o que segundo MACVAUGH (1963), METCALFE (1965) e LEGRAND (1977) são características da família Myrtaceae. Essas, também são visíveis por todo o fruto, bem como nas pétalas (FIGURA 09, 10, 11, 15 e 19). Os tricomas tectores unicelulares são visualizados na face abaxial, ao longo de todas as nervuras e não somente nas axilas (CORRÊA, 1984) (FIGURA 12 e 13).

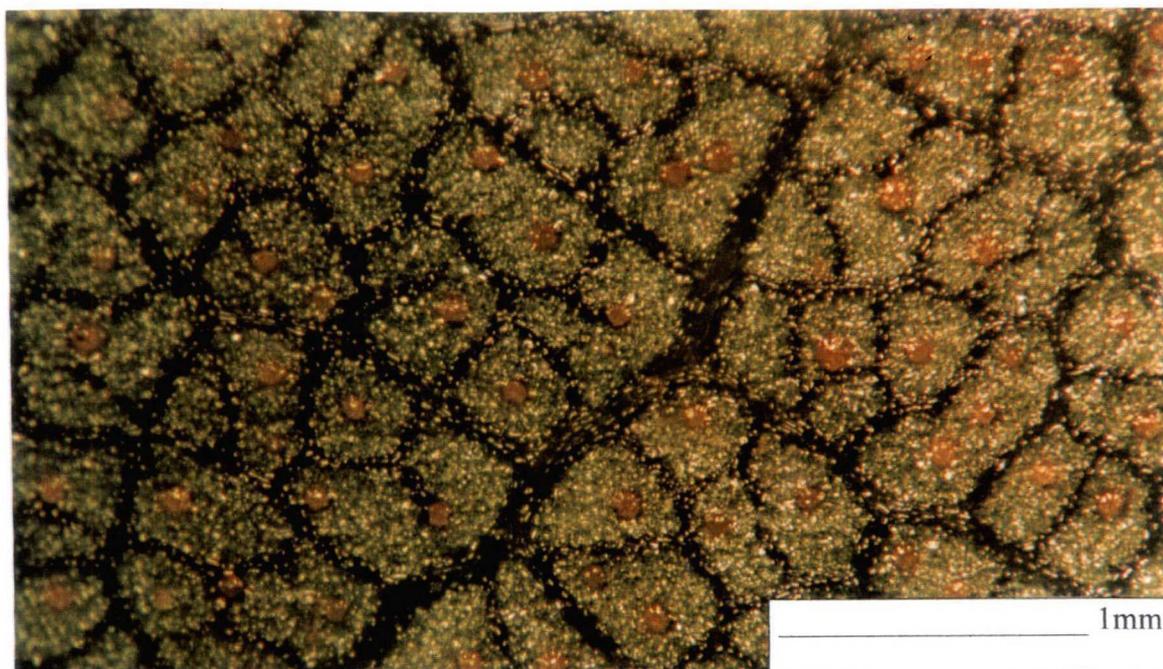


FIGURA 09 – Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Detalhe da epiderme da face abaxial, vista em lupa, destacando a presença das glândulas



FIGURA 10 - Detalhe do botão floral de *C. xanthocarpa* Berg destacando a presença das glândulas. Escala = 1mm

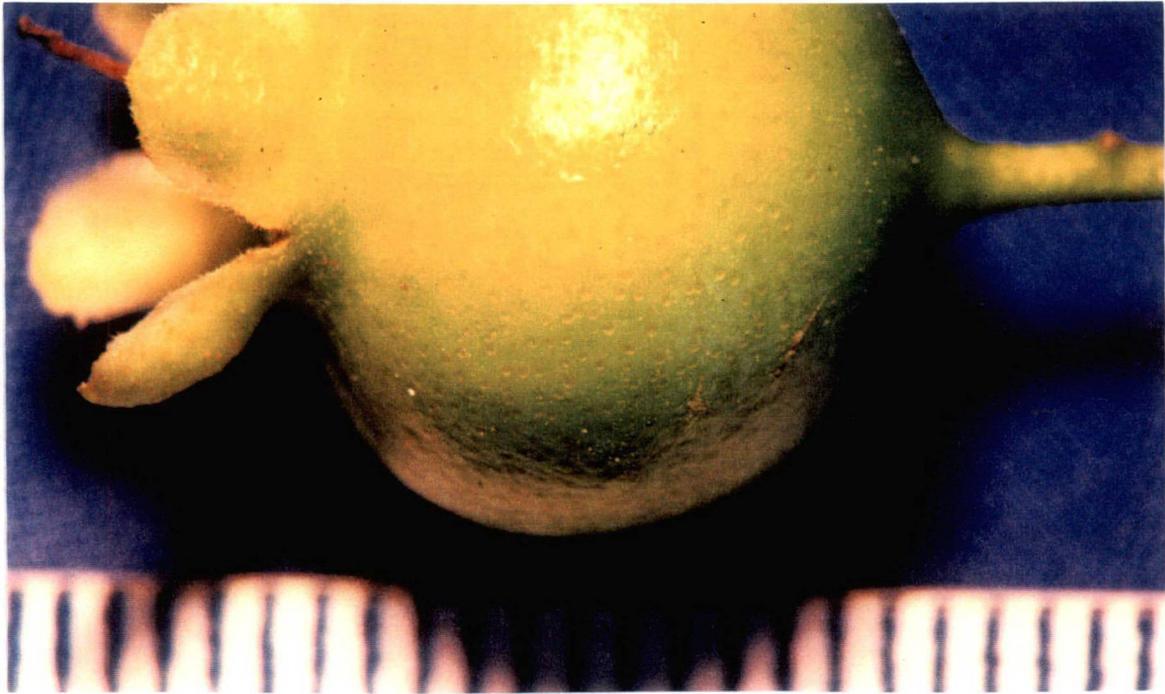


FIGURA 11 - Detalhe do fruto de *C. xanthocarpa* Berg destacando a presença das glândulas. Escala = 1mm

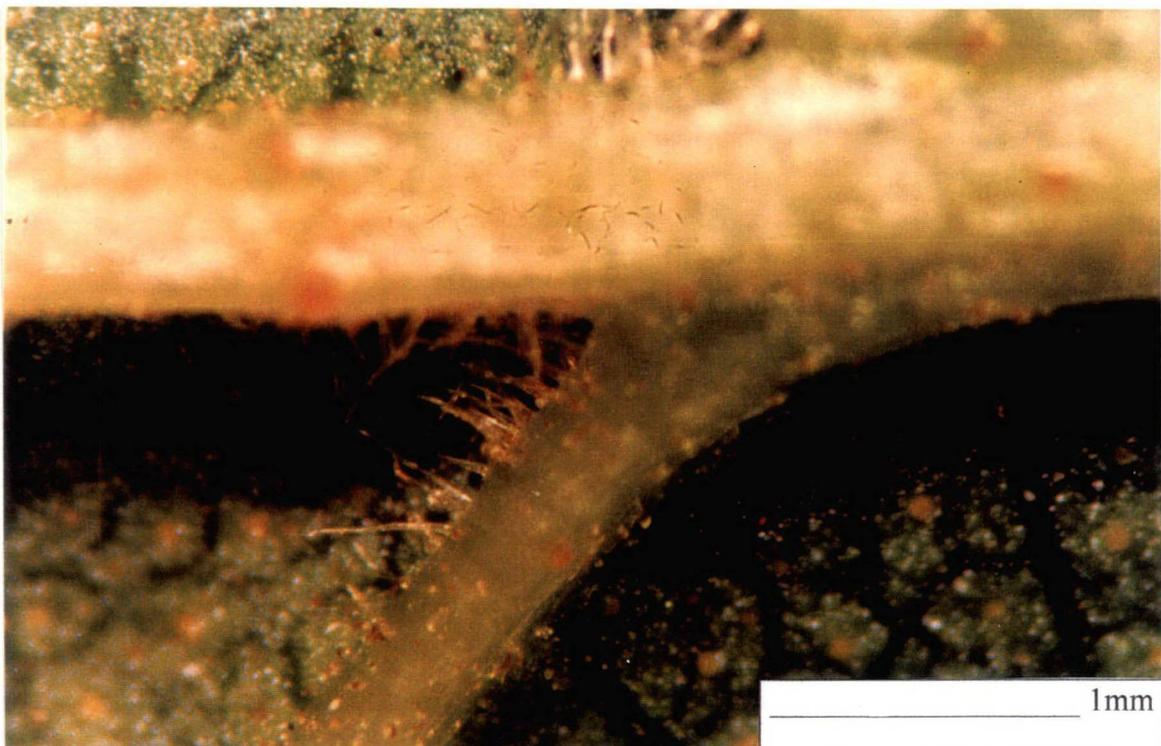


FIGURA 12 – Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme abaxial, em lupa, destacando a presença de tricomas nas axilas e ao longo das nervuras

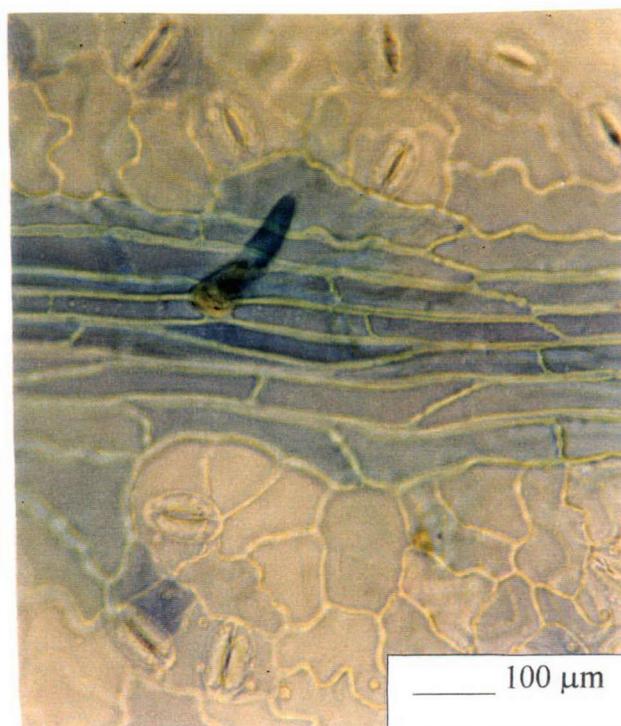


FIGURA 13 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, detalhe de um tricoma sobre a nervura. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente

Em secção transversal da folha, a epiderme revela-se em um único estrato de células (FIGURA 16, 17 e 18) revestidas por uma espessa cutícula (FIGURA 26 e 27). O mesofilo é diferenciado em parênquima paliçádico e parênquima lacunoso, caracterizando-se como dorsiventral segundo ESAU (1985) e CUTTER (1986). O parênquima paliçádico é uniestratificado, podendo apresentar-se biestratificado próximo à nervura principal, suas células estão conectadas às células do parênquima lacunoso por meio de células coletoras (FIGURA 16, 17 e 18)

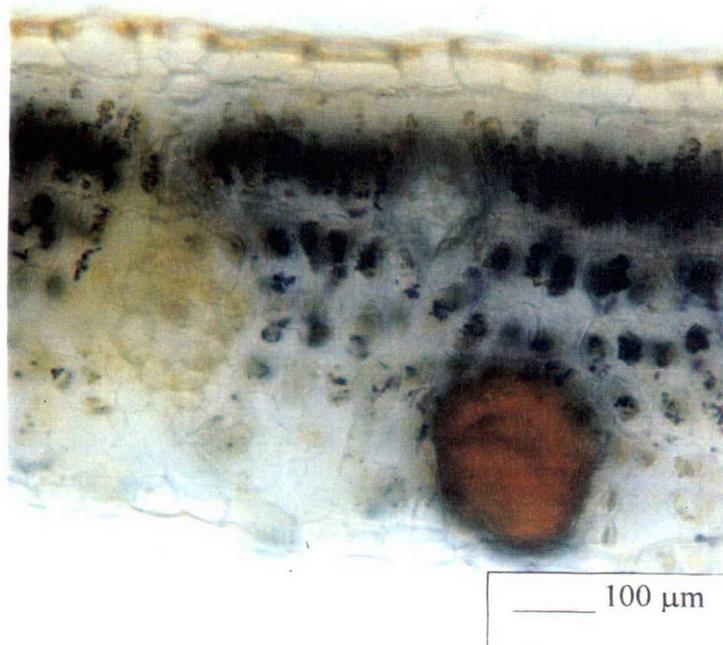


FIGURA 14 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal, à mão livre, do mesofilo, teste microquímico com Lugol em lâmina semipermanente

