

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**BIOPROSPECÇÃO DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS DA
FAMÍLIA LAURACEAE COM POTENCIAL
AROMÁTICO E MEDICINAL**

JOELMA MOREIRA ALCÂNTARA

**MANAUS
2009**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOELMA MOREIRA ALCÂNTARA

BIOPROSPECÇÃO DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS DA FAMÍLIA
LAURACEAE COM POTENCIAL AROMÁTICO E MEDICINAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Química, área de concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior

MANAUS
2009

JOELMA MOREIRA ALCÂNTARA

BIOPROSPECÇÃO DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS DA FAMÍLIA
LAURACEAE COM POTENCIAL AROMÁTICO E MEDICINAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Química, área de concentração Química Orgânica.

Aprovado em 28 de outubro de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior, Presidente
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Anderson Cavalcante Guimarães, Membro
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Larissa Silveira Moreira Wiedemann, Membro
Universidade Federal do Amazonas

Aos meus pais José de Moura Alcântara e Raimunda Moreira Alcântara pelos valores e permanente motivação que me passaram nas diferentes etapas de minha formação profissional.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Amazonas, por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Química, pela oportunidade,

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas pela bolsa de estudos concedida,

Ao professor Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior pela confiança e pelos esclarecimentos na orientação deste trabalho,

Aos professores Dr. Afonso Duarte Leão de Sousa, Dra. Ana Lúcia Queiroz de Assis Galotta e Dr. Paulo Rogério Couceiro, por proporcionar-me valiosas oportunidades durante o curso,

As alunas Klenicy Kazumi de Lima Yamaguchi, Larissa Danielle Brandão Araújo, Thamires Silva Mello e Deborah da Silva Braz por aceitarem a fazer parte deste trabalho,

Ao professor Dr. Emerson Silva Lima pela ajuda nos ensaios biológicos,

Aos Grupos de Pesquisa de Química de Biomoléculas da Amazônia-UFAM, Atividade Biológica de Produtos Naturais-UEM e Laboratório de Oncologia Experimental-UFC que auxiliaram e contribuíram na realização do trabalho,

Aos meus familiares pelo apoio,

A todos que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho,

A Deus.

APOIO FINANCEIRO

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Química de Biomoléculas da Amazônia da Universidade Federal do Amazonas (Manaus-AM) com apoio financeiro das seguintes Agências de Fomento:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES);
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).

Obstáculos são aquelas coisas assustadoras que
você vê quando desvia seus olhos de sua meta.

Henry Ford

RESUMO

A Amazônia é uma das maiores detentoras da biodiversidade vegetal do planeta. Os constituintes de sua flora apresentam enorme potencial nas indústrias farmacêuticas, de cosméticos, perfumes e essências, dentre outras. O presente trabalho teve por objetivo a pesquisa de espécies amazônicas da família Lauraceae potencialmente úteis tanto terapêuticamente quanto comercialmente, que possuam composição alcaloídica ou potencial aromático. As espécies selecionadas, coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke, para este estudo foram: *Aniba panurensis*, *Aniba rosaeodora*, *Dicypellium manausense*, *Endlicheria chalisea*, *Licaria cannella angustata*, *Licaria martiniana*, *Mezilaurus duckei*, *Mezilaurus itauba*, *Ocotea nigrescens*, *Ocotea splendens*, *Rhodostemonodaphne negrensis*, *Rhodostemonodaphne parvifolia*, *Pleurothyrium vasquezii* e *Sextonia rubra*. Das espécies selecionadas as únicas que possuem algum estudo químico são *A. rosaeodora*, *A. panurensis* e *M. itauba*. Os óleos essenciais foram obtidos através de hidrodestilação e analisados quanto suas composições químicas (CG-DIC, CG-EM e RMN de ^1H), em que o β -cariofileno foi o constituinte majoritário da maioria dos óleos: folhas de *A. panurensis* (33,5%), *D. manausense* (39,5%), *M. itauba* (51,8%), *O. nigrescens* (37,9%) e *O. splendens* (51,0%); folhas e galhos de *L. martiniana* (41,7% e 21,4%, respectivamente) e *R. parvifolia* (41,3% e 16,2%, respectivamente). Para os demais óleos os principais constituintes foram epóxido de cariofileno, santalenona, γ -eudesmol, α -pineno, germacreno D, *p*-cimeno, β -elemeno, α -copaeno, e o linalol (89,4%) que é a principal substância encontrada na espécie *A. rosaeodora*. Nos ensaios de atividade inibidora de radicais livres, todos os óleos essenciais apresentaram inibição do radical livre DPPH qualitativamente. Entretanto, na análise quantitativa as concentrações ativas foram muito altas, superiores a 700 $\mu\text{g/mL}$. Apenas os óleos essenciais dos galhos de *L. martiniana* e das folhas de *M. duckei* e *R. parvifolia* apresentaram atividade inibidora de acetilcolinesterase. Os ensaios de inibição plaquetária resultaram em pouco potencial antiagregante plaquetário, com inibição inferior a 20%. Os extratos brutos, dos gêneros *Aniba*, *Licaria*, *Mezilaurus*, *Ocotea* e *Rhodostemonodaphne*, obtidos por extração com etanol 100%, foram submetidos a uma triagem fitoquímica na qual a presença de fenóis, taninos condensados, flavanonas, saponinas, esteróides e alcalóides mostraram-se frequente. Os extratos etanólicos das espécies de *A. panurensis*, *S. rubra* e *L. martiniana* foram os que mostraram maior atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH. A atividade inibidora de acetilcolinesterase foi maior nos extratos dos gêneros *Aniba* e *Licaria*. Os extratos do gênero *Licaria* foram os que apresentaram melhores atividades contra as células tumorais SF-295 (glioblastoma humano), HCT-8 (côlon humano) e MDAMB-435 (mama humana). E para os bioensaios contra *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi* o extrato das folhas de *A. panurensis* foi o que apresentou melhor atividade (67 $\mu\text{g/mL}$ e 79 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente). Os extratos que apresentaram melhores atividades biológicas deverão ser fracionados para o isolamento dos princípios ativos e novamente testados.

Palavras-chave: Lauraceae, óleos essenciais, alcalóides, bioprospecção, atividades biológicas.

ABSTRACTS

The Amazon is one of the largest possessors of plant biodiversity on the planet. The constituents of the flora have enormous potential in the pharmaceutical, cosmetics, perfumes and essences, among others. This study aimed to search for Amazonian species of the Lauraceae potentially useful both therapeutically and commercially, holding alkaloidal composition or aromatic potential. The selected species were collected in Adolpho Ducke Forest Reserve, for this study were: *Aniba panurensis*, *Aniba rosaeodora*, *Dicypellium manausense*, *Endlicheria chalisea*, *Licaria cannella angustata*, *Licaria martiniana*, *Mezilaurus duckei*, *Mezilaurus itauba*, *Ocotea nigrescens*, *Ocotea splendens*, *Rhodostemonodaphne negrensis*, *Rhodostemonodaphne parvifolia*, *Pleurothyrium vasquezii* e *Sextonia rubra*. Of the species selected the ones with some chemical study are *A. rosaeodora*, *A. panurensis* and *M. itauba*. The essential oils were obtained by hydrodistillation and analyzed for their chemical composition (GC-FID, GC-MS and ¹H NMR), where the β-caryophyllene was the major constituent of most oils: leaves of *A. panurensis* (33.5%), *D. manausense* (39.5%), *M. itauba* (51.8%), *O. nigrescens* (37.9%) and *O. splendens* (51.0%); leaves and branches of *L. martiniana* (41.7% and 21.4%, respectively) and *R. parvifolia* (41.3% and 16.2%, respectively). For the other major oils constituents were caryophyllene epoxide, santalene, γ-eudesmol, α-pinene, germacrene D, p-cymene, β-elemene, α-copaene and linalool (89.4%) which is the main substance found in species *A. rosaeodora*. When testing inhibitory activity of free radicals, all essential oils showed inhibition of free radical DPPH qualitatively. However, quantitative analyses of active concentrations were very high, exceeding 700 μg/mL. Only the essential oils of branches of *L. martiniana* and leaves of *M. duckei* and *R. parvifolia* showed inhibitory activity of acetylcholinesterase. Tests of platelet inhibition resulted in little potential antiplatelet agent with inhibition below 20%. Extracts of the genus *Aniba*, *Licaria*, *Mezilaurus*, *Ocotea* and *Rhodostemonodaphne* obtained by extraction with ethanol 100%, were subjected to phytochemical screening in which the presence of phenols, tannins, flavanones, saponins, steroids and alkaloids were shown to be frequent. The ethanol extracts of the species of *A. panurensis*, *S. rubra* and *L. martiniana* showed the highest antioxidant activity against DPPH free radical. The acetylcholinesterase inhibitory activity was higher in extracts of the *Aniba* and *Licaria* genus. Extracts of the *Licaria* genus were showed better activities against tumor cells SF-295 (human glioblastoma), HCT-8 (human colon) and MDAMB-435 (human breast). And for the bioassays against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi* extract of leaves of *A. panurensis* showed the best activity (67 μg/mL e 79 μg/mL, respectively). The extracts that showed better biological activities should be fractionated for the isolation of active principles and retested.

Keywords: Lauraceae, essential oils, alkaloids, bioprospecting, biological activities.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xv
LISTA DE QUADROS.....	xvii
LISTA DE SIGLAS.....	xviii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xx
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Lauraceae Jussieu.....	5
2.1.1 O gênero <i>Aniba</i> Aublet.....	7
2.1.1.1 <i>Aniba rosaeodora</i> Ducke.....	9
2.1.1.2 <i>Aniba panurensis</i> (Meissn.) Mez.....	10
2.1.2 O gênero <i>Dicypellium</i> Nees & Martius.....	11
2.1.3 O gênero <i>Endlicheria</i> Nees.....	11
2.1.4 O gênero <i>Licaria</i> Aublet.....	12
2.1.5 O gênero <i>Mezilaurus</i> Kuntze ex Taub.....	13
2.1.5.1 <i>Mezilaurus itauba</i> (Meissn.) Taubert ex Mez.....	13
2.1.6 O gênero <i>Ocotea</i> Aublet.....	14
2.1.7 O gênero <i>Rhodostemonodaphne</i> Rohwer & Kubitzki.....	15
2.1.8 O gênero <i>Pleurothyrium</i> Nees.....	15
2.1.9 O gênero <i>Sextonia</i> van der Werff.....	16
2.2 Óleos essenciais.....	16
2.2.1 Composição química dos óleos essenciais.....	17
2.2.2 Identificação da composição dos óleos essenciais.....	20

2.2.3 Propriedades terapêuticas dos óleos essenciais.....	22
2.3 Alcalóides.....	23
2.4 Neolignanas.....	28
2.5 Antioxidantes.....	33
2.6 Atividades biológicas.....	37
2.6.1 Atividade inibidora da acetilcolinesterase.....	37
2.6.2 Atividade inibidora do fator de agregação plaquetária.....	39
2.6.3 Atividade citotóxica em células tumorais.....	40
2.6.4 Doenças negligenciadas.....	42
3 METODOLOGIA.....	44
3.1 Material vegetal.....	44
3.2 Extração dos óleos essenciais.....	45
3.3 Análise dos óleos essenciais.....	45
3.3.1 Análise em CG-DIC.....	45
3.3.2 Análise em CG-EM.....	46
3.3.3 Análise por RMN ¹ H.....	46
3.4 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais.....	46
3.5 Obtenção dos extratos em etanol.....	47
3.6 Prospecção fitoquímica.....	47
3.6.1 Teste para esteróides e triterpenóides.....	47
3.6.2 Teste para saponinas.....	48
3.7 Prospecção de alcalóides.....	49
3.7.1 Teste A para alcalóides.....	49
3.7.2 Teste B para alcalóides.....	49
3.8 Determinação de fenóis totais.....	49

3.9	Análise qualitativa da atividade antioxidante.....	50
3.10	Análise quantitativa da atividade antioxidante.....	51
3.11	Ensaio qualitativo da atividade inibidora da acetilcolinesterase.....	52
3.12	Ensaio quantitativo da atividade inibidora da acetilcolinesterase.....	52
3.13	Teste de atividade antiagregante plaquetária.....	53
3.14	Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i>	54
3.15	Avaliação da atividade contra protozoários parasitas.....	55
3.15.1	<i>Leishmania amazonensis</i>	55
3.15.2	<i>Trypanosoma cruzi</i>	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4.1	Rendimento.....	57
4.2	Composição química dos óleos essenciais.....	59
4.2.1	Análise química da composição dos óleos essenciais de <i>A.panurensis</i> e <i>A. rosaeodora</i>	59
4.2.2	Análise química da composição do óleo essencial das folhas de <i>Dicypellium manausense</i>	63
4.2.3	Análise química da composição do óleo essencial de <i>Endlicheria chalisea</i>	65
4.2.4	Análise química da composição do óleo essencial de <i>Licaria martiniana</i>	69
4.2.5	Análise química da composição dos óleos essenciais de <i>M.duckei</i> e <i>M. itauba</i>	72
4.2.6	Análise química da composição dos óleos essenciais de <i>O. nigrescens</i> e <i>O. splendens</i>	76
4.2.7	Análise química da composição do óleo essencial de <i>Rhodostemonodaphne parvifolia</i>	79
4.2.8	Análise química da composição do óleo essencial de <i>Pleurothyrium vasquezii</i>	82

