

HELENA DE BARROS MENDES



ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE
Cunila microcephala Benth. LABIATAE

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Augusto Moreira

CURITIBA
1994

HELENA DE BARROS MENDES

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Cunila microcephala* Benth.
LABIATAE

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Augusto Moreira

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE Cunila microcephala Benth. LABIATAE

por

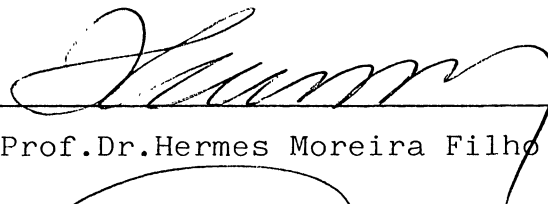
HELENA DE BARROS MENDES

Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão formada pelos Professores:

ORIENTADOR:



Prof.Dr.Eduardo Augusto Moreira



Prof.Dr.Hermes Moreira Filho



Prof.Abdullio Gomes Miguel

Curitiba, 23 de setembro de 1994

Meu primeiro agradecimento eu o faço elevando a Deus uma prece enternecida, que revigorou minha fé, reacendeu minha esperança e me fez vencer todos os obstáculos, mantendo-me inquebrantável a energia e renovada a coragem, nos profundos momentos de desalento e cansaço.

Ao Mário, sempre companheiro e amigo.

Aos meus filhos, Alessandra, Thaís,
Márcio e Vinícius.

Pelos longos momentos de separação,
pelas renúncias, pela compreensão,
carinho e estímulo, sobretudo nos
momentos em que desanimei, quando
esta caminhada parecia não ter fim,

dedico.

À memória de meu pai, meu primeiro mestre, que soube despertar em mim o gosto pelas ciências da natureza.

À minha mãe e irmãs, que sempre acreditaram em mim, pelo constante apoio e interesse com que acompanharam este trabalho.

Ao Alberto, meu primeiro professor de Biologia, com quem aprendi a gostar de Botânica,

também dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradecer torna-se uma tarefa bastante difícil quando se corre o risco de se omitir algum nome, ou de se cometer alguma injustiça em relação a todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

Assim, desejo expressar minha mais profunda gratidão ao Prof. Obdúlio Gomes Miguel pelo constante apoio, prontidão e amizade, requisitos estes, que sempre marcaram sua co-orientação neste trabalho, sobretudo no auxílio à interpretação dos dados espectrais.

Da mesma forma, agradeço ao Prof. Dr. Armando Carlos Cervi pelo incentivo, amizade, colaboração, sugestões e correção dos dados botânicos.

Registro, também, meu profundo reconhecimento ao Prof. Dr. Yedo Alquini, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Botânica da UFPR, que pacientemente acompanhou o desenrolar final deste trabalho, e cuja compreensão e colaboração foram imprescindíveis para sua conclusão.

Sou imensamente grata aos Profs. Walter Kugler e Aloísio de Abreu Marcondes pela realização da análise do óleo essencial por CG/EM, bem como ao Prof. Vítor Alberto Kerber pelo auxílio durante a análise do óleo essencial por CG.

Impossível seria deixar de agradecer à Profa. Eliane Carneiro Gomes, cuja colaboração e discussões, durante a realização dos ensaios preliminares, foram de inestimável valor para consecução dos objetivos desta etapa.

Não poderia deixar de externar meu sincero agradecimento ao Prof. Dr. Hermes Moreira Filho, pelo interesse, preocupação e incondicional apoio durante esta jornada.

De forma muito especial e carinhosa, agradeço à Sra. Onéia Dias de Souza, pela constante atenção e presteza, além da maneira competente com que sempre conduziu a secretaria do curso.

Valiosas foram as sugestões e estímulos recebidos por parte das Profas. Maria Madalena Gabriel e Adriana Contin, às quais sou muito grata.

Agradeço, ainda, a todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Botânica da UFPR, cuja competência de produção do saber, muito contribuiu para meu aprimoramento profissional.

Sou grata também a todos os colegas de curso, em especial a Rose, ao Flávio, a Solange, ao Dunaiski, ao Luciano e a Nacir pelo incentivo, amizade e companheirismo que marcaram nosso tempo de convivência.

Ao botânico Dr. Gert Hatschbach pela determinação da espécie e ao Dalton, que, artisticamente, confeccionou as ilustrações do material botânico, além do constante estímulo e amizade, também agradeço.

Às bibliotecárias da UFPR, pelo excelente atendimento na obtenção de material bibliográfico, nas pessoas das Sras. Ruth Lobo dos Santos e Rita Maria Perdoncini, meus sinceros agradecimentos.

À Sra. Rosita de Oliveira Rose, pelo sorriso amigo, colaboração e pronto atendimento, quando das pesquisas no Laboratório de Fitoquímica da UFPR, o meu muito obrigada.

Desejo expressar também o meu profundo e sincero reconhecimento aos alunos de Botânica I e II do Curso de Ciências com Habilitação em Biologia, da UNIOESTE/FECIVEL, turmas 93 e 94, pelo estímulo, compreensão e paciência, durante a última etapa deste trabalho.

Agradeço, ainda à CAPES, cujo apoio financeiro através do PICD, foi de fundamental importância para que eu frequentasse este curso.

Se, por um lapso, houve esquecimento de algum nome, de modo geral, agradeço a todos que, de alguma forma, concederam-me uma parcela de seu tempo, contribuindo, assim, substancialmente para a consecução dos objetivos propostos.

Finalmente, mas não por último, tenho uma dívida de gratidão para com o Prof. Dr. Eduardo Augusto Moreira, cuja orientação segura e competente permitiu a realização deste trabalho, a quem também, em especial, dedico.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
3 REVISÃO BOTÂNICA	5
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	5
3.2 POSIÇÃO TAXONÔMICA	7
3.2.1 Posição taxonômica segundo o Sistema de Classificação de CRONQUIST (1981)	7
3.2.2 Posição taxonômica segundo o Sistema de Classificação de ENGLER (1964)	7
3.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SUBCLASSE ASTERIDAE	8
3.4 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ORDEM LAMIALES	9
3.5 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA FAMÍLIA LABIATAE JUSS.	10
3.5.1 Labiadas do Brasil nativas e exóticas	12
3.6 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SUBFAMÍLIA STACHYOIDEAE	13
3.7 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA TRIBO SATUREJEAE	13
3.8 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SUBTRIBO THYMINAE	14
3.8.1 Chave para identificação dos gêneros pertencentes à subtribo Thyminae	15
3.9 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO <i>Cunila</i> Royen ex L.	16
3.9.1 Etimologia	16
3.9.2 Descrição botânica	16
3.9.3 Chave para identificação dos gêneros de Labiatae do Estado do Paraná	17
3.9.4 Chave para identificação das espécies de Labiatae do Estado do Paraná	18
3.10 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE <i>Cunila microcephala</i> Benth.	19
3.10.1 Nomes vulgares	19
3.10.2 Descrição botânica	19
3.10.3 Fenologia	25
3.10.4 Distribuição geográfica	25
3.10.5 Aspectos ecológicos	25
3.10.6 Utilidades	26
3.11 CONSIDERAÇÕES FILOGENÉTICAS	27
4 REVISÃO QUÍMICA	31
4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A QUÍMICA DAS LABIADAS	31
4.2 BIOSÍNTESE DE TERPENOS	36
4.2.1 Biossíntese de monoterpenos	40
4.2.2 Biossíntese de sesquiterpenos	44
4.2.3 Biossíntese de diterpenos	44

5 MATERIAL E MÉTODOS	48
5.1 MATERIAL	48
5.1.1 Material de coleta e herborização	48
5.1.2 Material para análise botânica da espécie.....	48
5.1.3 Material para análise fitoquímica.....	49
5.2 MÉTODOS	49
5.2.1 Obtenção do material botânico	49
5.2.2 Ensaio preliminares.....	50
5.2.2.1 Determinação das propriedades organolépticas, pH e extrato seco	50
5.2.2.2 Pesquisa química preliminar	51
5.2.2.3 Caracterização da presença de óleo essencial	52
5.2.3 Extração e determinação quantitativa do óleo essencial	52
5.2.4 Análise físico-química do óleo essencial.....	53
5.2.4.1 Determinação da densidade relativa.....	53
5.2.4.2 Determinação do índice de refração.....	54
5.2.4.3 Determinação da solubilidade em álcool.....	54
5.2.5 Análise cromatográfica do óleo essencial	55
5.2.5.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)	55
5.2.5.2 Cromatografia gasosa (CG)	58
5.2.6 Análise espectrométrica de massas (CG/EM).....	60
5.2.6.1 Extração do óleo essencial.....	60
5.2.6.2 Análise do óleo essencial.....	61
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
6.1 ENSAIOS PRELIMINARES	62
6.2 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL.....	64
6.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL	67
6.3.1 Densidade relativa	67
6.3.2 Índice de refração	67
6.3.3 Solubilidade em etanol	68
6.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO ÓLEO ESSENCIAL	69
6.4.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)	69
6.4.2 Cromatografia em fase gasosa (CG)	71
6.4.3 Análise espectrométrica de massas (CG/EM).....	71
7 CONCLUSÃO	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 - FASES MÓVEIS TESTADAS PARA A SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cunila microcephala</i> Benth.	57
TABELA 02 - VISUALIZADORES TESTADOS PARA ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cunila microcephala</i> Benth.	57
TABELA 03 - ENSAIOS PRELIMINARES EM CAULE E FOLHAS DE <i>Cunila microcephala</i> Benth.	62
TABELA 04 - INVESTIGAÇÃO QUÍMICA PRELIMINAR EM <i>Cunila microcephala</i> Benth.....	63
TABELA 05 - RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL NOS PERÍODOS DE PRÉ-FLORAÇÃO, FLORAÇÃO E PÓS-FLORAÇÃO (%).....	64
TABELA 06 - RENDIMENTO MÉDIO POR PERÍODO (%)- ANOS: 1991 - 1992 - 1993	66
TABELA 07 - DENSIDADE RELATIVA E ÍNDICE DE REFRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cunila microcephala</i> Benth.	68
TABELA 08 - SOLUBILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cunila microcephala</i> Benth. EM ETANOL.....	68
TABELA 09 - DADOS REFERENTES AOS PICOS DO CROMATOGRAMA EM FASE GASOSA ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG/EM).....	75
TABELA 10 - COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cunila microcephala</i> Benth.	76

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - <i>Cunila microcephala</i> Benth. Aspecto geral das partes aéreas.	21
FIGURA 02 - <i>Cunila microcephala</i> Benth. Aspecto geral do cultivo	22
FIGURA 03 - <i>Cunila microcephala</i> Benth. Ramo com inflorescências	23
FIGURA 04 - <i>Cunila microcephala</i> Benth. Flor isolada.....	24
FIGURA 05 - Provável mecanismo da biossíntese geral dos terpenos	39
FIGURA 06 - Rota biossintética do sistema p-mentânico a partir do neril pirofosfato	42
FIGURA 07 - Rota biossintética do sistema p-mentânico a partir do geranil pirofosfato	43
FIGURA 08 - Biossíntese de sesquiterpenos a partir do cis-farnesil pirofosfato	45
FIGURA 09 - Biossíntese de sesquiterpenos a partir do trans-farnesil pirofosfato	46
FIGURA 10 - Biossíntese do fitol a partir do geranilgeranil pirofosfato	47
FIGURA 11 - Variação do rendimento do óleo essencial (%) de <i>Cunila microcephala</i> Benth., nos períodos de pré-floração, floração e pós-floração (1992).....	65
FIGURA 12 - Cromatograma em camada delgada (CCD) do óleo essencial de <i>Cunila microcephala</i> Benth. e padrões de óleo essencial.....	70
FIGURA 13 - Perfil cromatográfico em fase gasosa (CG) do óleo essencial de <i>Cunila microcephala</i> Benth.	73
FIGURA 14 - Perfil cromatográfico em fase gasosa acoplado à espectrometria de massas (CG/EM)	74
FIGURA 15 - Espectro de massas do linalol	77
FIGURA 16 - Espectro de massas da (+) - isomentona.....	78
FIGURA 17 - Espectro de massas do (+) - neomentol.....	79
FIGURA 18 - Espectro de massas da (-) - piperitona.....	80
FIGURA 19 - Espectro de massas do α -copaeno.....	81
FIGURA 20 - Espectro de massas do calareno	82
FIGURA 21 - Espectro de massas do β -cariofileno	83
FIGURA 22 - Espectro de massas do α -humuleno	84
FIGURA 23 - Espectro de massas do γ -cadineno	85
FIGURA 24 - Espectro de massas de um sesquiterpeno (PM 204)	86
FIGURA 25 - Espectro de massas do β -bisaboleno	87
FIGURA 26 - Espectro de massas do espatulenol.....	88
FIGURA 27 - Espectro de massas do torreiol.....	89
FIGURA 28 - Espectro de massas do farnesol.....	90
FIGURA 29 - Espectro de massas do fitol.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS

- CCD – cromatografia em camada delgada
- CG – cromatografia gasosa.
- CG-EM – cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.
- Gên. – gênero
- CoA – co-enzima A
- PP – pirofosfato
- C-3 – átomo de carbono 3
- C-5 – unidade isoprênica
- D₂₀ – densidade relativa

RESUMO

Os constituintes voláteis do óleo essencial de *Cunila microcephala* Benth., espécie da família Labiatae, nativa no Brasil e muito usada na medicina popular, foram estudados pela primeira vez. O óleo, obtido a partir da hidrodestilação das partes aéreas da planta, apresentou como maiores componentes hidrocarbonetos mono e sesquiterpênicos. Através de análises por CG e CG-EM pode-se identificar: α -pineno, cineol, terpineno, linalol, mentona, mentofurano, isomentona, neomentol, terpineol, acetato de linalila, acetato de mentila, pulegona, piperitona, α -copaeno, calareno, cariofileno, α -humuleno, γ -cadineno, β -bisaboleno, espatulenol, torreiol, farnesol, fitol e um sesquiterpeno (PM 204)

ABSTRACT

The volatile constituents of the essential oil of *Cunila microcephala* Benth., a Brazilian Labiatae considerably used in folk medicine, were studied for the first time. The oil obtained after hydrodistillation of the aerial parts afforded monoterpenics and sesquiterpenics hydrocarbons as the major constituents. By means of capillary GC and GC-MS were identified: α -pinene, cineol, terpinene, linalool, menthone, menthofuran, isomenthone, neomenthol, terpineol, linalyl acetate, menthyl acetate, pulegone, piperitone, α -copaene, calarene, caryophyllene, α -humulene, γ -cadinene, β -bisabolene, spathulenol, torreyol, farnesol, phytol and a sesquiterpene (PM 204).

1 INTRODUÇÃO

De todos os métodos da medicina natural a fitoterapia é sem dúvida o mais antigo. Dele já se utilizava o homem pré-histórico, que aprendeu, como os animais, a distinguir das plantas comestíveis aquelas que podiam curar seus males, ou aquelas que lhe podiam ser prejudiciais.

O conjunto de dados a respeito das plantas e de seus efeitos terapêuticos, transmitidos verbalmente de geração em geração, aos poucos foi sendo enriquecido com a aquisição contínua de novos conhecimentos, através da experimentação prática, guiada pela intuição. Esse acúmulo secular de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais não deve ser de modo algum desprezado, uma vez que desta forma é que surgiram descobertas fundamentais para a sobrevivência do homem.

Com a evolução da ciência e o aperfeiçoamento dos métodos e instrumentos de análise, as plantas medicinais começaram a ser estudadas sob o ponto de vista de sua composição química, procurando-se isolar seus princípios ativos para verificação dos efeitos exercidos sobre os organismos animal e humano.

Muitas dessas pesquisas têm confirmado as prescrições da medicina popular, resultando numa perfeita consonância entre o saber científico e o saber popular.

Antigamente, as plantas medicinais eram bastante utilizadas pelos povos ocidentais e orientais. Posteriormente, com o advento dos quimioterápicos, as ervas foram sendo colocadas de lado, principalmente pelo Ocidente. Hoje, devido aos efeitos colaterais perniciosos

sos de grande parte dos remédios sintéticos, o homem, após ter-se afastado tanto da natureza, começa a revalorizar as antigas terapias medicinais, promovendo a volta das plantas como meio eficaz para a cura das mais diversas enfermidades, além de que, vitimada pela crise econômica, grande parte da população está cada vez mais impossibilitada da aquisição de medicamentos industrializados, bem como das assistências médica e farmacêutica.

Este retorno a natureza traz grandes vantagens: apesar de não produzirem resultados imediatos e nem funcionarem em casos de emergência, as ervas, quando adequadamente empregadas, funcionam com eficácia, com ação duradoura e, de um modo geral, não apresentam efeitos colaterais ou riscos de acumulação no organismo, aliando-se, ainda, ao fator econômico, a facilidade de poderem ser cultivadas ou adquiridas a baixo custo.

Através de uma pesquisa domiciliar, envolvendo 1000 famílias da população de baixa renda, que habita os bairros periféricos da cidade de Cascavel, Paraná, Brasil, constatou-se que a utilização de plantas medicinais é uma prática generalizada. Verificou-se, também, que a população entrevistada, quase que na totalidade, faz uso abusivo e indiscriminado, necessitando de orientação quanto ao uso correto das ervas no que se diz respeito a: indicações terapêuticas, formas de uso, dosagem, coleta, dessecação e sua conservação, além de alerta contra a exploração predatória, ameaçando algumas espécies de extinção⁴⁶.

Num total de 108 plantas citadas, distribuídas entre 42 famílias botânicas, sobressaíram-se as famílias Compositae com 22 citações e Labiatae com 12⁴⁶. Conforme os resultados da pesquisa, verificou-se que pelo nome popular de “poejo” são conhecidas e utilizadas duas espécies: *Mentha pulegium* L. e *Cunila microcephala* Benth., ambas pertencentes à família Labiatae, a tribo Saturejeae, mas a subtribos diferentes²⁰.

A primeira trata-se de espécie originária do continente europeu e sobre ela muitos estudos já foram e continuam sendo realizados; quanto à segunda, nativa do sul do Brasil,

ocorrendo no Rio Grande do Sul e Paraná⁸, muito pouco, ou quase nada, se sabe. Segundo SIMÕES⁵⁸, na literatura usual não existem referenciais químicas e nem farmacológicas a seu respeito, o que se confirmou através de intensiva e minuciosa revisão no Chemical Abstracts e no Biological Abstracts, no período de 1960 a setembro de 1993, além de revisões em periódicos especializados e em outras publicações.

Por se tratar de espécie amplamente distribuída e utilizada no município de Cascavel, justifica-se a necessidade de se ampliar estudos quanto a sua composição química e atividade farmacológica, não só como mais uma contribuição científica, mas também como forma de valorizar e respaldar cientificamente o saber popular.

Muito já se escreveu, muito se escreve e muito se escreverá, ainda, a respeito das plantas medicinais. Porém, de nada vai adiantar isso tudo, se não se fizer acompanhar de uma ação, de um trabalho prático, dinâmico e demonstrativo, através da exploração racional da riqueza da flora brasileira, em busca do vegetal para seu necessário estudo, visando não só sua identificação, mas, sobretudo, a verificação de sua composição química e ação farmacológica, para o benefício de quem dele vier a fazer uso.

Com o presente trabalho não se pretende esgotar, e nem tampouco, competir com a literatura específica, mas procurar acrescentar mais algumas informações que possam realmente contribuir com a comunidade científica, bem como a população interessada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos, considerando aspectos botânicos e fitoquímicos, com relação à espécie *Cunila microcephala* Benth., amplamente cultivada e empregada na medicina popular em Cascavel, Paraná, Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Rever a posição sistemática da espécie.
- Caracterizar botanicamente a espécie, com base na morfologia, de acordo com as normas da taxonomia clássica.
- Considerar alguns aspectos filogenéticos com relação à família Labiatae.
- Realizar marcha sistemática de análise fitoquímica com as partes aéreas do vegetal adulto, para verificação da presença de diferentes grupos químicos dentre os metabólitos secundários.
- Efetuar extração, para determinação quantitativa e análise físico-química, do óleo essencial.
- Identificar alguns componentes do óleo essencial através de CCD, CG e CG/EM.

3 REVISÃO BOTÂNICA

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Amplamente dispersas pelo mundo todo, a família Labiatae compreende aproximadamente 200 gêneros entre os quais se distribuem cerca de 3000 espécies, povoando regiões quentes e temperadas, principalmente o Mediterrâneo, o Oriente Próximo e regiões montanhosas subtropicais, estendendo-se por toda a África e Austrália, bem como pelo Novo Mundo de norte a sul. Alguns gêneros como *Salvia*, *Scutellaria* e *Stachys* são praticamente cosmopolitas³⁰.

Segundo BARROSO³, no Brasil, ocorrem cerca de 31 gêneros, sendo 23 indígenas e subespontâneos e 8 cultivados, compreendendo em torno de 232 espécies; porém BRADE⁵, em trabalho anterior, lista 30 gêneros como indígenas e subespontâneos. No Paraná, podem ser encontrados 20 gêneros, segundo PEREIRA & PEREIRA⁵⁴.

De fácil reconhecimento por suas flores com corolas bilabiadas e pelo seu caule tipicamente quadrangular, a família Labiatae tem grande importância econômica pela riqueza de óleo essencial nas partes aéreas da maioria de suas espécies.

Com propriedades medicinais destacam-se os gêneros: *Mentha*, *Melissa*, *Rosmarinus*, *Cunila*, *Ocimum*, *Basilicum*, *Leonurus*, *Salvia*, dentre outros.

Como condimentares são amplamente utilizados: *Origanum*, *Mentha*, *Salvia*, *Ocimum*, *Thymus*, *Rosmarinus* e *Majorana*.

Em perfumaria são empregados: *Lavandula* e *Pogostemon*. Ainda, como ornamentais, são cultivadas: *Coleus*, *Salvia*, *Leonotis*, *Monarda*, *Stachys*, dentre outros.

Muitas espécies de *Hyptis* ocorrem nos campos brasileiros e *Peltodon* frequentemente povoa as matas como erva rasteira³³.

A espécie *Cunila microcephala* Benth. é uma erva rasteira, nativa no sul da América do Sul, muito cultivada nos quintais e conhecida popularmente como poejo miúdo. Com suas partes aéreas é feito um chá muito empregado na medicina popular. A espécie se caracteriza também por ser muito melífera⁸.

3.2 POSIÇÃO TAXONÔMICA

3.2.1 Posição taxonômica segundo o Sistema de Classificação de CRONQUIST (1981)¹⁰.

Divisão:	MAGNOLIOPHYTA
Classe:	MAGNOLIOPSIDA
Subclasse:	ASTERIDAE
Ordem:	LAMIALES
Família:	LAMIACEAE
Gênero:	<i>Cunila</i>
Espécie:	<i>Cunila microcephala</i> Benth.