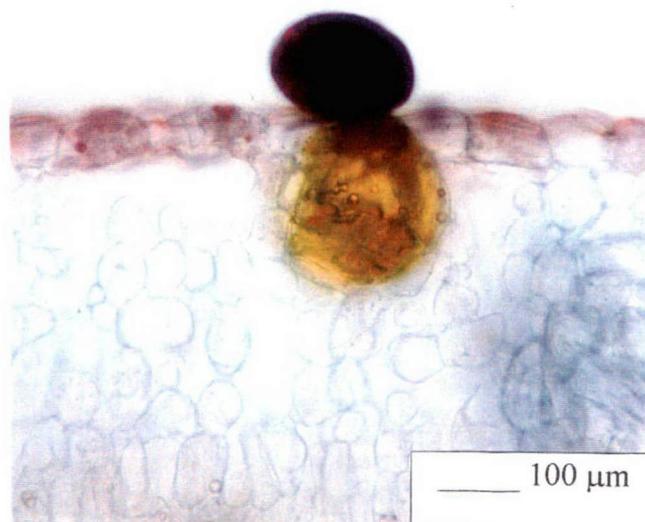


FIGURA 15 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal, à mão livre, evidenciando a cutícula, mesofilo e glândula contendo óleo, teste microquímico com Sudam III em lâmina semipermanente

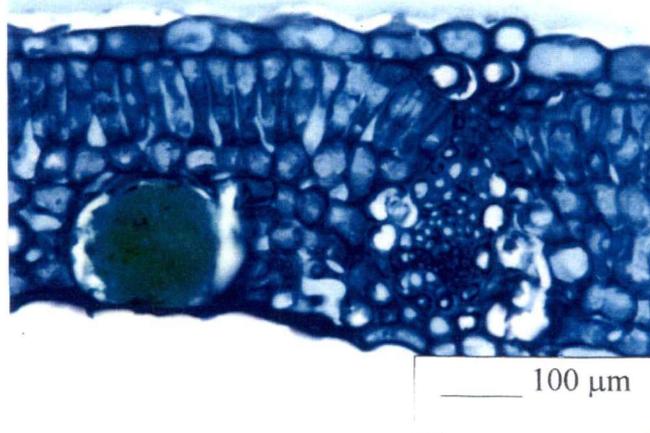


FIGURA 16 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal do limbo. Lâmina permanente em historesina corada com Azul de Toluidina

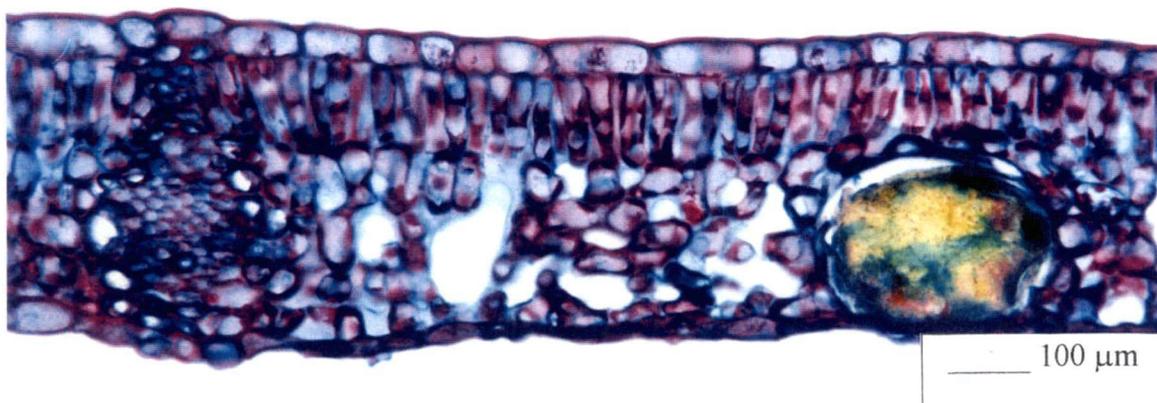


FIGURA 17 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal do limbo. Lâmina permanente em historesina corada com Fucsina Básica e Azul de Astra

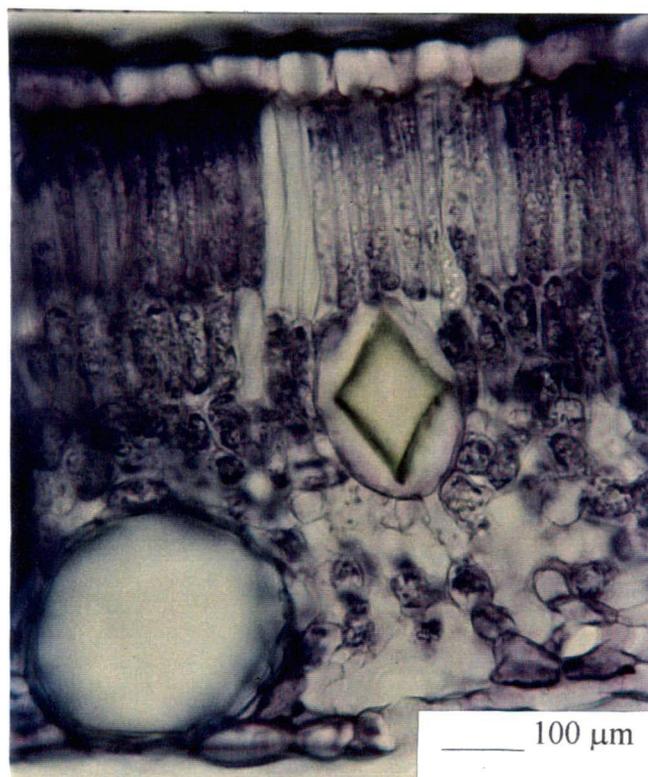


FIGURA 18 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal do limbo evidenciando uma glândula e um idioblasto contendo um cristal prismático. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente

O parênquima lacunoso é constituído de 4-5 estratos de células de diferentes formatos, dispostas irregularmente (FIGURA 16, 17 e 18)

As glândulas contendo óleos essenciais ocorrem em toda a extensão do mesófilo, o que segundo MACVAUGH (1963) é característico da família (FIGURA 15, 16, 17 e 18)

O conteúdo glandular é representado por vários componentes, dentre eles, óleos, fenóis, mucilagem, confirmando os dados constatados por FAHN (1979) e BUVAT (1989) para esta espécie (FIGURA 17 e 19).

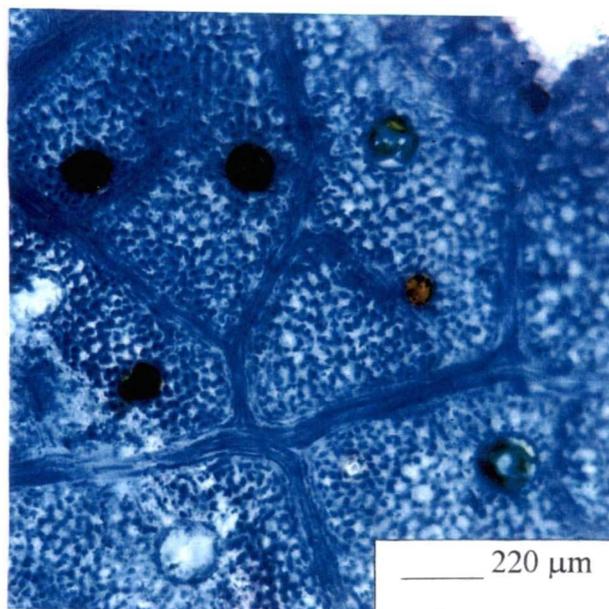


FIGURA 19 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial destacando as glândulas. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente

As nervuras de médio porte, em secção transversal, apresentam extensão de bainha esclerificada, com xilema voltado para a face adaxial e floema em posição oposta (FIGURA 16 e 17)

O sistema vascular da nervura principal revela um único feixe com o xilema formando um semi-arco voltado em direção à face adaxial e circundado pelo floema (FIGURA 20 e 21)

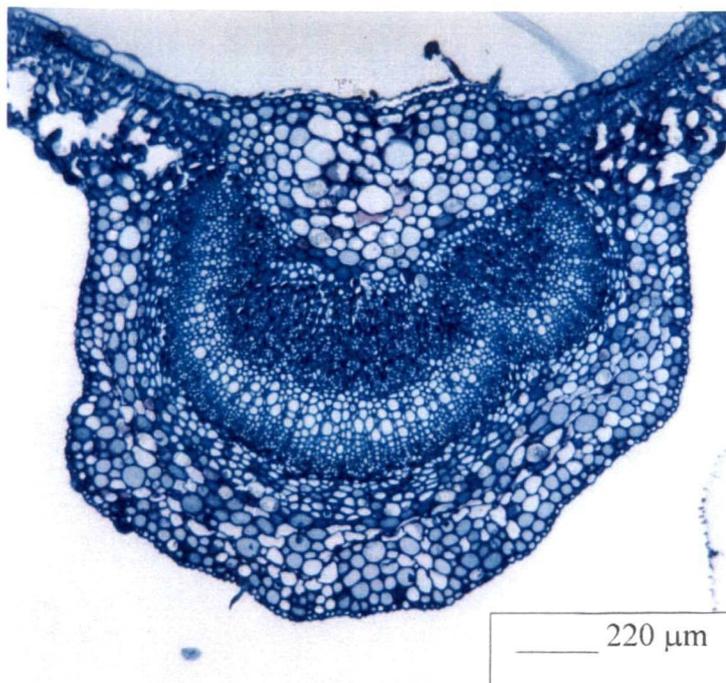


FIGURA 20 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal da nervura principal. Lâmina permanente, corada com Azul de Toluidina, emblocada em historesina

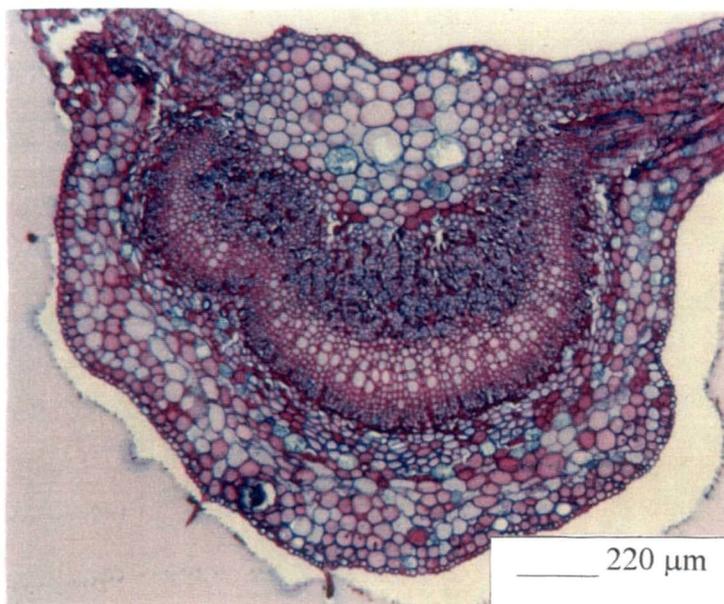


FIGURA 21 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal da nervura principal. Lâmina permanente corada com Fucsina Básica e Azul de Astra, emblocada em historesina

Os estômatos, presentes apenas na face abaxial, caracterizam a folha como hipoestomática. Esses são principalmente do tipo paracítico ou anisocítico e anomocítico menos frequentemente. Ocorrem também alguns estômatos gigantes, que segundo METCALFE (1979) podem estar associados à eliminação de água (FIGURA 22, 23 e 24)