4.2.9 Análise química da composição do óleo essencial de <i>Sextonia rubra</i>	85
4.3 Prospecção fitoquímica.....	88
4.4 Análise da atividade antioxidante pelo método DPPH.....	90
4.5 Determinação do teor de fenólicos totais.....	93
4.6 Análise da atividade inibidora da acetilcolinesterase.....	94
4.7 Análise do fator de agregação plaquetária dos óleos essenciais.....	97
4.8 Análise da citotoxicidade <i>in vitro</i> em células tumorais dos extratos em etanol.....	98
4.9 Bioensaios contra protozoários parasitas dos extratos em etanol.....	99
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101
6 REFERÊNCIAS.....	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa da distribuição geográfica da família Lauraceae.....	5
Figura 2 – Formação de compostos fenilpropanóides.....	18
Figura 3 – Formação de compostos terpênicos.....	19
Figura 4 – Reação geral da detecção de alcalóides usando reativos gerais de alcalóides.....	24
Figura 5 – Rota biossintética dos alcalóides benziltetrahydroisoquinolínicos.....	25
Figura 6 – Alcalóides do tipo benzilisoquinolínicos encontrados em espécies de Lauraceae.....	26
Figura 7 – Alcalóides do tipo aporfinóides encontrados em espécies de Lauraceae.....	27
Figura 8 – Alcalóides do tipo triptamínico encontrados em espécies de Lauraceae.....	28
Figura 9 – Alcalóides do tipo indolínico e piperidínico encontrados em espécies de Lauraceae.....	28
Figura 10 – Estrutura química dos principais compostos antioxidantes.....	34
Figura 11 – 1,1-difenil-2-picrilhidrazil – DPPH: A – radical livre; B – forma reduzida.....	36
Figura 12 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Aniba panurensis</i>	60
Figura 13 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Aniba rosaeodora</i>	61
Figura 14 – Espectro de RMN ¹ H do óleo essencial dos galhos de <i>Aniba rosaeodora</i>	61
Figura 15 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Dicypellium manausense</i>	64
Figura 16 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Endlicheria chalisea</i>	66
Figura 17 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Endlicheria chalisea</i>	68
Figura 18 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos frutos de <i>Endlicheria chalisea</i>	68
Figura 19 – Cromatograma CG-FID do óleo essencial das folhas de <i>Licaria martiniana</i>	70
Figura 20 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Licaria martiniana</i>	70

Figura 21 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Mezilaurus duckei</i>	73
Figura 22 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Mezilaurus duckei</i>	73
Figura 23 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Mezilaurus itauba</i>	75
Figura 24 – Espectro de RMN ¹ H do óleo essencial dos galhos de <i>Mezilaurus itauba</i>	75
Figura 25 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Ocotea nigrescens</i>	76
Figura 26 – Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Ocotea splendens</i>	78
Figura 27 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Rhodostemonodaphne parvifolia</i>	81
Figura 28 - Cromatograma CG-FID do óleo essencial dos galhos de <i>Rhodostemonodaphne parvifolia</i>	81
Figura 29 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Pleurothyrium vasquezii</i>	84
Figura 30 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Pleurothyrium vasquezii</i>	84
Figura 31 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de <i>Sextonia rubra</i>	85
Figura 32 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de <i>Sextonia rubra</i>	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Rendimento dos óleos essenciais e extratos brutos em etanol de espécies da família Lauraceae.....	58
Tabela 2 – Composição percentual dos óleos essenciais do gênero <i>Aniba</i>	62
Tabela 3 – Composição percentual do óleo essencial das folhas de <i>Dicypellium manausense</i>	65
Tabela 4 - Composição percentual dos óleos essenciais de <i>Endlicheria chalisea</i>	67
Tabela 5 - Composição percentual dos óleos essenciais de <i>Licaria martiniana</i>	71
Tabela 6 - Composição percentual dos óleos essenciais do gênero <i>Mezilaurus</i>	74
Tabela 7 - Composição percentual dos óleos essenciais do gênero <i>Ocotea</i>	77
Tabela 8 - Composição percentual dos óleos essenciais de <i>Rhodostemonodaphne parvifolia</i>	80
Tabela 9 - Composição percentual dos óleos essenciais de <i>Pleurothyrium vasquezii</i>	83
Tabela 10 – Composição percentual dos óleos essenciais de <i>Sextonia rubra</i>	87
Tabela 11 – Prospecção fitoquímica dos extratos brutos em etanol de espécies da família Lauraceae.....	89
Tabela 12 – Avaliação da atividade antioxidante, pelo método DPPH, dos óleos essenciais de Lauraceae.....	91
Tabela 13 – Avaliação de atividade antioxidante, pelo método DPPH, dos extratos em etanol de Lauraceae.....	92
Tabela 14 – Determinação do teor de fenólicos totais dos extratos em etanol de Lauraceae.....	94
Tabela 15 – Avaliação da atividade inibidora de acetilcolinesterase dos óleos essenciais de Lauraceae.....	95

Tabela 16 – Percentual de inibição da atividade da acetilcolinesterase por extrato bruto em etanol de Lauraceae.....	96
Tabela 17 – Avaliação do fator de agregação plaquetária dos óleos essenciais de Lauraceae.....	97
Tabela 18 – Percentual de inibição do crescimento celular dos extratos em etanol de Lauraceae em três linhagens tumorais testadas na dose única de 50 µg/mL.....	98
Tabela 19 – Valores da concentração efetiva de 50%, dos extratos brutos em etanol de Lauraceae, contra protozoários parasitas.....	99

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Alguns alcalóides e suas atividades biológicas.....	2
Quadro 2 – Reativos gerais de alcalóides e o desenvolvimento da cor do precipitado.....	24
Quadro 3 – Os principais tipos de estruturas de neolignananas encontradas em espécies de Lauraceae.....	29
Quadro 4 – Dados de coleta das espécies vegetais.....	44
Quadro 5 – Procedimentos da prospecção fitoquímica.....	48

LISTA DE SIGLAS

AAS – Ácido acetilsalicílico

a.C. – antes de Cristo

AchE – Acetilcolinesterase

ADP – Adenosine diphosphate

AIA – Ácido indolacético

ATCI – Acetylthiocholine iodide

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BSA – Bovine Serum Albumin

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CE – Concentração Eficiente

CG – Cromatografia em fase Gasosa

CG-DIC – Cromatografia em fase Gasosa com Detector de Ionização de Chamas

CG-EM – Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrômetro de Massas

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA – Desoxiribonucleic acid

DPM – Desvio Padrão da Média

DPPH – Difenilpicrilhidrazil

DTNB – 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)

EM – Espectrometria de Massas

INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

LIT – Liver Infusion Triptase

LTB4 – Leucotrieno B4

NCI – National Cancer Institute

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAF – Platelet Activating Factor

PRP- Plasma Rico em Plaquetas

Q-BiomA – Grupo de Pesquisa Química de Biomoléculas da Amazônia

RGA – Reativos Gerais de Alcalóides

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SFB – Soro Fetal Bovino

SNC – Sistema Nervoso Central

TMS – Trimetil silano

UFAM – Universidade Federal do Amazonas

LISTA DE SÍMBOLOS

% - por cento

ha – hectare

km – quilômetro

m – metro

nm – nanômetro

mm – milímetro

μm – micrômetro

mL – mililitro

min – minuto

°C – grau Celsius

eV – elétron volt

MHz – megahertz

L – litro

pH – potencial hidrogeniônico

mg – miligrama

g – grama

mmol – milimol

mM – milimolar

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre plantas tem acompanhado a evolução do homem através dos tempos. As civilizações primitivas perceberam a existência, ao lado das plantas comestíveis, de plantas dotadas de potencial curativo. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenham sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais (VIEGAS JR.; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Esse conhecimento foi se desenvolvendo juntamente com as civilizações até chegar aos dias atuais, onde se sabe que as ações farmacológicas das plantas estão relacionadas à presença de compostos biologicamente ativos. A correlação entre a estrutura química destes compostos e a ação fisiológica tem dado suporte à descoberta de novas moléculas naturais com elevada atividade farmacológica.

As primeiras substâncias puras do reino vegetal foram isoladas a partir do século XVIII ocorrendo assim, a consolidação do emprego de plantas para cura e prevenção de doenças. Os compostos mais facilmente isolados nesta época foram os ácidos orgânicos e alcalóides (PINTO *et al.*, 2002).

A química de alcalóides apresenta um interesse crescente em face de sua gama de atividades biológicas (Quadro 1). Todos os compostos descritos no Quadro 1 são alcalóides de grande importância para a nossa civilização, diversos deles obtidos de plantas presentes no Brasil e, especificamente, na Amazônia.

Embora até o momento apenas 10% da biodiversidade mundial tenham sido estudado, cerca de 140 mil metabólitos, oriundos, sobretudo de plantas superiores, já foram isolados e caracterizados. A maioria, no entanto, ainda não foi avaliada biologicamente (CALIXTO, 2000; STROBL, 2000).

A descoberta de produtos naturais bioativos constitui, portanto, não apenas uma necessidade de sua identificação própria, mas principalmente, contribui para o conhecimento

de novos compostos químicos bioativos, que podem ser usados como protótipos para descoberta de novos fármacos (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

Alcalóides	Atividades Biológicas	Referências
Atropina	Dilatador de pupilas	Martinez; Almeida; Pinto, 2009
Escopolamina	Espasmolítico	Martinez; Almeida; Pinto, 2009
Papaverina	Espasmolítico	Hostettmann; Queiroz; Vieira, 2003
Morfina	Anestésico	Hostettmann; Queiroz; Vieira, 2003
Cocaína	Anestésico	Martinez; Almeida; Pinto, 2009
Codeína	Antitussígeno	Viegas Jr; Bolzani; Barreiro, 2006
Nicotina	Inseticida	Mariconi, 1983
Cafeína	Estimulante e diurético	Saldana; Mazzafera; Mohamed, 1997
Quinina	Antimalarial	Barreiro; Fraga, 1999
Emetina	Emético e expectorante	Lara <i>et al.</i> , 2003
Vimblastina	Antineoplásico	Viegas Jr; Bolzani; Barreiro, 2006
Vincristina	Antineoplásico	Viegas Jr; Bolzani; Barreiro, 2006
Curare	Bloqueador neuromuscular	Barreiro; Fraga, 1999

Quadro 1 – Alguns alcalóides e suas atividades biológicas

Outro perfil de utilização de plantas, especialmente no Estado do Amazonas, é a do extrativismo. Desde os tempos da extração da borracha, uma grande parcela da população da Amazônia sobrevive do extrativismo vegetal. Com o declínio do preço da borracha, entretanto, o extrativismo vegetal na região tem sido focado na obtenção de óleos essenciais para os mais variados fins, como os óleos essenciais de breu-branco (*Tetragastris panamensis*), puxuri (*Licaria puchury-major*), pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), casca-preciosa (*Aniba canelilla*), sacaca (*Croton cajucara*) e pimenta longa (*Piper hispidinervum*), utilizados nas indústrias de perfumes, cosméticos e bioinseticidas, por exemplo.

A produção de óleos essenciais no Brasil teve início ao fim da segunda década do século XX, com base no extrativismo de essências nativas para o atendimento do mercado externo. O interesse pelos óleos essenciais está baseado não somente na possibilidade de obtenção de compostos aromáticos (odor agradável), mas também daqueles possuidores de

propriedades terapêuticas, ou ainda, de compostos orgânicos, conjuntamente responsáveis pela qualidade da essência.

Atualmente na Amazônia, entretanto, poucos estudos exploram esta enorme fonte de recursos. Apesar dos estudos que vêm sendo realizado no Estado do Pará e publicado pelo Museu Emílio Goeldi, como: “Plantas Aromáticas da Amazônia” e “Aroma de Flores da Amazônia”, as pesquisas com óleos essenciais realizadas no Amazonas, tanto na UFAM quanto no INPA, instituições de pesquisa que em outras épocas se destacaram por estes estudos, especialmente os realizados pelo prof. Dr. José Guilherme Soares Maia, são incipientes.