3.2.2 Posição taxonômica segundo o Sistema de Classificação de ENGLER (1964), citado por JOLY³³.

Divisão:	ANGIOSPERMAE
Classe:	DICOTYLEDONEAE
Subclasse:	SYMPETALAE
Ordem:	TUBIFLORAE
Família:	LABIATAE
Gênero:	<i>Cunila</i>
Espécie:	<i>Cunila microcephala</i> Benth.

3.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SUBCLASSE ASTERIDAE

Trata-se de uma subclasse bem definida morfológicamente, caracterizando-se pelas flores simpétalas (raramente dialipétalas ou apétalas), com número reduzido de estames (5-2), ovário geralmente bicarpelar (raramente cinco ou mais carpelos), com rudimentos seminiais envoltos por um só tegumento, nucelo reduzido e formação do endosperma do tipo celular³.

Como principais compostos químicos encontrados nas ASTERIDAE destacam-se os iridóides e os poliacetilenos³.

Abrangendo cerca de 56000 espécies, a subclasse ASTERIDAE, de acordo com o Sistema de Classificação de CRONQUIST¹¹ compreende 9 ordens: Gentianales, Polemoniales, Lamiales, Plantaginales, Scrophulariales, Campanulales, Rubiales, Dipsacales e Asterales.

Posteriormente, ao introduzir algumas modificações em sua classificação, CRONQUIST¹⁰ passa a considerar mais duas ordens para as ASTERIDAE: Gentianales, Polemoniales, Lamiales, Callitrichales, Plantaginales, Scrophulariales, Campanulales, Rubiales, Dipsacales, Calycerales e Asterales.

3.4 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ORDEM LAMIALES³

Segundo CRONQUIST¹⁰, a ordem Lamiales compreende cerca de 7800 espécies, distribuídas nas seguintes famílias: Labiatae (3200), Verbenaceae (2600), Boraginaceae (2000) e a menor delas Lennoaceae (4-5).

A ordem se caracteriza pela presença freqüente de iridóides, alcalóides ou óleos essenciais, raramente ocorrendo heterosídeos cianogénéticos, saponinas e taninos, e ausência completa de ácido elágico.

Ervas, arbustos, lianas e árvores.

Folhas opostas, ou verticiladas, raramente alternas; simples, inteiras, denteadas ou partidas; sem estípulas.

Flores andróginas, raramente unissexuais, maioria zigomorfa; cálice sinsépalo, subactinomorfo ou bilabiado, sépalas 4-5; corola geralmente bilabiada, simpétala, às vezes actinomorfa, pétalas 4-5; estames 2-4, raramente 1-3 estaminódios, inseridos no tubo da corola e alternos com seus lobos, geralmente didínamos, filetes muito raramente conatos na base (*Coleus*), anteras dorsifixas, às vezes com uma teca abortada; grão de pólen bi ou trinucleado; gineceu comumente bicarpelar, com disco nectário geralmente presente ao redor da base do ovário; estilete terminal ou ginobásico, ovário súpero, mono ou bilocular, com dois rudimentos seminais por carpelo; placentação geralmente axial, rudimento seminal anátropo, com um só tegumento, nucelo reduzido.

Frutos núculas, às vezes drupas, raramente cápsulas.

Sementes com embrião geralmente reto; endosperma escasso ou ausente.

3.5 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA FAMÍLIA LABIATAE JUSS³.

Ervas anuais ou perenes, subarbustos ou arbustos, raramente árvores de pequeno porte (*Hyptis*).

Caule com ramificações quadrangulares.

Folhas simples, inteiras, denteadas, lobadas ou partidas; com disposição oposta, sem estípulas, ricas em óleos essenciais.

Flores vistosas, em densas inflorescências quase sempre axilares, tipicamente derivadas de uma série de ramos cimosos, originando pseudoverticilos (verticilastros), dispostos em pares opostos e constituindo inflorescências cimosas compostas; andróginas ou unissexuadas por aborto (*Mentha*), diclamídeas e fortemente zigomorfas. Zigomorfia pouco acentuada em *Lavandula* e *Mentha*. Cálice tubuloso, campanulado ou infundibuliforme, bilabiado, com lábio superior tridentado e inferior bidentado, ou penta ou decadentado ou lobado, sendo um bom caráter para identificação dos gêneros. Corola tubulosa, campanulada ou infundibuliforme, tipicamente labiada, com limbo diferenciado em lábio superior (lábrum) e inferior (labíolo), geralmente com o superior bilobado e o inferior trilobado; tetralobado em *Mentha*, pela fusão de dois lobos. Androceu formado por 2-4 estames (presença de estaminódios quando com 2 estames), didínamos, epipétalos, inseridos no tubo ou na fauce da corola; anteras biloculares ou uniloculares por aborto de uma das tecas (*Salvia*, *Rosmarinus*), com lóculos paralelos ou divergentes entre si. Ovário súpero, bicarpelar e sincárpico, bilocular, quando adulto aparentemente tetralocular por invaginação dos carpelos; estilete sempre ginobásico; ovário assentado sobre disco glandular unilateralmente expandido e saliente; um rudimento seminal por lóculo, anátropo.

Fruto seco, esquizocárpico, separando-se em quatro núculas quando maduro; núculas ovais, mais ou menos globosas, oblongas, trigonais ou tetraédicas; glabras ou pilosas; com ápice arredodado ou truncado.

Sementes com pouco ou nenhum endosperma; embrião reto.

Poucos são os gêneros indígenas da flora brasileira, mas muitos foram aqui introduzidos como medicinais, condimentares, ornamentais, e em perfumaria.

Disseminados por todo o país, são encontrados os seguintes gêneros como indígenas e subespontâneos: *Teucrium*, *Stachys*, *Marrubium*, *Leonurus*, *Leonotis*, *Leucas*, *Lamium*, *Prunella*, *Lepechinia*, *Salvia*, *Keithia*, *Eriothymus*, *Hesperozygis*, *Rhabdocaulon*, *Hedeoma*, *Pseudocunila*, *Cunila*, *Glechon*, *Satureja*, *Majorana*, *Origanum*, *Mentha*, *Scutellaria*, *Ocimum*, *Coleus*, *Marsypianthes*, *Raphiodon*, *Eriope*, *Peltodon* e *Hyptis*⁵.

3.5.1 Labiadas do Brasil nativas e exóticas.

Sinopse das subfamílias, tribos, subtribos e gêneros das labiadas do Brasil ou aqui introduzidas, segundo o sistema de ENGLER-DIELS (1936)⁶².

1 - Subfamília AJUGOIDEAE	
1 - Tribo Ajugeae.....	Gên. 1. <i>Teucrium</i>
2 - Tribo Rosmarineae.....	Gên. 2. <i>Rosmarinus</i>
2 - Subfamília SCUTELLARIOIDEAE.....	Gên. 3. <i>Scutellaria</i>
3 - Subfamília LAVANDULOIDEAE.....	Gên. 4. <i>Lavandula</i>
4 - Subfamília STACHYOIDEAE	
3 - Tribo Marrubiae.....	Gên. 5. <i>Marrubium</i>
4 - Tribo Nepeteae.....	Gên. 6. <i>Glechoma</i>
	Gên. 7. <i>Dracocephalum</i>
5 - Tribo Stachyeae	
1 - Subtribo Brunellinae.....	Gên. 8. <i>Prunella</i>
2 - Subtribo Melittinae.....	Gên. 9. <i>Physostegia</i>
3 - Subtribo Lamiinae.....	Gên. 10. <i>Leonotis</i>
	Gên. 11. <i>Leucas</i>
	Gên. 12. <i>Leonurus</i>
	Gên. 13. <i>Stachys</i>
6 - Tribo Salviae.....	Gên. 14. <i>Salvia</i>
7 - Tribo Glechoneae.....	Gên. 15. <i>Glechona</i>
8 - Tribo Lepcchiniae.....	Gên. 16. <i>Lepechinia</i>
9 - Tribo Saturejeae	
4 - Subtribo Melissinae.....	Gên. 17. <i>Hoehnea</i>
	Gên. 18. <i>Eriothymus</i>
	Gên. 19. <i>Hesperozygis</i>
	Gên. 20. <i>Rhabdocaulon</i>
	Gên. 21. <i>Hedeoma</i>
	Gên. 22. <i>Melissa</i>
	Gên. 23. <i>Satureja</i>
5 - Subtribo Thyminae.....	Gên. 24. <i>Majorana</i>
	Gên. 25. <i>Origanum</i>
	Gên. 26. <i>Thymus</i>
	Gên. 27. <i>Cunila</i>
6 - Subtribo Menthinae.....	Gên. 28. <i>Mentha</i>
10 - Tribo Pogostemoneae.....	Gên. 29. <i>Pogostemon</i>
5 - Subfamília OCIMOIDEAE	
11 - Tribo Ocimeae	
7 - Subtribo Hyptinae.....	Gên. 30. <i>Marsypianthes</i>
	Gên. 31. <i>Raphiodon</i>
	Gên. 32. <i>Eriope</i>
	Gên. 33. <i>Peltodon</i>
	Gên. 34. <i>Hyptis</i>
8 - Subtribo Plectranthinae.....	Gên. 35. <i>Aeolanthus</i>
	Gên. 36. <i>Coleus</i>
9 - Subtribo Moschosminae.....	Gên. 37. <i>Moschosma</i>
	Gên. 38. <i>Ocimum</i>

3.6 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SUBFAMÍLIA STACHYOIDEAE

Cálices bastante variáveis, 5-15-costados; corolas bilabiadas, com lobos superiores bilobados e o inferior trilobado, ou às vezes quase actinomorfas com tubo raramente inflado; estames 4, mais raramente 2, ascendentes e paralelos por baixo do lábio superior ou divergentes e dirigidos para diante, com anteras biloculares ou uniloculares, sendo as tecas paralelas ou divergentes; ovário profundamente 4 - fendido, sendo os lóculos alternos com os lobos do disco hipogínico; núculas ovais, curto-ovais, tetraédricas, com pericarpo delgado e seco, de superfície lisa ou pilosa e cicatriz de inserção pequena e basal; semente reta com embrião reto. Sendo a maior subfamília, ela está bem representada no Brasil por 8 tribos, 6 subtribos e 25 gêneros. (TOLEDO, 1943).

3.7 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA TRIBO SATUREJEAE

Cálices tubulosos ou campanulados, 10-15-nervados, 5-dentados ou bilabiados, não reticulado-venosos, com lábio superior tridentado, tripartido ou trilobado e o inferior bidentado, bipartido ou bilobado, os dentes não acuminado-aristulados, às vezes iguais em ambos os lábios, outras vezes não; corolas com tubo incluso ou exserto, bilabiadas, com os lobos de ambos os lábios planos, ou quase actinomorfas; estames 4 ou 2, sendo os anteriores mais compridos ou outras vezes todos iguais, ascendentes por baixo do lábio superior da corola ou divergentes desde a base; anteras com duas tecas; estilete com ramos iguais ou não; núculas em geral ovais e lisas, raramente um pouco rugosas ou pilosas. Tribo enorme e polimorfa, representada no Brasil por muitas espécies nativas e cultivadas, distribuídas em 3 subtribos, compreendendo 13 gêneros. (TOLEDO, 1943).

3.8 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SUBTRIBO THYMINAE

Cálices tubulosos ou campanulados 10-13-nervados, bilabiados, com lábio superior tridentado e inferior bidentado, raramente actinomorfos, com os dentes não acuminado-aristulados; corolas bilabiadas, com os lobos planos; estames 4 ou 2, sendo os anteriores maiores, todos retos e divergindo desde a base, afastando-se do lábio superior da corola; anteras ovais; núculas ovais ou oblongas e lisas. Pequena subtribo representada no Brasil por espécies nativas e cultivadas, distribuídas pelos gêneros: *Majorana*, *Origanum*, *Thymus* e *Cunila*. (TOLEDO, 1943).

3.8.1 Chave para identificação dos gêneros pertencentes à subtribo Thyminae⁶²

A - Estames férteis 4.

I - Cálices tubulosos campanulados ou turbinados, com dentes iguais ou muito pouco desiguais, obtusíssimos ou quase nulos.

a - Cálices turbinados, com tubo curtíssimo e fauce fortemente aberta, dentes pouco desiguais, obtusíssimos ou quase nulos.....*Majorana* Moench

b - Cálices oval-campanulados, 5-dentados, dentes todos iguais, obtusos ou agudos*Origanum* L.

II - Cálices oval-bilabiados com os dentes bastante desiguais, os 3 do lábio superior largo-ovais e agudos, os 2 inferiores subulados e ciliados.....*Thymus* L.

B - Estames férteis 2, que são os anteriores, os outros reduzidos a estaminóides ou nulos.....*Cunila* L.

3.9 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO *Cunila* Royen ex L.

= *Cunila* L., **Spec. Plant.** 2:30, 1762. - DC., **Prodr.** 12:180, 1848. - SCHIMIDT, *in* MARTIUS, **F1. Bras.** 8(1):163, 1858.

3.9.1 Etimologia

Dedicado ao floricultor holandês “Cuno”⁵⁴

Com esse nome, Plínio assinalou espécies de *Origanum* e de plantas afins, proveniente de *comus* = esfera, referindo-se à forma globosa das inflorescências. Outra versão é a de que o nome seria uma homenagem a um certo “Conilus”, que teria sido o primeiro a coletar plantas desse gênero³.

3.9.2 Descrição Botânica

Arbustos, subarbustos ou ervas. Folhas pequenas. Flores dispostas em espigas, capítulos globosos ou em pequenas cimeiras pedunculadas, raramente solitárias. Brácteas pequenas. Cálice com tubo cilíndrico ou turbinado, 5-dentado, com dentes quase iguais, às vezes bilabiado, fauce vilosa. Corola com tubo curtamente exserto, internamente pubescente, bilabiada, com o lábio superior ereto, emarginado ou subinteiro, o inferior trifido, com os lacínios oblongos. Estames 2, eretos, exsertos. Estilete bifido, com os ramos desiguais, agudos. Núculas ovais, lisas. Gênero com 12 espécies, sendo que 10 são brasileiras, cabendo ao Paraná 5 espécies. (PEREIRA & PEREIRA, 1973).

3.9.3 Chave para identificação dos gêneros de Labiatae do Estado do Paraná⁵⁴

- 1 - Cálice com mais de 5 lacínios 2
 - Cálice com até 5 lacínios 3
- 2 - Lacínios de cálice em forma de gancho..... *Marrubium*
 - Lacínios não em forma de gancho..... *Leonotis*
- 3 - Cálice nitidamente bilabiado..... 4
 - Cálice obscuramente bilabiado ou com os lacínios iguais entre si 9
- 4 - Cálice com apêndice escudiforme no dorso..... *Scutellaria*
 - Cálice sem apêndice escudiforme 5
- 5 - Cálice deflexo na maturação; fauce internamente denso piloso *Eriope*
 - Cálice não deflexo 6
- 6 - Cálice com o lábio superior arredondado, o inferior 4 denteado..... *Ocimum*
 - Cálice com o lábio superior não arredondado, o inferior bifido..... 7
- 7 - Conectivo prolongado além da inserção do filete..... *Salvia*
 - Conectivo não prolongado além da inserção do filete..... 8
- 8 - Cada filete com um dente na base..... *Rosmarinus*
 - Cada filete com um dente no ápice *Prunella*
- 9 - Lacínios do cálice quase nulos: o superior provido de um apêndice
 liguliforme..... *Lavandula*
 - Lacínios do cálice bem delimitados e sem apêndice..... 10
- 10 - Cálice inflado; núculas gameliformes com a margem fimbriada *Marsypianthes*
 - Cálice não inflado; núculas não gameliformes 11
- 11 - Lacínios do cálice peltados..... *Peltodon*
 - Lacínios do cálice não peltados..... 12
- 12 - Flor com 2 estames férteis..... 13
 - Flor com 4 estames férteis 17
- 13 - Cálice com a fauce glabra ou esparsamente pilosa..... *Hoehnea*
 - Cálice com a fauce denso pilosa..... 14
- 14 - Tubo da corola internamente com pêlos dispostos em duas linhas
 longitudinais..... *Hesperozygis*
 - Tubo da corola internamente glabro, se piloso, nunca dispostos em duas
 linhas..... 15
- 15 - Arbustos com ramos varetiformes nitidamente quadrangulares com
 entrenós compridos..... *Rhabdocaulon*
 - Arbustos não varetiformes, obscuramente quadrangulares com entrenós
 curtos..... 16
- 16 - Lábio superior da corola galeado..... *Glechon*
 - Lábio superior da corola plano..... *Cunila*
- 17 - Fôlhas pinatífidas *Leonurus*
 - Fôlhas nunca pinatífidas 18
- 18 - Os 4 estames do mesmo tamanho ou quase..... *Mentha*
 - Estames de tamanhos bem desiguais 19
- 19 - Corola internamente com um anel de pêlos na base *Stachys*
 - Corola internamente glabra..... *Hyptis*

3.9.4 Chave para identificação das espécies de *Cunila* do Estado do Paraná⁵⁴

- 1 – Folha de 2-6 mm de comprimento..... *C. galioides*
 - Folha de 10-60 mm de comprimento..... 2
- 2 – Folha de 2-8 mm de largura 3
 - Folha de 10-15 mm de largura 4
- 3 – Cálice exteriormente glabro *C. microcephala*
 - Cálice exteriormente pubescente *C. spicata*
- 4 – Cálice com a fauce provida de um denso tufo de pelos brancos *C. menthiiformes*
 - Cálice com a fauce sem tufo de pêlos brancos *C. platyphylla*

3.10 CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE *Cunila microcephala* Benth. DC., **Prodr.** 12:182, 1848, - SCHMIDT, *in* MARTIUS, **F1. Bras.** 8 (1):166, 1858.

3.10.1 Nomes vulgares^{8,46}

Poejo, poejo miúdo, poejinho

3.10.2 Descrição botânica

Erva procumbente, perene, de 20 a 50 cm de altura.

Caule intensamente ramificado desde a base, com ramificações quadrangulares, pubescente.

Folhas opostas, simples, membranáceas, oblonga-obtusas, irregularmente serrado-crenadas; glabras na epiderme superior; e esparsa pilosidade, sobre as nervuras, na epiderme inferior; curto pecioladas, de 1,0-2,0 cm de comprimento e 0,4-0,8 cm de largura.

Flores andróginas, diclamídeas, zigomorfas, sub-sésseis, reunidas em glomérulos capituliformes, globosos, terminais e envoltas por brácteas ovais agudas. Cálice gamossépalo, oval-tubuloso, com cinco dentes subulados, agudos, ciliados; externamente com poucos pelos somente sobre as nervuras, fauce vilosa. Corola alva com pontos lilases, gamopétala, bilabiada, com lábio superior constituído por dois lobos inteiramente unidos e lábio inferior trilobado; interna e externamente pilosa; tubo não incluso inteiramente no cálice; com 5,0-6,0 mm de comprimento. Androceu formado por dois estames, exsertos, inseridos no tubo da corola;

anteras biloculares, intensamente lilases, lóculos divergentes, deiscência logitudinal. Gineceu formado por dois carpelos, estilete ginobásico, estigma bífido, ramos desiguais; ovário súpero, sincárpico, assentado sobre disco glandular, bilocular, falsamente tetralocular quando adulto; um rudimento seminal por lóculo, anátropo.

Fruto seco, esquizocárpico, separando-se em quatro núculas quando maduro; núculas ovóides, levemente trigonais, glabras, pardo-amareladas.



Figura 01: *Cunila microcephala* Benth. Aspecto geral das partes aéreas



Figura 02: *Cunila microcephala* Benth. Aspecto geral do cultivo.



Figura 03: *Cunila microcephala* Benth. Ramo com inflorescências.

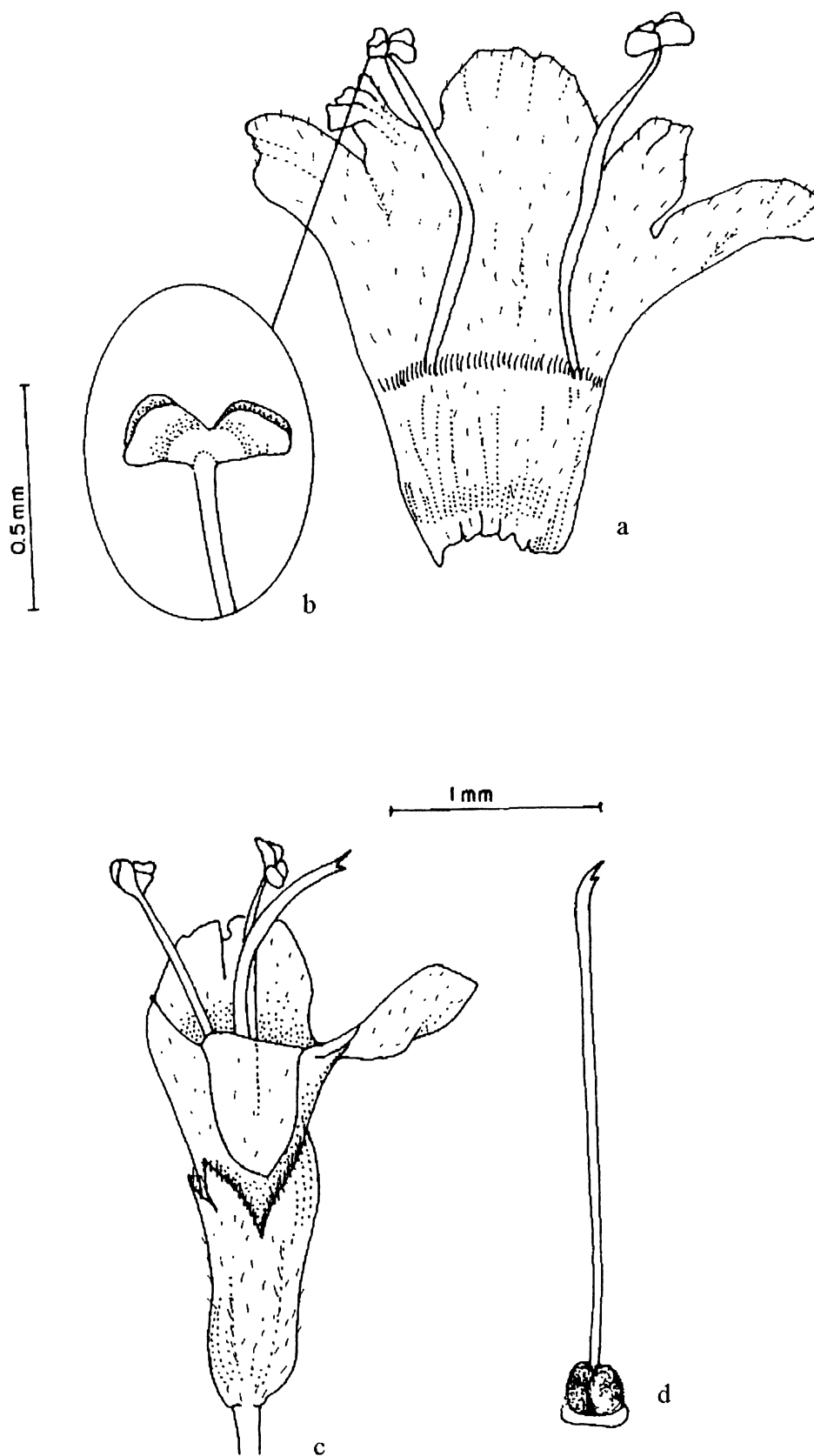


Figura 04: *Cunila microcephala* Benth. Flor isolada; a - Corola estendida, face interna; b - Detalhe mostrando as anteras divergentes; c - Aspecto geral da flor; d - Gineceu com ovário assentado sobre disco glandular.