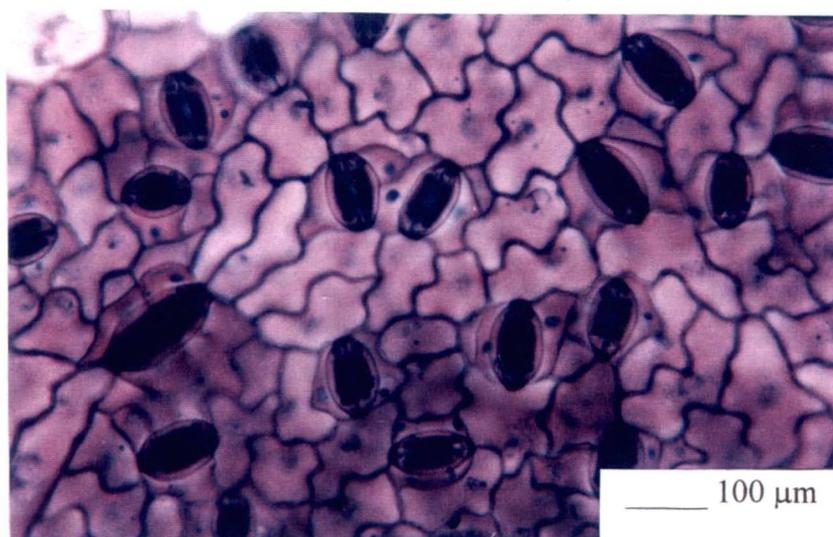


FIGURA 22 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando os estômatos do tipo paracítico, anisocítico e anomocítico. Secção à mão livre, corada com Azul de Toluidina em lâmina semipermanente



FIGURA 23 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando os estômatos. Escala = 10 $\mu$ m

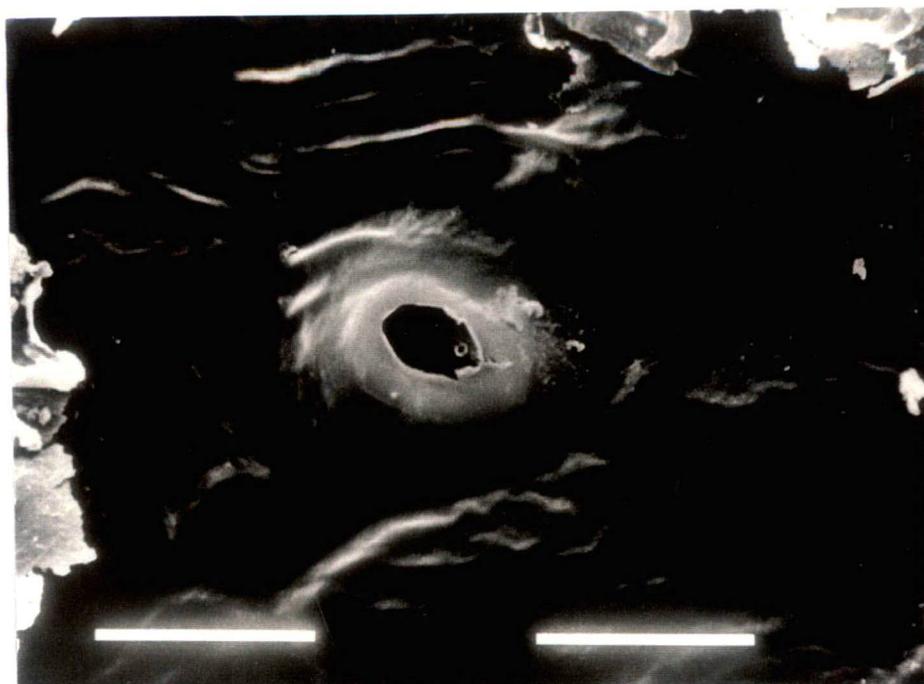


FIGURA 24 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Vista frontal da epiderme da face abaxial, destacando um estômato. Escala = 10 $\mu$ m

Os idioblastos contendo compostos fenólicos ocorrem principalmente na região do xilema. Idioblastos contendo taninos também na região do xilema. Amiloplastos são freqüentes no parênquima clorofiliano, bem como, lipídios, tanto no conteúdo glandular, como, na região da cutícula. Observam-se também idioblastos contendo cristal prismático que ocorrem isoladamente no mesofilo ou em agrupamentos nas nervuras principais (FIGURA 14, 15, 18, 25, 26, 27 e 28).

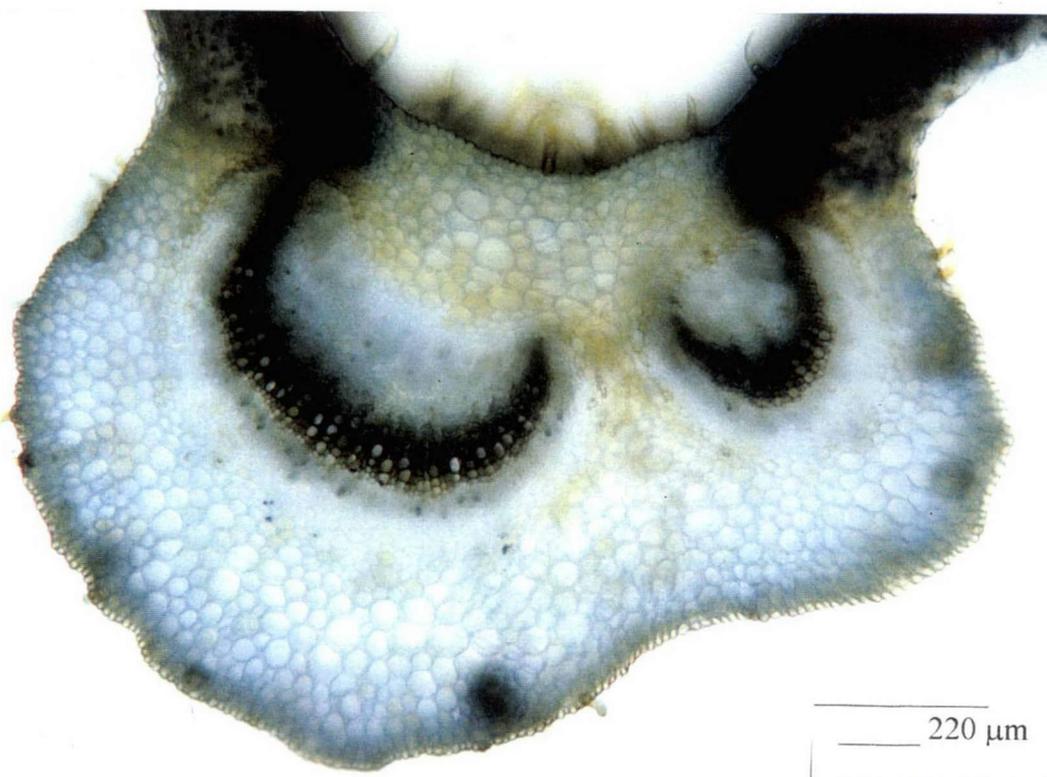


FIGURA 25 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal da nervura principal. Secção à mão livre, teste microquímico com Lugol em lâmina semipermanente



FIGURA 26 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal evidenciando a cutícula, mesofilo e glândula contendo óleo. Secção à mão livre, teste microquímico com Sudam III em lâmina semipermanente

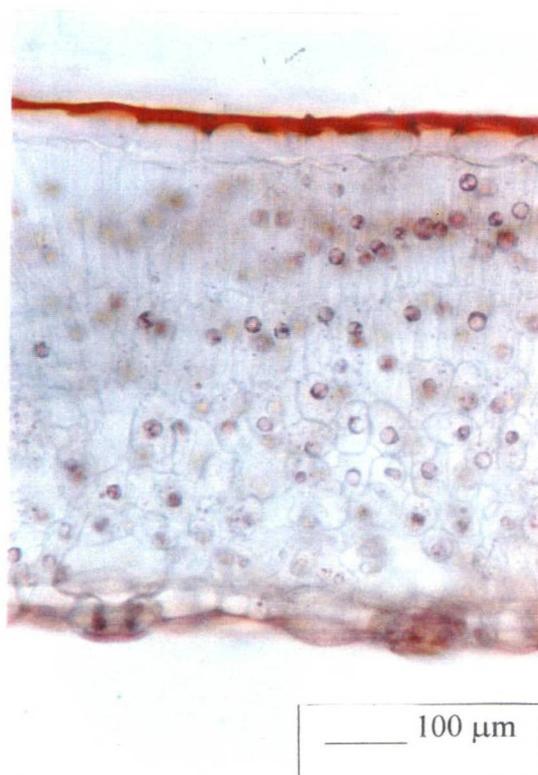


FIGURA 27 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal evidenciando a cutícula e o mesofilo. Secção à mão livre, teste microquímico com Sudam III em lâmina semipermanente

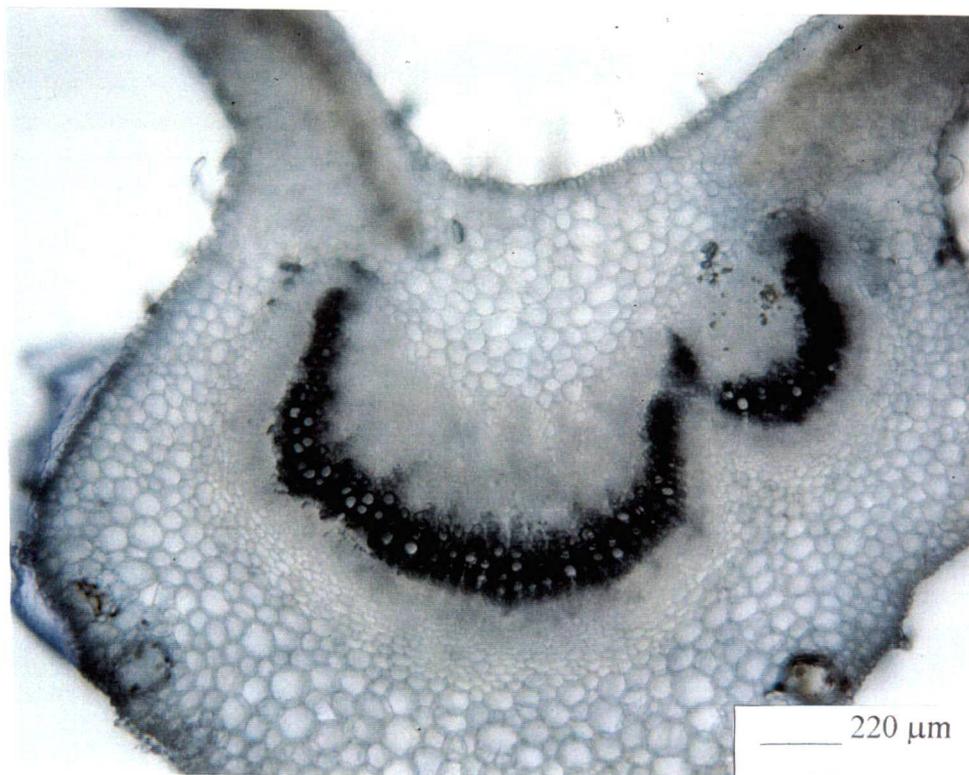


FIGURA 28 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Secção transversal da nervura principal, à mão livre, teste microquímico com Cloreto Férrico em lâmina semipermanente

Com a técnica de diafanização e dissociação de tecidos (FRANKLIN, 1946), observa-se que a venação foliar da espécie em estudo é do tipo penínérvea, camptódroma, broquidódroma segundo a classificação de HICKEY (1974) (FIGURA 29)

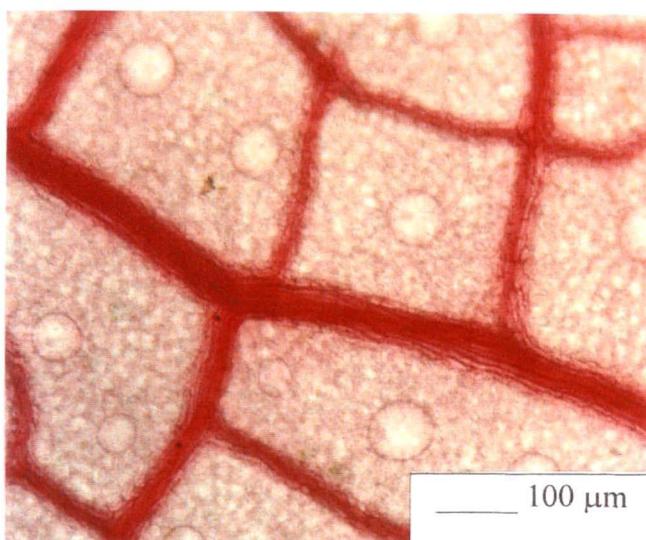


FIGURA 29 - Folha de *C. xanthocarpa* Berg. Diafanizada pela técnica de FRANKLIN (1946) em lâmina permanente corada com Safranina 1%

## 4.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS

### 4.2.1 Marcha Sistemática Fitoquímica

O conhecimento prévio dos componentes químicos encontrados na planta fez-se necessário através de ensaios preliminares, tanto no extrato hidroalcoólico quanto no aquoso. A marcha sistemática fitoquímica forneceu a relação dos principais metabólitos presentes na planta, sendo esta informação preliminar muito importante, pois em se detectando a presença de um grupo químico de interesse, as atitudes a serem tomadas podem ser direcionadas para análises posteriores (TABELA 03).