Estudar a biodiversidade é de importância fundamental em vista do caráter dinâmico do desaparecimento de espécies vegetais e de práticas culturais, considerando-se que o Brasil detém a maior diversidade genética vegetal do mundo, e que conta com cerca de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (CALIXTO, 2000; NODARI; GUERRA *apud* SIMÕES *et al.*, 1999). Considerando a crescente taxa de degradação ambiental nos diversos biomas brasileiros e que mais da metade dessas espécies encontram-se em florestas tropicais, cuja área corresponde a apenas 7% da superfície da terra, torna-se urgente o estudo químico e farmacológico da flora amazônica.

Na região amazônica, a família Lauraceae destaca-se pela sua composição de metabólitos que tem demonstrado muita atividade biológica, incluindo nesta composição alcalóides, neolignanais, sesquiterpenos, fenilpropanóides, flavonóides e taninos. Merece destaque também por ser economicamente utilizada nas formas de óleos essenciais (QUINET; ANDREATA, 2002), na culinária, na fabricação de papel, marcenaria e construção civil, na indústria química e na medicina popular (MARQUES, 2001), justificando assim a investigação química e farmacológica de suas espécies.

Apesar da importância da família Lauraceae, como fonte de produtos naturais de alto valor comercial, muitas espécies encontradas no Brasil ainda não foram investigadas fitoquimicamente. Com o intuito de contribuir para o perfil químico e caracterização de compostos bioativos de espécies dessa família, optou-se por investigar as espécies encontradas na Reserva Florestal Adolpho Ducke, de ocorrência na Floresta Amazônica brasileira e para as quais poucos dados estão disponíveis na literatura especializada.

Como diferenciais deste estudo de bioprospecção vegetal em relação aos estudos fitoquímicos tradicionais estão aspectos, como: a) o estudo de espécies vegetais pertencentes à família Lauraceae (a maior parte delas nunca antes estudada) que produzam aromas e alcalóides simultaneamente; b) a conjugação de estudos de atividade biológica relacionados a um mesmo objetivo central: a obtenção de compostos ativos para os males do SNC, protozoários parasitas, neoplasias e doenças cardiológicas.

Para assim contribuir na consolidação das pesquisas sobre a composição química e atividade biológica de plantas amazônicas, foram estabelecidos as seguintes ações:

a) Descrever a composição química dos óleos essenciais por técnicas cromatográficas e espectrométricas;

b) Definir o perfil fitoquímico com ênfase nas principais classes de compostos, presentes nos extratos etanólicos, através de Cromatografia em Camada Delgada e reveladores específicos;

c) Realizar ensaios químicos e enzimáticos para caracterização de atividades antioxidante e inibidora de acetilcolinesterase, respectivamente, dos óleos essenciais e extratos etanólicos;

d) Realizar estudos farmacológicos *in vitro* de atividade antiprotozoário parasita e citotoxicidade a células tumorais dos extratos etanólicos e de atividade antiagregante plaquetária dos óleos essenciais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Lauraceae Jussieu

A família Lauraceae possui distribuição pantropical (Figura 1), principalmente nas terras baixas da Amazônia e América Central, com cerca de 50 gêneros e 2500 espécies (CHRISTOPHER; ROWETT, 1996; RIBEIRO *et al.*, 1999), sendo que no Brasil existem cerca de 400 espécies distribuídas em 25 gêneros.

Os 25 gêneros nativos são: *Aiouea*, *Anaueria*, *Aniba*, *Beilschmiedia*, *Cassytha*, *Cinnamomum*, *Cryptocaria*, *Dicypellium*, *Endlicheria*, *Kubitzkia*, *Licaria*, *Mezilaurus*, *Misanteca*, *Nectandra*, *Ocotea*, *Paraia*, *Persea*, *Phoebe*, *Phyllostemonodaphne*, *Pleurothyrium*, *Rhodostemonodaphne*, *Sextonia*, *Systemonodaphne*, *Urbanodendron* e *Williamdendron*. Além dos gêneros nativos é importante ressaltar outros dois, que foram introduzidos no Brasil, devido a sua importância econômica: *Laurus* e *Litsea* (SOUZA; LORENZI, 2005).

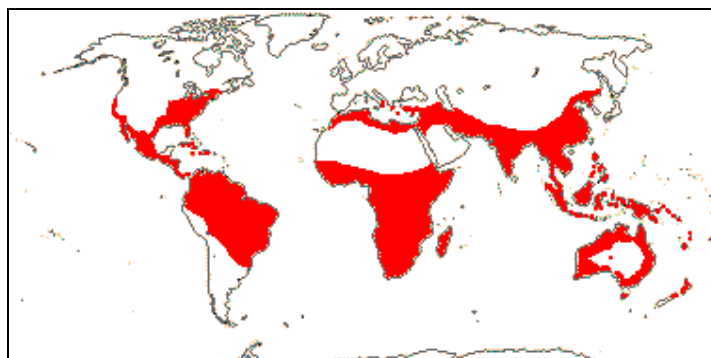


Figura 1 – Mapa da distribuição geográfica da família Lauraceae
FONTE: Missouri Botanical Garden.

Na Reserva Florestal Adolpho Ducke foi encontrado 99 espécies em 13 gêneros: *Ocotea* com 41 espécies, *Licaria* com 15, *Aniba* com 13, *Endlicheria* com 11, *Rhodostemonodaphne* com oito, *Aiouea* e *Mezilaurus* com três. Os demais são representados por apenas uma espécie. São gêneros exclusivos da Amazônia ou com centro de diversidade na região (RIBEIRO *et al.*, 1999).

Apesar de suas espécies serem consideradas de difícil identificação (SHEPHERD, 2000), é considerada uma das famílias de maior importância econômica da Floresta Amazônica, em virtude da boa qualidade da madeira e do alto valor que alcançam seus óleos essenciais no comércio (QUINET; ANDREATA, 2002), podendo destacar espécies do gênero *Ocotea*, *Nectandra* e *Aniba* conhecidas popularmente como canelas, loureiros ou embuias e pau-rosa, respectivamente. Porém, a maioria das espécies tem seu uso restrito às comunidades tradicionais que detêm o conhecimento empírico da utilização dessas plantas (MARQUES, 2001).

Segundo Ribeiro *et al.* (1999), as espécies mais empregadas popularmente são o abacate (*Persea americana*), a canela (*Cinnamomum verum*) e o louro (*Laurus nobilis*); as demais têm em geral grande importância econômica em suas áreas de ocorrência. A casca ou o fruto de algumas espécies são usados como condimentos (*Dicypellium caryophyllaceum*) ou para fazer chá (*Licaria puchury-major* e *Aniba canelilla*). Compostos aromáticos para perfumaria são extraídos de algumas espécies, como a canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*) e o pau-rosa (*Aniba rosaeodora*). Outras têm usos na medicina popular ou industrial, como a cânfora (*Cinnamomum camphora*). A madeira de Lauraceae é amplamente explorada em diversas regiões. Na Amazônia, a itaúba (*Mezilaurus* spp.) é a madeira preferida para construção de embarcações devido a sua alta durabilidade e resistência. Diversas outras espécies constituem o principal produto madeireiro vendido nas lojas de Manaus sob o nome de “louro”. Algumas espécies aparecem no mercado mundial em significativa quantidade,

como *Chlorocardium rodiaei* na Guiana, constituindo um dos principais produtos de exportação, e a imbuia (*Ocotea porosa*) no Sul do Brasil, que foi explorada até o esgotamento de suas reservas naturais.

O potencial econômico das espécies dessa família é conhecido desde os tempos remotos, através de documentos da China de 2800 a.C., onde já era empregado o óleo de *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl. e de outras espécies do gênero na medicina (SANGIRARDI JR., 1984). Segundo Quinet; Andreato (2002), as folhas de *Laurus nobilis* L., o loureiro, eram utilizadas pelos antigos gregos e romanos para confeccionar coroas, com as quais se homenageavam guerreiros e atletas vitoriosos, e estão entre os condimentos conhecidos da culinária de todo o mundo.

Óleos essenciais de composição química diversa, polifenóis, lignanas e poucos triterpenos e esteróides tem sido encontrados na família, que também é uma fonte rica em alcalóides (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1999; GUINAUDEAU; LEBOEUF; CAVÉ, 1975; KAMETANI; IHARA; HONDA, 1976). Devido à presença desses metabólitos especiais, suas espécies desempenham diferentes funções na medicina natural (DE CARVALHO; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1987).

2.1.1 O gênero *Aniba* Aublet

O gênero *Aniba* foi estabelecido por Aublet (1775), baseado em uma única espécie (*A. guianensis*). Posteriormente, foram introduzidas por Nees e Martius (NEES, 1833) espécies descritas sob a denominação genérica *Aydendron*. Mez (1889), em seu estudo monográfico *Neotropical Lauraceae*, reviveu o gênero *Aniba*. Mais tarde, o trabalho de Mez foi seguido por um tratamento mais detalhado por Kostermans e Kubitzki.

De acordo com as evidências apresentadas neste estudo, *Aniba* é restrito aos neotrópicos e compreende 41 espécies de alguns arbustos e principalmente árvores de pequeno a grande porte. O centro de distribuição situa-se na Amazônia Central, Guiana e regiões com espécies individuais irradiando para os Andes, norte da Venezuela, Pequenas Antilhas e no leste do sul do Brasil (RICHTER, 1981). Algumas espécies são fontes de produtos úteis como os óleos essenciais, sementes medicinais, cascas aromáticas e madeira serrada.

Segundo estudos de Moraes *et al.* (1972), para o gênero *Aniba*, os óleos dos diferentes órgãos de qualquer espécie mostram somente uma pequena variação em sua composição, porém esta variação é drástica entre espécies diferentes, de forma que as mesmas foram classificadas em três grupos: grupo do linalol (*A. duckei* e *A. rosaeodora*), grupo do benzoato de benzila (*A. burchellii*, *A. firmula*, *A. fragrans*, *A. gardneri*, *A. guianensis*, *A. parviflora*, *A. permollis*) e grupo do alilbenzeno (*A. canelilla*, *A. hostmanniana*, *A. pseudocoto*).

Os principais constituintes encontrados nos óleos essenciais das espécies desse gênero são: linalol, benzoato de benzila, salicilato de benzila, benzoato de feniletila, eugenol, metileugenol, estirilpironas, monoterpenos, e sesquiterpenos (DIAZ *et al.*, 1977; MORAIS *et al.*, 1972; REZENDE *et al.*, 1971). Em alguns óleos foram detectados a presença de produtos raros de planta como 1-nitro-2-feniletano, benzoato de feniletila, *O*-metiliseugenol e 2,4,5-trimetoxialilbenzeno (MORAIS *et al.*, 1972).

Também tem sido detectada, para este gênero, a presença do dilapiol que é um fenilpropanóide que vem sendo testado com êxito como fungicida, moluscida, acaricida, bactericida e larvacida (SILVA; NAKAGAWA, 1995), e neolignanas do tipo benzofuranóide e biciclo (3.2.1) octanóide (ANDRADE; BRAZ FILHO; GOTTLIEB, 1980; DIAZ *et al.*, 1977; TREVISAN; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1984a, b). Além de outros compostos descritos a seguir como os alcalóides e flavanonas isolados das espécies *A. rosaeodora* e *A. panurensis*.

2.1.1.1 *Aniba rosaeodora* Ducke

Esta espécie possui várias denominações populares, tais como: pau-rosa, pau-rosa mulatinho, pau-rosa-itaúba, pau-rosa-imbaúba, enclit, rosenhout, bois de rose, bois de rose femelle, rose Wood; e as seguintes sinónimas: *Licaria guianensis* Aublet (1775), *Aniba rosaeodora* var. *amazonica* Ducke (1926) e *Aniba duckei* Kostermans (1938) (COSTA; OHASHI; DANIEL, 1995).

A espécie apresenta mudança foliar anualmente, sempre durante o período seco, o que não acontece para as fases de floração e frutificação. Os autores Magalhães e Alencar (1972) observaram ainda que, devido à irregularidade na floração – frutificação, e a grande predação dos frutos por psitacídeos, o fornecimento de sementes fica comprometido.

É encontrada nas florestas de terras firmes e altas, principalmente de mata pluvial não inundável, ao longo dos rios (COSTA; OHASHI; DANIEL, 1995), nas bacias dos rios Tapanahoni e Gonini (Suriname), no Oiapoque (Guiana Francesa), estendendo-se pelo Iquitos, Pucalpa e Napo (Peru), Colômbia e Equador. No Brasil, além de sua ocorrência no Amapá, na fronteira com a Guiana Francesa, tem como seu melhor habitat o alto e o médio Amazonas, em duas faixas margeando o Rio Amazonas, na parte do carbonífero superior (O EXTRATIVISMO, 1971/72).