3.10.3 Fenologia

A espécie floresce entre os meses de outubro e novembro, porém já foram observadas florações precoces no início de setembro e mais tardiamente no começo de dezembro. É preciso proceder-se a coleta logo após a antese, uma vez que a floração é bastante efêmera.

3.10.4 Distribuição geográfica

Possivelmente tendo como centro de irradiação os Andes médios e meridionais⁵⁵ trata-se de uma espécie nativa no sul da América do Sul, ocorrendo nos campos do Rio Grande do Sul e Paraná⁸, também no Uruguai e Argentina⁵⁷ e ainda em Santa Catarina e São Paulo⁵³.

3.10.5 Aspectos ecológicos

De porte herbáceo a arbustivo pequeno, a espécie aparece em tufos entre a vegetação típica de campos turfosos bastante úmidos, de solo preto compactado, com elevado grau de precipitação e baixo índice de evaporação.

É encontrada entre ervas rasteiras ou eretas com cerca de 10 cm de altura até formações arbustivas de 1,0 m de altura, dentro de uma comunidade que se caracteriza por pequena diversidade de espécies, mas elevado número de indivíduos⁵⁵.

3.10.6 Utilidades

Segundo PIO CORREIA⁸ a espécie é utilizada no tratamento das tosse crônicas, da fraqueza pulmonar e das vias respiratórias, sendo também muito melífera; CAMINHOÁ⁷ cita a planta como calmante da tosse e para as afecções gerais das vias respiratórias; PECKOLT⁵³ trata a espécie como sendo tônica, carminativa, sudorífera e analgésica nas cólicas menstruais.

3.11 CONSIDERAÇÕES FILOGENÉTICAS

BESSEY (1915), citado por LAWRENCE³⁹, marca oficialmente o início do conhecimento das relações filogenéticas entre as plantas, apresentando o primeiro sistema de classificação baseado na filogenia. Considerando as Dicotiledôneas, parte das Ranales até alcançar as Lamiales, passando pela Rosales, Malvales, Geraniales e Polemoniales. Ao questionar o sistema o sistema de Engler, propõe a distribuição das famílias do grande complexo Tubiflorae entre as ordens: Polemoniales, Scrophulariales, Lamiales e Gentianales admitindo a seguinte sequência filogenética:

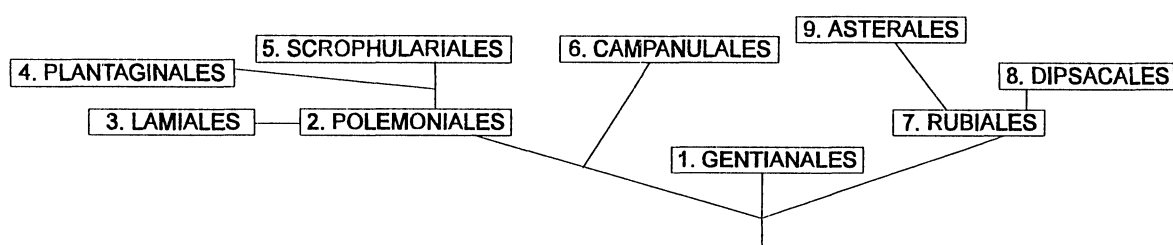


Quanto às famílias Verbenaceae e Labiatae, em trabalhos anteriores, HALLIER, WETTSTEIN e RENDLE, citados por LAWRENCE³⁹, aceitam a opinião de Engler, colocando-as nas Tubiflorae, no entanto BESSEY separa-as das demais, compondo com elas a ordem Lamiales, baseando-se na zigomorfia da corola e nos caracteres do gineceu.

HUTCHINSON (1926), citado por LAWRENCE³⁹, procede, de início, de forma semelhante a Bessey, mas posteriormente (1948) traça uma linha de evolução com predominância lenhosa, a partir das Magnoliales e outra com predominância herbácea, a partir das Ranales. Na primeira, o apogeu é alcançado pelas Verbenaceae que passam a constituir a ordem Verbenales e na segunda, pelas Labiatae, constituindo a ordem Lamiales; desta forma, considera ambas famílias como não aparentadas. Para HUTCHINSON, as Asterales não são as mais evoluídas, conforme opinião da maioria dos autores.

CRONQUIST (1968)¹¹ reconhece trabalho anterior de TAHKTAJAN (1961), e com algumas modificações, apresenta nova classificação para as Magnoliophyta, considerando caracteres anatômicos, presença ou ausência de endosperma, composição química, morfologia dos órgãos reprodutores, dentre outros. Dividiu as Magnoliophyta em Magnoliatae e Liliatae. Subdividiu as Magnoliatae em seis subclasses: Magnoliidae, Hamamelidae, Caryophyllidae, Dilleniidae, Rosidae e Asteridae.

Compondo a subclasse Asteridae apresenta 9 ordens, compreendendo 43 famílias e aproximadamente 56.000 espécies, assim dispostas filogeneticamente:



CRONQUIST¹¹ considera a ordem Lamiales como possivelmente derivada de Polemoniales e a divide em 5 famílias: Boraginaceae, Callitrichaceae, Verbenaceae, Phrymaceae e Lamiaceae (Labiatae).

HUTCHINSON³² classifica as famílias da ordem Lamiales de CRONQUIST¹¹ em quatro ordens distintas: coloca as Verbenaceae, juntamente com as Chloranthaceae na ordem Verbenales (Lignosae); cria a ordem Boraginales, para acomodar a única família Boraginaceae; com as Callitrichaceae, Onagraceae e Haloragidaceae compõe a ordem Onagrales e encerra as Lamiaceae (Labiatae), Myoporaceae, Selaginaceae e Globulariaceae na ordem Lamiales (Herbaceae).

Ao revisar seu sistema elaborado em 1975, DAHLGREN¹³ subdivide sua superordem Lamiiflorae em quatro ordens: Scrophulariales, Lamiales, Hippuridales e Hydrostachyales, estas duas últimas com restrições. Nas Lamiales considera as mesmas famílias de CRONQUIST, exceto as Boraginaceae que coloca nas Boraginales (superordem Solaniflorae). DAHLGREN¹³ faz alusão aos iridóides e aos poliacetilenos como compostos químicos importantes, tornando evidente a evolução vegetal, ao lado de outros caracteres, tais como: tendência das flores à zigomorfia, inflorescências racemosas, óvulos com um só tegumento, redução nucelar e formação de endosperma do tipo celular.

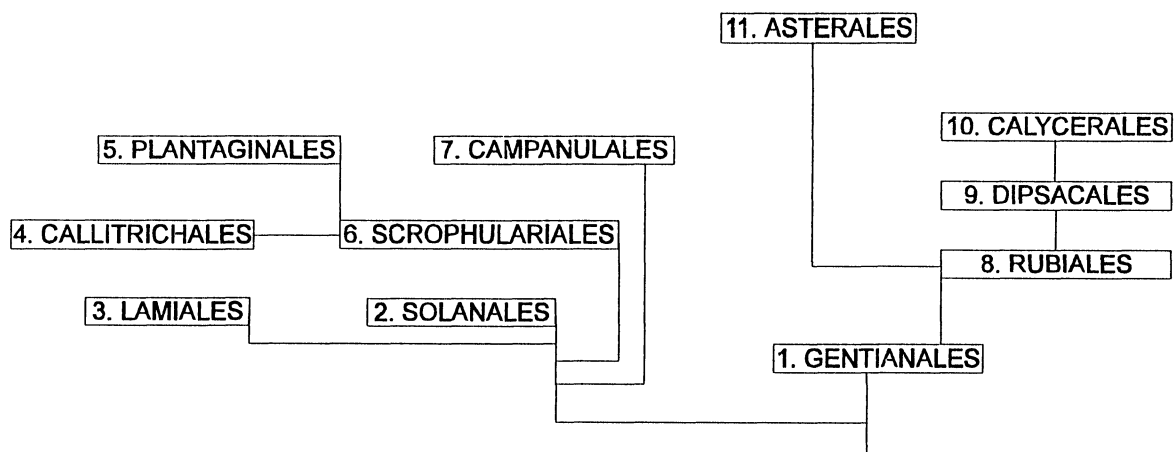
Os iridóides, amplamente distribuídos nas Gentianales, Rubiales, Lamiales, em parte nas Plantaginales e Scrophulariales, e completamente inexistente nas Campanulales, Asterales, Polemoniales e Boraginaceae, compreendem um grupo químico conhecido como “princípios amargos”, e estão praticamente restritos aos representantes com óvulos unitegmentados, sendo que sua vasta distribuição entre as famílias das quatro subclasses das dicotiledôneas sugere que evoluíram cedo em seu ancestral comum¹³.

Os poliacetilenos são encontrados nas Campanulales e Asterales. Ocorrem também nas Araliaceae, Santalaceae, Simaroubaceae e em poucos gêneros de Malvales e Laurales. A distribuição peculiar de iridóides e poliacetilenos sugere uma possível bifurcação na evolução das pró-ASTERIDAE ou uma origem bifilética de seus membros. As Polemoniales e Boraginaceae, que produzem outras substâncias diferentes de iridóides e poliacetilenos, podem representar um ramo evolutivo isolado, ou ligado a qualquer um dos grupos, porém sintetizando compostos químicos característicos¹³.

Novamente CRONQUIST¹⁰ ao tratar das Lamiales considera somente as famílias: Lennoaceae, Boraginaceae, Verbenaceae e Lamiaceae, implicando nas seguintes modificações de seu sistema:

- a) promove Lennoaceae, que passa das Polemoniales (Solanales) para as Lamiales;
- b) nas Callitrichales acomoda as famílias: Hippuridaceae, Callitrichaceae e Hydrostachyaceae;
- c) converte as Phrymaceae em gênero das Verbenaceae, tal como DAHLGREN (1980).

Desta forma, a subclasse Asteridae passa a ser composta por 11 ordens, ficando supostamente com a seguinte disposição filogenética:



CRONQUIST¹⁰ já não considera mais as Lamiales como derivadas diretamente das Polemoniales (Solanales), alegando que ambas guardam mais relação fraternal do que filial, devido a diferente distribuição de alcalóides e iridóides nestes grupos, mas não descarta a idéia de que descendem de ancestral comum perto, ou a partir das Gentianales.

4 REVISÃO QUÍMICA

4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A QUÍMICA DAS LABIADAS

Pelo seu extraordinário teor de óleo essencial e pela sua importância farmacêutica e bromatológica, a família Labiatae, sem dúvida alguma, é uma das mais estudadas até hoje, em todo o mundo.

Embora os constituintes de seu óleo essencial possam variar em função de alguns fatores, tais como: constituição genética da planta, fatores ecológicos, época de colheita, além de diferentes processos de destilação, purificação e acondicionamento, uma certa homogeneidade na composição química das essências das labiadas vem sendo confirmada pelos pesquisadores, através de inúmeras e detalhadas análises, efetuadas principalmente por CG e CG/EM, além de outros métodos.

Tendo em vista a extensão do assunto, devido a grande quantidade de estudos já realizados, só serão considerados, de maneira geral e sucinta, alguns gêneros e espécies mais próximas a *Cunila microcephala* Benth., pertencentes à tribo Saturejeae.

Através de levantamento bibliográfico no Biological Abstract e no Chemical Abstract, desde 1960 até setembro de 1993, muito pouco se encontrou a respeito da composição química das espécies pertencentes ao gênero *Cunila*.

Em estudos realizados com *Cunila angustifolia* Benth., MOREIRA e KRAMBECK⁴⁹ citam como principais constituintes de seu óleo pulegona e mentona, além de α -

pineno, β -pineno, limoneno, cineol, mentofurano, neomentol, mentol, acetato de mentila e piperitona.

Como principais componentes do óleo essencial de *Cunila lythrifolia* Benth., MANJARREZ e MENDOZA⁴² citam: óxido de linalol, β -ionona, linalol, acetato de citroneli-la, estragol e limoneno. Posteriormente, DELGADO, HERNÁNDEZ e PEREDA-MIRANDA¹⁵ identificam: β -sistosterol, ácido oleanólico, ácido ursólico, ácido 2α -hidroxiursólico, ácido maslínico, clovandiol, um flavonóide identificado como acacetina, além de um novo composto natural caracterizado como ácido 2-epi-tormêntico.

Em investigação prévia da essência de *Cunila spicata* Benth., MANNS e HARTMANN⁴⁴ registraram a presença de um aldeído sesquiterpênico, o isocariofilen-13-al (β -betulenal). Em estudos posteriores, MANNS⁴³ identifica um diacetato monoterpênico definido como diacetato de isorosiridol e dois diacetatos hidroperóximonoterpênicos, além de β -sistosterol, fitol, cadinol, linalol, dihidrocarveol e acetatos de nerila e geranila.

Dentre as labiadas conhecidas como “poejo”, existem várias espécies compondo a flora mundial, algumas bastante difundidas e estudadas quimicamente.

Os “poejos americanos” *Hedeoma pulegioides* L., *Pycnanthemum incanum* Michx., *P. lanceolatum* Pursh., *P. muticum* (Michx.) Pers. e *P. pilosum* Nutt. contém pulegona como componente fundamental de suas essências, além de mentona e isomentona²⁸.

Interessante pesquisa realizada por FIRMAGE e IRVING²⁴, com essência extraída de folhas e flores de *Hedeoma drumondii*, em diferentes estágios de desenvolvimento, revela uma composição química diferente em cada situação. Em follhas e flores jovens há predominância de pulegona (84-92%) e pequena quantidade de isomentona (0,2-0,4%); em follhas e flores mais velhas ocorre uma inversão com predominância de isomentona (63-84%) e

queda do teor de pulegona (1,2-28%), parecendo confirmar a existência de uma relação biogenética entre ambas, onde a pulegona seria precursora da isomentona.

Também os “poejos andinos”, espécies de *Minthostachys*, *Micromeria* e *Bystropogon*^{22,40} e os “poejos macaronésicos”, espécies endêmicas das Ilhas Canárias, pertencentes ao gênero *Bystropogon*^{37,38} são ricos em pulegona.

ECONOMOU e NAHRSTEDT¹⁹, ao analisarem as essências de cinco espécies de *Bystropogon*, citam como principais componentes: pulegona, mentona e isomentona, além de limoneno e germacreno-D. Discorrem, ainda, sobre o uso das essências como inibidoras de germinação em batatas estocadas, além de protegê-las contra a ação de insetos predadores. Falam também da atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial obtido de *B. plumosus*.

Dentre os “poejos ibéricos” são citadas as seguintes espécies: o “poejo de cervo” *Preslia cervina* Fresen., planta riquíssima em óleo essencial, com rendimento superior a 1,5%, contendo pulegona, mentona, isomentona e mentofurano, investigada preliminarmente por VÁZQUEZ VICENTE⁶⁴ e complementada, depois, por DE PASCUAL TERESA¹⁴ que cita a seguinte composição química: limoneno, p-cimeno, mentona, pulegona, piperitenona e mentol; o “poejo branco” *Micromeria fruticosa* (L.) Druce subsp. *fruticosa* analisada por GÓMEZ-SERRANILLOS REUS²⁷ que cita como seus componentes: pulegona, isomentona, mentona, borneol, isopulegol e carvona. Estudo posterior realizado por RAVID e PUTIEVSKY, citados por VELASCO-NEGUERUELA *et al.*⁶⁵, revela: pulegona, mentol, β -cariofileno, terpinen-4-ol, limoneno, isomentona e piperitona, e, ainda, o “poejo montesino” *Calamintha granatensis* Boiss et Reuter, espécie muito difundida e prestigiada, sobretudo entre os pastores das serras granadinas, que a utilizam como digestiva; ainda pouco estudada quimicamente, parece ser rica em sesquiterpenos.

Amostras de *Calamintha grandiflora* (L.) Moench., provenientes da Grécia, foram analisadas pela primeira vez por SOULELES e ARGYRIADOU⁵⁹ revelando a presença de pulegona, mentona e isomentona como principais constituintes de seu óleo essencial.

Ao estudar as labiadas ibéricas com pulegona em seu óleo essencial, VELASCO-NEGUERUELA, PÉREZ-ALONSO e RICO⁶⁵ enfocam as espécies *Mentha pulegium*, *Preslia cervina*, *Micromeria fruticosa* subsp. *fruticosa*, *Ziziphora hispanica*, *Ziziphora aragonensis* e *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa*, sendo estas duas últimas estudadas pela primeira vez. Além de registrarem a pulegona como componente fundamental destas essências, seguida pela mentona, isomentona e piperitona, chamam a atenção para a ausência quase total de mentona e isomentona em *Ziziphora*.

Ao investigar a essência de *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* (Boiss) P. H. Davis, de amostras provenientes da Grécia, KOKKALOU³⁴ registra como principais componentes pulegona e isomentona e compara quimicamente a espécie com outras anteriormente estudadas, assinalando a presença de grande diversidade de hidrocarbonetos monoterpênicos, cânfora e ácido butírico em *Z. clinopodioides*; borneol, linalol, α -terpineol e terpineol-4 em *Z. pamiroalaica* e vários hidrocarbonetos sesquiterpênicos, além de neoisomentol e acetato de neoisomentila em *Z. bungeana*, compostos não encontrados na espécie pesquisada pelo autor.

O “poejo do Marrocos” *Mentha gattefossei* Maire, segundo HOLEMAN *et al.*³¹, contém pulegona como maior constituinte, além de α -pineno, β -pineno, cineol, mentona e cariofileno.

Porém, dentre todas estas espécies referenciadas como “poejo”, a mais conhecida e a mais estudada é a *Mentha pulegium* L. De origem européia, perfeitamente aclimatada no Brasil, é muito empregada na medicina popular pelas suas propriedades estomáquicas, carminativas, sudoríficas, béquicas, emenagogas e anti-helmínticas; também registrada como abor-

tiva. Na indústria, sua essência é utilizada em perfumaria e na síntese do mentol. Pulegona é o seu constituinte principal, ocorrendo também mentona, isomentona e piperitona; em algumas amostras, tem-se observado alto teor de mentona e redução de pulegona⁹.

Ao estudar a essência de *Mentha pulegium* L., SOUZA⁶⁰ refere-se a uma variação de pulegona de região para região, oscilando na Europa entre 80 e 90%, nos Estados Unidos de 16 a 30%, e no Brasil 9%, no óleo de amostras provenientes de Botucatu, São Paulo.

MONTES *et al.*⁴⁷, realizando estudo comparativo entre amostras de *M. pulegium* L., provenientes da Espanha e do Chile, encontram 96,48% de pulegona na essência espanhola e 92,62% na essência chilena. Em investigação de amostras provenientes da Áustria, ZWAVING e SMITH⁶⁸ se surpreendem com a total ausência de pulegona e predominância de piperitona com um teor de 70%. Segundo os autores, as amostras foram coletadas em região pantanosa, com alta concentração de sais de sódio e magnésio no solo, podendo tais fatores terem conduzido ao desenvolvimento de um tipo especial de *M. pulegium*.

Em amplo estudo sobre as essências voláteis argentinas, FESTER *et al.*²³ relatam os principais constituintes de mais de 50 espécies distribuídas entre várias famílias. Dentre as essências de labiadas são citadas: *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epl. contendo mentona, pulegona, limoneno e isomentona; *Hedeoma multiflorum* Benth. contendo pulegona, mentona e limoneno; *Satureja odora* (Griseb.) Epl. contendo pulegona, isomentona e lipiona e *Satureja parvifolia* contendo dihidrolipiona, piperitona e lipiona. É feita uma observação pelos autores de que em certas amostras de *S. odora*, coletadas após verão chuvoso, evidenciou-se uma predominância de lipiona e dihidrolipiona e ausência de pulegona, em seu óleo essencial.

Pode-se concluir, desta forma, que o perfil químico da família Labiatae é determinado pela abundante presença de terpenos, amplamente distribuídos na maioria de suas

espécies. O odor forte e penetrante que exalam fez com que, merecidamente, recebessem o nome de “plantas aromáticas”.

Teorias sobre a função dos terpenos nas plantas variam muito, desde a hipótese de que representam uma simples acumulação de metabólitos finais de caminhos biossintéticos que as plantas não conseguem controlar, até a afirmação de que cada terpeno tem a sua função específica e importância, quer para a própria planta, ou na sua relação com outros organismos, especialmente com os herbívoros; a verdade, provavelmente, fica entre estes dois extremos, porém mais próxima deste último.

4.2 BIOSSÍNTESE DE TERPENOS

Sabe-se desde a antiguidade que os compostos aromáticos de uma planta podem ser encontrados na forma de óleo essencial pelo aquecimento brando da biomassa vegetal. Posteriormente, descobriu-se que a hidrodestilação é um método bastante eficaz para obtenção destes óleos, sendo que por volta de 1592 já se conheciam cerca de sessenta diferentes tipos de óleos essenciais¹.

A investigação da composição química destes óleos teve início no século XIX, levando à descoberta de alguns hidrocarbonetos isoméricos de fórmula $C_{10}H_{16}$ a que se denominou terpenos.

Descobriu-se, ainda, alguns terpenos oxigenados, geralmente álcoois ou cetonas, com cadeia de 15, 20 ou 30 átomos de carbono.

Ao se determinar a estrutura de alguns terpenos ficou claro que poderiam, de princípio, ser considerados como múltiplos de uma unidade estrutural básica, a do hidrocar-

boneto “isopreno” C_5H_8 , dada a sua relação arquitetural e química com a molécula deste composto.

Assim, considerando-se a unidade terpênica constituída por dez átomos de carbono, adotou-se a seguinte nomenclatura para os isoprenóides em geral²⁹:

$C_{10}H_{16}$ – monoterpenos

$C_{15}H_{24}$ – sesquiterpenos

$C_{20}H_{32}$ – diterpenos

$C_{25}H_{40}$ – sesterterpenos

$C_{30}H_{48}$ – triterpenos

$(C_5H_8)_8$ – tetraterpenos

$(C_5H_8)_n$ – politerpenos

Amplamente distribuídos nos vegetais, principalmente nos clorofilados, os terpenos constituem um grupo de compostos químicos com extraordinária diversidade estrutural.