TABELA 3 - RESULTADOS OBTIDOS ATRAVÉS DA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS PRELIMINARES E A MARCHA SISTEMÁTICA DE ANÁLISE FITOQUÍMICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO E AQUOSO

<b>ENSAIOS PRELIMINARES: EXTRATO HIDROALCOÓLICO 20%</b>	
Análise Organoléptica:	
Cor	Verde-acastanhado
Odor	Adocicado
Sabor	Não definido por causa do álcool
pH	5,5
Resíduo seco	3,2815g%
Pesquisa de Alcalóides	Negativo
Pesquisa de Heterosídeos Flavônicos	Positivo
Pesquisa de Esteróides ou Triterpenos	Positivo
Pesquisa de Heterosídeos Antraquinônicos	Positivo
Pesquisa de Cumarinas	Negativo
Pesquisa de Amino grupos	Positivo
<b>ENSAIOS PRELIMINARES: EXTRATO AQUOSO 20%</b>	
Análise Organoléptica:	
Cor	Castanho
Odor	Erva mate
Sabor	Amargo
pH	5,0
Resíduo seco	2,8295g%
Pesquisa de Heterosídeos Antociânicos	Positivo
Pesquisa de Heterosídeos Saponínicos	Positivo
Pesquisa de Heterosídeos Cianogenéticos	Negativo
Pesquisa de Amino grupos	Positivo
Ácidos Fixos	Positivo
Taninos	Positivo
Ácidos Voláteis	pH 6,0

#### 4.2.2 Extração do Óleo Essencial de Folhas Secas e Estabilizadas, e de Folhas Frescas

Na extração do óleo essencial das folhas secas obteve-se um rendimento de 0,20ml%, de coloração amarelo-esverdeada (cítrico) e odor agradável.

Na extração do óleo essencial das folhas frescas obteve-se um rendimento de 0,05ml% de coloração amarelo-esverdeada (cítrico) também de odor agradável.

Segundo LIMBERGER et al. (2001) utilizando folhas secas de *C. xanthocarpa*, coletada em Porto Alegre (RS) obteve um rendimento de 0,2%, o que mostra o mesmo resultado, também obtido por hidrodestilação.

Na TABELA 04 foram representados os dados referentes ao óleo essencial identificado por CG/MS e os dados encontrados por LIMBERGER, et al. (2001) fazendo-se um comparativo percentual dos dados.

TABELA 04 – COMPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

<b>COMPOSTO IDENTIFICADO</b>	<b>LIMBERGER, et al. (2001)</b>	<b>MÉDIA DOS COMPOSTOS DAS 4 AMOSTRAS ANALISADAS</b>	<b>% DE VARIAÇÃO ENTRE LIMBERGER E AS MÉDIAS</b>
Spathulenol	9,9%	7,39%	-25,35%
Globulol	6,2%	2,94%	-52,58%
Epi-globulol	2,0%	0,88%	-56,00%
Linalol	17,2%	4,24%	-75,35%
$\beta$ -Caryophyllene	0,6%	1,77%	+195%
T-cadinol	0,9%	0,85%	-5,56%
$\alpha$ -cadinol	1,4%	1,50%	+7,14%

A grande diversidade de compostos presentes nas amostras de óleo essencial, com a diversidade de usos a eles determinados (HARBORNE, et al. 1999), sugere que estes interagem entre si para promover o efeito medicinal da *C. xanthocarpa*, uma vez que, ainda, não se pode afirmar que apenas um determinado composto isolado é o responsável pelo uso terapêutico (BRUNETON, 1991) (TABELA 5).

TABELA 5 – ALGUNS COMPOSTOS IDENTIFICADOS, SUAS CLASSIFICAÇÕES QUÍMICAS E USOS

Continua

Composto químico	Classificação química	Massa atômica	Fórmula molecular	Utilização
Hexadecanoic acid (ácido palmítico)	Ácido longo	256,43	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Lubrificantes e agentes emulsionante; usado na manufatura de resina e como ingrediente de óleos secantes e sabões
Phytol	Diterpeno	296,54	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	Preparação da vitamina E e K <sub>1</sub>
Alpha-pinene	Monoterpeno	136,24	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Irritante, pode causar erupções cutâneas, delírio, ataxia e desencadear danos. Usados na manufatura de cânfora, inseticidas, bases de perfumes e óleo de pinho sintético
Alpha-Terpineol	Monoterpeno	154,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Atividade anti-séptica; usado em perfumes e como flavorizante
Beta-pinene	Monoterpeno	136,24	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Irritante, pode causar erupções cutâneas, delírio, ataxia e desencadear danos. Usados na manufatura de cânfora, inseticidas, bases de perfumes e óleo de pinho sintético
Camphene	Monoterpeno	136,24	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Redução do colesterol. Saturação do índice no tratamento de pedras na vesícula biliar
Endo-borneol	Monoterpeno	154,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Manufatura de seus ésteres; borneol livre usado em perfumes. Tóxico para mamíferos (afeta sistema nervoso central)
Geraniol	Monoterpeno	154,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Atividade anti-séptica (7 vezes mais forte que o fenol); tem odor doce de rosa, é usado na perfumaria e atração de inseto. Abelhas coletam geraniol das flores que visitam e usam como trilha de ferormônio
Limonene	Monoterpeno	136,24	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Irritante para a pele; atividade expectorante e sedativa. Flavorizante de alimentos e bebidas
Linalol	Monoterpeno	154,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Sedativo; atividade fungistática; anti-séptico (5 vezes mais forte que o fenol); é usado na síntese da vitamina A; na perfumaria como substituto da bergamota e óleos da lavanda francesa.
Myrcene	Monoterpeno	136,24	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Manufatura de perfumes químicos
Nerol	Monoterpeno	154,25	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Perfumaria (possui odor doce de rosa)

## Conclusão

Composto químico	Classificação química	Massa atômica	Fórmula molecular	Utilização
Para-cymene	Monoterpeno	134,22	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	Tóxico para mamíferos (DL <sub>50</sub> em ratos é de 4,75g/kg de peso corpóreo), é usado como analgésico local em casos de reumatismo
Alpha-copaene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Bálsamo de copaíba é carminativo; é usado em vernizes e papel fotográfico
Alpha-cubebene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Flavorizante
Alpha-humulene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Perfumaria
Alpha-ylangene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Óleo de ylang-ylang é usado em perfumaria
Beta-cadinene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Perfumaria
Beta-caryophyllene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Perfumaria
Beta-selinene	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	
Germacrene B	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	
Nerolidol	Sesquiterpeno	204,36	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Perfumaria (possui aroma de flores)
Spathulenol	Sesquiterpeno	220,35	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	Fungicida

#### 4.2.3 Extração dos Componentes por Solvente Orgânico (Concreto)

##### 4.2.3.1 Extração dos componentes através do n-hexano

Partindo-se de **880g** de folhas secas, estabilizadas e trituradas. Aplicando-se a técnica descrita no item 3.2 Estudos Fitoquímicos, obteve-se os resultados descritos na TABELA 6.

TABELA 6 - RESULTADOS DA EXTRAÇÃO POR n-HEXANO

FRAÇÃO	QUANTIDADE OBTIDA	OBSERVAÇÃO
Resíduo mole (concreto)	7,0g	
Óleo essencial obtido por hidrodestilação (6,35g do total de resíduo mole obtido)	0,3ml	Foi encaminhado para análise CG/MS

##### 4.2.3.2 Extração dos componentes através do metanol

As folhas que foram utilizadas na extração e esgotamento com n-hexano foram colocadas em banho-maria para isentá-las do solvente. As folhas então isentas de n-hexano foram pesadas (**744g**).

Aplicando-se a técnica descrita no item 3.2 Estudos Fitoquímicos, obteve-se os resultados descritos na TABELA 7.

TABELA 7 - RESULTADOS DA EXTRAÇÃO POR METANOL

FRAÇÃO	QUANTIDADE OBTIDA	IDENTIFICAÇÃO
Resíduo mole (concreto)	177,2g	
Material insolúvel	40,1735g	
Precipitado por n-hexano	76,0g	
n-Hexano	8,6983g	F1MeOH
Clorofórmio	0,6791g	F2MeOH
Acetato de etila	22,7719g	F3MeOH
n-Butanol	1,4163g	F4MeOH
Resíduo final da extração	35,6907g	F5MeOH
Precipitado por butanol	0,1g	

Por esta metodologia de extração, líquido-líquido, houve uma perda significativa de material insolúvel (50,1735g).

A fração acetato de etila (F3MeOH = 22,7719g), rica em polifenóis, está sendo trabalhada quanto ao isolamento dos compostos.

O óleo essencial extraído pelo solvente orgânico n-hexano foi encaminhado para análise CG/MS. Constatou-se que houve uma queda brusca no rendimento do óleo que passou de 0,2ml% para 0,035ml%.

#### 4.2.4 Densidade do Óleo

Foram feitas três determinações:

- $d_1=0,7916$
- $d_2=0,7663$
- $d_3=0,7931$

Considerando-se a densidade relativa média = 0,7836

#### 4.2.5 Índice de Refração

Para a determinação do índice de refração a temperatura ambiente era de 24°C, e o índice determinado foi de 1,445 (61,15%).

#### 4.2.6 Cromatografia em Camada Delgada

As várias frações isoladas foram comparadas através da CCD com os padrões Merck®, puros, de Quercetina, Rutina e Ácido Cafêico, confirmando assim a presença destes compostos nas diversas frações, segundo os Rf dos mesmos.

Dentre todas as fases móveis testadas (TABELA 02) a fase móvel n-Hexano/Acetato de Etila (85:15) foi a que demonstrou ser mais efetiva nas separações das frações do óleo essencial. As fases móveis Tolueno/Acetato de Etila (93:7), n-Hexano/Acetato de Etila/Éter (85:15:0,5) e n-Hexano/Acetato de Etila (93:7) foram as que deram melhores respostas para as Frações F1. A fase móvel Clorofórmio/Metanol (98:2) foi a melhor para as Frações F2 e a fase móvel Ácido Acético a 25% para as Frações F3, F4 e F5.