É uma espécie arbórea importante para a região Amazônica e a sua utilização mais conhecida e de grande valor econômico é a produção de óleo essencial, do qual é extraído o linalol, essência largamente empregada como fixador de perfumes pela indústria de perfumaria nacional e internacional (ALENCAR; FERNANDES, 1978; VIAL-DEBAS *apud* EMPERAIRE, L., 2000). Possui baixa frequência atualmente (MITJA; LESCURE *apud* EMPERAIRE, L., 2000) em função de décadas de intensa e desordenada exploração, fato este que levou a um declínio de suas populações naturais (COSTA; OHASHI; DANIEL, 1995;

VIAL-DEBAS *apud* EMPERAIRE, L., 2000; VIEIRA, 1970). Por esta razão, o IBAMA, através da portaria nº 01 de 13 de maio de 1998, tenta disciplinar a exploração desta espécie na Amazônia central, exigindo dos produtores a reposição equivalente à matéria prima extraída e estimulando o uso de técnicas que possibilitem a rebrota de árvores adultas, como o corte dos troncos acima de 50 cm do solo ou a poda da copa das árvores. A exploração sem planejamento pode ter contribuído para a redução da diversidade genética intraespecífica (HALL; WALKER; BAWA, 1996; YOUNG; BOYLE; BROWN, 1996), tema, apesar de relevante, pouquíssimo explorado para esta espécie.

Maia *et al.* (2007) concluem que a composição do óleo essencial de *A. rosaeodora* Ducke e *A. duckei* Kostermans (sin. *A. rosaeodora* var. *amazonica*) são completamente diferentes, mas que estas duas espécies são as que melhor representam fontes de óleos de pau-rosa.

Em *A. rosaeodora* Ducke foram isolados a flavanona fenólica pinocembrina, 4-metoxiparacotoina, β -sitosterol, linalol e o alcalóide piperidínico anibina (MORS; MAGALHÃES; GOTTLIEB, 1960) que possui atividade analéptica (GONÇALVES; CORREA; GOTTLIEB, 1958).

O óleo essencial teve atividade antibacteriana comprovada contra oito bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Edwardsiella tarda*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella* sp.), sendo o linalol o responsável pela atividade antimicrobiana (LOBATO *et al.*, 1989).

2.1.1.2 *Aniba panurensis* (Meisn.) Mez

Em estudos fitoquímicos realizados com esta espécie foram isolados 6-estiril-2-pironas (MOTIDOME; GOTTLIEB; KUBITZKI, 1982) e o alcalóide 6,8-didec-(1Z)-enil-5,7-

dimetil-2,3-dihidro-1-H-indolizínico como o sal ácido de trifluoroacético que possui atividade antifúngica contra *Candida albicans* (KLAUSMEYER *et al.*, 2004).

2.1.2 O gênero *Dicypellium* Nees & Martius

É um gênero de duas espécies: *D. caryophyllatum* e *D. manausense*, nativo da América do Sul tropical, na Bacia Amazônica (ROHWER, 1988).

O único estudo químico existente na literatura disponível para este gênero é a composição química do óleo essencial de *D. caryophyllatum* que possui eugenol 95,5% e *O*-metileugenol 1,6% (ALENCAR *et al.*, 1971).

A espécie *Dicypellium manausense* W. A. Rodrigues não possui nenhum estudo químico ou farmacológico registrado.

2.1.3 O gênero *Endlicheria* Nees

É um gênero de árvores dióicas que tem cerca de 60 espécies distribuídas na América Tropical (CHANDERBALI, 2004).

Nas espécies desse gênero foram isoladas as neolignanas hexahidrobenzofuranóides: disodantina A, disodantina B, acetato de megafone e burchelina. Todas as quatro neolignanas mostraram atividade no ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* e as três primeiras inibiram o crescimento de células tumorais humanas da vesícula biliar em cultura (MA; KOZLOWSKI; MCLAUGHLIN, 1991). Também foram isolados quatro derivados bioativos de benzoato de benzila: 2-hidroxibenzoato de benzilo, 2-hidroxi-benzil-6-metoxibenzoato, 2,6-benzildimetoxibenzoato e 2,5-benzildimetoxibenzoato (MA; ANDERSON; MCLAUGHLIN, 1991).

Não há registro de estudos químicos ou farmacológicos para *Endlicheria chalisea* Chanderbali.

2.1.4 O gênero *Licaria* Aublet

É um gênero neotropical que consiste de 38 espécies distribuídas desde o sul da Flórida, México até o sudoeste do Brasil e Bolívia. No Brasil é registrada a ocorrência de 20 espécies e duas subespécies, na sua maioria na região amazônica (KURZ, 2000).

Em alguns trabalhos, dos vários existentes sobre a composição química das espécies desse gênero, relata-se a presença de lignanas furofurânicas (ALEGRO *et al.*, 1981), alcalóides oxoaporfínicos (ALEGRO *et al.*, 1981), 6,7-dimetoxicoumarina (AIBA *et al.*, 1978; ALEGRO *et al.*, 1981), arilpropanóides (MAIA; RAMOS; LUZ, 1985; SILVA; MAIA, 1973), sitosterol, monoterpênos, sesquiterpênos (FRANCA; GOTTLIEB, 1974; GOTTLIEB *et al.*, 1981; MAIA; RAMOS; LUZ, 1985; SILVA *et al.*, 1973) e o fenilpropanóide dilapiol (GIESBRECHT; FRANCA; GOTTLIEB, 1974).

As neolignanas foram bastante estudadas para este gênero, das quais é possível encontrar as do tipo biciclo [3.2.1] octanóide, benzofuranóides, benzodioxano, diariltetrahidrofurano e β -ariloxiarilpropano (AIBA; CORRÊA; GOTTLIEB, 1973; AIBA *et al.*, 1978; ALEGRO *et al.*, 1981; BARBOSA-FILHO *et al.*, 1989; BARBOSA-FILHO; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1987; BRAZ-FILHO *et al.*, 1981; FERREIRA *et al.*, 1982; FRANCA; GOTTLIEB, 1974; GUILHON *et al.*, 1992; LOPES *et al.*, 1986; MARQUES *et al.*, 1992a).

As espécies *Licaria cannella angustata* H. W. Kurz e *Licaria martiniana* (Mez) Kosterm. não possuem nenhum registro na literatura quanto a composição química e o potencial farmacológico.

2.1.5 O gênero *Mezilaurus* Kuntze ex Taub

É um gênero neotropical que consiste de 18 espécies que ocorrem desde a Costa Rica até o sudeste do Brasil (WERFF, 1987). No Brasil são encontradas nove espécies arbóreas em áreas de boa drenagem do rio Amazonas e poucas espécies ocorrem em outros ecossistemas (YANEZ; DIAZ; DIAZ, 1986).

São poucas as espécies estudadas quimicamente para este gênero, porém podem-se ressaltar os estudos realizados com *M. itauba* citados a seguir, e o isolamento dos alcalóides isoquinolínicos coclaurina e norcinamolaurina, e do alcalóide aporfínico corituberina na madeira de *M. synandra* (SILVA *et al.*, 1983).

Mezilaurus duckei van der Werff não possui registro de estudos químicos ou farmacológicos.

2.1.5.1 *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taubert ex Mez

Mezilaurus itauba, conhecida popularmente como itaúba, é a espécie de *Mezilaurus* mais cobiçada atualmente, devido à importância econômica e a qualidade da sua madeira e talvez por isso tenha sido uma das espécies mais estudadas quimicamente e farmacologicamente do gênero.

Neolignanas benzofuranóide e neolignanas biciclo [3.2.1] octanóide tem sido isoladas de suas cascas (YANEZ; DIAZ; DIAZ, 1986). As neolignanas *cis*- e *trans*-burchelina têm mostrado efeitos significativos na alimentação, excreção e também na produção de ecdise em larvas do inseto hematófago *Rhodnius prolixus*, o vetor mais importante de *Trypanosoma cruzi*, que é o responsável pela doença de Chagas na América Latina (GARCIA *et al.*, 2000).

2.1.6 O gênero *Ocotea* Aublet

Este é um gênero de aproximadamente 350 espécies distribuídas na América tropical e subtropical, desde o México até a Argentina, ocorrendo também em Madagascar, na África e nas Ilhas Canárias (ROHWER *apud* KUBITZKI; ROHWER; BITTRICH, 1993).

É considerado um dos gêneros mais expressivos das Lauraceae brasileiras devido a sua ampla distribuição, e o fato de suas espécies serem muito apreciadas no comércio madeireiro, o que tem despertado o interesse dos fitoquímicos.

Muitas espécies têm sido estudadas e a química do gênero é composta frequentemente por neolignanas do tipo biciclo [3.2.1] octanóide, benzofuranóides, 1,2-diaril e 1-aril-2-ciclohexilpropanóide, biciclo 2-oxo [4.2.1] nonanóide, benzodioxano (AIBA; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1973; DAVID; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1994a; DIAS; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1986; DODSON *et al.*, 1987; FELÍCIO *et al.*, 1986; HARAGUCHI *et al.*, 1983; ISHIGE *et al.*, 1991; KHAN; GRAY; WATERMAN, 1987; MARQUES *et al.*, 1992b; SEHLAPELO; DREWES; SANDOR, 1993; SILVA; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1989).

Também foram isolados flavonóides catequínicos (DAVID; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1994b), sitosterol (AIBA; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1973), monoterpênos e sesquiterpênos (AIBA; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1973; BOTEGA *et al.*, 1993; GOTTLIEB *et al.*, 1981), lignanas furofuranos (BARBOSA-FILHO *et al.*, 1999), alcalóides isoquinolínicos e triptamínico (AGUIAR *et al.*, 1980; BARALLE *et al.*, 1973; BARBOSA-FILHO *et al.*, 1999; BOTEGA *et al.*, 1993; MEIRELLES *et al.*, 1979; SILVA *et al.*, 2002; ZANIN; LORDELLO, 2007).

Resultados em laboratório mostraram que o alcalóide 1-(*p*-metoxibenzil)-6,7-metilenodioxiiisoquinolina exerce nítido efeito inibitório sobre as respostas contráteis a vários agonistas como o cloreto de bário, a acetilcolina, a fenilefrina, a histamina, adrenalina e

serotonina em aorta e duodeno isolados de coelho e em cadeia traqueal, *Taenia caecum* e fêlo isolados de cobaia (MEIRELLES *et al.*, 1979).

O alcalóide do tipo triptamínico cecilina encontrado na madeira do tronco de *Ocotea santalodora* teve sua atividade antibiótica testada mostrando-se inativo (GIESBRECHT; SOUZA; AGUIAR, 1989).

Não há registro de estudos químicos ou farmacológicos para as espécies *Ocotea nigrescens* Vicentini e *Ocotea splendens* (Meisn.) Baill.

2.1.7 O gênero *Rhodostemonodaphne* Rohwer & Kubitzki

É um gênero de aproximadamente 41 espécies distribuídas na América do Sul (MADRIÑÁN, 2004).

Palazzo *et al.* (2009) determinaram a composição química do óleo essencial das folhas *R. kunthiara*, sendo germacreno D (64,4%) e bicilogermacreno (17,6%) os seus constituintes majoritários e também verificaram que esse óleo essencial mostrou notável atividade citotóxica *in vitro* contra a linhagem de células tumorais humana MDA-MB-231.

Não há registro de estudos químicos ou farmacológicos para as espécies *R. negrensis* Madriñán e *R. parvifolia* Madriñán.

2.1.8 O gênero *Pleurothyrium* Nees

Gênero composto por 40 espécies de distribuição neotropical ocorrendo no Panamá, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Costa Rica, Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Bolívia e no Brasil, onde é representado por 13 espécies (WERFF, 1993).

Coy; Cuca; Sefkow (2009) isolaram de *P. cinereum* a neolignana do tipo biciclo [3.2.1] octanóide – macrofilina. Outro estudo que vale ressaltar é o de Blanco *et al.* (2005), que mostra que o extrato bruto de *P. bahiense* exerce algum tipo de atividade analgésica com ação anti-inflamatória sem, contudo impedir a formação do edema, em orelhas de camudongos.

Pleurotyrium vasquezii van der Werff não possui registro de estudos químicos ou farmacológicos.

2.1.9 O gênero *Sextonia* van der Werff

Este é um gênero pouco estudado e, portanto de difícil acesso a literatura especializada. Sua espécie mais conhecida é a *S. rubra*, encontrada em alguns estados no norte do Brasil, como o Amazonas, Pará, Amapá e Rondônia. A madeira é utilizada principalmente na construção civil.

Sextonia rubra (Mez) van der Werff não possui registro de estudos químicos ou farmacológicos.