A produção de isoprenóides, quer nos tecidos animais, quer nos vegetais, parece obedecer a uma linha biossintética comum.

Embora, seja indiscutível o encadeamento de unidades de isopreno na estrutura molecular de todos os compostos e radicais poliprênicos, nunca se conseguiu identificar a presença de isopreno livre como produto natural, nem demonstrar que fosse utilizado como precursor dos isoprenóides, uma vez que, em sistemas bioquímicos, ele é utilizado na sua forma ativa de isopentenilpirofosfato¹.

Desta forma, considera-se o ácido mevalônico, composto isolado em 1956, produzido a partir de acetil-CoA, como precursor dos terpenos.

A partir da fosforilação do ácido mevalônico, a natureza emprega pirofosfatos como bons pontos de partida para a síntese de terpenos.

Após fosforilação, seguida de descarboxilação, do ácido mevalônico obtém-se a unidade isoprênica condensável, ativa, o isopentenil-pirofosfato (C-5). Por isomerização deste origina-se o dimetilalilpirofosfato, que ao sofrer condensação com outra molécula de isopentenil-PP dá origem ao geranyl-PP.

O geranyl-PP pode dar origem a seu isômero o neril-PP, ou então, este pode se formar também a partir da condensação do isopentenil-PP com o dimetilalil-PP, sem passar pelo geranyl-PP.

O geranyl-PP e o neril-PP são precursores diretos dos monoterpenos.

Através da condensação do geranyl-PP com uma unidade C-5, origina-se o farnesil-PP, precursor dos sesquiterpenos, e da condensação do farnesil-PP com outra unidade C-5, origina-se o geranylgeranyl-PP, precursor dos diterpenos. (Figura 05).

Estudos realizados por diversos autores, com diferentes espécies de *Mentha*, além de outras pertencentes a gêneros próximos, têm revelado a existência de profundas relações biogenéticas entre as espécies, dada a riqueza e semelhança entre os constituintes de seus óleos essenciais.

A presença constante de certos monoterpenos e sesquiterpenos, confirmam a existência de um precursor comum e sugerem que as rotas biossintéticas dos terpenóides obedecem os mesmos passos durante a produção destes metabólitos secundários.

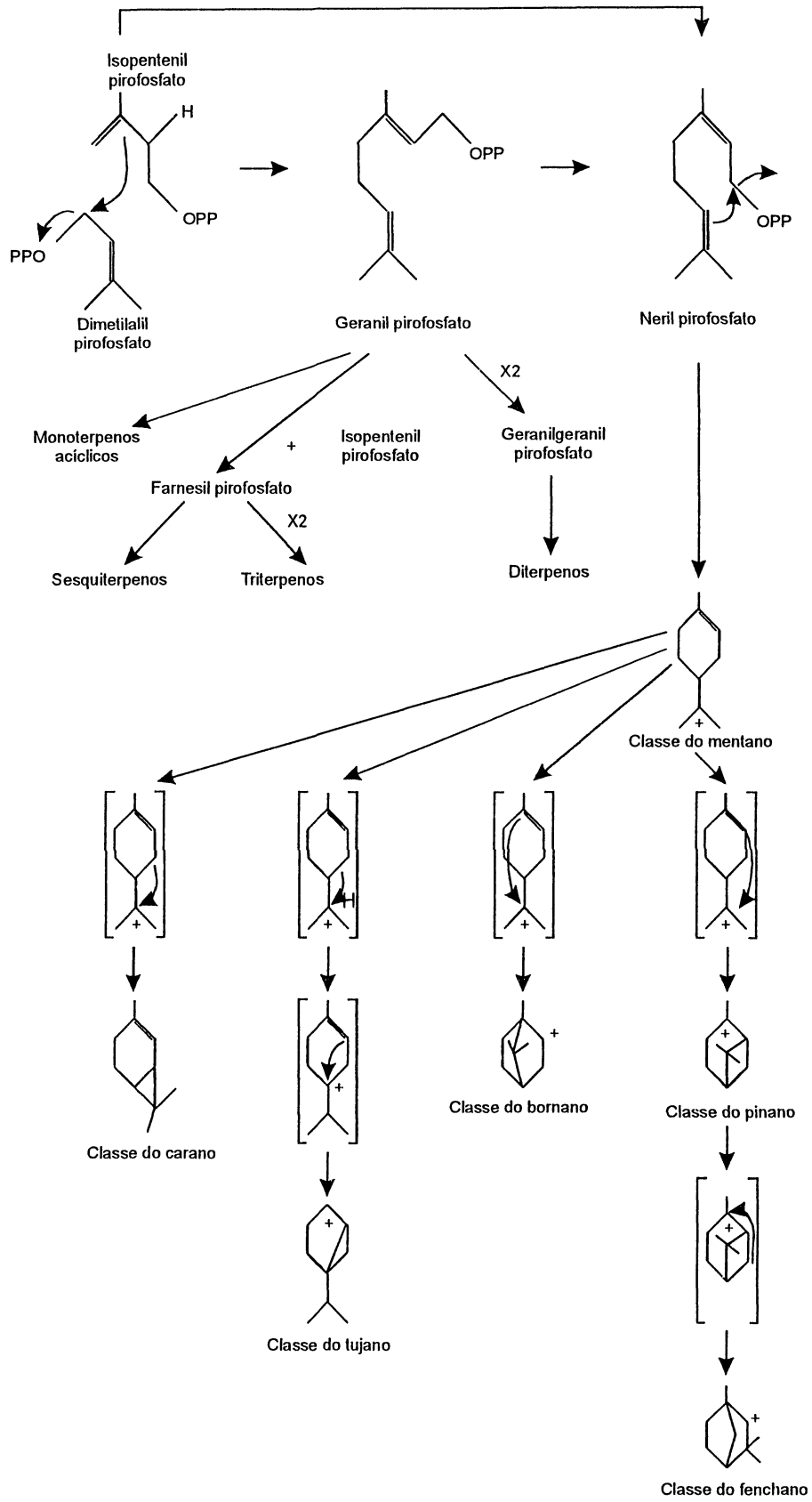


Figura 05: Provável mecanismo da biossíntese geral dos terpenos⁶³

4.2.1 Biossíntese de monoterpenos

Desde há muito tempo a biossíntese dos monoterpenos vêm sendo objeto de detalhados estudos por parte de muitos pesquisadores.

Embora já se tenha registro da ocorrência de pineno, limoneno, cineol e carvona em certas algas⁵¹, os monoterpenos são mais frequentes nos vegetais superiores, tornando-se difícil, porém, a delimitação de sua biossíntese a partir de um determinado grupo botânico, uma vez que dentro de uma mesma família a produção pode ser bastante diferenciada dentre os seus gêneros.

Notadamente pela abundância qualitativa e quantitativa, destacam-se as famílias: Labiatae, Gramineae, Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Umbelliferae e Compositae, dentro da divisão ANGIOSPERMAE, merecendo igual atenção a família Pinaceae da divisão GIMNOSPERMAE.

Os monoterpenos são encontrados sob forma acíclica ou cíclica; quando cíclicos são constituídos por anéis mono, bi ou tricíclicos. Podem ocorrer sob forma de hidrocarbonetos, mas geralmente são oxigenados, originando derivados cetônicos, alcoólicos ou aldeídicos, dentre outros.

Segundo REITSEMA⁵⁶, pode-se estabelecer para o gênero *Mentha* três linhas biogênicas, conforme a composição química de suas essências:

a) óleos essenciais com terpenóides acíclicos, como componentes fundamentais: mentas dos tipos citral, linalol, geraniol e acetato de geranila.

b) óleos essenciais com terpenóides p-mentânicos oxidados no átomo de carbono 2, como componentes fundamentais: mentas do tipo carvona, dihidrocarvona, carvomentona e álcoois correspondentes.

c) óleos essenciais com terpenóides p-mentânicos oxidados no átomo de carbono 3, como componentes fundamentais: mentas dos tipos mentona, isomentona, pulegona, piperitenona, piperitona, epóxidos, mentorufano e álcoois correspondentes.

Segundo VELASCO-NEGUERUELA, PÉREZ-ALONSO e RICO⁶⁵, excelente trabalho é apresentado por NAVES (1976) onde são analisadas as relações químicas entre os derivados p-mentânicos oxigenados em C-3, bem como as relações biogenéticas entre todos estes compostos. Fazem alusão, também, a LAWRENCE (1978), que, em tese de doutorado, realiza a análise mais completa que se conhece sobre o gênero *Mentha*, onde são propostas as rotas metabólicas dos derivados p-mentânicos presentes em seus óleos essenciais.

A biogênese do sistema p-mentânico, esqueleto fundamental da maior parte dos compostos terpênicos monocíclicos, inicia-se provavelmente a partir do neril-PP, tendo em vista a configuração mais fechada de sua cadeia, em relação ao seu isômero o geranil-PP, conforme a rota biossintética proposta por TYLER, BRADY e ROBBERS⁶³ e ilustrada na Figura 06.

A partir da desidratação do terpineol, pode-se originar o limoneno ou o terpinoleno; o primeiro dará origem à série da carvona e seus derivados, enquanto que o segundo dará origem à série da piperitenona e seus derivados.

No entanto, CROTEAU¹² em investigação mais recente, propõe a derivação do sistema p-mentânico a partir da ciclização do geranil-PP, dando origem ao limoneno e compostos subsequentes, conforme mostra a rota biossintética apresentada na Figura 07.

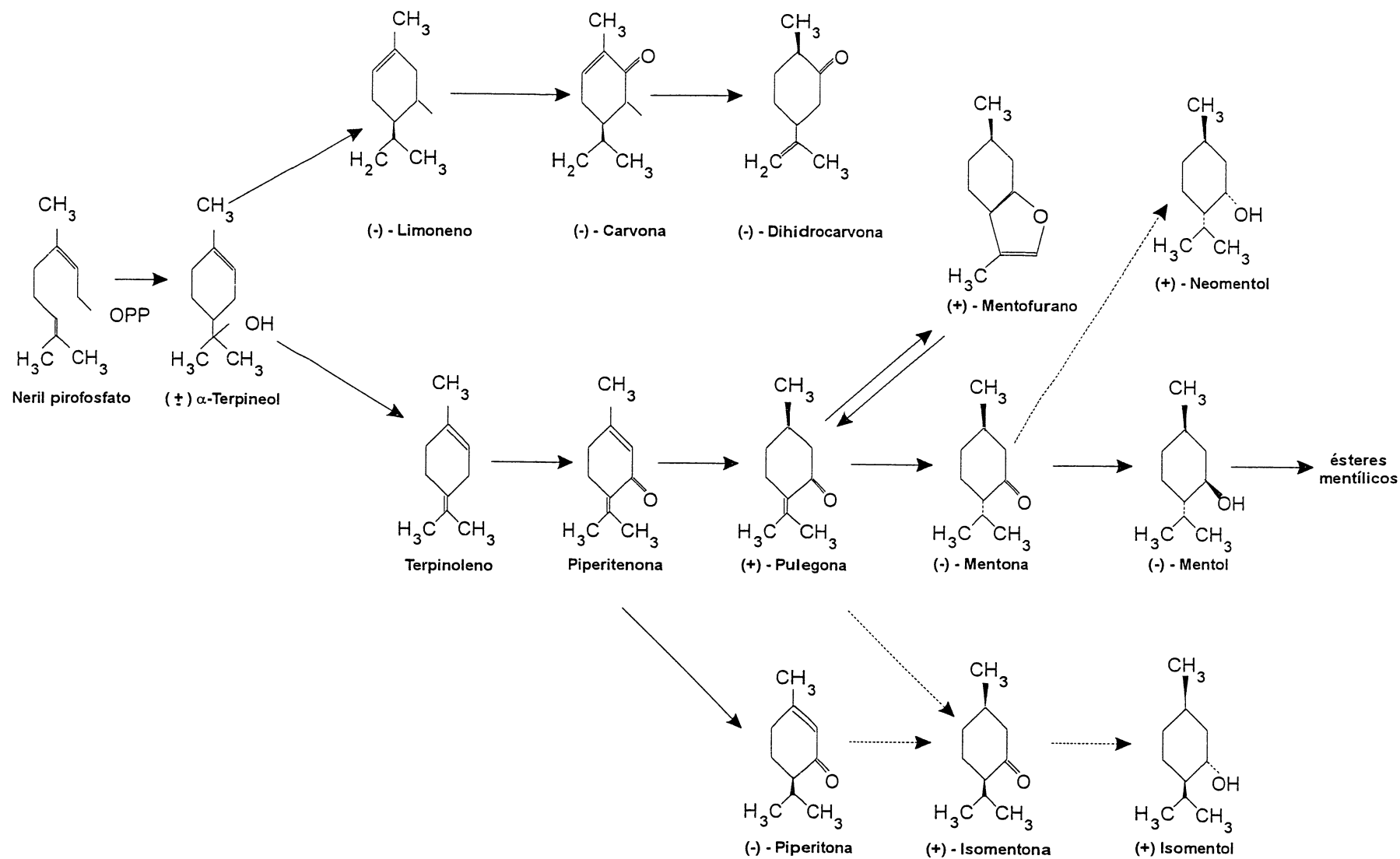


Figura 06: Rota biossintética do sistema p-mentânico a partir do neril pirofosfato⁶³

4.2.2 Biossíntese de sesquiterpenos

A variedade estrutural dos sesquiterpenos faz com que se tornem, provavelmente, a mais diversificada classe dentre os terpenos. Assim como os monoterpenos, eles também ocorrem nas plantas sob forma de hidrocarbonetos, ou nas formas oxigenadas como álcoois, aldeídos, ésteres, óxidos e epóxidos.

A partir da ionização do *cis*-farnesil-PP ou do *trans*-farnesil-PP origina-se o cátion farnesil, que dará origem a todos os sesquiterpenos, dentre os quais destaca-se o farnesol, importante intermediário na biossíntese dos esteróis e dos carotenóides.

Assim, a depender da configuração inicial do cátion, os compostos obtidos serão radicalmente diferentes, conforme expressam as rotas biossintéticas apresentadas nas Figuras 08 e 09.

4.2.3 Biossíntese de diterpenos

Os diterpenos são encontrados nas plantas sob forma acíclica, ou na forma mono, bi, tri, tetra ou pentacíclica.

O fitol é o diterpeno acíclico mais abundante na natureza, ocorrendo sob forma de álcool insaturado na molécula de clorofila. Participa também da constituição da vitamina K_1 e dos tocoferóis.

Os diterpenos são originados a partir do geranylgeranyl-PP, sendo que o fitol deriva diretamente deste por hidrogenação e hidrólise; daí a razão de ser considerado como precursor dos demais diterpenos. (Figura 10).

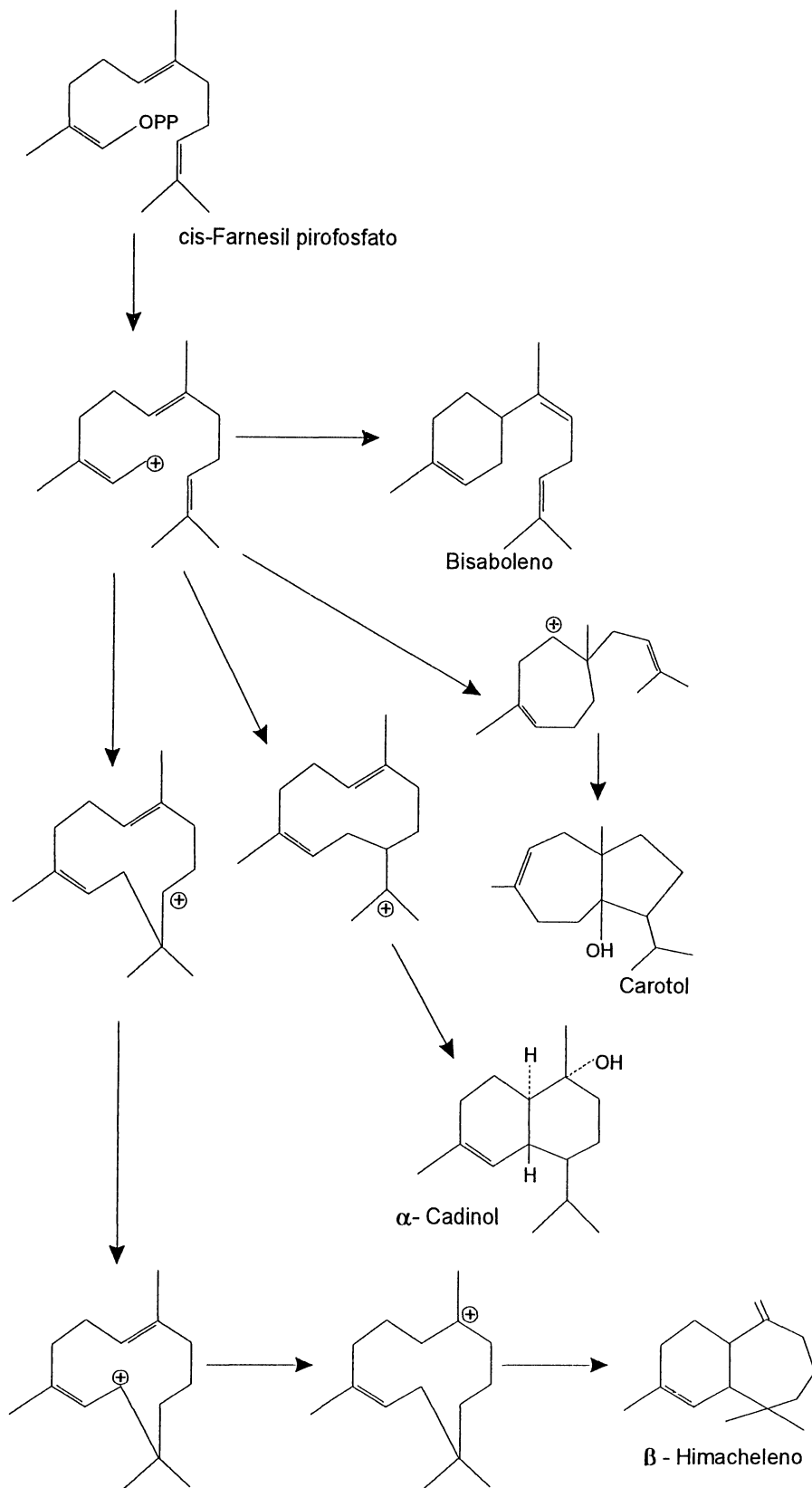


Fig 08 - Biossíntese de sesquiterpenos a partir do cis-farnesil pirofosfato²⁹

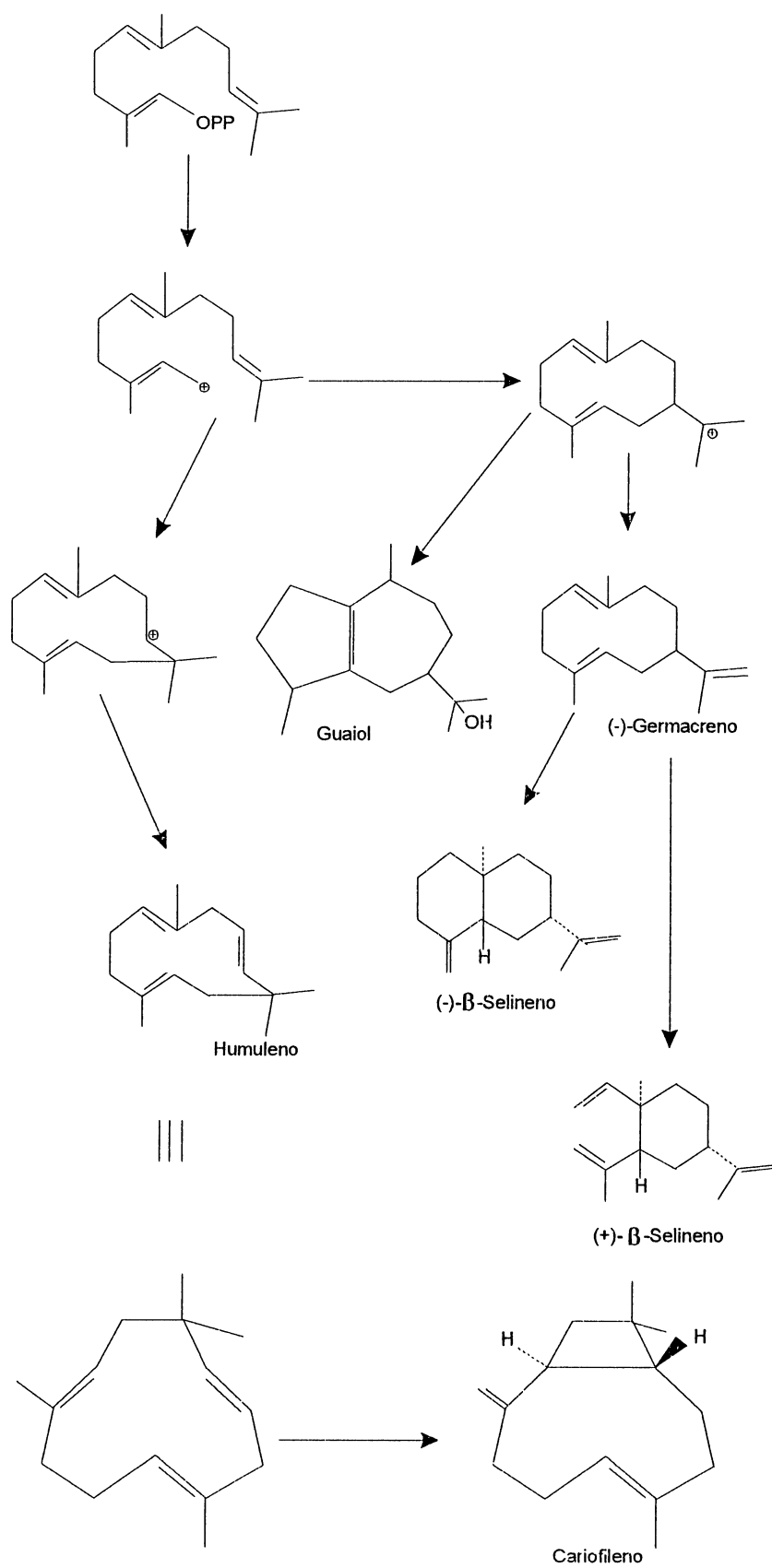


Fig 09 - Biossíntese de sesquiterpenos a partir do trans-farnesil pirofosfato²⁹

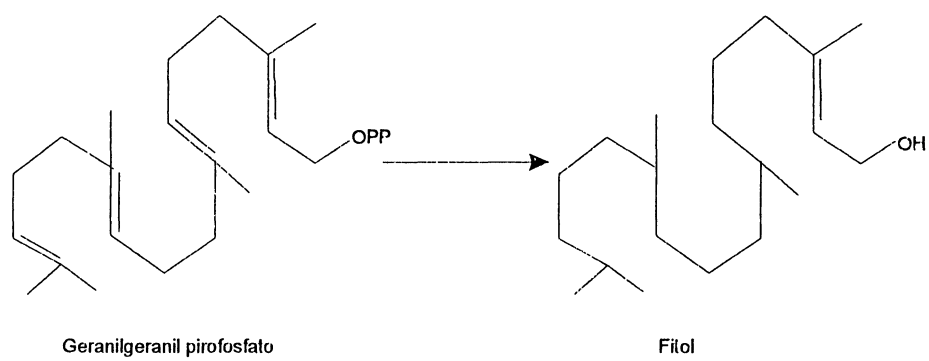


Figura 10 - Biossíntese do fitol a partir do geranylgeranyl pirofosfato²⁹

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MATERIAL

5.1.1 Material de coleta e herborização

Para coleta e herborização foi utilizado o seguinte material: tesoura, prensas de papelão e de madeira, jornal, estufa para desidratação, cartolina branca, fita adesiva gomada e etiquetas.