#### 4.2.7 Cromatografia Gasosa Acoplada a um Detector de Massas - CGMS (CIOLA, 1973; PACHALY, 1983; SILVERSTEIN, 1987; COLLINS, 1990; ADAMS, 1995)

Para a amostra denominada TOMOALU.D foi injetada na razão de Split 1:100, com  $T^{\circ}_{\text{inicial}}$ : 100°C, com tempo inicial: 10 minutos, rampa de aquecimento: 4°C/min,  $T^{\circ}_{\text{parcial}}$ : 120°C, tempo parcial: 10 minutos, rampa de aquecimento: 4°C/min,  $T^{\circ}_{\text{parcial}}$ : 160°C, tempo parcial: 20 minutos, rampa de aquecimento 6°C/min,  $T^{\circ}_{\text{final}}$ : 250°C, tempo final: 52 minutos, Tempo de corrida total: 122 min, com vazão de 4ml/min He. Temperatura de injetor: 250°C, temperatura de detector: 280°C, energia de ionização: 70eV, scanning de 10 a 550 u.m.a (CROMATOGRAMA 1; TABELA 8)

Para as amostras denominadas CAMPOM1.D, CAMPOM03.D e CAMPOM1A.D foram injetadas na razão de Split 1:100, com  $T^{\circ}_{\text{inicial}}$ : 80°C, com tempo inicial: 6 minutos, rampa de aquecimento: 12°C/min,  $T^{\circ}_{\text{parcial}}$ : 145°C, tempo parcial: 10 minutos, rampa de aquecimento: 2°C/min,  $T^{\circ}_{\text{parcial}}$ : 160°C, tempo parcial: 25 minutos, rampa de aquecimento 3°C/min,  $T^{\circ}_{\text{final}}$ : 250°C, tempo final: 10 minutos, Tempo de corrida total: 93,92 min, com vazão de 4ml/min He. Temperatura de injetor: 250°C, temperatura de detector: 280°C, energia de ionização: 70eV, scanning de 10 a 550 u.m.a (CROMATOGRAMA 2, 3 e 4; TABELA 9, 10 e 11)

CROMATOGRAMA 1 - AMOSTRA TOMOALU.D

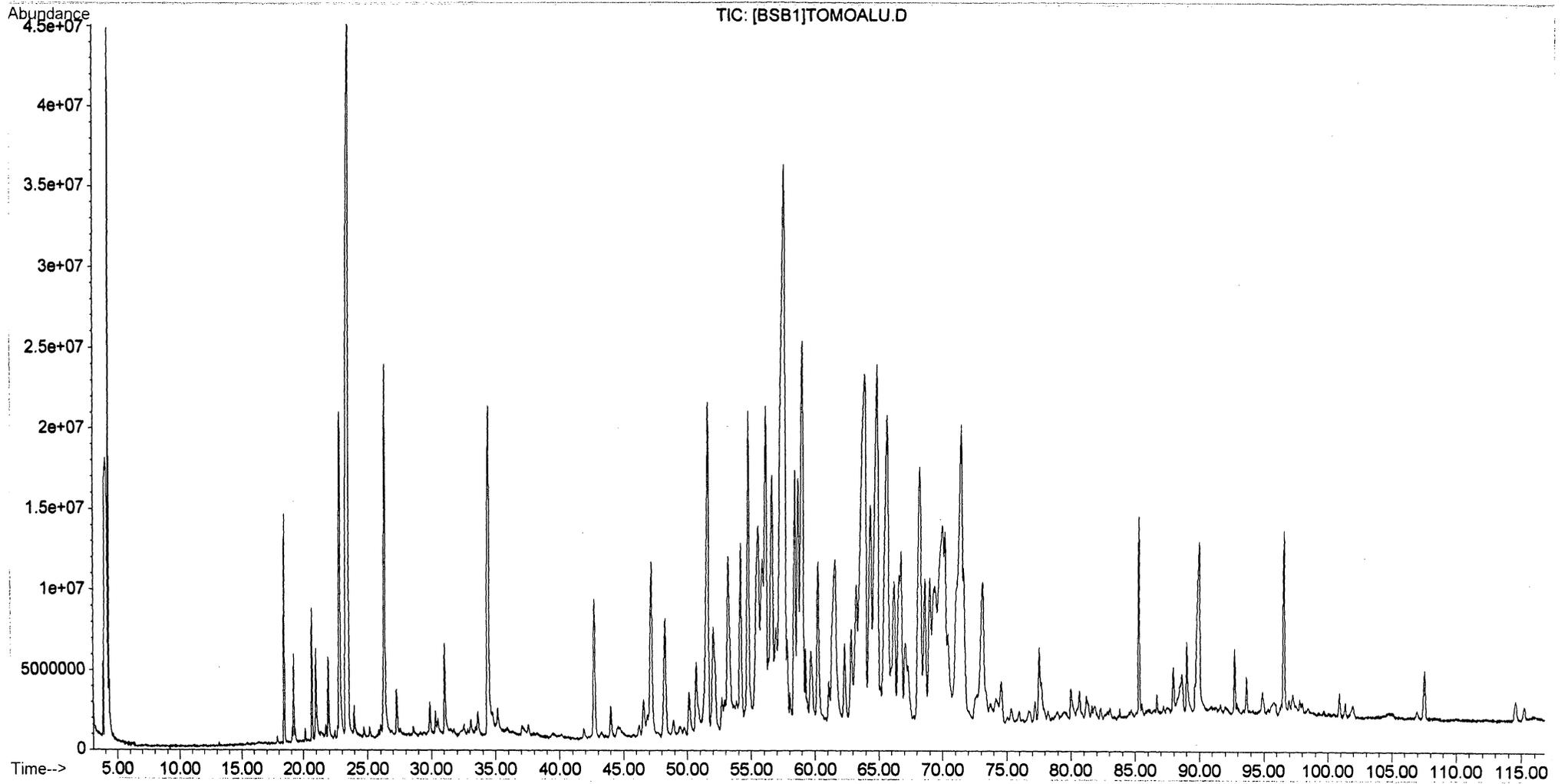


TABELA 8 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA AMOSTRA TOMOALU.D

Nº	Pk#	ID	RT	Área % (V/V)	IR Lit	IR Calc	RR	Qual	INFERÊNCIA
1	3	ALPHA-PINENE	18.44	0.69	939	-	-	97	PD
2	4	CAMPHENE	19.23	0.25	953	956	1,0428	98	BD, IR, MS
3	5	BETA - PINENE	20.69	0.40	980	985	1,1220	97	BD, IR, MS
4	6	MYRCENE	21.00	0.38	991	-	-	93	PD
5	7	NI	21.95	0.29	-	1009	1,0452	-	IR
6	8	PARA CYMENE	22.85	1.69	1026	1021	1,0881	96	BD, IR, MS
7	9	LIMONENE	23.52	6.13	1031	-	-	99	PD
8	10	LINALOOL	26.36	1.69	1098	1098	1,1207	93	BD, IR, MS
9	11	NI	27.30	0.20	-	1118	1,1607	-	IR
10	12	ALPHA - TERPINEOL	31.06	0.43	1189	1194	1,3206	87	BD, IR, MS
11	13	GERANIOL	34.48	2.33	1255	-	-	97	PD
12	14	NI	42.73	0.87	-	1342	1,2393	-	IR
13	15	ALPHA - CUBEBENE	44.01	0.20	1351	1354	1,2764	98	BD, IR, MS
14	16	.ALPHA. YLANGENE	46.59	0.26	1372	1377	1,3512	98	BD, IR, MS
15	17	.ALPHA.-COPAENE	47.21	1.46	1376	1382	1,3692	99	BD, IR, MS
16	18	.BETA. ELEMENE	48.29	1.00	1391	-	-	97	PD
17	19	. ALPHA. IONONE	50.14	0.34	1426	1410	1,0383	-	MS
18	20	.ALPHA. - GURJUNENE	50.72	0.63	1409	1415	1,0503	99	BD, IR, MS
19	21	.BETA. - CARYOPHYLLENE	51.66	2.97	1418	1424	1,0698	99	BD, IR, MS
20	22	.GAMMA. - ELEMENE	52.06	0.77	1433	1428	1,0781	98	BD, IR, MS
21	23	.ALPHA. GUAIENE	52.71	0.20	1439	1434	1,0915	97	BD, IR, MS
22	25	(+) - AROMADENDRENE	53.23	1.76	1439	-	-	99	PD
23	27	.ALPHA.-HUMULENE	54.22	1.35	1454	1452	1,0186	93	BD, IR, MS
24	28	ALLO-AROMADENDRENE	54.83	2.47	1461	1460	1,0301	99	BD, IR, MS
25	29	ALPHA. AMORPHENE	55.57	2.59	-	1470	1,0440	98	MS
26	30	GAMA - MUUROLENE	55.91	1.35	1477	1475	1,0503	98	BD, IR, MS
27	31	GERMACRENE-D	56.21	2.55	1480	1478	1,0560	98	BD, IR, MS
28	33	.BETA. -SELINENE	56.66	3.13	1485	1484	1,0644	99	BD, IR, MS
29	35	BICYCLOGERMACRENE	57.61	8.94	1494	1496	1,0823	95	BD, IR, MS
30	37	.GAMMA. - CADINENE	58.49	1.72	1513	1507	1,0988	96	BD, IR, MS
31	38	1S, CIS-CALAMENENE	58.73	1.73	1521	1510	1,1033	97	BD, IR, MS
32	39	.DELTA.-CADINENE	59.10	3.37	1524	1515	1,1103	97	BD, IR, MS
33	40	NI	59.28	0.31	-	1517	1,1137	-	IR
34	42	.ALPHA.-CALACORENE	60.29	1.13	1542	1529	1,1326	81	BD, IR, MS
35	44	NEROLIDOL	61.61	2.23	1564	1545	1,1574	91	BD, IR, MS
36	45	NI	62.37	0.50	-	1554	1,1717	-	IR
37	46	NI	62.88	0.75	-	1560	1,1813	-	IR
38	47	NI	63.27	0.75	-	1564	1,1889	-	IR
39	48	SPATHULENOL	63.95	3.35	1576	1572	1,2014	99	BD, IR, MS
40	49	CARYOPHYLLENE OXIDE	64.36	0.96	1581	1577	1,2091	86	BD, IR, MS
41	50	GLOBULOL	64.94	3.96	1583	-	-	99	PD
42	51	VIRIDIFLOROL	65.73	3.63	1590	1594	1,0122	99	IR, MS
43	52	ROSIFOLIOL	66.21	1.21	-	1601	1,0196	91	MS
44	53	NI	66.64	0.93	-	1607	1,0262	-	IR
45	54	NI	66.79	1.03	-	1609	1,0285	-	IR
46	55	NI	67.12	0.65	-	1613	1,0336	-	IR
47	56	NI	67.32	0.37	-	1616	1,0366	-	IR
48	57	NI	68.26	2.82	-	1629	1,0511	-	IR
49	58	CADINA- 1,4 - DIENE	68.66	0.85	1532	1634	1,0573	70	BD, IR, MS
50	59	NI	69.04	0.93	-	1639	1,0631	94	IR
51	60	NI	69.37	0.24	-	1644	1,0682	-	IR
52	61	.ALPHA. -CADINOL	70.00	0.79	1653	1652	1,0779	86	BD, IR, MS
53	62	TORREYOL	70.24	0.56	1645	1655	1,0816	97	BD, IR, MS
54	63	NI	70.45	0.48	-	1658	1,0848	-	BD, IR, MS
55	64	.ALPHA. - CADINOL	71.54	4.14	1653	1672	1,1016	94	BD, IR, MS
56	65	NI	71.68	0.85	-	1674	1,1038	-	IR
57	66	NI	73.09	0.72	-	1692	1,1255	-	IR
58	67	NI	73.16	0.79	-	1693	1,1266	-	IR
59	71	BENZYL BENZOATE	79.99	0.28	1762	1775	1,2318	90	BD, IR, MS
60	72	ISOBUTYL O-PHTHALATE	85.32	0.81	-	1835	1,3138	93	IR, MS
61	75	O-DIBUTYLPHTHALATE	89.03	0.38	-	1874	1,3710	95	IR, MS
62	76	HEXADECANOIC ACID	90.02	1.65	-	1884	1,3862	99	IR
63	78	PHYTOL ISOMER	96.59	0.97	1949	-	-	96	PD