2.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis, lipofílicos, odoríferos, líquidos, geralmente incolores ou ligeiramente amarelados e que possuem baixa estabilidade principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais.

As plantas ricas em óleos essenciais são abundantes nas angiospermas dicotiledôneas, tais como nas famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae, Rutaceae, entre outras (SIMÕES *et al.*, 2003). Desempenha nas

plantas funções como a de inibição da germinação, defesa contra microrganismos e predadores (inibem o crescimento de vários tipos de larvas), atração de polinizadores, efeitos alelopáticos, proteção contra a perda de água e aumento da temperatura (SIANI *et al.*, 2000; SIMÕES *et al.*, 2003).

Nas Lauraceae, os óleos ocorrem em células parenquimáticas diferenciadas. Tais óleos podem estar estocados nos seguintes órgãos: flores, folhas, cascas, madeira, raízes, frutos e sementes. Embora todos os órgãos da planta possam acumular óleos essenciais, sua composição pode variar segundo a localização, por exemplo, o óleo das cascas de canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que os das folhas e das raízes desse mesmo vegetal são ricos em eugenol e cânfora, respectivamente (SIMÕES *et al.*, 2003).

Atualmente, visando à conservação da biodiversidade vegetal, a grande parte dos óleos essenciais mundialmente comercializados é oriunda de cultivos racionalizados e sempre que possível estabilizado genética e climaticamente, o que garante a reprodutibilidade do perfil químico do produto.

2.2.1 Composição química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais na maior parte são constituídos de compostos terpênicos, e frequentemente, de fenilpropanóides, acrescidos de moléculas menores, como alcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta. O perfil terpênico apresenta normalmente monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15). Dependendo do método de extração e da composição da planta, terpenos menos voláteis podem aparecer na composição do óleo essencial (ARAÚJO, 1999; CHENG *et al.*, 2003; FARIAS, 1998; SIANI *et al.*, 2000; SIMÕES *et al.*, 2003).

Os fenilpropanóides se formam pela via do ácido chiquímico que reage com o ácido fosfoenolpirúvico, produzindo o ácido prefênico. A descarboxilação deste, seguida de

aromatização e aminação redutiva produz a fenilalanina, que pela ação da enzima fenilalanina amoliase (PAL) perde uma molécula de amônia originando unidades básicas dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico. Estes últimos por redução enzimática produzem propenilbenzenos ou alilbenzenos; por meio de oxidação com degradação de cadeias laterais, aldeídos aromáticos; e por meio das ciclizações enzimáticas produzem cumarinas (Figura 2).

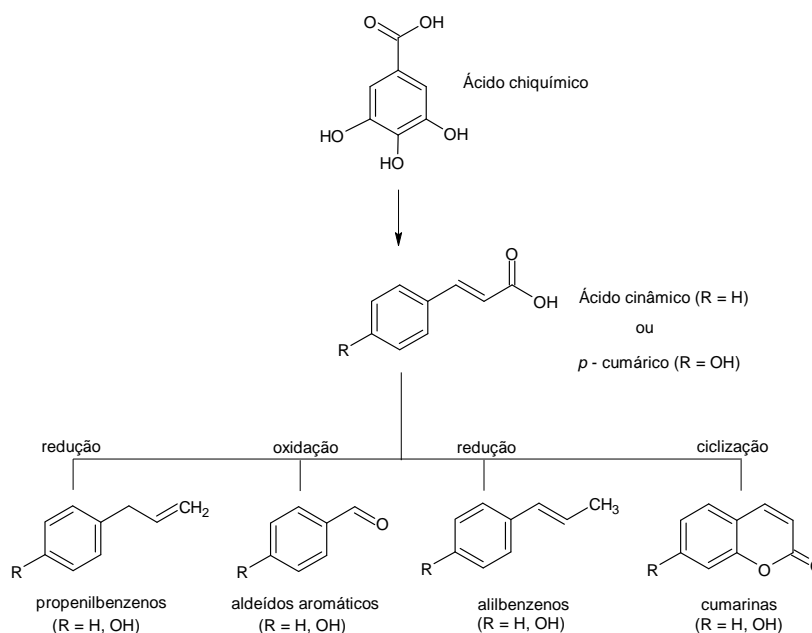


Figura 2 - Formação de compostos fenilpropanóides

Os terpenos constituem uma grande variedade de compostos vegetais derivadas do isopreno (2-metilbutadieno, C₅H₈) e incluem compostos cíclicos e acíclicos (ROWEL, 1987; SANTOS *apud* SIMÕES *et al.*, 2003). A unidade isoprênica origina-se a partir do ácido mevalônico e é a unidade básica na formação dos terpenos e esteróides. A polimerização dessa unidade vai originar moléculas de cadeias carbonadas múltiplas de cinco em cinco átomos de carbono, conforme ilustrado na Figura 3. A molécula do isopentenil pirofosfato e seu isômero dimetilalilpirofosfato formam *trans*-geranilpirofosfato, a partir do qual se formam os demais terpenos. Novas ligações cabeça-cauda entre *trans*-geranilpirofosfato e

isopentenilpirofosfato resultarão em sesquiterpenos (C15), e diterpenos (C20). Já a ligação cabeça-cauda entre duas moléculas de farnesilpirofosfato (C15) dará origem ao esqualeno. As diferentes formas de ciclização do esqualeno e rearranjos de metilas originam os diferentes esqueletos triterpênicos e esteróides.

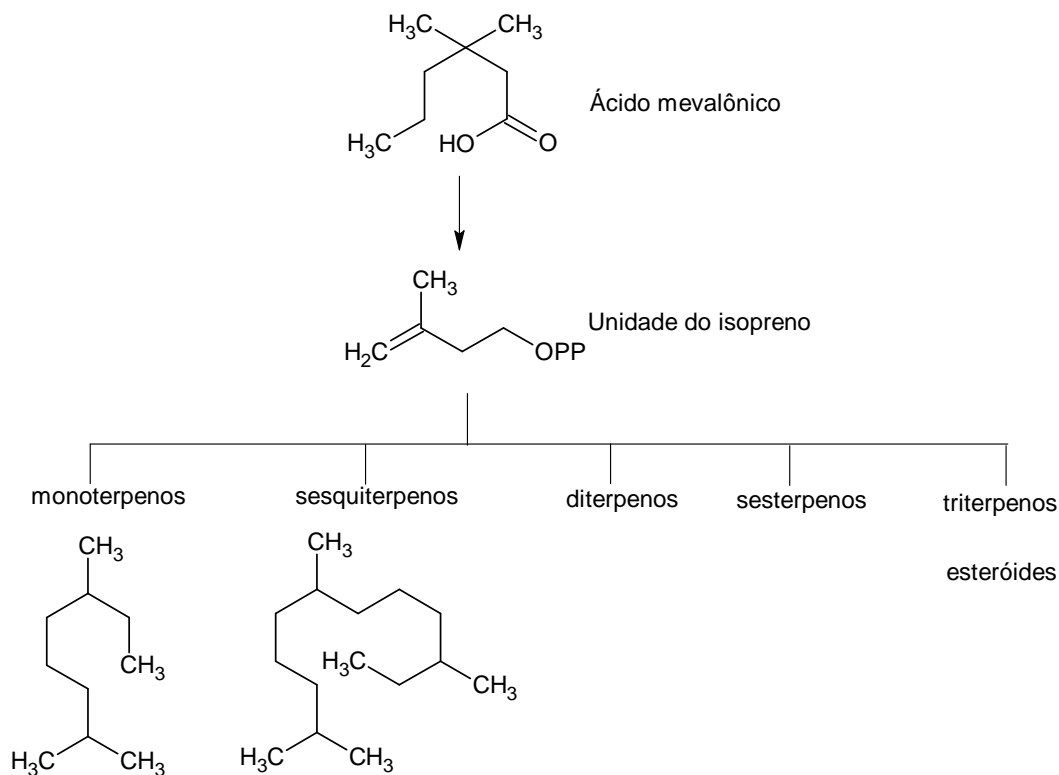


Figura 3 - Formação de compostos terpênicos

Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações; normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (traços) (SIMÕES *et al.*, 2003; ZAMBONI, 1983). Esses compostos são responsáveis pelo odor, sabor e propriedades terapêuticas que caracterizam os óleos essenciais.

2.2.2 Identificação da composição dos óleos essenciais

A análise de misturas complexas de multicomponentes, como são os óleos essenciais, requer a aplicação de métodos analíticos modernos e instrumentação adequada. As técnicas analíticas permitem a avaliação da qualidade do óleo essencial, garantindo, assim, a constância de seus constituintes químicos e a segurança de sua utilização (CHAAR, 2000).

A cromatografia em fase gasosa (CG) é usada na separação da mistura em componentes individuais. Esta técnica de separação baseia-se na distribuição dos componentes da amostra entre a fase estacionária (sólido ou líquido) e uma fase móvel (gás), sendo aplicada a compostos volatilizáveis. O gás da fase móvel tem a finalidade de transportar as moléculas a serem separadas através da coluna, sendo por isso conhecido como gás de arraste ou gás carreador (CHAAR, 2000).

O processo cromatográfico acontece ao ser introduzida a amostra na coluna através de um injetor, onde o gás de arraste flui e carrega a amostra. O componente da amostra cuja afinidade pela fase estacionária é maior requer maior tempo para ser eluído que aquele cuja interação é menor. Nesse processo de separação também é considerado o ponto de ebulição do componente, pois este é um fator determinante do tempo de eluição. Considerando que dois componentes de uma mistura tenham a mesma afinidade pela fase estacionária, àquele que possuir maior ponto de ebulição apresentará um tempo de eluição maior, passando menos tempo na fase móvel em relação ao tempo na fase estacionária.

A identificação dos constituintes pode ser realizada através da comparação dos tempos de retenção da amostra com padrões. Para uma maior confiabilidade na interpretação dos resultados, foi introduzido o índice de Kovats (IK) e o índice de Retenção (IR) que relacionam o tempo de retenção dos compostos sob análise ao tempo de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (CHAAR, 2000).

Para ter mais segurança na identificação dos picos individuais e controlar a pureza de um pico cromatográfico, é recomendável analisar um óleo volátil também por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Esse método fornece além da separação dos componentes um espectro de massas para cada pico. O espectro de massas geralmente indica a massa molecular e o padrão de fragmentação. A massa molecular já informa sobre a classe de substância. O padrão de fragmentação pode ser comparado com aqueles constantes da espectroteca de espectros de massas, que, normalmente, é instalada no computador. E propostas de probabilidade quanto à identidade da substância analisada são fornecidas. Mesmo que esse sistema constitua um grande avanço, o analisador tem que decidir, finalmente, se a resposta do computador é adequada. Os padrões de fragmentação podem mostrar variações na intensidade dos picos e isso pode dificultar a comparação dos picos mais intensos da amostra e dos espectros da espectroteca. Por isso, para a identificação com segurança também é importante considerar os dados de retenção. Mesmo com essas possibilidades é normal que quase sempre sobrem picos que não foram identificados. Para permitir uma elucidação estrutural desses compostos, outros métodos analíticos terão de ser usados.

A técnica de RMN ^{13}C é eficiente quando da análise de substâncias puras ou quando o óleo essencial apresenta um constituinte majoritário em alta concentração, e preferencialmente quando já se dispõem de dados espectrais para fins de comparação (BROCHINI *et al.*, 1999; FERREIRA, 2001).

Segundo Siddiqui (1997), Martins (1998), Brochini *et al.* (1999), Ferreira (2001) e Martins (2003) a RMN é a técnica espectroscópica mais indicada para a identificação de terpenos, principalmente sesquiterpenos que constituem uma classe de substâncias naturais com uma gama muito grande de possibilidades estruturais.

2.2.3 Propriedades terapêuticas dos óleos essenciais

Os óleos essenciais possuem uma larga tradição de uso como agentes medicinais. Existem registros que mostram o uso desses compostos aromáticos nas práticas religiosas associadas à cura de males, às unções da realeza, e à busca de bem-estar físico pelos egípcios há seis mil anos atrás. Os óleos essenciais também já eram populares nas antigas China e Índia, centenas de anos antes da era cristã, quando eram incorporados em incensos, poções e vários tipos de acessórios, usados diretamente sobre o corpo. No entanto, só foram comercializados a partir da Idade Média, através do processo de destilação, introduzido pelos alquimistas muçulmanos (TYRREL, 1990).

Poucos estudos foram desenvolvidos sobre a aplicação tópica dos óleos essenciais, com exceção à indústria de cosméticos, geralmente são concentrados em seus efeitos terapêuticos, associadas às práticas de massagens em pacientes hospitalizados (BUCKLE, 1993).