5.1.2 Material para análise botânica da espécie

Para a análise botânica utilizou-se: microscópio estereoscópio, pinças, agulhas histológicas, lâminas para cortes, pincéis, conta-gotas, placas de Petri e máquina fotográfica.

5.1.3 Material para análise fitoquímica

Para a análise fitoquímica da espécie utilizou-se: aparelho extrator tipo Clevenger, modificado por WASICKY⁶⁷, estufas, banho-maria, equipamento para cromatografia em camada delgada, cromatógrafo a gás, detector seletivo de massas, refratômetro, balanças, centrífuga, reagentes, solventes, tesoura e vidraria em geral.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Obtenção do material botânico

O material botânico, compreendendo partes aéreas de *Cunila microcephala* Benth., Labiatae, foi coletado a partir de plantas cultivadas no município de Cascavel, Paraná, durante os anos de 1991 a 1993.

O cultivo foi feito em dois canteiros, cada um medindo 1,50m de largura por 5,00m de comprimento, desprezando-se quaisquer técnicas utilizadas em olericultura, apenas preparando-se o solo com adubo orgânico, conforme prática habitual empregada em hortas caseiras, uma vez que se pretendeu cultivar a planta da mesma forma como é feita pela população.

A espécie foi confirmada pelo botânico Gert Hatschbach, do Museu Botânico Municipal de Curitiba, e um exemplar, devidamente exsiccado, foi incorporado ao Herbário

do Departamento de Botânica, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná (UPCB), sob o número 21.964.

As coletas foram realizadas nos períodos de pré-floração, floração e pós-floração da planta, sempre no final da tarde, e em dias secos. Procedeu-se a extração do óleo essencial sempre no dia seguinte ao de cada coleta.

Como o período de floração ocorre a partir do final de setembro, estendendo-se até o princípio de novembro, considerou-se os meses de junho, julho e agosto como o período de pré-floração e os meses de dezembro, janeiro e fevereiro como período de pós-floração. O mês de outubro foi o considerado como de floração efetiva.

5.2.2 Ensaio preliminares

5.2.2.1 Determinação das propriedades organolépticas, pH e extrato seco

Através da obtenção de extratos aquoso e alcoólico a 20%, do material botânico em estudo, recém coletado no período de floração, pode-se determinar cor, sabor, odor, pH e extrato seco (%) de ambas extrações.

5.2.2.2 Pesquisa química preliminar

A partir dos extratos aquoso e alcóolico a 20%, do material botânico em estudo, recém coletado no período de floração, realizou-se a marcha sistemática de análise fitoquímica, segundo MOREIRA⁴⁸, a fim de se determinar os seguintes grupos químicos:

Extrato Aquoso:

Ácidos fixos

Ácidos-voláteis

Amino-grupos

Gomas e mucilagens

Heterosídeos antociânicos

Heterosídeos cianogenéticos

Heterosídeos saponínicos

Taninos

Taninos condensados

Taninos hidrolisáveis

Oses e Osides

Extrato Alcóolico:

Ácidos orgânicos

Alcalóides

Amino-grupos

Heterosídeos antraquinônicos

Cumarinas

Esteróides e Triterpenos

Fenóis

Fenóis com posições O e M livres

Fenóis com posição P livre

Flavonóides

Heterosídeos cardioativos

Oses e Osides

5.2.2.3 Caracterização da presença de óleo essencial

5.2.2.3.1 Pesquisa olfativa

Para verificação da presença de odor aromático, esmagou-se, entre os dedos, folhas recém coletadas do material botânico em análise.

5.2.2.3.2 Identificação química de óleo essencial

Em tubo de ensaio, contendo 3g de material botânico fresco, adicionou-se quantidade suficiente de água destilada e aqueceu-se até a ebulição. Recebeu-se os vapores em lâminas de vidro e tratou-se o condensado com Sudam III⁴⁸.

5.2.3 Extração e determinação quantitativa do óleo essencial

Para extração e determinação quantitativa do óleo essencial foi utilizado material botânico a fresco, coletado em períodos correspondentes à pré-floração, floração e pós-floração, por três anos consecutivos. Após fragmentação com auxílio de tesoura, o material foi submetido à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, modificado por WASICKY⁶⁷, anotando-se o rendimento bruto após funcionamento ininterrupto do aparelho por um período de 6 horas.

Através desse método, o resultado pode ser expresso em porcentagem volume-peso, ou seja, volume de óleo destilado (em ml) para cada 100g de material.

O óleo essencial obtido foi centrifugado, acondicionado em frasco âmbar e mantido em baixa temperatura.

5.2.4 Análise físico-química do óleo essencial^{9,21,28}

Procedeu-se a análise físico-química do óleo obtido através da hidrodestilação de material botânico a fresco, coletado nos períodos de pré-floração, floração e pós-floração. Pode-se determinar a densidade relativa, o índice de refração e a solubilidade em álcool. A rotação específica e o ponto de congelamento não foram determinados por quantidade insuficiente de amostra de óleo extraída.

5.2.4.1 Determinação da densidade relativa

A densidade relativa do óleo foi determinada através de picnômetro, com 5 cm de comprimento, usando-se água destilada como referencial, à temperatura de 20°C, uma vez que a densidade relativa é a relação da massa do óleo essencial pela massa da água destilada, a partir de volumes idênticos.

Para cada fração do óleo, conforme a época de coleta do material botânico, foram efetuadas três determinações, aplicando-se a fórmula abaixo e, posteriormente, calculando-se a densidade média.

$$D_{20} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

m = massa do picnômetro

m_1 = massa do picnômetro + água

m_2 = massa do picnômetro + óleo

5.2.4.2 Determinação do índice de refração

Esta determinação foi feita em refratômetro de Abbé, permitindo uma leitura entre 1300 e 1700, à temperatura de 20°C.

Este método permite a medida direta do ângulo de refração, pela observação direta do limite de reflexão total, mantendo a substância dentro das condições de isotropismo e transparência.

5.2.4.3 Determinação da solubilidade em álcool

Para esta determinação foram utilizados 4 tubos de ensaio contendo 0,2 ml de óleo em cada, e, com auxílio de uma bureta, gotejou-se etanol nas seguintes concentrações: 100%, 90%, 80% e 70% em cada tubo, até obtenção de uma solução límpida, registrando-se cada volume de etanol utilizado.

5.2.5 Análise cromatográfica do óleo essencial

5.2.5.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Várias são as fases móveis propostas pela literatura para análise cromatográfica de óleo essencial^{26,41,49,50,61,66}. Na Tabela 01 são apresentadas as fases móveis que foram testadas; escolheu-se a que melhor resultado apresentou, conforme as condições laboratoriais disponíveis.

Como fase estacionária, empregou-se placas de vidro revestidas por Sílica Gel G Merck, de 5x20 cm e 20x20 cm de tamanho, com 300 μ de espessura, ativadas a 110°C, durante uma hora. A técnica cromatográfica utilizada foi ascendente simples, em câmara retangular saturada, com fase móvel indicada.

5.2.5.1.1 Desenvolvimento do cromatograma

Aplicou-se nas placas cromatográficas, 5 μ l do óleo essencial, obtido a partir de material botânico coletado no período de floração, em forma de ponto e levou-se à câmara saturada com a fase móvel para desenvolvimento do cromatograma.

O tempo médio para desenvolvimento do cromatograma, num percurso de 10 cm, foi de 30 minutos.

5.2.5.1.2 Visualização do cromatograma

Após o desenvolvimento do cromatograma, as placas foram submetidas à luz UV para uma primeira visualização. Posteriormente, foram nebulizadas com os visualizadores selecionados.

Muitos são os visualizadores propostos pela literatura^{18,41,49,50,52,61,66} para análise e identificação de óleos essenciais. Na Tabela 02 são apresentados os que foram selecionados e testados.

TABELA 01 - FASES MÓVEIS TESTADAS PARA A SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cunila microcephala* Benth

Nº	FASES MÓVEIS	PERCURSO	REFERÊNCIAS
01	n-hexano - acetato de etila (85:15)	15 cm	49
02	n-hexano - éter etílico - acetato de etila (80:20:5)	15 cm	50
03	éter de petróleo - acetato de etila (80:05)	15 cm	26
04	tolueno - acetato de etila (93:7)	10 cm	66

TABELA 02 - VISUALIZADORES TESTADOS PARA ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cunila microcephala* Benth.

Nº	VISUALIZADORES	REFERÊNCIAS
01	Ácido sulfúrico concentrado	18 61
02	Anisaldeído sulfúrico	41 50 61 66
03	Vanilina sulfúrica	41 49 50 52 66

5.2.5.2 Cromatografia gasosa (CG)

A cromatografia gasosa foi desenvolvida em cromatógrafo modelo CG 37, fabricado por Instrumentos Científicos CG Ltda., São Paulo, sob duas condições, que se diferenciaram pelos tipos de colunas utilizadas.

Condição A

Detector: ionização de chama

Coluna: aço inox

comprimento: 3m

diâmetro interno: 1/8"

número: 2504

temperatura máxima: 350°C

fase estacionaria: 10% SE-30

suporte: CHR WHP

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo de gás: 33 ml/min

Temperatura inicial: 120°C

Temperatura final: 250°C

Temperatura do detector: 230°C

Temperatura do vaporizador: 180°C

Atenuação: 100 x 32

Velocidade do papel: 6mm/min

Volume de óleo injetado: 2 µl

Condição B

Detector: ionização de chama

Coluna: aço inox

comprimento: 2m

diâmetro interno: 1/8"

número: 2503

temperatura máxima: 220°C

fase estacionária: 10% CARBOWAX 20 M

suporte: CHR WHP

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo de gás: 33 ml/min

Temperatura inicial: 100°C

Temperatura final: 180°C

Temperatura do detector: 230°C

Temperatura do vaporizador: 180°C

Atenuação: 100 X 32

Velocidade do papel: 6 mm/min

Volume de óleo injetado: 2 µl

Em ambas condições descritas utilizou-se óleo procedente da mesma amostra, obtida de material botânico coletado no período de floração.

A cromatografia gasosa sob condição B foi feita somente para elucidar algumas dúvidas que se tinha em relação aos resultados obtidos segundo a condição A.

Foram utilizados os seguintes padrões, pertencentes à disciplina de Fitoquímica do Departamento de Farmácia do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná:

- α -pineno
- terpineno
- cineol
- mentona
- mentol
- mentofurano
- acetato de mentila
- pulegona
- linalol
- acetato de linalila
- p-cimeno
- terpineol
- carvona
- limoneno

5.2.6 Análise espectrométrica de massas (CG/EM)

Com o objetivo de se complementar a identificação de seus constituintes, o óleo essencial de *Cunila microcephala* Benth. foi submetido à análise espectrométrica de massas, nas seguintes condições:

5.2.6.1 Extração do óleo essencial

O material botânico recém coletado e fragmentado com auxílio de tesoura, foi submetido a extração por arraste a vapor, em aparelho tipo Clevenger, modificado por WASICKY⁶⁷, por um período de 3 horas. Dada a sensibilidade e o alto poder de separação do sistema CG/EM-HP, utilizado na análise espectrométrica de massas, a hidrodestilação do material botânico se deu em atmosfera neutra, segundo método de extração proposto por KUGLER³⁶, para impedir uma possível oxidação dos compostos, com a formação de subprodutos, podendo comprometer a identificação dos constituintes do óleo essencial em estudo. A coleta do óleo também foi feita em atmosfera neutra, em presença de nitrogênio e sulfato de sódio anidro, sendo imediatamente efetuada sua injeção em um detector seletivo de massas, acoplado a cromatógrafo a gás. Para esta análise extraiu-se óleo de material botânico coletado no período de pós-floração.

5.2.6.2 Análise do óleo essencial

Para a análise espectrométrica foi empregado o sistema CG/EM de Hewlett-Packard, cromatógrafo modelo HP 5890 e Detector Seletivo de Massas modelo HP 5970, com sistema de dados HP 300 com *software* para 38.000 espectros, nas seguintes condições de separação:

Fase móvel: hélio

Vazão: 4 ml/min

Coluna: PONA

comprimento: 50m

diâmetro interno: 0,2 mm

fase líquida estacionária: Crosslinked Methyl Silicone Gum

Temperatura inicial: 100°C

Temperatura final: 250°C

Energia: 70 eV

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ENSAIOS PRELIMINARES

Realizados os ensaios preliminares e a marcha sistemática de análise fitoquímica, os resultados obtidos estão expressos nas Tabelas 03 e 04.

Tabela 03 - ENSAIOS PRELIMINARES EM CAULE E FOLHAS DE
Cunila microcephala Benth

PESQUISA REALIZADA	RESULTADOS
Olfativa	odor aromático
Condensados com Sudam III	positivo
Extrato aquoso:	
• cor	castanho avermelhado
• sabor	mentolado
• odor	aromático, lembrando a menta
• pH	5,5
• extrato seco (%)	0,88
Extrato alcoólico:	
• cor	castanho
• sabor	mentolado
• odor	mascarado pelo álcool
• pH	5,5
• extrato seco (%)	0,86

Tabela 04 - INVESTIGAÇÃO QUÍMICA PRELIMINAR EM *Cunila microcephala* Benth.

GRUPOS QUÍMICOS PESQUISADOS	RESULTADOS
Extrato Aquoso	
• Ácidos fixos	++
• Ácidos voláteis	-
• Amino-grupos	+++
• Gomas e mucilagens	-
• Heterosídeos antociânicos	-
• Heterosídeos cianogenéticos	-
• Heterosídeos saponínicos	-
• Oses e Osides	+
• Taninos gerais	-
• Taninos condensados	+
• Taninos hidrolisáveis	+
Extrato Alcoólico	
• Ácidos orgânicos	++
• Alcalóides	-
• Amino-grupos	+++
• Heterosídeos antraquinônicos	-
• Cumarinas	+
• Esteróides e Triterpenos	+++
• Fenóis gerais	++
• Fenóis com posições O e M livres	++
• Fenóis com posição P livre	+
• Flavonóides	-
• Heterosídeos cardioativos	-
• Oses e Osides	+

Legenda:

- = resultado negativo
- + = traços
- ++ = resultado positivo
- +++ = resultado fortemente positivo

6.2 EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL

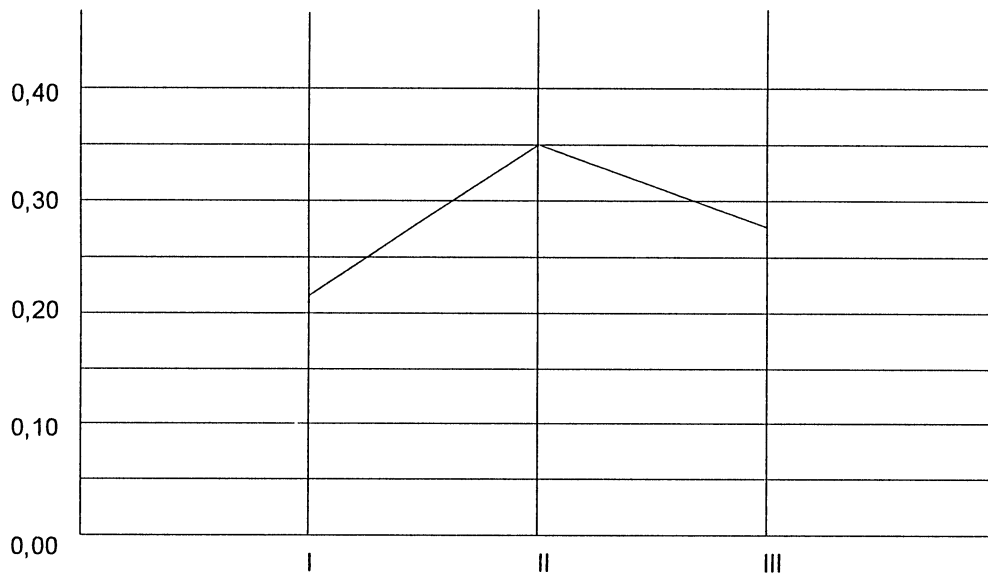
A Tabela 05 expressa a média do rendimento do óleo essencial equivalente a três extrações em cada coleta, compreendendo os períodos de pré-floração, floração e pós-floração da planta adulta, por três anos consecutivos. O maior rendimento do óleo sempre coincidiu com o período de floração da planta.

Considerando-se apenas o período compreendido entre junho/92 a fevereiro/93 a média de rendimento do óleo foi de: 0,28%.

TABELA 05 - RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL NOS PERÍODOS DE PRÉ-FLORAÇÃO, FLORAÇÃO E PÓS-FLORAÇÃO (%)

ANOS	MESES	PERÍODO	RENDIMENTO MÉDIO %
1991	outubro	floração	0,34
1991 - 1992	dez - jan - fev	pós-floração	0,26
1992	jun - jul - ago	pré-floração	0,21
1992	outubro	floração	0,35
1992 - 1993	dez - jan - fev	pós-floração	0,28
1993	jun - jul - ago	pré-floração	0,23
1993	outubro	floração	0,32

Figura 11 - Variação do rendimento do óleo essencial (%) de *Cunila microcephala* Benth., nos períodos de pré-floração, floração e pós-floração (1992).



I = Pré-floração (0,21%)
II = Floração (0,35%)
III = Pós-floração (0,28%)

Considerando-se todas as extrações efetuadas a partir de material coletado entre outubro/91 a outubro/93, a Tabela 06 apresenta a média do rendimento do óleo essencial, correspondente aos períodos de pré-floração, floração e pós-floração durante estes três anos.

Tabela 06 - RENDIMENTO MÉDIO POR PERÍODO (%)
ANOS: 1991 - 1992 - 1993

PERÍODO	RENDIMENTO MÉDIO
Pré-floração	0,22
Floração	0,34
Pós-Floração	0,27

6.3 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

6.3.1 Densidade relativa

Para cada período de coleta foram feitas três determinações da densidade relativa, sendo considerado o valor médio, conforme pode se observar na Tabela 07. Somente as coletas efetuadas entre junho/92 a fevereiro/93 foram submetidas a esta análise.

A média anual da densidade relativa foi de 0,8981.

6.3.2 Índice de refração

A tabela 07 evidencia o valor médio do índice de refração, determinado através do refratômetro de Abbé, correspondente a cada período de coleta entre junho/92 a fevereiro/93.

Para este índice obteve-se uma média anual igual a 1,4817.

Tabela 07 - DENSIDADE RELATIVA E ÍNDICE DE REFRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cunila microcephala* Benth.

PERÍODO	MESES	DENSIDADE RELATIVA (Média)	ÍNDICE DE REFRAÇÃO (Média)
Pré-floração	jun/92	0,8795	1,4790
	jul/92		
	ago/92		
Floração	out/92	0,8928	1,4810
Pós-floração	dez/92	0,9220	1,4850
	jan/93		
	fev/93		

6.3.3 Solubilidade em etanol

A solubilidade em etanol foi verificada na porção de óleo extraída durante o período de floração de outubro/92 e os resultados estão expressos na Tabela 08.

Tabela 08 - SOLUBILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cunila microcephala* Benth. EM ETANOL

CONCENTRAÇÃO ALCOÓLICA	ETANOL: ÓLEO
100%	qualquer volume de etanol
90%	1,5 : 1,0
80%	2,0 : 1,0
70%	3,0 : 1,0

6.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO ÓLEO ESSENCIAL

6.4.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Conforme já apresentadas na Tabela 01, foram testadas quatro fases móveis para separação dos constituintes do óleo essencial de *Cunila microcephala* Benth. A fase móvel que permitiu uma melhor resolução foi a correspondente a uma mistura de tolueno-acetato de etila na proporção 93:7.

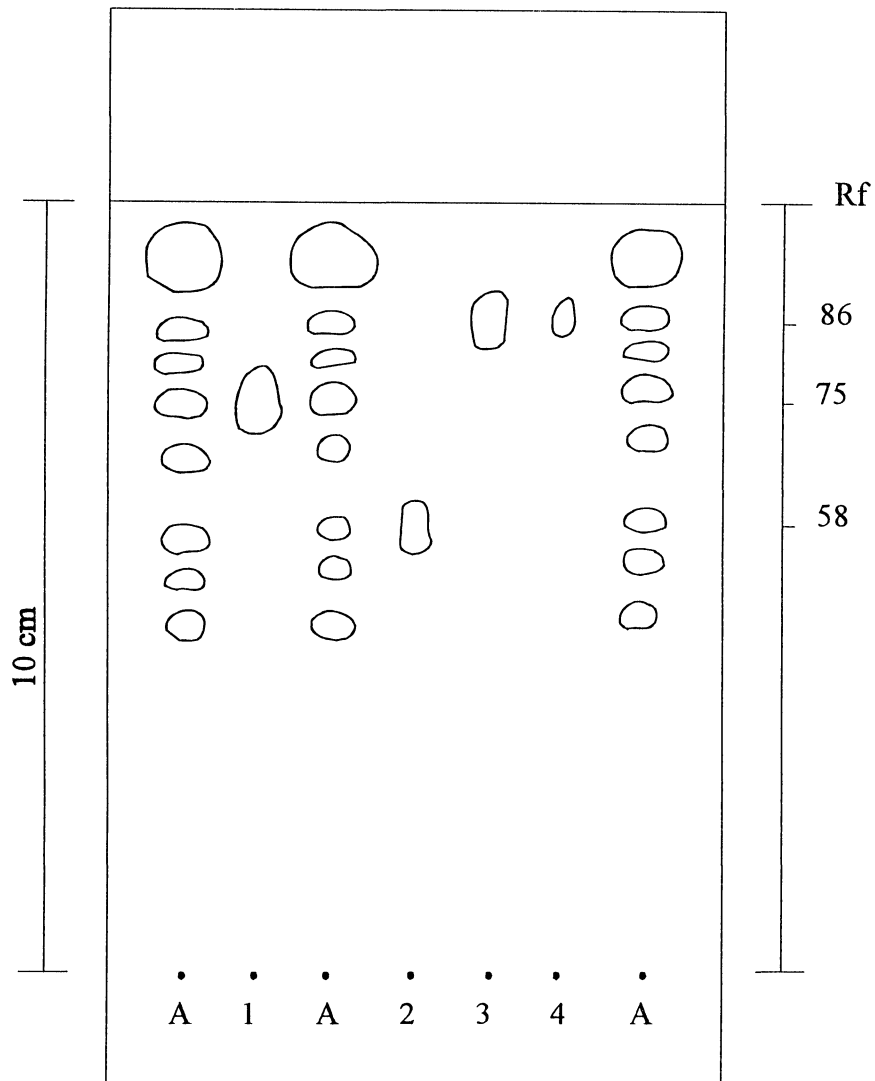
Dentre os visualizadores testados, os que apresentaram melhores resultados foram: vanilina sulfúrica e ácido sulfúrico concentrado.