## CROMATOGRAMA 2 – AMOSTRA CAMPOM1A.D – 0,5 microlitros

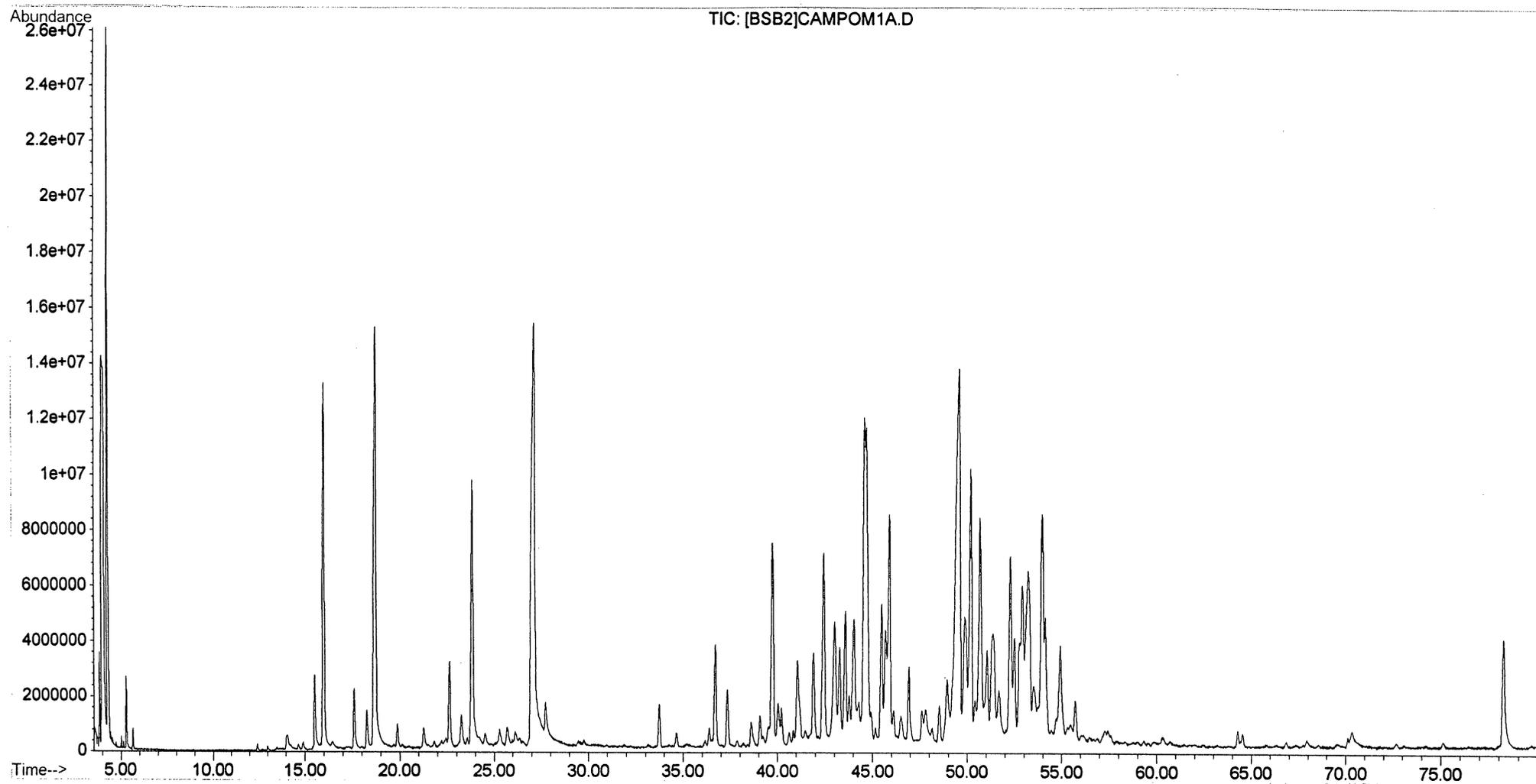


TABELA 9 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA AMOSTRA CAMPOMIAD - 0,5  
MICROLITROS

Nº	Pk#	ID	RT	Área% (V/V)	IR Lit	IR Calc	RR	Qual	INFERÊNCIA
1.	7	LIMONENE	16.00	2.83	1031	-	-	98	PD
2.	8	CIS-LINALOOL OXIDE	17.59	0.44	1074	1071	1,0994	-	BD, IR, MS
3.	9	TRANS-LINALOOL OXIDE	18.27	0.27	1088	1087	1,1419	-	IR, MS
4.	10	LINALOOL L	18.75	4.68	1098	-	-	97	PD
5.	11	FENCHOL	19.88	0.15	1117	1119	1,0603	91	BD, IR, MS
6.	12	TRANS-PINOCARVEOL	21.26	0.16	1139	1142	1,1285	-	IR, MS
7.	13	ENDO-BORNEOL	22.63	0.66	1165	1167	1,2069	90	BD, IR, MS
8.	14	TERPINEOL-4 (E)	23.25	0.31	1177	-	-	94	PD
9.	15	.ALPHA.-TERPINEOL	23.87	2.61	1189	1188	1,0267	91	BD, IR, MS
10.	16	NEROL	25.69	0.19	1228	1220	1,1049	-	IR, MS
11.	17	GERANIOLO	27.15	7.49	1255	1244	1,1677	-	MS
12.	18	GERANIAL	27.73	0.43	1270	1253	1,1927	93	MS
13.	19	BICYCLOELEMENE	33.74	0.34	-	1339	1,4512	-	MS
14.	20	.ALPHA.-YLANGENE	36.38	0.16	1372	1371	1,5647	93	BD, IR, MS
15.	21	.ALPHA.-COPAENE	36.73	0.97	1376	-	-	99	PD
16.	22	.BETA.-ELEMENE	37.36	0.52	1391	1384	1,0172	52	BD, IR, MS
17.	23	.ALPHA. IONONE	38.63	0.32	1426	1402	1,0517	-	MS
18.	24	.ALPHA.-GURJUNENE	39.08	0.28	1409	1408	1,0640	98	BD, IR, MS
19.	25	.BETA.-CARYOPHYLLENE (E)	39.77	2.23	1418	-	-	99	PD
20.	26	.GAMMA.-ELEMENE	40.04	0.48	1433	1422	1,0068	-	IR, MS
21.	27	NI	40.22	0.34	-	1425	1,0113	-	IR
22.	28	(+) - AROMADENDRENE	41.06	1.17	1439	1439	1,0324	99	BD, IR, MS
23.	29	.ALPHA.-HUMULENE	41.91	1.14	1454	-	-	94	PD
24.	30	ALLOAROMADENDRENE	42.46	2.20	1461	1462	1,0131	99	BD, IR, MS
25.	31	GAMMA- MUUROLENE	43.03	1.80	1477	1470	1,0267	99	BD, IR, MS
26.	32	.ALPHA.-AMORPHENE	43.29	1.10	-	1474	1,0329	-	IR, MS
27.	33	GERMACRENE-D	43.61	1.43	1480	1478	1,0406	99	BD, IR, MS
28.	34	NI	43.79	0.48	-	1481	1,0449	-	IR
29.	35	.BETA.-SELINENE	44.04	1.70	1485	-	-	99	PD
30.	36	CALARENE	44.30	0.45	-	1492	1,0059	-	IR
31.	37	.ALPHA.-MUUROLENE	44.64	3.76	1499	1501	1,0136	97	BD, IR, MS
32.	38	BICYCLOGERMACRENE	44.78	2.62	1494	1504	1,0157	96	BD, IR, MS
33.	39	.GAMMA.-CADINENE	45.48	1.42	1513	1524	1,0327	99	BD, IR, MS
34.	40	TRANS-CALAMENENE	45.70	1.17	1532	1530	1,0377	98	IR,MS
35.	41	.ALPHA.-CADINENE	45.92	2.55	1538	1536	1,0427	99	IR,MS
36.	42	NI	46.51	0.36	-	1551	1,0561	-	IR
37.	43	.BETA.-CALACORENE	46.94	0.74	1563	1563	1,0658	-	IR,MS
38.	44	CARYOPHYLLENE OXIDE	47.63	0.29	1581	-	-	64	PD
39.	45	NI	47.82	0.47	-	1581	1,0040	-	IR
40.	46	EPIGLOBULOL	48.53	0.34	-	1581	1,0189	-	MS
41.	47	GLOBULOL	48.94	0.93	1583	1582	1,0275	-	IR,MS
42.	48	SPATHULENOL	49.62	8.40	1576	1582	1,0418	98	BD, IR, MS
43.	49	CARYOPHYLLENE OXIDE	49.89	1.98	1581	1582	1,0474	86	BD, IR, MS
44.	50	GLOBULOL	50.23	3.28	1583	-	-	98	PD
45.	51	NI	50.43	0.39	-	1586	1,0040	-	IR
46.	52	VIRIDIFLOROL	50.72	3.09	1590	1591	1,0098	-	IR,MS
47.	53	ROSIFOLIOL	51.05	1.11	-	1596	1,0163	-	IR,MS
48.	54	(-)-HUMULENE EPOXIDE II	51.37	2.01	1606	1601	1,0227	86	BD, IR, MS
49.	55	NI	51.68	0.80	-	1606	1,0289	-	IR
50.	56	NI	52.30	2.19	-	1616	1,0412	-	IR
51.	57	NI	52.52	1.03	-	1619	1,0456	-	IR
52.	59	ISOSPATHULENOL	52.93	2.00	-	1626	1,0538	-	IR
53.	60	EPI ALPHA MUUROLOL	53.24	2,27	1641	1631	1,0599	93	BD, IR, MS
54.	61	TORREYOL	53.34	1,13	1645	1633	1,0619	93	BD, IR, MS
55.	62	NI	53.52	0.78	-	1635	1,0655	-	IR
56.	63	ALPHA CADINOL	54.00	2.94	1653	1643	1,0751	97	BD, IR, MS
57.	64	NI	54.14	1.17	-	1644	1,0778	-	IR
58.	65	NI	54.92	1.38	-	1656	1,0934	-	IR
59.	66	NI	55.72	0.33	-	1668	1,1093	-	IR
60.	67	PHYTOL	78.24	1.37	1949	-	-	91	PD

## CROMATOGRAMA 3 – AMOSTRA CAMPOM1.D - 0,4 MICROLITROS

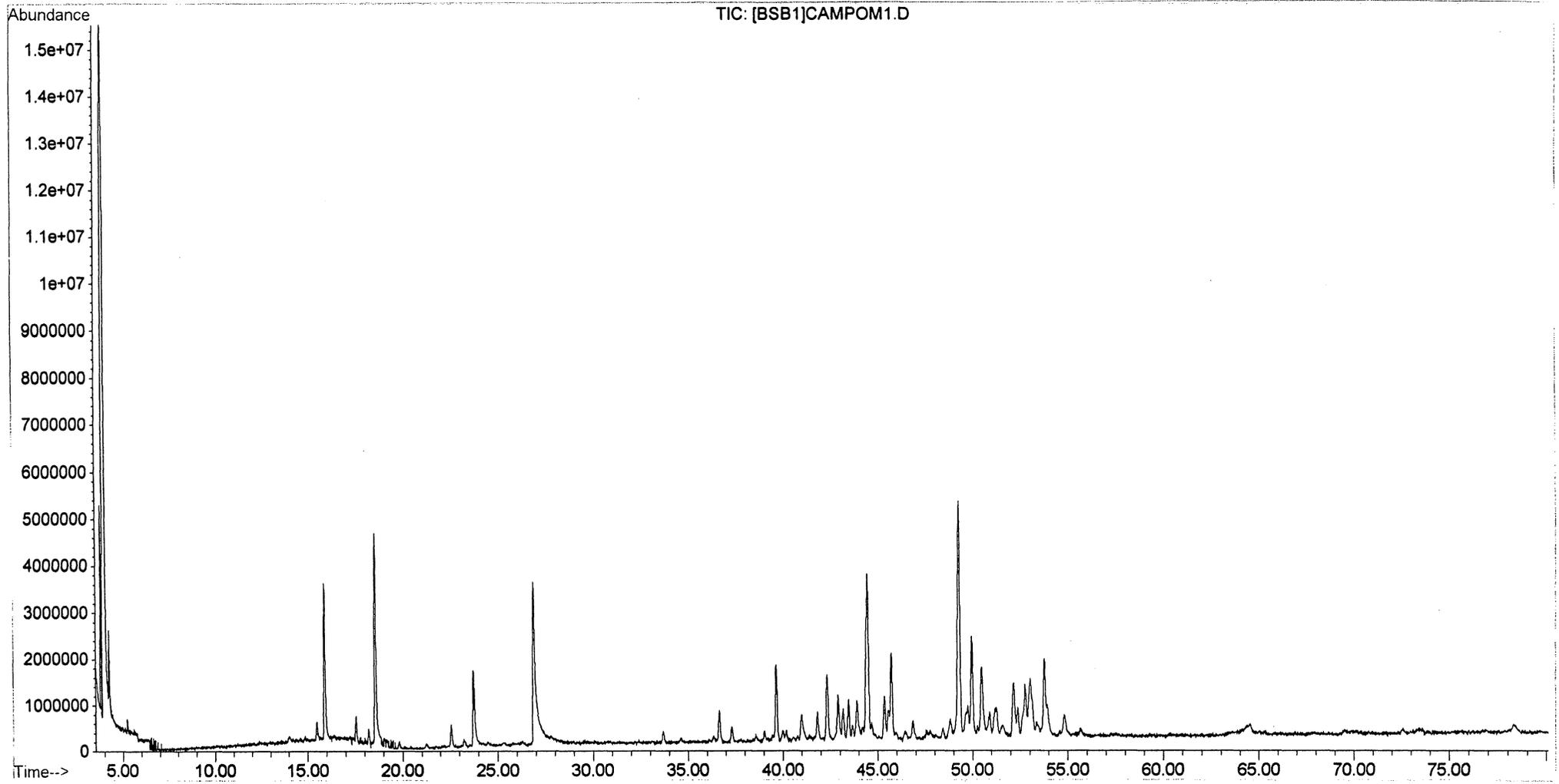


TABELA 10 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA AMOSTRA CAMPOM1.D – 0,4  
MICROLITROS