Os óleos essenciais encontram sua maior aplicação biológica como agentes antimicrobianos e isto representa uma extensão do próprio papel que exercem nas plantas, defendendo-as das bactérias e fungos fitopatogênicos (SIANI *et al.*, 2000).

Os compostos aromáticos apresentam diversas propriedades medicinais, como: adstringente, antimicrobiana, analgésica, antidepressiva, antipirética, antiviral, desodorante, estimulante e imunoestimulante, entre outras (CHENG *et al.*, 2003; DAVIS, 1996; WORWOOD, 1995). Os componentes terpênicos, principais constituintes dos óleos essenciais, apresentam diversas atividades biológicas, dentre elas a atividade herbicida, antimicrobiana, citostática e antitumoral (SILVA *et al.*, 1992).

Os óleos essenciais ocupam um lugar de destaque nos mercados de farmácias, perfumarias, cosméticos e nas indústrias agroalimentícias. São largamente usados para

conferir aromas especiais em inúmeros produtos, tais como perfumes, cosméticos, sabonetes e condimentos (LAVABRE, 1990; SILVA *et al.*, 2003).

2.3 Alcalóides

Os alcalóides foram os primeiros compostos estudados pelos fitoquímicos e são encontrados principalmente nas cascas e na madeira de espécies tóxicas (GOTTLIEB; MORS, 1980; HENRIQUES *et al. apud* SIMÕES *et al.*, 2003; WOODS; CALMAN, 1976). Existem várias classes de alcalóides e a definição atualmente aceita considera os alcalóides um grupo heterogêneo cíclico de compostos nitrogenados, de caráter básico e que não são nem aminoácidos, nem nucleotídeos e nem cofatores. Esses compostos têm função de proteção, resultante da toxicidade elevada que conferem aos vegetais (HAGGLUND, 1964).

Estão presentes geralmente em plantas superiores, apesar de alguns se encontrarem em plantas inferiores, microrganismos e algumas, poucas, espécies animais. Cada composto é específico de uma dada espécie ou família de espécies, uma característica típica dos metabólitos especiais.

Os alcalóides podem ser classificados de acordo com a sua origem biossintética, ou seja, de acordo com a estrutura que contém nitrogênio em pirrolidino, piperidino, quinolino, indol, etc., embora a complexidade estrutural de alguns rapidamente expanda o número de subdivisões. A maioria dos alcalóides deriva de aminoácidos alifáticos, aromáticos como a fenilalanina ou a tirosina, ou do triptofano (DEWICK, 2002).

Os alcalóides são encontrados na forma combinada, com ácidos orgânicos, e em concentração menor, na forma livre. Nesta forma, são insolúveis em meio aquosos e solúveis em solventes orgânicos como clorofórmio, éter e benzeno; na forma de sal, a solubilidade é

inversa. O grau de alcalinidade que apresentam é variável, dependendo da disponibilidade do par de elétrons do nitrogênio, podendo revelar caráter ácido quando este é quaternário.

Devido a estas características os alcalóides são usualmente detectados por meio dos reativos gerais de alcalóides (RGA), com os quais formam turvação a precipitação em meio ácido, conforme a Figura 4. A coloração desenvolvida ao final da reação pode ser verificada no Quadro 2.

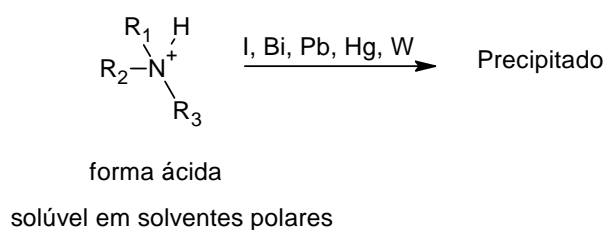


Figura 4 - Reação geral da detecção de alcalóides usando reativos gerais de alcalóides

RGA	Composição	Cor do precipitado
Dragendorff	iodo bismutato de potássio	alaranjado
Mayer	cloro-iodo mercurato de potássio	branco
Bertrand	ácido silico-túngstico	branco
Bouchardat/ Wagner	iodo iodeto de potássio	marrom
Sonnenschein	ácido fosfomolibdico ácido tânico	branco bege
Hager	ácido pícrico	amarelo

Quadro 2 - Reativos gerais de alcalóides e o desenvolvimento da cor do precipitado

Um número significativo de alcalóides, obtidos de plantas amazônicas, é utilizado medicinalmente, como por exemplo: a estricnina – estimulante do sistema nervoso central encontrado no gênero *Strychnos*; a emetina – expectorante e amebicida de *Cephaelis*; a pilocarpina – sialogoga e miótico de *Pilocarpus* e os alcalóides do curare – relaxantes do sistema nervoso de *Chandodendron*. Porém, o número de remédios desconhecidos química e farmacologicamente de nossa flora ainda são inumeráveis.

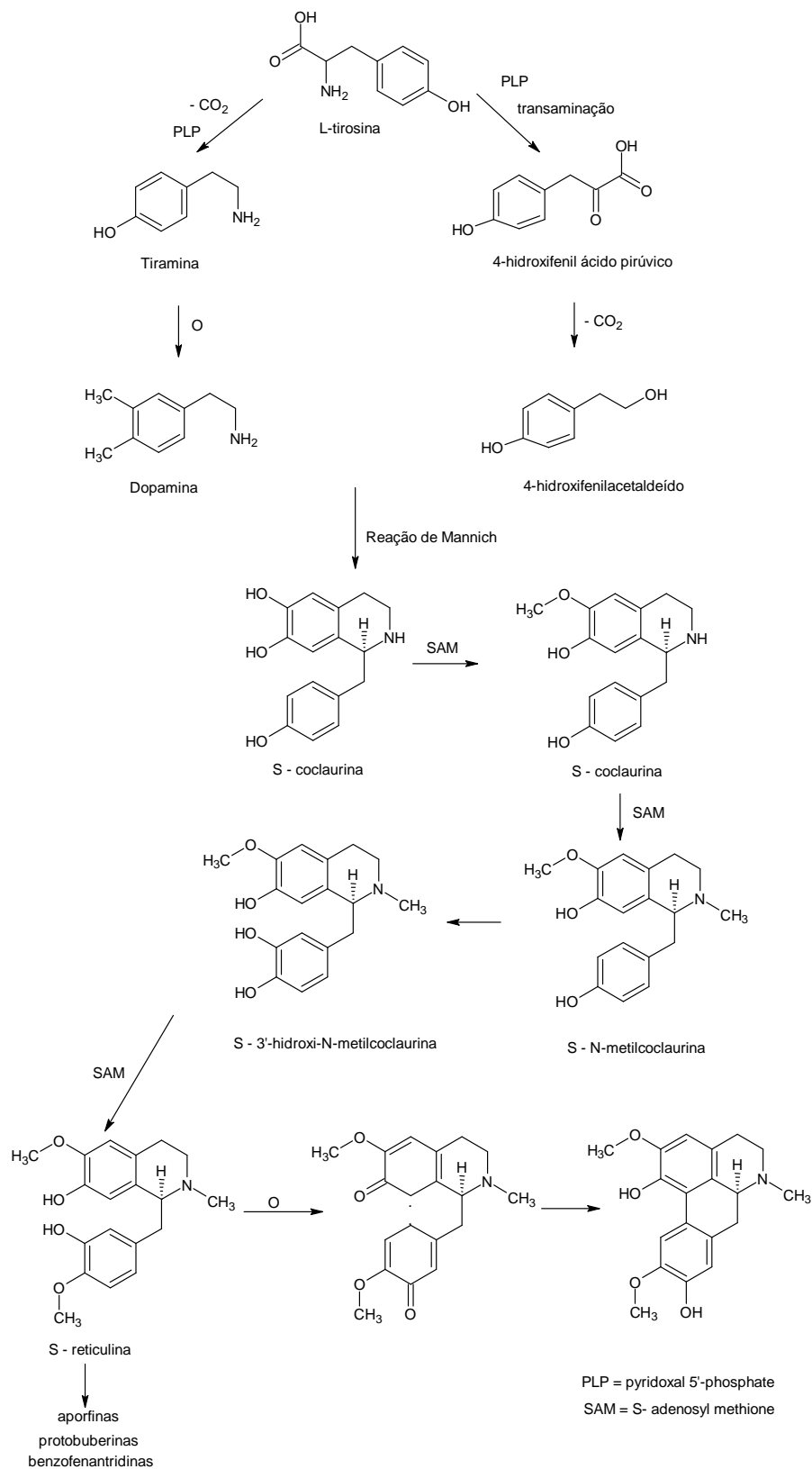


Figura 5 - Rota biossintética dos alcalóides benziltetrahidroisoquinolínicos

FONTE: Dewick, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2 nd ed. John Wiley & Sons, Ltd., 2002.

Cordell; Quirn-Beattie; Farnsworth (2001) registraram em seu trabalho o isolamento de 425 alcalóides, em 25 gêneros e em 189 espécies da família Lauraceae. Esses compostos são na maioria do tipo aporfínico e benzilisoquinolínico, na Figura 5 é apresentada a biossíntese desses alcalóides, em que muitos apresentam excelentes atividades biológicas, como a nantenina (bloqueador de contração muscular, translocação de Ca^{2+}) (RIBEIRO *et al.*, 2003), derivados da nantenina (antagonista α^1 -adrenoreceptor) (INDRA *et al.*, 2002), coclaurina (anti-HIV) (KASHIWADA *et al.*, 2005), glaucina (citotóxica) (HOET *et al.*, 2004) e derivados halogenados da predicentrina (inibição da topoisomerase II) (WOO *et al.*, 1999).

As Figuras 6 a 9 apresentam os principais tipos de esqueletos alcaloídicos, encontrados em espécies da família Lauraceae, de acordo com as suas subdivisões.

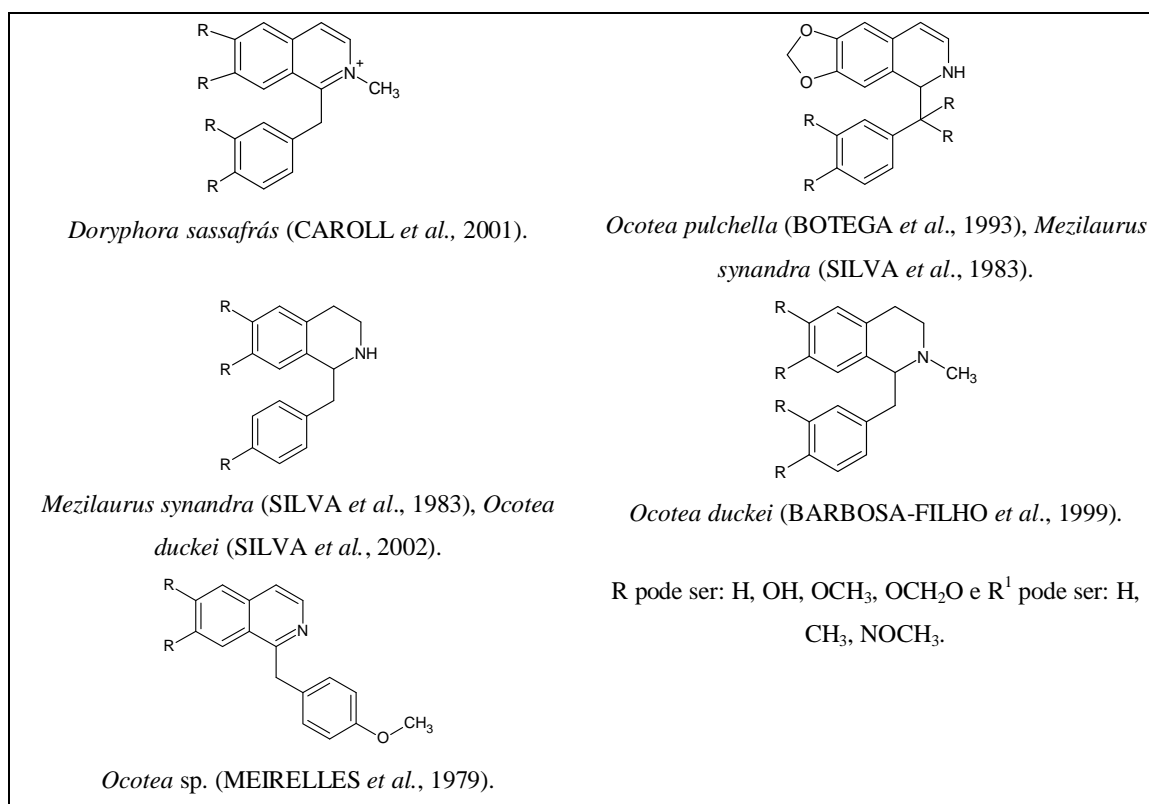
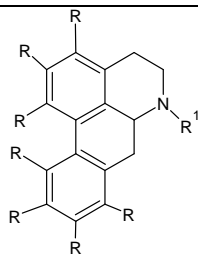
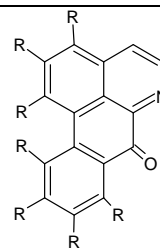


Figura 6 - Alcalóides do tipo benzilisoquinolínicos encontrados em espécies de Lauraceae

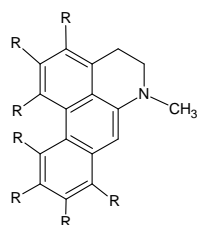
Aporfínico *sensu stricto*

Gênero *Ocotea*: *O. glaziovii*, *O. caesia*, *O. sinuata*, *O. variabilis*, *O. brachybotra*, *O. macropoda*, *O. minarum*, *O. vellosiana*, *O. puberula*, *O. macrophylla*, *O. leucoxylon*, *O. boldridgeiana*, *O. brenesii*, *O. bucherii* (ZANIN; LORDELLO, 2007), *Mezilaurus synandra* (SILVA *et al.*, 1983).