O sistema cromatográfico que proporcionou o melhor resultado para a investigação do óleo em estudo foi o seguinte:

Amostra.....	Óleo essencial extraído das partes aéreas de <i>Cunila microcephala</i> Benth.
Adsorvente	Sílica Gel G Merck
Ativação	110°C - 1 hora
Tamanho da placa.....	5 cm x 20 cm - 20 cm x 20 cm
Espessura	300 µ
Câmara.....	retangular - saturada
Fase móvel	tolueno - acetato de etila (93:7)
Desenvolvimento.....	10 cm - ascendente
Tempo de desenvolvimento	30 minutos
Volume depositado nos pontos de partida.....	5 µl
Visualizador.....	Vanilina sulfúrica

O cromatograma desenvolvido com a amostra e os padrões de óleo essencial é apresentado na Figura 12.

Figura 12: Cromatograma em camada delgada (CCD) do óleo essencial de *Cunila microcephala* Benth. e padrões de óleo essencial*



A: amostra do óleo essencial em estudo

1: cineol

2: mentol

3: acetato de mentila

4: mentona**

* Disciplina de Fitoquímica do Departamento de Farmácia do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

** A mentona apresentou-se mascarada pelo acetato de mentila na amostra; foi identificada por CG.

6.4.2 Cromatografia em fase gasosa (CG)

Com o objetivo de se comprovar os resultados obtidos pela CCD, além de identificar outros constituintes do óleo essencial em estudo que não o foram através desta análise, procedeu-se a cromatografia em fase gasosa, conforme condições já descritas no item 5.2.5.2.

Após o desenvolvimento do cromatograma, verificou-se a presença de uma série de picos, indicando que o óleo essencial é constituído por vários compostos, conforme ilustra a Figura 13. Este cromatograma foi obtido a partir de cromatografia gasosa realizada segundo a condição A, descrita em 5.2.5.2, sendo que a realizada conforme a condição B serviu apenas para elucidar algumas dúvidas quanto os resultados apresentados pela anterior.

A identificação dos prováveis componentes do óleo essencial em análise foi determinada mediante comparação com o tempo de retenção de uma série de substâncias consideradas como padrões.

Assim sendo, verificou-se a presença dos seguintes compostos: α -pineno, cineol, terpineno, linalol, mentona, mentofurano, neomentol, terpineol, acetato de linalila, acetato de mentila e pulegona, conforme evidencia a Tabela 10.

6.4.3 Análise espectrométrica de massas (CG/EM)

Conforme cromatograma apresentado na Figura 14 a análise espectrométrica confirmou, pelo grande número de picos, que se trata de um óleo essencial de composição bastante diversificada.

Os dados obtidos a partir deste cromatograma são apresentados na Tabela 09.

Através desta análise pode-se constatar a presença de: linalol, isomentona, neomentol, piperitona, α -copaeno, calareno, cariofileno, α -humuleno, γ -cadineno, β -bisaboleno, espatulenol, torreiol, farnesol, fitol e um sesquiterpeno (PM 204), conforme expressa a Tabela 10.

A identificação foi feita mediante comparação do espectro de massas de cada pico com o espectro de massas dos compostos através de consulta na literatura específica, bem como comparação com os espectros fornecidos pela memória do banco de dados do sistema CG/EM-HP.

As Figuras 15 a 29 apresentam o espectro de massas de cada um dos componentes do óleo essencial de *Cunila microcephala* Benth, identificados por CG/EM.

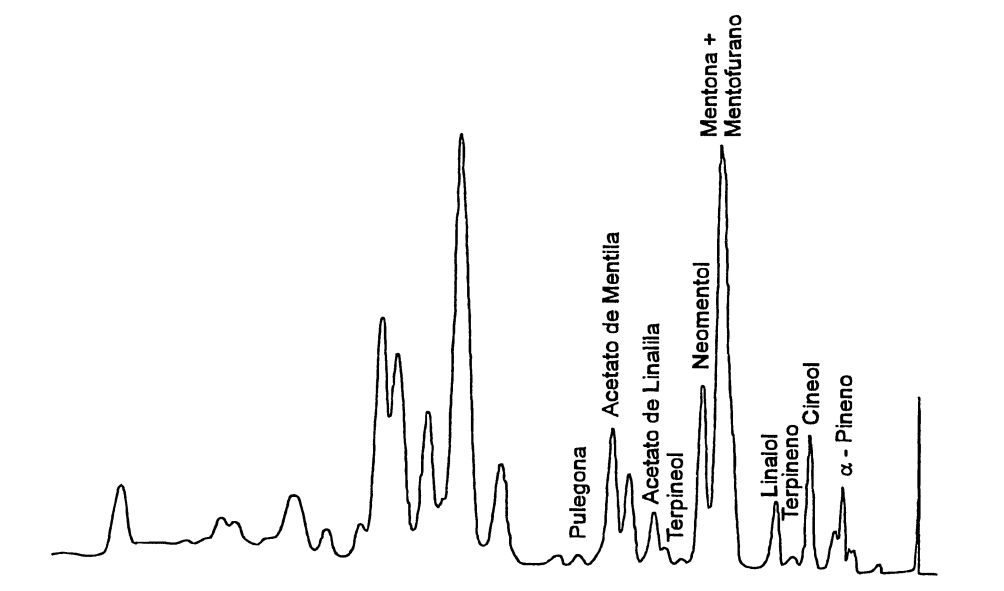


Figura 13: Perfil cromatográfico em fase gasosa (CG) do óleo essencial de *Cunila microcephala* Benth.

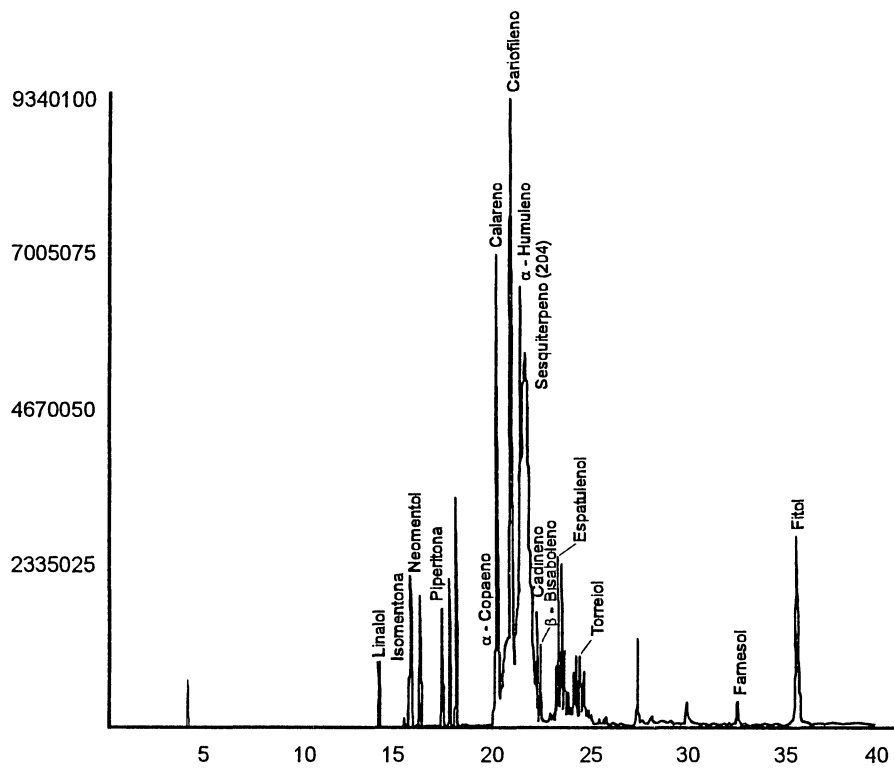


Figura 14: Perfil cromatográfico em fase gasosa acoplado à espectrometria de massas (CG/EM)

Tabela 09 - DADOS REFERENTES AOS PICOS DO CROMATOGRAMA EM FASE GASOSA ACOPLADO A ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG/EM)

PICO	TEMPO DE RETENÇÃO	ÁREA	ÁREA %
1	4.144	18566899	0.40
2	14.284	25762226	0.55
3	15.620	4729194	0.10
4	15.842	30369492	0.65
5	15.945	76398126	1.63
6	16.378	64065013	1.37
7	17.493	55598974	1.19
8	17.893	66689479	1.42
9	18.207	104335804	2.23
10	20.104	39245361	0.84
11	20.235	354865380	7.58
12	20.759	251561749	5.37
13	21.002	694016189	14.82
14	21.258	155162174	3.31
15	21.482	529086366	11.30
16	21.754	1122315168	23.97
17	22.006	102019541	2.18
18	22.260	66474360	1.42
19	22.476	36151904	0.77
20	23.003	7572117	0.16
21	23.151	5883381	0.13
22	23.390	123565314	2.64
23	23.600	122782768	2.62
24	23.774	59752208	1.28
25	23.977	19451106	0.42
26	24.137	9634009	0.21
27	24.258	75445862	1.61
28	24.530	44942440	0.96
29	24.704	40765937	0.87
30	24.941	7178625	0.15
31	25.496	5218289	0.11
32	25.862	7132389	0.15
33	27.520	53569591	1.14
34	27.751	5663362	0.12
35	28.236	9387245	0.20
36	30.060	18342954	0.39
37	32.683	21747107	0.46
38	35.856	246357012	5.26

Tabela 10 - COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE
Cunila microcephala Benth.

COMPOSTOS	CG	CG/EM
α -pineno	x	-
cineol	x	-
terpineno	x	-
linalol	x	x
mentona + mentofurano	x	-
isometona	-	x
neometol	x	x
terpineol	x	-
acetato de linalila	x	-
acetato de mentila	x	-
pulegona	x	-
piperitona	-	x
α -copaeno	-	x
calareno	-	x
cariofileno	-	x
α -humuleno	-	x
sesquiterpeno (PM = 204)	-	x
γ -cadineno	-	x
β -bisaboleno	-	x
espatulenol	-	x
torreiol	-	x
farnesol	-	x
fitol	-	x

Legenda:

x = composto identificado na amostra

CG = cromatografia gasosa

CG/EM = cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

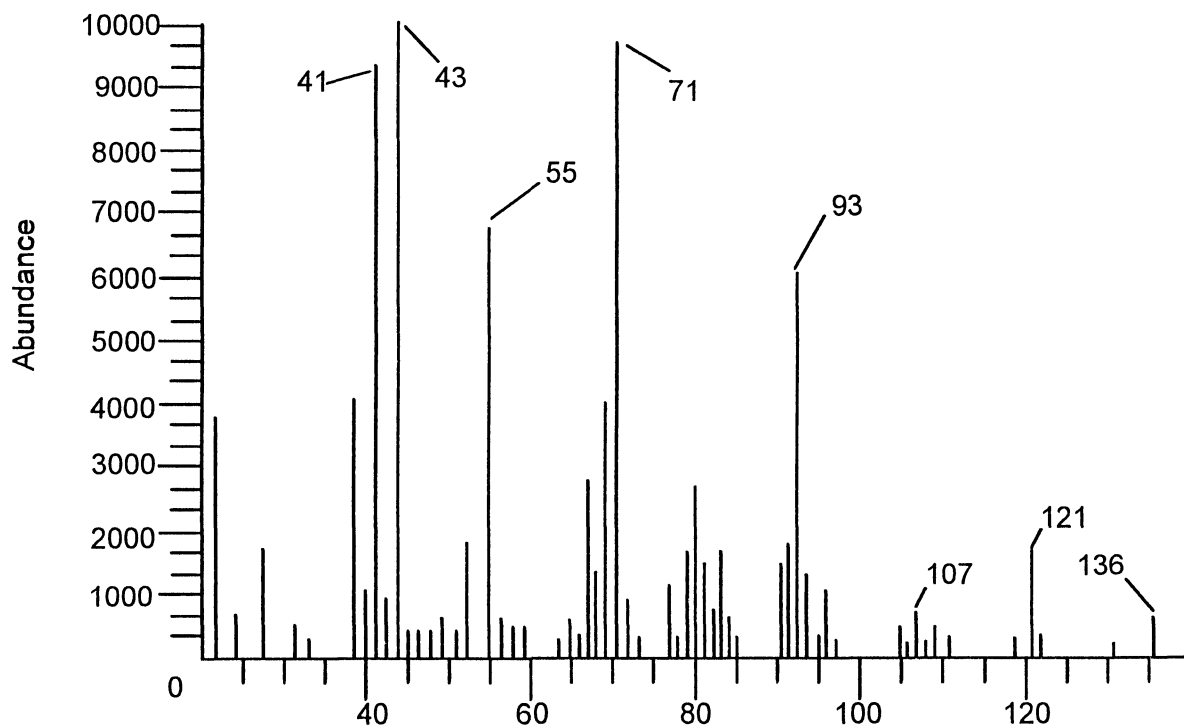
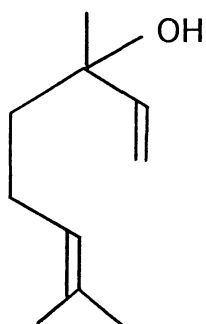


Figura 15 - Espectro de massas do linalol



Linalol⁴⁵
 $C_{10}H_{18}O$ (154)

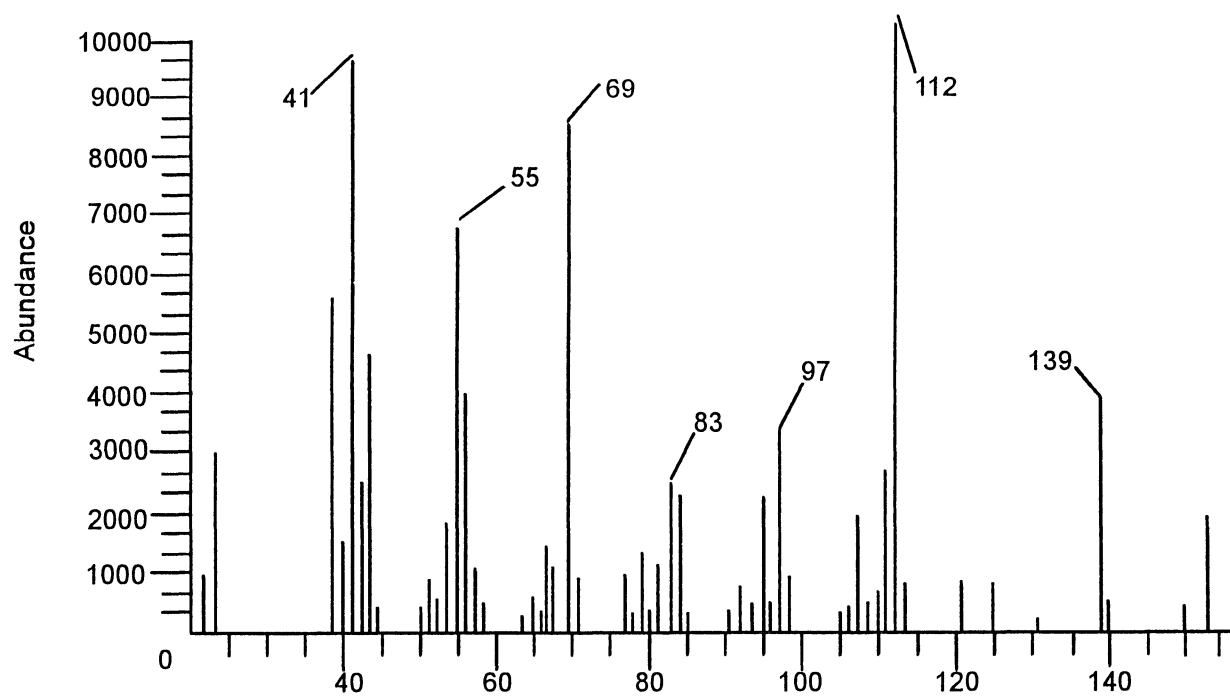
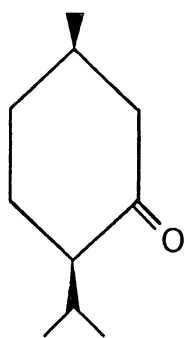


Figura 16 - Espectro de massas da (+)-isomentona



(+)-Isomentona¹⁶
C₁₀ H₁₈ O (154)

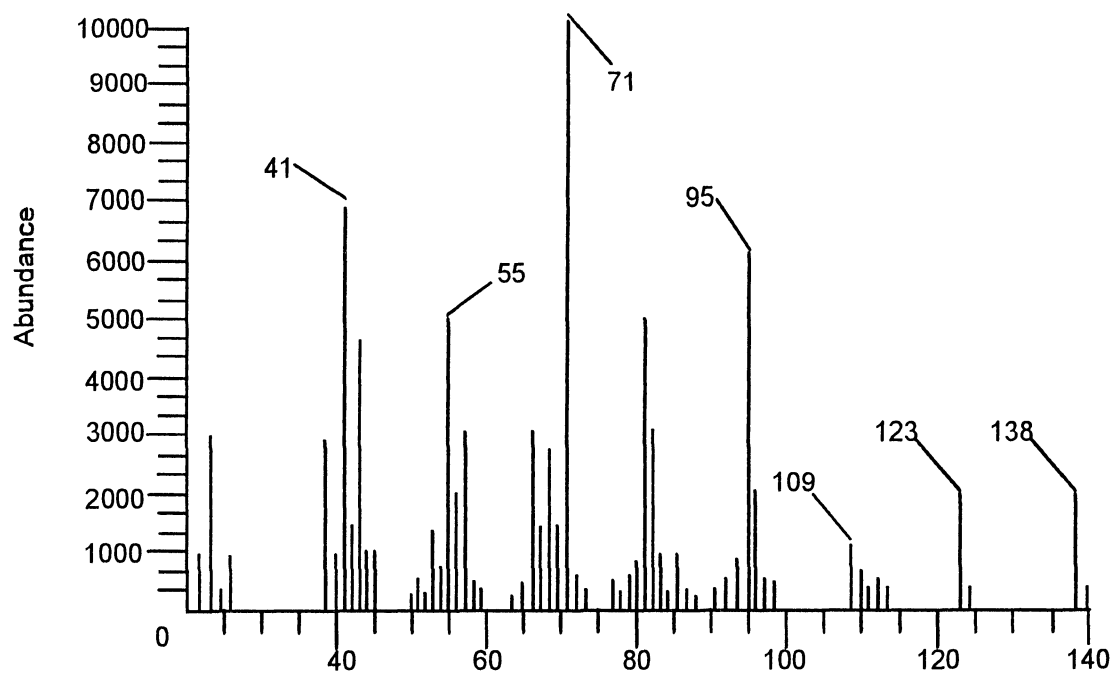
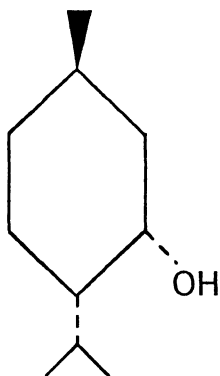


Figura 17 - Espectro de massas do (+)-neomentol



(+) - Neomentol^{16,45}
 $C_{10}H_{20}O$ (156)

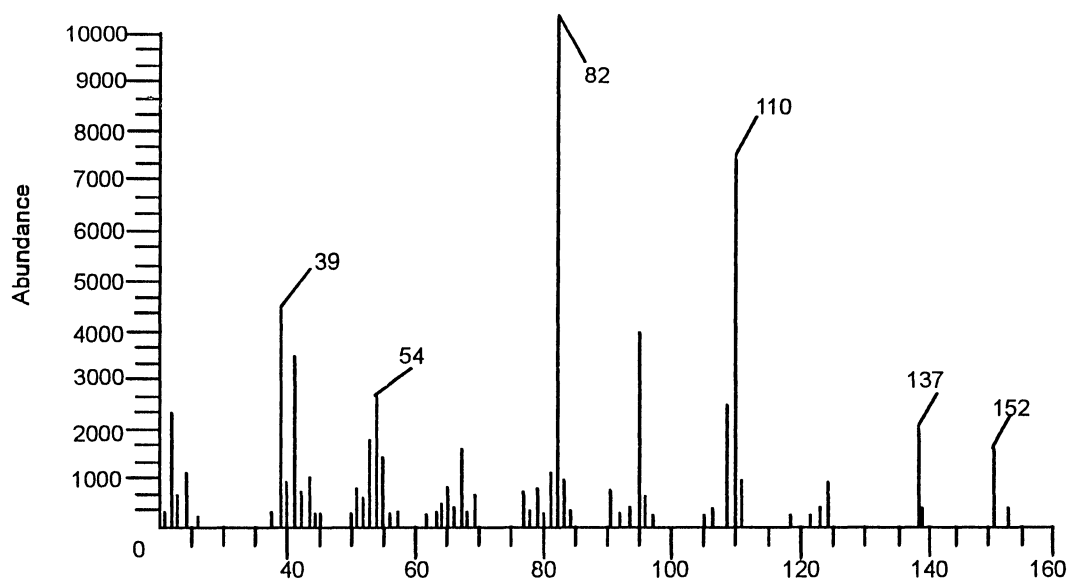
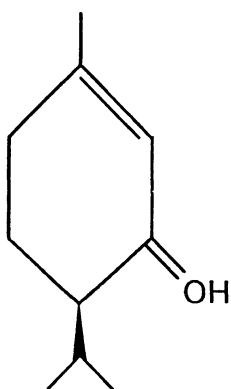