Nº	Pk#	IDENTIFICADO	RT	Área% (V/V)	IR Lit	IR Calc	RR	Qual	INFERÊNCIA
1.	4	L-LIMONENE	15.90	3.65	1031	-	-	-	PD
2.	5	LINALOOL	18.59	5.64	1098	1097	1,1692	92	BD, IR, MS
3.	6	.ALPHA. – TERPINEOL	23.73	2.49	1189	1201	1,4525	91	BD, IR, MS
4.	7	TRANS-GERANIOL	26.90	7.31	1255	1254	1,6918	90	BD, IR, MS
5.	8	.ALPHA.-COPAENE	36.66	1.03	1376	1385	2,3057	97	BD, IR, MS
6.	9	TRANS-CARYOPHYLLENE	39.66	2.66	1418	-	-	-	PD
7.	10	AROMADENDRENE	42.35	2.27	1461	1462	1,0678	98	BD, IR, MS
8.	11	.ALPHA.-AMORPHENE	42.92	1.74	-	1471	1,0822	99	IR, MS
9.	12	GERMACRENE D	43.47	1.21	1480	-	-	-	PD
10.	13	.BETA. – SELINENE	43.93	1.31	1485	1488	1,0106	96	BD, IR, MS
11.	14	BICYCLOGERMACRENE	44.50	6.68	1494	1498	1,0237	98	BD, IR, MS
12.	15	.GAMMA. – CADINENE	45.36	1.36	1513	1512	1,0435	99	BD, IR, MS
13.	16	.DELTA.-CADINENE	45.75	2.77	1524	1519	1,0524	99	BD, IR, MS
14.	17	SPATHULENOL	49.33	9.86	1576	-	-	-	PD
15.	18	CARYOPHYLLENE OXIDE	49.76	1.97	1581	1581	1,0087	64	BD, IR, MS
16.	19	GLOBULOL	49.98	3.75	1583	-	-	-	PD
17.	20	EPIGLOBULOL	50.49	3.20	-	1593	1,0102	-	IR, MS
18.	21	NI	52.16	2.09	-	1624	1,0436	-	IR
19.	22	ISOSPATHULENOL	52.75	2.32	-	1634	1,0554	98	IR
20.	23	EPI – ALPHA -MUUROLOL	53.02	1,51	1641	1639	1,0608	93	BD, IR, MS
21.	24	T MUUROLOL	53,15	1,51	1645	1642	1,0634	94	BD, IR, MS
22.	25	.ALPHA. –CADINOL	53.78	1.09	1653	-	-	95	PD

## CROMATOGRAMA 4 – AMOSTRA CAMPOM03.D - 0,4 MICROLITROS – SECO COM SULFATO DE SÓDIO ANIDRO

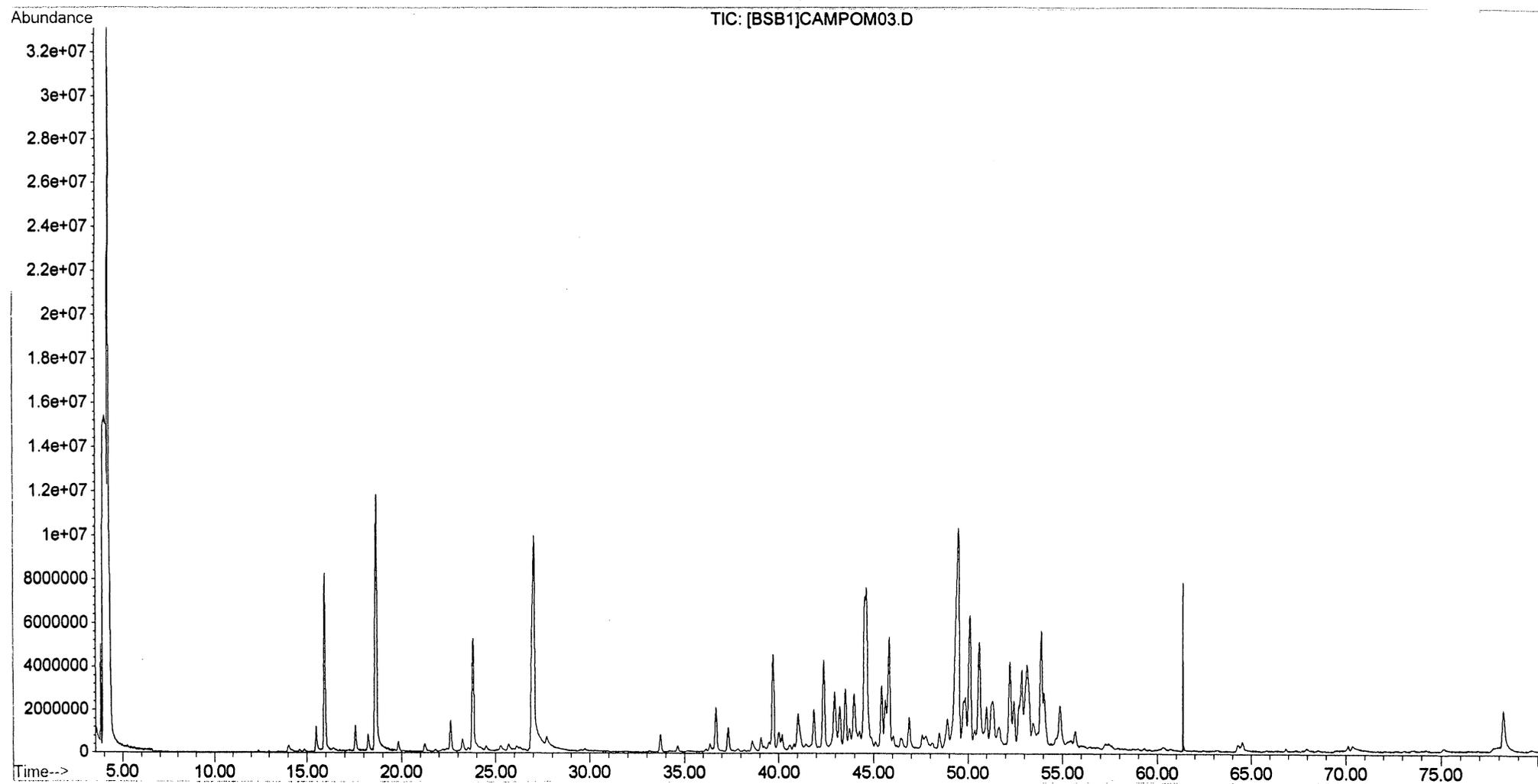


TABELA 11 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA AMOSTRA CAMPOM03.D - 0,4  
MICROLITROS – SECO COM SULFATO DE SÓDIO ANIDRO

Nº	Pic#	IDENTIFICADO	RT	Área % (V/V)	IR Lit	IR Calc	RR	Qual	INFERÊNCIA
1.	6	LIMONENE	15.94	2.46	1031	-	-	98	PD
2.	7	CIS-LINALOOL OXIDE	17.57	0.38	1074	1072	1,1023	91	BR, IR, MS
3.	8	TRANS-LINALOOL OXIDE	18.25	0.27	1088	1088	1,1449	90	BR, IR, MS
4.	9	LINALOOL L	18.68	4.95	1098	-	-	96	PD
5.	10	ENDO-BORNEOL	22.60	0.52	1165	1176	1,2099	95	BD, IR, MS
6.	11	.ALPHA.-TERPINEOL	23.81	2.26	1189	1197	1,2746	91	BR, IR, MS
7.	12	GERANIOL	27.05	6.18	1255	1250	1,4481	95	BR, IR, MS
8.	13	BICYCLOLEMENE	33.72	0.31	-	1341	1,8051	-	MS
9.	14	.ALPHA.-COPAENE	36.69	0.75	1376	-	-	98	PD
10.	15	.BETA – ELEMENE	37.32	0.47	1391	1386	1,0172	91	BR, IR, MS
11.	16	.BETA. – CARYOPHYLLENE	39.73	1.90	1418	1422	1,0829	99	BR, IR, MS
12.	17	GERMACRENE B	40.01	0.22	1433	1427	1,0905	94	BR, IR, MS
13.	18	(+) – AROMADENDRENE	41.04	0.93	1439	1442	1,1186	98	BR, IR, MS
14.	19	.ALPHA.-HUMULENE	41.88	0.80	1454	-	-	95	PD
15.	20	ALLOAROMADENDRENE	42.40	1.85	1461	1461	1,0124	99	BR, IR, MS
16.	21	.ALPHA.-AMORPHENE	42.98	2.38	-	1470	1,0263	99	BD, MS
17.	23	GERMACRENE-D	43.54	1.19	1480	1478	1,0396	99	BR, IR, MS
18.	25	.BETA.-SELINENE	43.99	1.44	1485	-	-	99	PD
19.	27	BICYCLOGERMACRENE	44.63	6.06	1494	1495	1,0145	98	BR, IR, MS
20.	28	GAMMA – CADINENE	45.43	1.15	1513	1509	1,0327	99	BR, IR, MS
21.	29	1S, CIS-CALAMENENE	45.64	0.87	1521	1512	1,0375	98	BR, IR, MS
22.	30	.DELTA.-CADINENE	45.85	2.15	1524	1516	1,0423	99	BR, IR, MS
23.	31	.ALPHA.-CALACORENE	46.89	0.67	1542	1532	1,0659	93	BR, IR, MS
24.	33	NI	48.91	0.82	-	1564	1,1118	-	MS
25.	34	SPATHULENOL	49.51	7.94	1576	1573	1,1255	98	BR, IR, MS
26.	36	CARYOPHYLLENE OXIDE	49.87	1.80	1581	1579	1,1337	90	BR, IR, MS
27.	37	(-) –GLOBULOL	50.12	3.12	1583	-	-	98	PD
28.	38	NI	50.62	2.86	-	1591	1,0100	-	MS
29.	39	2-NAPHTHALENEMETHA-NOL, 2,3,4,4 <sup>A</sup> ,5,6,7,8-OCTA-HYDRO- .ALPHA., .ALPHA., 4 <sup>A</sup> ,8- TETRAMETHYL-[2R-(2.ALPHA., 4 <sup>A</sup> .BETA., 8BETA.)]-	50.99	1.05	-	1597	1,0174	-	MS
30.	40	NI	51.33	1.84	-	1602	1,0241	-	MS
31.	41	NI	52.23	2.04	-	1616	1,0421	-	MS
32.	42	NI	52.45	0.95	-	1620	1,0465	-	MS
33.	43	NI	52.70	0.63	-	1624	1,0515	-	MS
34.	44	ISOPATHULENOL	52.86	1.89	-	1626	1,0547	-	MS
35.	45	.EPI.ALPHA.-MUUROLLOL	53.15	3.22	1641	1631	1,0605	-	IR, MS
36.	46	.TORREIOL	53.90	2.68	1645	1642	1,0754	-	IR, MS
37.	47	NI	54.04	1.12	-	1644	1,0782	-	MS
38.	48	NI	54.86	1.11	-	1657	1,0946	-	MS
39.	50	PHYTOL	78.23	1.28	1949	-	-	96	PD

Pode-se observar que na utilização do Sulfato de Sódio Anidro para a retirada da água, este provocou uma interferência na análise, alterando a concentração da maioria dos componentes existentes no óleo essencial. Esta interferência pode-se justificar como uma provável adsorção pelo Sulfato, que fez com que uma grande parte dos componentes fossem carregados para o fundo do frasco, ocasionando um aumento na concentração dos não adsorvidos o que foi demonstrado na TABELA 12.