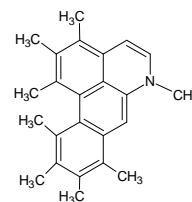
Oxoaporfínico

Ocotea minarum, *Ocotea leucoxylon*, *Ocotea macropoda* (ZANIN; LORDELLO, 2007), *Ocotea puberula* (BARALLE *et al.*, 1973; ZANIN; LORDELLO, 2007).



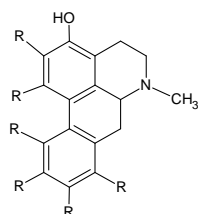
Diidroaporfínico

Ocotea macrophylla, *Ocotea macropoda*, *Ocotea puberula*, *Ocotea brenesii* (ZANIN; LORDELLO, 2007).



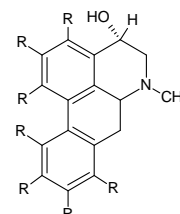
Dideidroaporfínico

Ocotea puberula (ZANIN; LORDELLO, 2007).



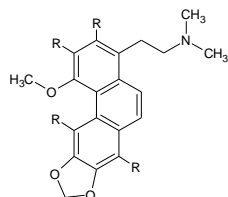
C-3-O-aporfínico

Ocotea puberula (ZANIN; LORDELLO, 2007).



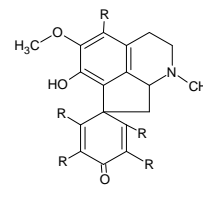
C-4-O-aporfínico

Ocotea minarum (ZANIN; LORDELLO, 2007).



Fenantreno

Ocotea insularis (ZANIN; LORDELLO, 2007).



Proaporfínico

Ocotea glaziovii, *Ocotea variabilis*, *Ocotea brachybotra* (ZANIN; LORDELLO, 2007).

R pode ser: H, OH, OCH₃, OCH₂O e R¹ pode ser: H, CH₃, NOCH₃.

Figura 7 - Alcalóides do tipo aporfínóides encontrados em espécies de Lauraceae

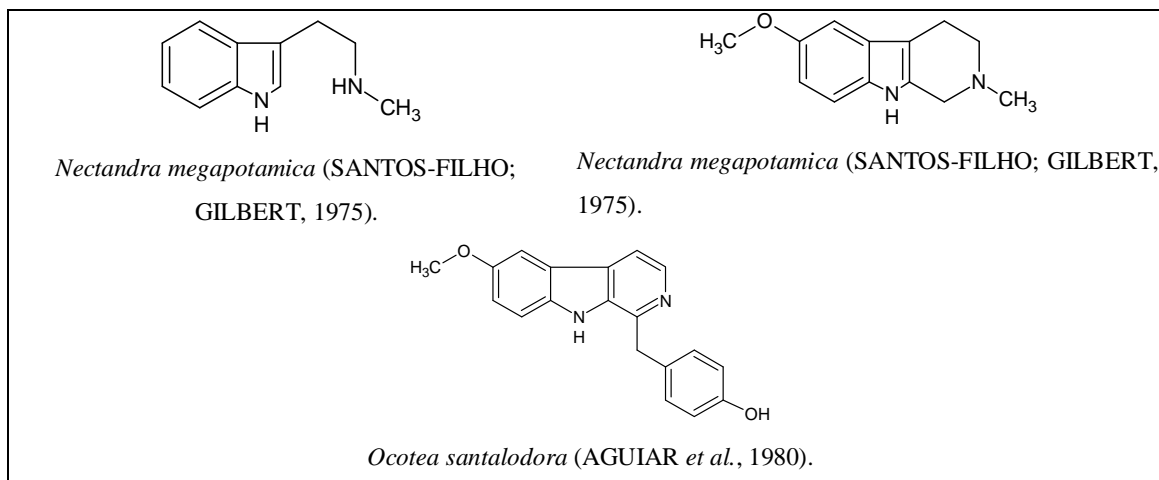


Figura 8 - Alcalóides do tipo triptamínico encontrados em espécies de Lauraceae

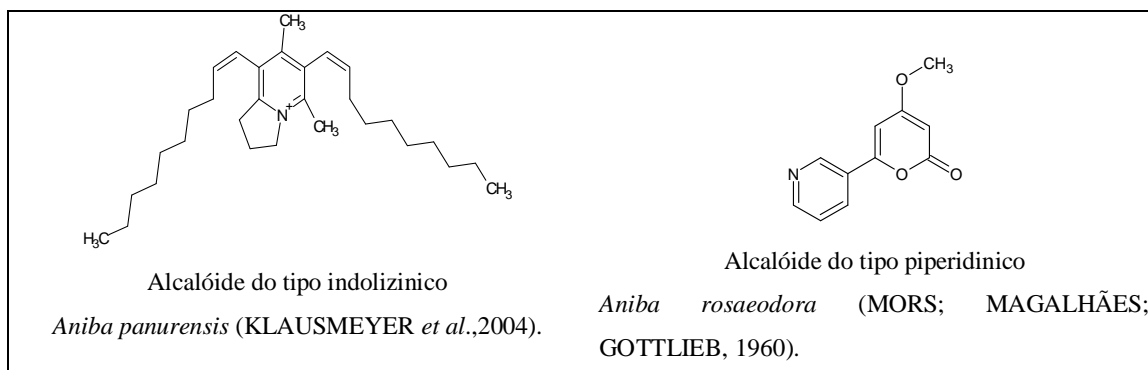


Figura 9 - Alcalóides do tipo indolizínico e piperidínico encontrados em espécies de Lauraceae

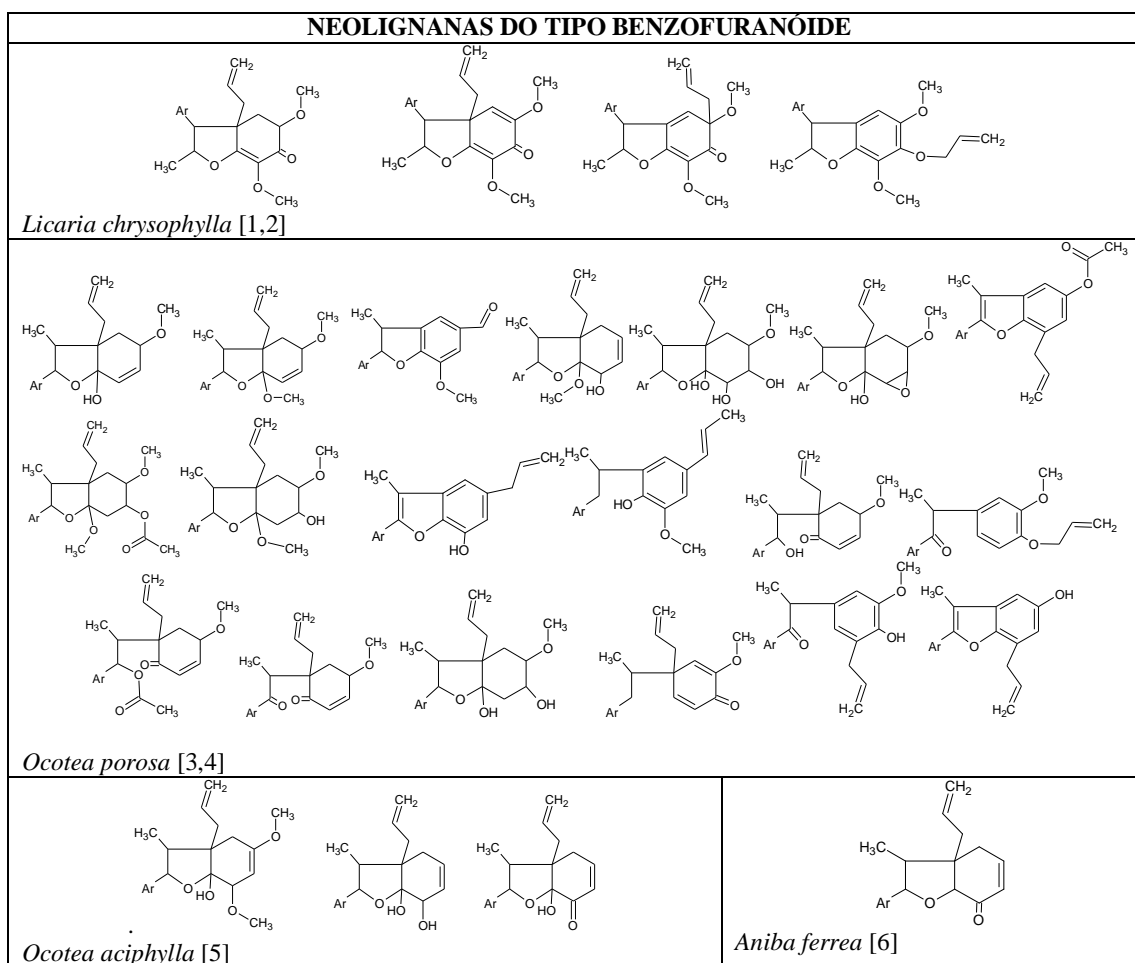
2.4 Neolignanas

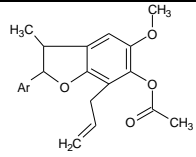
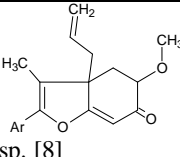
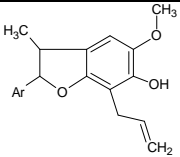
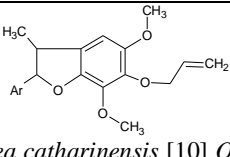
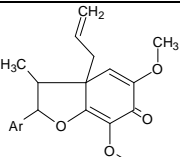
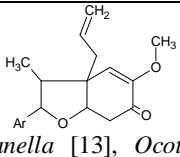
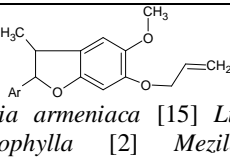
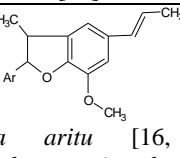
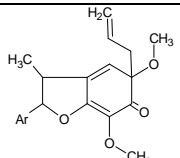
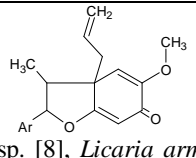
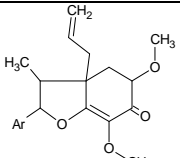
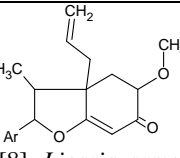
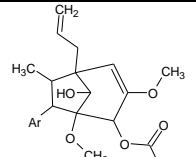
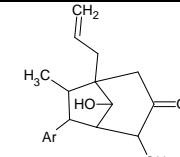
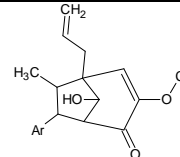
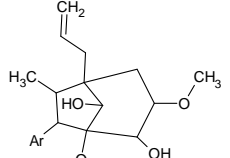
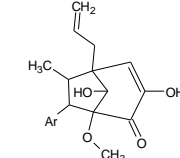
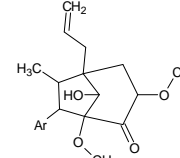
O termo neolignana foi introduzido por Gottlieb, em 1978, para designar dímeros de fenilpropanóides, nos quais as unidades C_6C_3 estão ligadas por outras posições que não as $\beta - \beta'$. As neolignanas são formadas pelo acoplamento oxidativo de 1-propenilfenol ou alifenol, e não apresentam o carbono γ oxigenado (III JORNADA, 1997; SARTORELLI, 2001).