Figura 18 - Espectro de massas da (-)-piperitona



(-) - Piperitona^{16,45}
 $C_{10}H_{16}O$ (152)

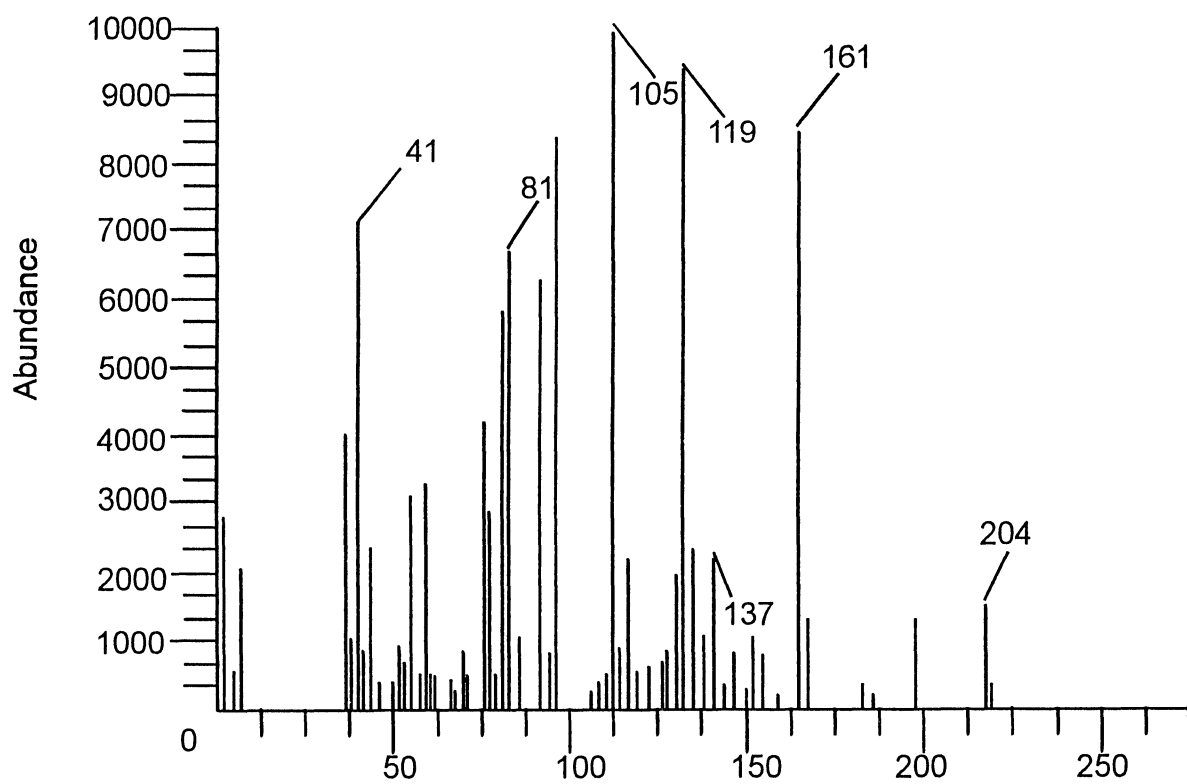
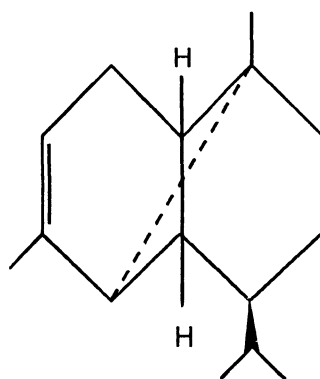


Figura 19 - Espectro de massas do α -copaeno



α -Copaeno^{17,26}
 $C_{15}H_{24}$ (204)

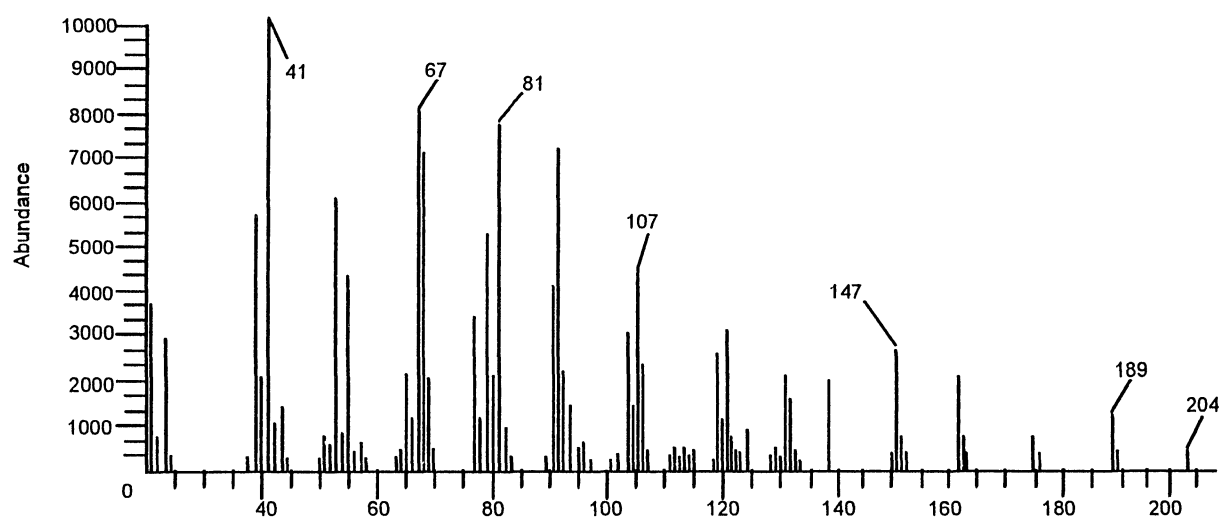
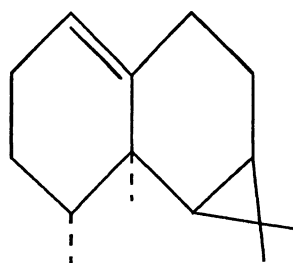


Figura 20 - Espectro de massas do calareno



Calareno^{17,26}
C₁₅H₂₄(204)

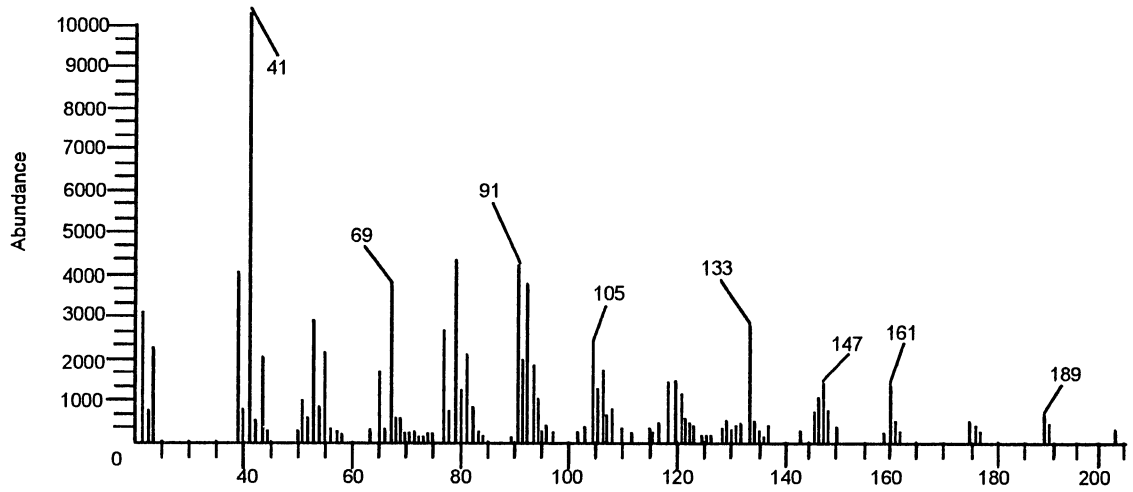
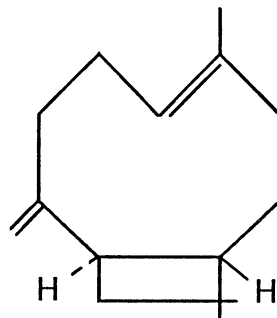


Figura 21 - Espectro de massas do β -cariofileno



β -Cariofileno^{17,26,45}
 $C_{15}H_{24}$ (204)

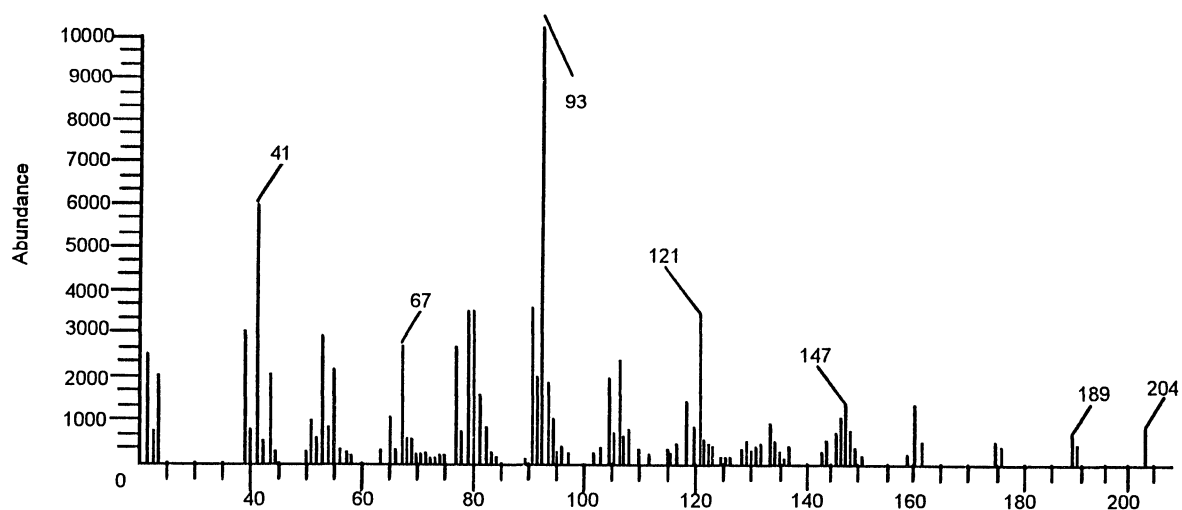
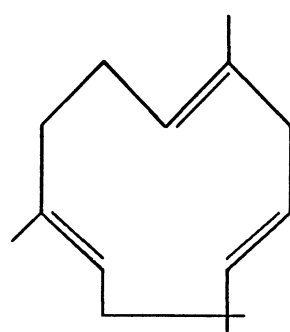


Figura 22 - Espectro de massas do α -humuleno



α -Humuleno^{17,26}
 $C_{15}H_{24}$ (204)

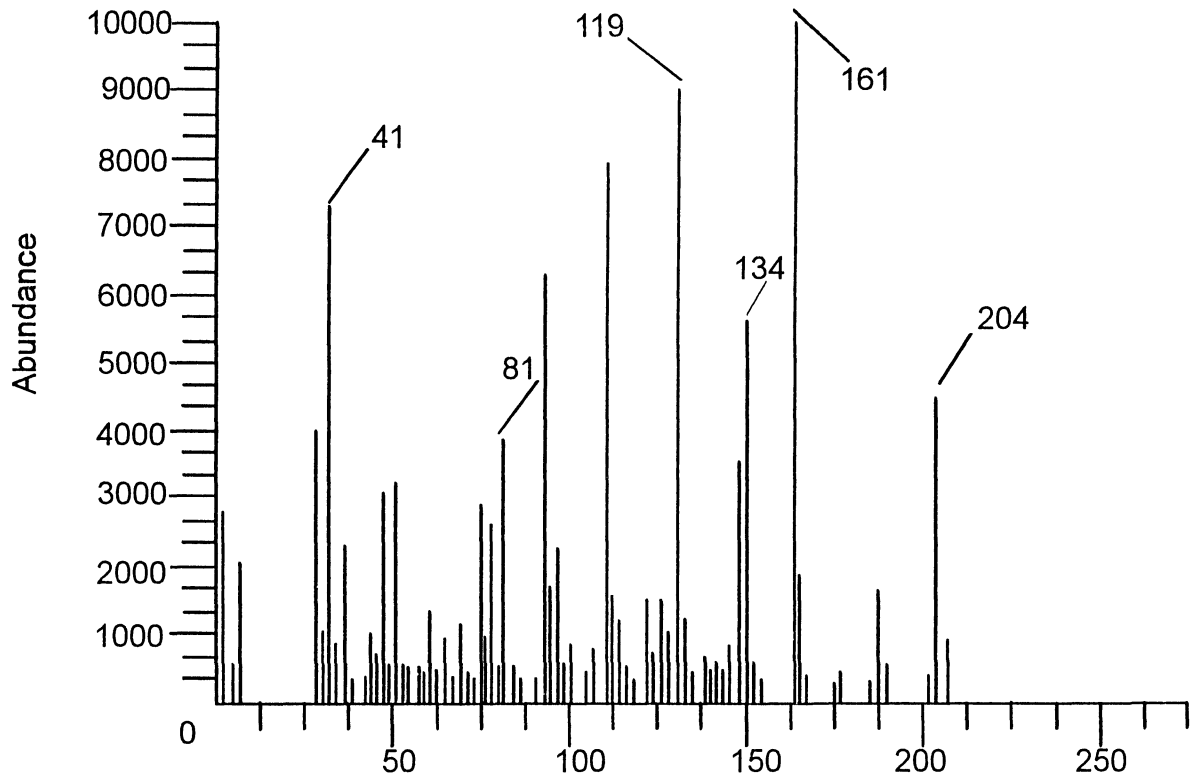
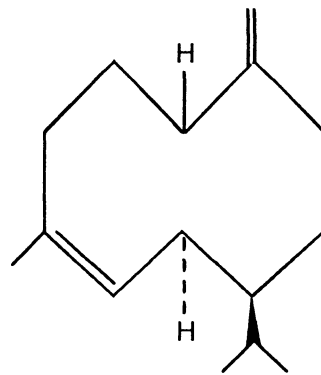


Figura 23 - Espectro de massas do γ -cadineno



γ -Cadineno^{17,25,26}
 $C_{15}H_{24}$ (204)

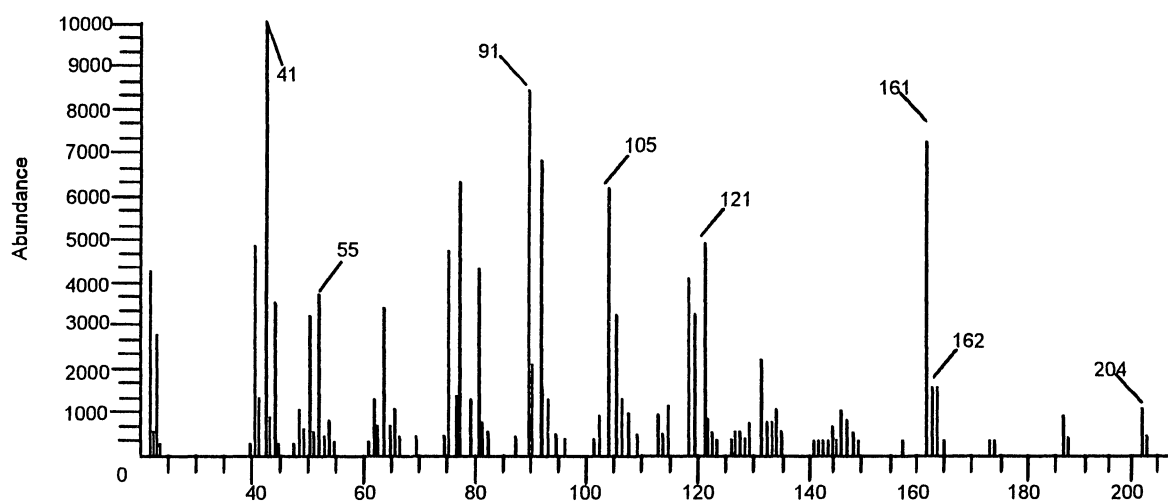


Figura 24 - Espectro de massas de um sesquiterpeno (PM 204)

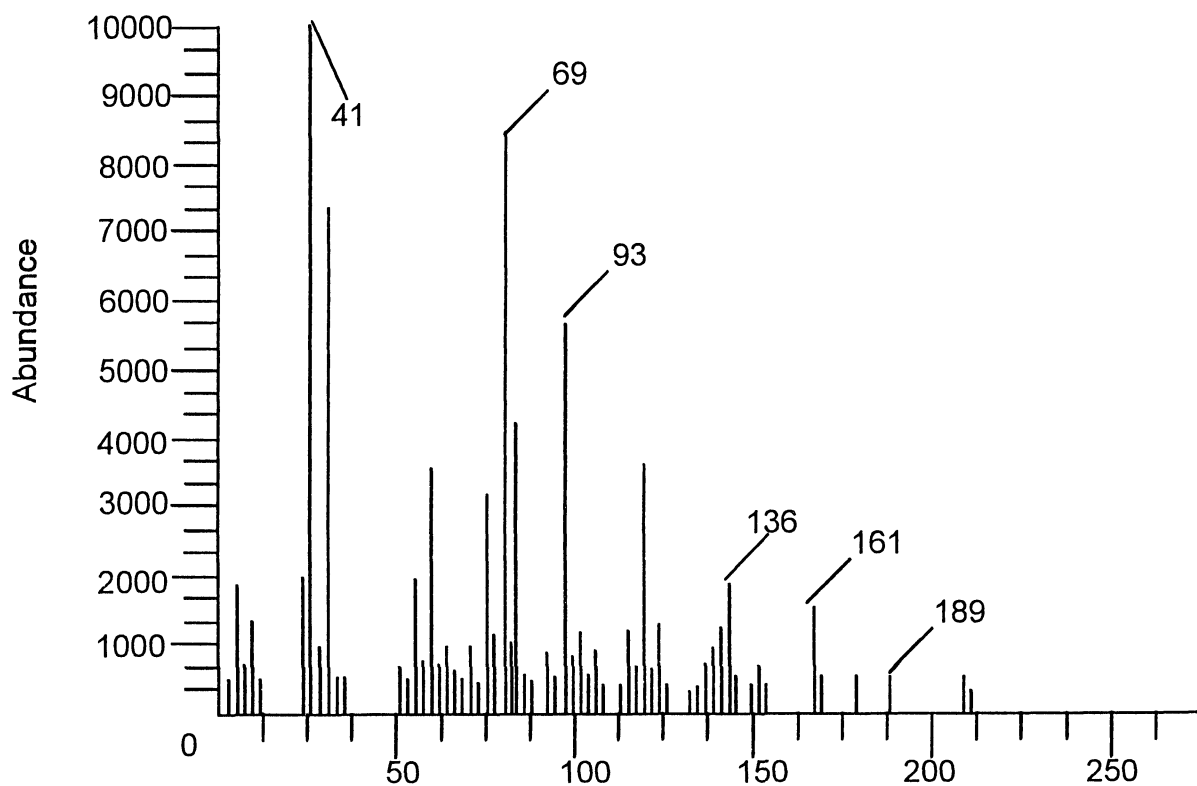
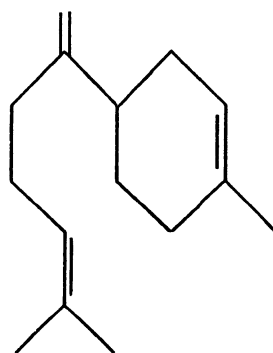


Figura 25 - Espectro de massas do β -bisaboleno



β - Bisaboleno^{17,35}
 $C_{15}H_{24}$ (204)

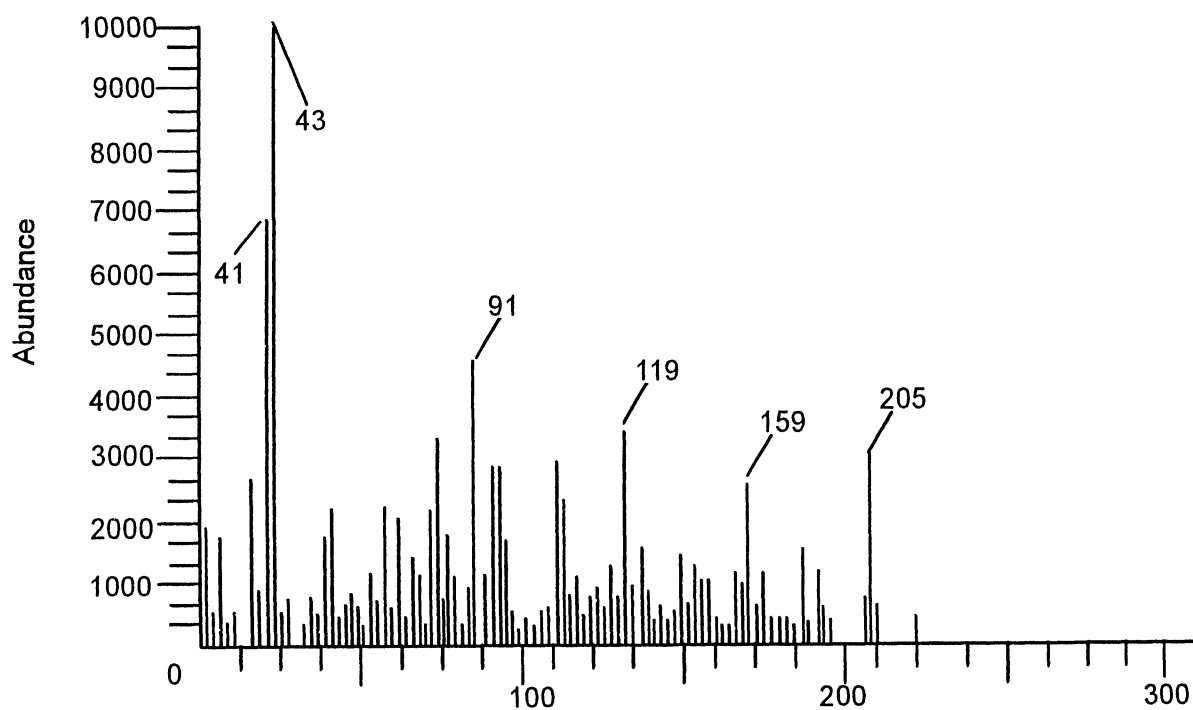
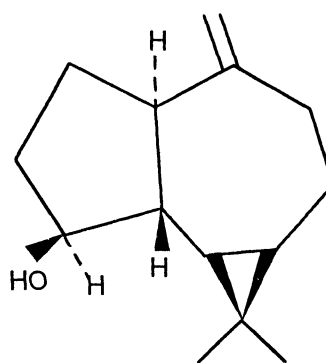