TABELA 12 – COMPARAÇÃO DAS AMOSTRAS NORMAL E SECA COM SULFATO DE SÓDIO ANIDRO

<b>IDENTIFICADO</b>	<b>Área% (V/V) Amostr a Normal</b>	<b>Área % (V/V) seco com sulfato de sódio anidro</b>	<b>% de variação entre normal e seco com sulfato de sódio anidro</b>
LINALOOL L	5.64	4.95	-12,23
.ALPHA.-TERPINEOL	2.49	2.26	-9,23
.ALPHA.-COPAENE	1.03	0.75	-27,18
(+)	– 2.27	0.93	-59,03
AROMADENDRENE			
.ALPHA.-AMORPHENE	1.74	2.38	+36,78
GERMACRENE-D	1.21	1.19	-1,65
.BETA.-SELINENE	1.31	1.44	+9,92
BICYCLOGERMACRENE	6.68	6.06	-9,28
GAMMA – CADINENE	1.36	1.15	-15,44
.DELTA.-CADINENE	2.77	2.15	-22,38
SPATHULENOL	9.86	7.94	-19,47
CARYOPHYLLENE	1.97	1.80	-8,62
OXIDE			
(-) –GLOBULOL	3.75	3.12	-16,80
ISOSPATHULENOL	2.32	1.89	-18,53
.EPI.ALPHA-MUUROLOL	1.51	3.22	+113,24
<b>VARIÇÃO MÉDIA</b>			<b>-3,99</b>

As concentrações dos compostos identificados nas várias amostras de óleo essencial alteraram muito, desde traços como, por exemplo, o Fenchol com 0,15%, até concentrações relativamente elevadas como, por exemplo, o Spathulenol com 8,40%, na amostra CAMPOM1A.D.

LIMBERGER, et al. (2001) em seu estudo com a *C. xanthocarpa* obteve rendimentos de compostos que foram comparados com a média dos compostos das quatro amostras analisadas neste trabalho representado na TABELA 4.

## 5. CONCLUSÃO

Através dos estudos botânicos observou-se a presença de estômatos gigantes próximos às nervuras, estômatos do tipo paracítico principalmente, aparecendo com menos frequência o anisocítico e anomocítico.

A presença de idioblastos contendo cristal prismático isoladamente no mesofilo ou em agrupamentos nas nervuras principais.

A determinação da composição da substância armazenada nas glândulas é variada, contendo fenóis, taninos e mucilagem.

Os tricomas tectores unicelulares se fazem presente em toda a extensão das nervuras.

O corante mais eficiente para as lâminas permanentes foi a combinação de Fucsina Básica e Azul de Astra.

Na cromatografia em camada delgada dentre todas as fases móveis testadas a fase móvel n-Hexano/Acetato de Etila (85:15) foi a que demonstrou ser mais efetiva nas separações das frações do óleo essencial. As fases móveis Tolueno/Acetato de Etila (93:7), n-Hexano/Acetato de Etila/Éter (85:15:0,5) e n-Hexano/Acetato de Etila (93:7) foram as que deram melhores respostas para as Frações F1. A fase móvel Clorofórmio/Metanol (98:2) foi a melhor para as Frações F2 e a fase móvel Ácido Acético a 25% para as Frações F3, F4 e F5.

As diversas frações obtidas foram analisadas perante os padrões puros disponíveis no laboratório, e pode-se observar e identificar compostos flavônicos como a Quercetina e a Rutina. Identificado também o composto fenólico, ácido cafêico.

A análise CG/MS, das quatro amostras, revelou a presença de uma grande quantidade de compostos com variações de concentrações que puderam, na sua maioria, serem identificados. Na amostra TOMOALU.D foram isolados 63 componentes sendo 18 não identificados. Na amostra CAMPOM1A.D foram isolados 60 componentes ficando 12 sem identificação. Na amostra CAMPOM1.D foram isolados 22 componentes e apenas 1 não identificado, e finalmente na amostra CAMPOM03.D foram isolados 39 componentes ficando 8 sem identificação.

Portanto, a espécie em estudo apresenta composição química interessante, o que sugere a continuidade deste trabalho, visando os aspectos farmacológicos das diversas frações e a identificação dos demais metabólitos isolados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gás chromatography / mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 1995.
- AGAREZ, F. V.; RIZZINI, C. M.; PEREIRA, C. **Botânica – Angiospermae taxonomia morfologia reprodução chave para determinação das famílias**. 2 ed. RJ: Âmbito Cultural, 1994.
- AMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. D. **Purification of laboratory chemicals**. 4 ed Oxford: Butterworth Heinemann, 1996.
- BALBACH, A. **A flora nacional na medicina doméstica**, 23. ed. Itaquaquecetuba: A edificação do lar. [ca 1970]
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. V.2 Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 1984.
- BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. v. 1 Rio de Janeiro: Livros técnicos e científicos, 1976.
- BERLYN, G. P.; MIKSCH, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Iowa: Iowa University, 1976. .
- BISSING, D. R. Haupt's adhesive mixed with formalin for affixing sections to slids. **Stain technol.**, Baltimore, v.49, n.2, p. 116-117, 1979.
- BRITO, C. J. F. A.; ALQUINI, Y. A new method for staining Botanical material embedded in glycol methacrylate (GMA). **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba, v. 39, n. 4, p. 949- 951, dezembro, 1996.
- BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Acriba, 1991.
- BUVAT, R. **Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants**. New York: Springer, 1989.
- CHERNOVIZ, P. L. N. **A grande farmacopéia brasileira – Formulário e guia médico – Um guia das plantas medicinais brasileiras**, 1 vol. Belo Horizonte: Itatiaia, 1996.
- CIOLA, R. **Introdução a cromatografia gasosa**. São Paulo: Edgar Blucher, 1973
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: Unicamp, 1990.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. III. Brasília: Ministério da Agricultura, 1984.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: The New York Botanical Garden, 1988.
- CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal**. Segunda parte. Órgãos, experimentos e interpretação. São Paulo: Roca, 1986.
- ESAU, K. **Anatomía vegetal**. Barcelona: Ediciones Omega, 1985.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic, 1979.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1994.

- FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **Amer. J. Bot.** v. 55, n.1, p. 123-142, 1968.
- FERREIRA, A. A. A.; GOMIDE, C. J.; SILVA, E. A.; SILVA, A.; MARIA, J. **Anatomia das Espermatófitas (exercícios práticos)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1985.
- FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. New York: Van Nostrand, 1949.
- FRANKLIN, G. L. A rapid method of softening wood for microtome sectioning. **Austr. J. Bot.**, East Melbourne, v.33, 1946.
- GOLA, G.; NEGRI, G.; CAPPELLETTI, C. **Tratado de botânica**. Barcelona: Labor, 1965.
- GUENTHER, E. **The essential oils**. Vol 4. New York: Robert E. Krieger, 1950.
- GUERREIRO, S. M. **Técnica de inclusão de material vegetal em historesina**. Palestra proferida no 1º Encontro Regional de Anatomia do Estado de São Paulo, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro. 1995
- HADDAD, A. Obtenção e coloração de cortes semifinos. In : HADDAD, et al. **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. Rio de Janeiro: Sociedade brasileira de microscopia eletrônica, 1989.
- HARBORNE, J. B. **Ecological biochemistry**. London: Academic, 1993.
- HARBORNE, J. B.; BAXTER, H.; MOSS, G. P. **Phytochemical dictionary – A handbook of bioactive compounds from plants**. 2<sup>nd</sup> ed. UK: Taylor e Francis, 1999.
- HICKEY, L. J. Clasificación de la arquitetura de las hojas de dicotiledoneas. **Bol.Soc.Argent. Bot.**, Buenos Aires, v. 16, nº 1/2, p. 1-26, 1974.
- INDEX KEWENSIS**. Oxford: Clarendon, 1960-
- JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.
- JOLY, A. B. **Botânica – Introdução à taxonomia vegetal**, 11 ed. São Paulo: Editora Nacional, 1993.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde- glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use electron microscopy. **J. Cell. Biol.**, New York, v. 27, p. 137-138, 1965.
- KAUSEL, E. Lista de las Mirtáceas y Leptospermaceas argentinas. **Lilloa** 32: 323-368, 1966.
- LANDRUM, L. R. *Campomanesia, Pimenta, Blepharocalyx, Legrandia, Acca, Myrrhinium, and Luma (Myrtaceae)*. **Flora Neotropica**, New York, v. 45, p.66-70, 1986
- LEGRAND, C. D. Contribucion al conocimiento de las Mirtaceas del Paraguay. In: Reunión Sul-Americana de Botânica, 1, 1938, Rio de Janeiro. **Anais da Primeira Reunión Sul-Americana de Botânica**. Rio de Janeiro, V. III, p.105-119, 1938.
- LEGRAND, C. D. Mirtaceas del Estado de Santa Catarina. **Sellowia**, Itajaí, n.13, p.336, 1961.
- LEGRAND, C. D.; KLEIN, R. M. Mirtáceas. **Flora Ilustrada Catarinense**, Itajaí, p. 596-602, 1977.

- LIMBERGER, R.; APPEL, M. A.; SOBRAL, M.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of essential oils from some *Campomanesia* species (Myrtaceae). **J. Essent. Oil Res.** vol. 13, March/April 2001. p. 113-115
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil.** 2º ed, vol 1. Nova Odessa: Plantarum, 1998. p. 257
- MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The systematic identification of flavonoids.** New York: Springer – Verlag, 1970
- MACVAUGH, R. Tropical American *Myrtaceae* II. **Fieldiana, Bot.** 29(8): 393-532, 1963.
- MARCHIORI, J. N.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas – Myrtales.** Santa Maria: Ed. da UFSM, 1997.
- MARTIUS, C. F. P. **FLORA BRASILIENSIS.** Weinheim: J. Cramer, 1840 – 1906.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza: EUFC, 1988.
- MATTOS, J. R. Myrtaceae do Rio Grande do Sul. **Roessléria**, v.5, n.2, p. 169-370, 1983.
- MERCK INDEX, THE: an encyclopedia chemicals and drugs. 9<sup>th</sup> ed. Rahway, Merck, 1996.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**, 2 ed., vol I. Oxford: Clarendon, 1979.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**, vol I. Oxford: Clarendon, 1965.
- MOREIRA, E. A. Contribuição para o estudo fitoquímico de *Lobelia hassleri* A.Zahlb e *Lobelia stellfeldii* R.Braga. Campanulaceae. **Tribuna Farmacêutica**, v.47, n.1, p. 13-23, 1979.
- MORGAN, R. **Enciclopédia das ervas e plantas medicinais.** São Paulo: Hemus, 1979.
- MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes – padronização – preparo – purificação.** 2º ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1972.
- NAKASHIMA, T. **Apostila de prática de fitoquímica.** Curitiba: Departamento de Farmácia – UFPR, 1993/94.
- O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. **The study of structure principles and selected methods.** Melbourne: Termarcaphy Pty., 1981.
- PACHALY, P. **Dunnschicht-chromatographie in der apotheker.** 2 ed. Stuttgart: Wissenschaftlicher, 1983.
- PHARMACOPEA HELVETICA. 7ed. Berne: Departament Federal de l'Intérieur, 1995.
- PURVIS, M. J.; COLLIER, D. C.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany.** London: Butterwoths, 1964.
- QUINTAS, A. T. Novo material de apoio para cortes histológicos. **Rev. da Fac. Agron. Da UFRGS**, Porto Alegre, v. 6, p.51-55, 1963.
- RAWITSCHER, F. **Elementos básicos de botânica.** São Paulo: Nacional, 1972.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiocnologia.** São Paulo: Premier, 1997.

- ROESER, D.; JOUQUEY, S.; DELEVALÉE, F.; FLAHAUT, M. Release os prostaglandins E and F in allogenetic reaction and it is inhibition. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 61, 1980. p. 17-24
- SAKAI, W. S. Simple method of differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue. **O. Stain Technol.**, v.48, n.5, 1973. p.247-249
- SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Iowa: The Iowa State College, 1951.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from *calycorectes*, *campomanesia*, *eugenia* and *hexachlamys* species. **Fitoterapia**, vol LXVI, n. 4, 1995
- SCHULTZ, A. R. **Estudo prático da botânica geral**, 3 ed. Porto Alegre: Globo, 1968.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1987.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Rio Grande do Sul: Editora da UFSC, 1999.
- STAHL, E. **Thin-Layer chromatography – A laboratory handbook**. 2 ed. New York: Springer, 1969.
- TAKHTAJAN, A. **Diversity and classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1997.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium Compêndio de Fitoterapia**. 3 ed. Revisada. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1995.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA, THE. 23ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**. A thin layer chromatography Atlas. 2<sup>nd</sup>. New York: Springer, 1996.
- WASICKY, K.; OKUDA, T. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleos essenciais. **Rev. Farm. Bioq.**, v.1, n.1, p.77-81, 1963.