Figura 26 - Espectro de massas do spatulenol



Espatulenol^{6,26}
C₁₅H₂₄(220)

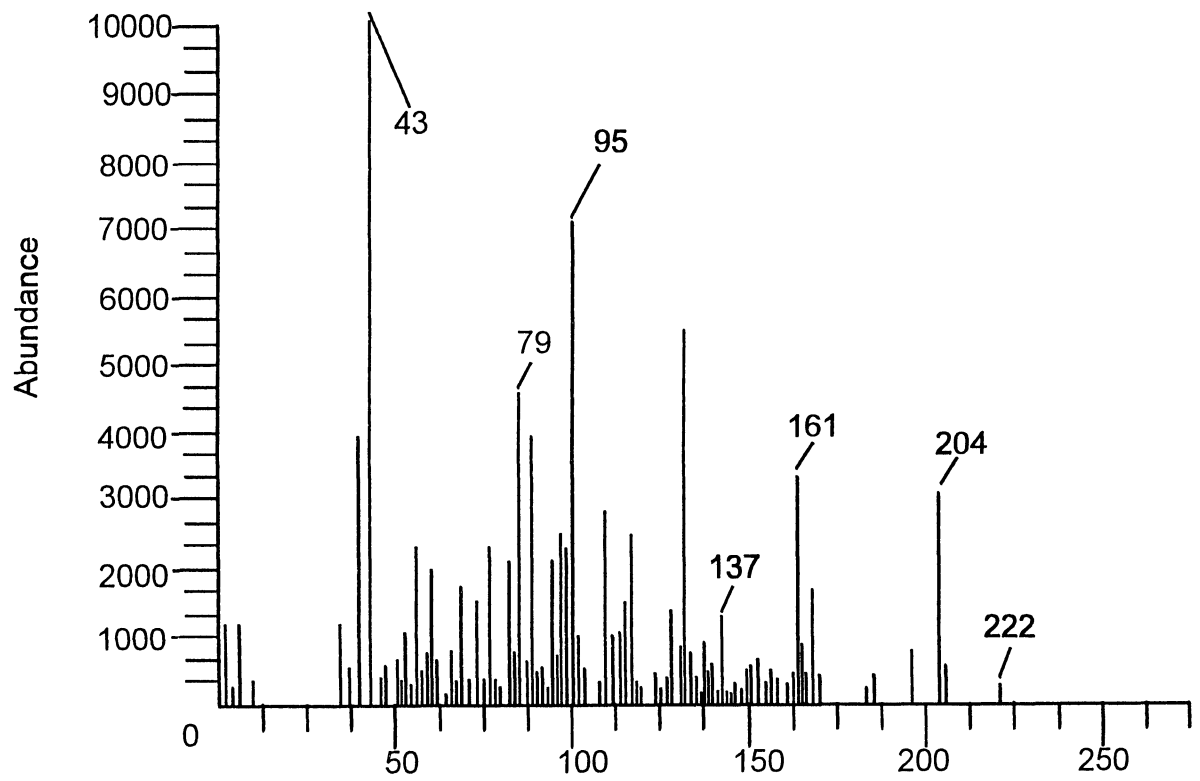
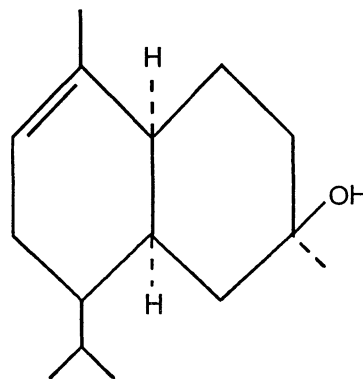


Figura 27 - Espectro de massas do (-) - torreiol



(-) - Torreiol⁵⁷
 $C_{15}H_{26}O$ (222)

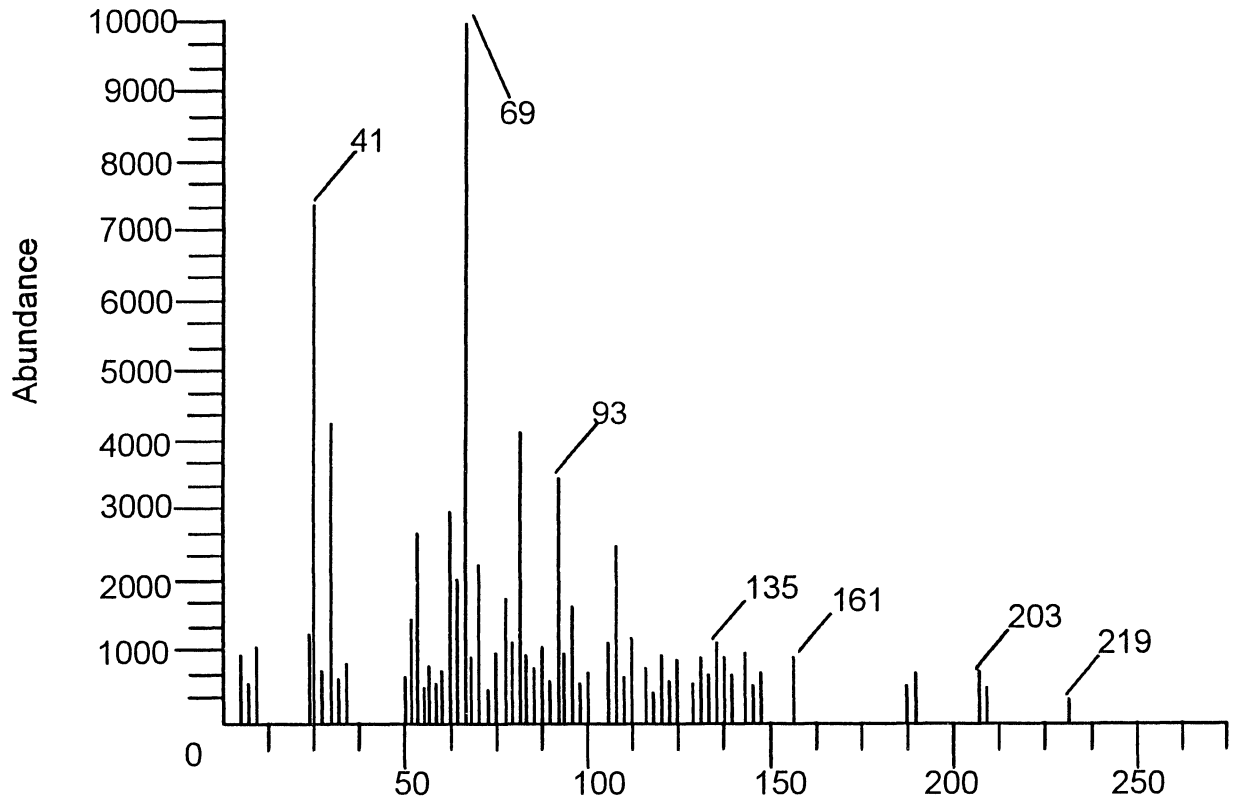
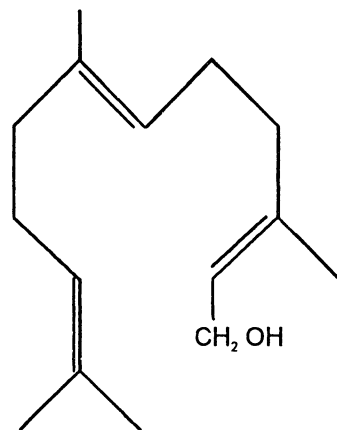


Figura 28 - Espectro de massas do farnesol



Farnesol^{2,17,45}
C₁₅H₂₆O (222)

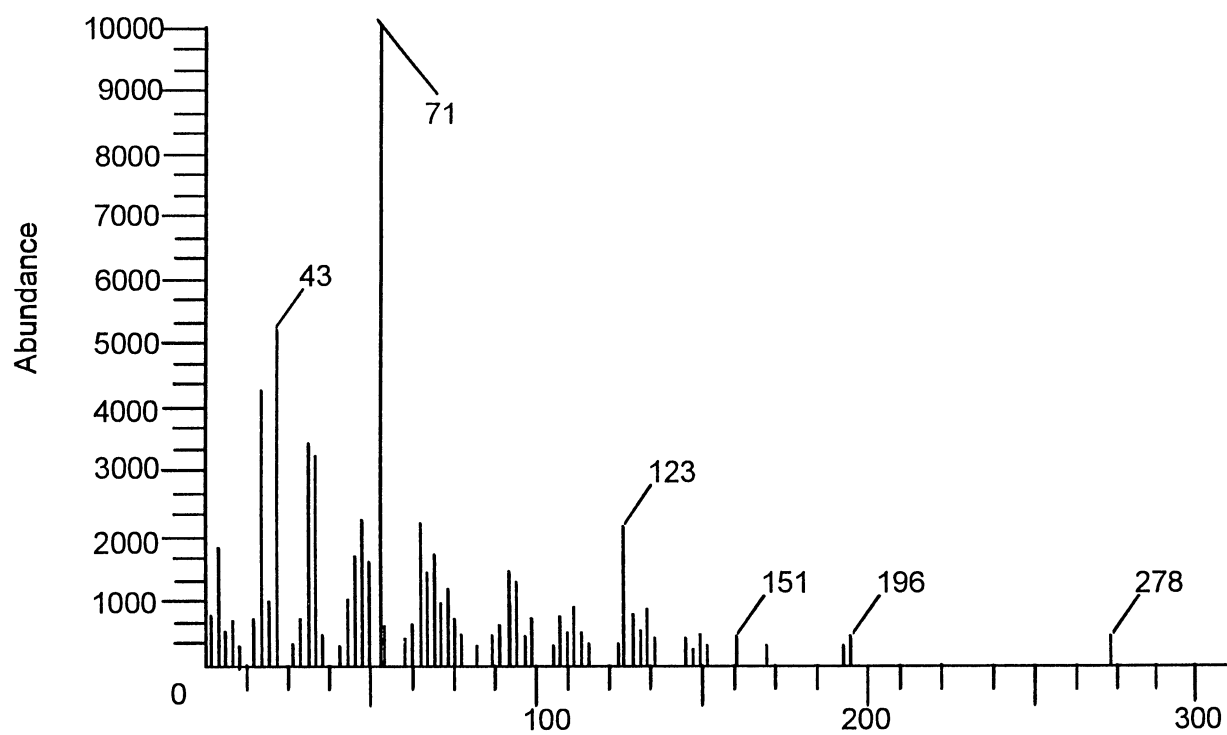
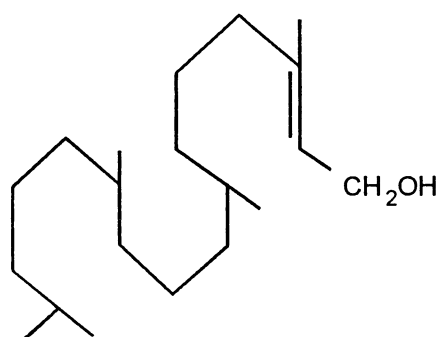


Figura 29 - Espectro de massas do fitol



Fitol^{2,17}
C₂₀H₄₀O (296)

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesta investigação pode-se concluir que:

A pesquisa química preliminar realizada com as partes aéreas de *Cunila microcephala* Benth, indicou a presença de: ácidos fixos, amino-grupos, taninos condensados e hidrolisáveis, ácidos orgânicos, cumarinas, fenóis, oses e osides, esteróides e triterpenos.

A pesquisa olfativa e o teste com Sudam III indicaram a presença de óleo essencial, principal objeto de estudo deste trabalho.

A média de rendimento anual do óleo foi de 0,28%, sendo o maior índice de rendimento sempre coincidente com o período de floração da planta.

A análise físico-química do óleo revelou:

- densidade relativa = 0,8981
- índice de refração = 1,4817
- solubilidade = 1 parte do óleo essencial é miscível em 2 partes de etanol a 80%, e, em 3 partes de etanol a 70.

A essência de *Cunila microcephala* Benth, apresenta composição química bastante diversificada com predominância de mono e sesquiterpenos. Mesmo não tendo sido identificados todos os seus componentes, pode-se constatar a presença de: α -pineno, cineol, terpineno, linalol, mentona, mentofurano, isomentona, neomentol, terpineol, acetato de linalila, acetato de mentila, pulegona, piperitona, α -copaeno, calareno, cariofileno, α -humuleno, γ -cadineno, β -bisaboleno, espatulenol, torreiol, farnesol, fitol e um sesquiterpeno (PM 204).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLINGER, N.L. *et al.* **Química orgânica**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1978.
2. ATLAS Spectral data and physical constants for organic compounds. Ohio : CRC Press, 1973.
3. BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa : UFV, 1986. v. 3.
4. BAUER, K.; GARBE, D. **Common fragrance and flavor materials**. Weinheim : VCH, 1985.
5. BRADE, A.C. Labiadas novas do Brasil. **Rodriguésia**, 7(16):23-33, 1943.
6. BRUNKE, E.J.; HAMMERSCHMIDT, F.J.; SCHMAUS, G. El aceite esencial de *Santolina chamaecyparissus* L. **Dragoco Report**, 4:151-167, 1992.
7. CAMINHOÁ, J.M. **Elementos de botânica geral e médica**. Rio de Janeiro : Typographia Nacional, 1877. v. 3.
8. CORREA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro : Imprensa Nacional/IBDF, 1984. v. 5.
9. COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 4. ed. Lisboa : Fundação Calouste Gulbenkian. v. 1.
10. CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York : Columbia University Press, 1981. v. 2.
11. CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. Boston : H.M. Company, 1968.
12. CROTEAU, R. Metabolism of monoterpenes in mint (*Mentha*) species. **Planta Medica**, 57 (Suppl.) : 10-14, 1991.
13. DAHLGREN, R.M.T. A revised system of classification of the Angiosperms. **Bot. J. of Linnean Soc.** 80:91-124, 1980.
14. DE PASCUAL TERESA, J. IX Congres International des huilles esssenciales de Singapour. **Parfums, Cosmetiques, Aromes**, 53:63-73, 1983.
15. DELGADO, G.; HERNÁNDEZ, J.; PEREDA-MIRANDA, R. Triterpenoid acids from *Cunila lythrifolia*. **Phytochemistry**, 28(5):1483-1485, 1989.
16. DEV. S. **CRC Handbook of terpenoids**. Boca Raton : CRC Press, 1986. v. 2.
17. DEVON, T.K.; SCOTT, A.I. **Handbook of naturally occurring compounds**. New York : Academic Press, 1972, v. 2.
18. E. MERCK A.G. **Reativos de coloración para cromatografia en capa fina y en papel**. Darmstadt, Alemanha.
19. ECONOMOU, D.; NAHRSTEDT, A. Chemical, physiological and toxicological aspects of the essential oil of some species of the genus *Bystropogon*. **Planta Medica**, 57:347-351, 1991.

20. EPLING, C.; TOLEDO, J.F. Labiadas. In: HOEHNE, F.C. **Flora Brasílica**, 48(7):1-107, 1943.
21. FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 4. ed. São Paulo : Atheneu, 1988. Parte I.
22. FESTER, G.A.; MARTINUZZI, E.A. Essence of peperine: *Bystropogon mollis*. **Anales Assoc. Quím. Argentina**, 37:197-207, 1949.
23. FESTER, G. A. *et al.* Estudios sobre esencias volatiles argentinas. **Rev. de la Fac. de Ing. Quím.**, 29:21-44, 1960.
24. FIRMAGE, D. H.; IRVING, R. Effect of development on monoterpene composition of *Hedeoma drummondii*. **Phytochemistry**, 18:1827-1829, 1979.
25. FUJIMORI, T. *et al.* Neutral aroma constituents in Burley tobacco. **Agr. Biol. Chem.**, 40(2):303-315, 1976.
26. GABRIEL, M.M. Estudo fitoquímico do óleo essencial de *Hedyosmum brasiliense* Mart, ex Miq. - Chloranthaceae. Tese de mestrado, UFPR, 1991.
27. GÓMEZ-SERRANILOS REUS, M. Estudio farmacognóstico de la *Micromeria fruticosa*. Tese de Doutorado, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid, 1976.
28. GUENTHER, E. **The essential oils**. New York : R.E. Krieger Pub. Company, 1972, v. 3.
29. HEGGIE, W. Isoprenóides. In: LOBO, A. M. **Biossíntese de produtos naturais - metabolismo secundário**. Lisboa : Universidade Nova de Lisboa, 1976.
30. HEYWOOD, V.H. **Flowering plants of the world**. Oxford : Oxford University Press, 1978.
31. HOLEMAN, M. *et al.* Analyse chimique de l'huile essentielle de *Mentha gatifossei* Maire. **Parfums, Cosmetiques, Aromes**, 59:61-62, 1984.
32. HUTCHINSON, J. **Evolution and philogeny of flowering plants**. New York : Academic Press, 1969.
33. JOLY, A.B. **Botânica - Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo : Ed. Nacional, 1987.
34. KOKKALOU, E. The volatiles constituents of *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides*. **Planta Medica**, :163-164, 1988.
35. KUBECZKA, K.H.; STAHL, E. Über ätherische öle der Apiaceae (Umbelliferae). I. Das wurzelöl von *Pastinaca sativa*. **Planta Medica**, 27:235-241, 1975.
36. KUGLER, W. Extração e separação dos componentes do óleo de cabreúva - *Myrocarpus frondosus* Allem. e *Myrocarpus fastigiatus* Allem. Tese de Mestrado, UFPR, 1978.
37. LA SERNA, I. Revisión del género *Bystropogon* L'Hér (Lamiaceae-Stachyoideae). Endemismo de la región Macaronésica. Tese de Doutorado, Universidade de La Laguna, Islas Canarias, 1980.
38. LA SERNA, I.; SÁENZ, C. Estudio morfológico del polen en el género *Bystropogon* L'Hér (Lamiaceae). **Botânica Macaronésica**, 8:5-15, 1981.

39. LAWRENCE, G.H.M. **Taxonomia das plantas vasculares**. Lisboa : Fundação Calouste Gulbenkian, 1951. v. 1.
40. LIZZI, S.M.; RETAMAR, J.A. Aceite essencial de *Minthostachis verticilata* (Griseb) Epling. Peperina. **Riv. Italiana**, 57(4):219, 1975.
41. MANCINI, B. Estudo cromatográfico comparativo dos óleos essenciais oficializados pela farmacopéia brasileira. I. Cromatografia em camada delgada: descrição do método. **Rev. Fac. Farm. Odontol. de Araraquara**, 3(2):223-241, 1971.
42. MANJARREZ, A.; MENDOZA, V. The volatile oils of *Agastache mexicana* (Benth.) Epling and *Cunila lythrifolia* Benth. **Perfum. Essent. Oil Rec.**, 57:561-562, 1966.
43. MANNS, D. New monoterpenes from *Cunila spicata*. **Planta Medica**, 59:171-173, 1993.
44. MANNS, D.; HARTMANN, R. The constitution and configuration of isocaryophyllen-13-al. **Planta Medica**, 58:442-444, 1992.
45. MASADA, Y. **Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry**. New York : J. Wiley, 1976.
46. MENDES H.B. Cultivo e uso de plantas medicinais em população de baixa renda da periferia de Cascavel - Paraná - Brasil. Monografia de Especialização, UNIJUI, 1988.
47. MONTES, M. *et al.* Détermination de la pulégone dans l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. orinaire du Chili. **Ann. Pharm. Fr.**, 44(2):133-136, 1986.
48. MOREIRA, E.A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna Farmacêutica**, 47(1):1-19, 1979.
49. MOREIRA, E.A.; KRAMBECK, R. Análise cromatográfica do óleo essencial das folhas de *Cunila angustifolia* Benth. **Tribuna Farmacêutica**, 44(1-2):50-59, 1976.
50. NAKASHIMA, T. *et al.* Óleo essencial em espécies de *Eucalyptus* aclimatadas no Estado do Paraná. **Tribuna Farmacêutica**, 53(1):29-35, 1985.
51. NICHOLAS, H.J. Terpenes, In: MILLER, L.P. **Phytochemistry - Organic Metabolites**. New York : V.N.R. Company, 1973. v. 2.
52. PARIS, R.; GODON, M. Analyses des huiles essentielles par chromatographie sur papier et sur plaques. Application à quelques essences officinales. **Ann. Pharm. Fr.**, 19(2):86-93, 1961.
53. PECKOLT, T. Heil - und nutzpflanzen brasiliens. **Ber. Pharm. Ges.**, 14:372-388, 1904.
54. PEREIRA, C.; PEREIRA, E. Flora do Estado do Paraná - Família Labiatae. **Arq. Jd. Bot. Rio de Janeiro**, 19:79-107, 1973.
55. RAMBO, B. A flora fanerogâmica dos aparados riograndenses. **Sellowia**, 7:235-298, 1956.
56. REITSEMA, R.H. A biogenetic arrangement of mint species. **J. Am. Pharm. Ass.**, 47(4):267-269, 1958.
57. SCHEFFER, M. C. Influência da adubação orgânica sobre a biomassa, o rendimento e a composição do óleo essencial de *Achillea millefolium* L. - mil folhas. Dissertação de Mestrado, UFPR, 1991.

58. SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre : Ed. da Universidade/UFRGS, 1986.
59. SOULELES, C.; ARGYRIADOU, N. The volatile constituents of *Calamintha grandiflora*. **Planta Medica**, 56:234-235, 1990.
60. SOUZA, A.H.de Poejo (*Mentha pulegium* L.) e seu óleo essencial. **Rev. Bras. de Farm.**, 31(7):257-264, 1950.
61. STAHL, E. **Thin-layer chromatography**. Berlin : Springer-Verlag, 1969.
62. TOLEDO, J.F. Sinopse das subfamílias, tribus, subtribus e gêneros das labiadas do Brasil ou aqui introduzidas. In: HOEHNE, F.C. **Flora Brasílica**, 48(7):3-10, 1943.
63. TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. **Pharmacognosy**. Philadelphia : Lea & Febiger, 1988.
64. VÁSQUEZ VICENTE, C. Estudio de la esencia de la *Preslia cervina* Fres. (Labiadas). Tese de Mestrado. Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense, Madrid, 1981.
65. VELASCO-NEGUERUELA, A.; PÉREZ-ALONSO, M.J.; MATA RICO, M. Aceites esenciales de lamiáceas ibéricas con pulegona como componente fundamental. **An. Bromatol.**, 39(2):357-372, 1987.
66. WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. **Drogenanalyse**; Dünnschichtogrphische analyse von arzneidrogen. Berlin : Springer-Verlag, 1983.
67. WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de Clevenger para extração de óleos essenciais. **Rev. Fac. Farm. Bioq. São Paulo**, 1(1):77-81.
68. ZWAVING, J.H.; SMITH, D. Composition of the essential oil of austrian *Mentha pulegium*. **Phytochemistry**, 10:1951-1953, 1971.