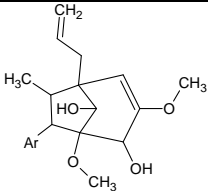
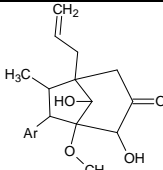
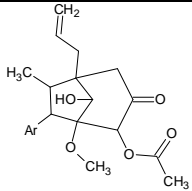
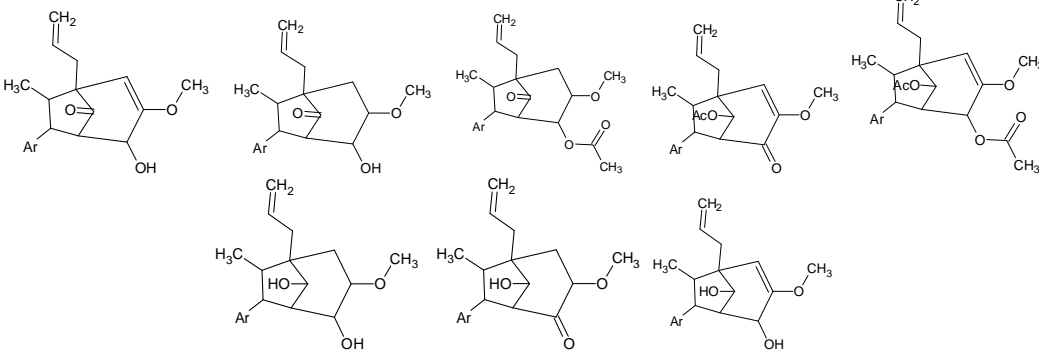
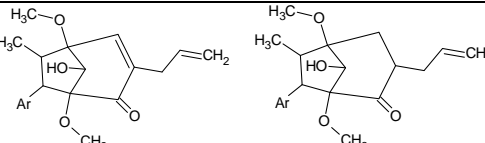
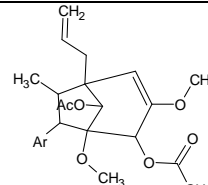
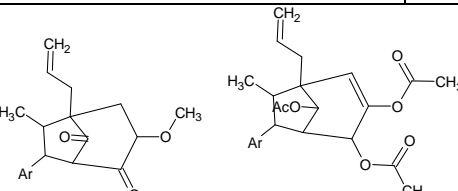
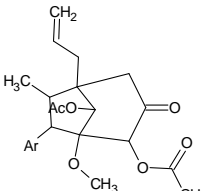
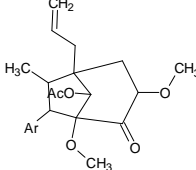
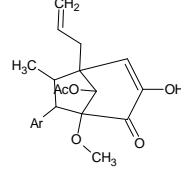
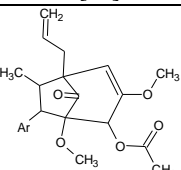
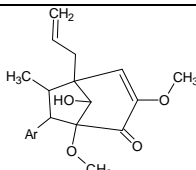
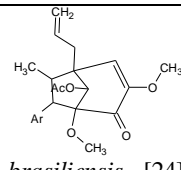
As neolignanas têm atraído o interesse dos pesquisadores devido à sua larga distribuição na natureza, pois parecem exercer um papel importante na defesa das plantas, atuando como agentes antimicrobianos, antifúngicos e inseticidas. Esta classe de compostos

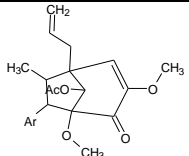
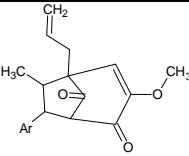
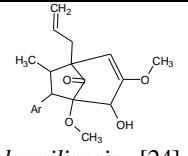
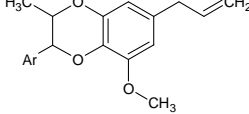
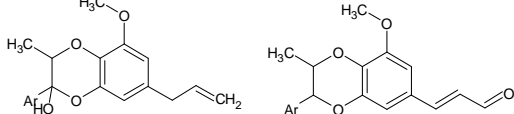
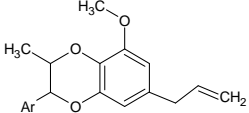
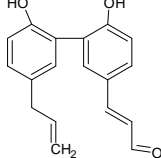
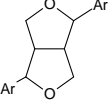
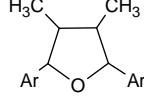
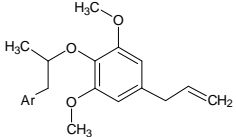
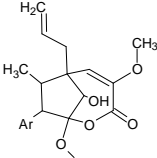
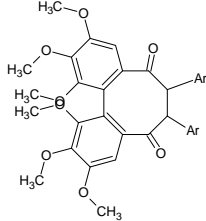
também tem despertado grande interesse biológico em virtude de suas propriedades terapêuticas, como: antitumoral, antiviral, antihipertensiva, sedativa, antibacteriana, inibidora do crescimento de plantas, antifúngica, anti-inflamatória, citotóxica, anti-PAF (fator de agregação plaquetária) e anti-LTB4 (mediador químico da inflamação, leucotrieno) (III JORNADA, 1997; OLIVEIRA; BRAGA, 2003).

Os tipos estruturais de neolignanais mais comuns encontrados nas espécies pertencentes às Lauraceae são: benzofuranóide (diidrobzofuranóide, tetraidrobzofuranóide e hexaidrobzofuranóide), biciclo [3.2.1] octanóide e benzodioxano (Quadro 3).



 <p><i>Mezilaurus itauba</i> [7]</p>	 <p><i>Aniba</i> sp. [8]</p>	 <p><i>Mezilaurus itauba</i> [7]; <i>Nectandra miranda</i> [9]</p>
 <p><i>Ocotea catharinensis</i> [10] <i>Ocotea veraguensis</i> [11]</p>	 <p><i>Ocotea aciphylla</i> [5], <i>Ocotea catharinensis</i> [10, 12], <i>Ocotea veraguensis</i> [11]</p>	 <p><i>Licaria canella</i> [13], <i>Ocotea porosa</i> [14]</p>
 <p><i>Licaria armeniaca</i> [15] <i>Licaria chrysophylla</i> [2] <i>Mezilaurus itauba</i> [7], <i>Nectandra miranda</i> [9]</p>	 <p><i>Licaria aritu</i> [16, 17], <i>Nectandra miranda</i> [9], <i>Ocotea porosa</i> [3, 4]</p>	 <p><i>Licaria armeniaca</i> [15], <i>Licaria chrysophylla</i> [2], <i>Ocotea catharinensis</i> [10, 12], <i>Ocotea porosa</i> [3], <i>Ocotea veraguensis</i> [11]</p>
 <p><i>Aniba</i> sp. [8], <i>Licaria armeniaca</i> [15], <i>Licaria chrysophylla</i> [2], <i>Nectandra miranda</i> [9], <i>Ocotea catharinensis</i> [12], <i>Ocotea porosa</i> [3]</p>	 <p><i>Aniba</i> sp. [8, 18], <i>Licaria armeniaca</i> [19], <i>Ocotea porosa</i> [4], <i>Aniba ferrea</i> [6]</p>	 <p><i>Aniba</i> sp. [8], <i>Licaria armeniaca</i> [19], <i>Ocotea porosa</i> [3, 4, 20], <i>Urbanodendron verrucosum</i> [21], <i>Aniba ferrea</i> [6]</p>
NEOLIGNANAS DO TIPO BICICLO (3.2.1) OCTANOÍDE		
 <p><i>Ocotea catharinensis</i> [12], <i>Ocotea porosa</i> [22]</p>	 <p><i>Mezilaurus itauba</i> [7], <i>Ocotea porosa</i> [3]</p>	 <p><i>Ocotea porosa</i> [3], <i>Aniba affinis</i> [23]</p>
 <p><i>Ocotea aciphylla</i> [5], <i>Ocotea catharinensis</i> [10], <i>Aniba ferrea</i> [6]</p>	 <p><i>Ocotea catharinensis</i> [10, 12], <i>Ocotea porosa</i> [22]</p>	 <p><i>Licaria brasiliensis</i> [24], <i>Ocotea catharinensis</i> [10], <i>Ocotea porosa</i> [22]</p>

 <p><i>Licaria rigida</i> [25], <i>Ocotea aciphylla</i> [5], <i>Licaria catharinensis</i> [12], <i>Ocotea veraguensis</i> [11]</p>	 <p><i>Aniba</i> sp [18], <i>Licaria canella</i> [13], <i>Licaria rigida</i> [25], <i>Ocotea catharinensis</i> [10, 12]</p>	 <p><i>Licaria brasiliensis</i> [24], <i>Licaria canella</i> [13], <i>Ocotea porosa</i> [22]</p>
 <p><i>Ocotea porosa</i> [3]</p>		
 <p><i>Licaria macrophylla</i> [26]</p>	 <p><i>Ocotea catharinensis</i> [12]</p>	
 <p><i>Mezilaurus itauba</i> [7]</p>		
 <p><i>Licaria canella</i> [13]</p>	 <p><i>Licaria armeniaca</i> [27], <i>Ocotea catharinensis</i> [10]</p>	 <p><i>Ocotea brasiliensis</i> [24], <i>Aniba affinis</i> [23]</p>
 <p><i>Ocotea costulatum</i> [28], <i>Ocotea porosa</i> [3, 22]</p>	 <p><i>Aniba</i> sp. [18], <i>Licaria brasiliensis</i> [24], <i>Aniba affinis</i> [23]</p>	 <p><i>Licaria brasiliensis</i> [24], <i>Ocotea catharinensis</i> [12], <i>Aniba affinis</i> [23]</p>

 <p><i>Licaria armeniaca</i> [15], <i>Licaria brasiliensis</i> [24], <i>Ocotea aciphylla</i> [5], <i>Ocotea porosa</i> [22]</p>	 <p><i>Licaria armeniaca</i> [15], <i>Ocotea porosa</i> [3], <i>Ocotea veraguensis</i> [11]</p>	 <p><i>Licaria brasiliensis</i> [24], <i>Ocotea costulatum</i> [28], <i>Ocotea veraguensis</i> [11]</p>
NEOLIGNANAS DO TIPO BENZODIOXANO		
 <p><i>Licaria rigida</i> [25]</p>	 <p><i>Aniba</i> sp. [18]</p>	
 <p><i>Licaria aurea</i> [23], <i>Licaria rigida</i> [25]</p>		
OUTROS TIPOS DE NEOLIGNANAS		
 <p><i>Sassafra's randaiense</i> [29]</p>	 <p><i>Licaria armeniaca</i> [15], <i>Ocotea duckei</i> [30]</p>	 <p><i>Licaria aurea armeniaca</i> [31], <i>Urbanodendron verrucosum</i> [21]</p>
 <p><i>Licaria aurea</i> [22, 30]</p>	 <p><i>Ocotea aciphylla</i> [5]</p>	 <p><i>Licaria aurea</i> [31]</p>
<p>Ar pode ser: piperonil (3,4-metilenodioxil fenil); veratril (3,4-dimetoxil fenil); 3-metoxil-4,5-metilenodioxilfenil; tri-O-metilpírogallil; 3,4,5-trimetoxilfenil; guaiacil (4-hidroxil-3-metoxilfenil); siringil.</p>		

Quadro 3 - Os principais tipos de estruturas de neolignan encontradas em espécies de Lauraceae

REFERÊNCIAS: [1] FERREIRA *et al.*, 1982, [2] LOPES *et al.*, 1986, [3] DAVID; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1994a, [4] DIAS; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1986, [5] FELÍCIO *et al.*, 1986, [6] ANDRADE; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1980, [7] YANEZ; DIAZ; DIAZ, 1986, [8] TREVISAN; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1984b, [9] AIBA *et al.*, 1977, [10] ISHIGE *et al.*, 1991, [11] KHAN; GRAY; WATERMAN, 1987, [12] HARAGUCHI *et al.*, 1983, [13] GIESBRECHT, FRANCA, GOTTLIEB, 1974, [14] AIBA; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1973, [15] BARBOSA-FILHO; YOSHIDA; GOTTLIEB, 1987, [16] AIBA; CORRÊA; GOTTLIEB, 1973, [17] RODRIGUES *et al.*, 1984, [18] DIAS *et al.*, 1986, [19] AIBA *et al.*, 1978, [20] AIBA *et al.*, 1976, [21] DIAS; GIESBRECHT; GOTTLIEB, 1982, [22] MARQUES *et al.*, 1992b, [23] DIAZ *et al.*, 1977, [24] GUILHON *et al.*, 1992, [25] BRAZ-FILHO *et al.*, 1981, [26] FRANCA; GOTTLIEB, 1974, [27] ALEGRO *et al.*, 1981, [28] SILVA; BRAZ-FILHO; GOTTLIEB, 1989, [29] EL-FERALY, 1984, [30] BARBOSA-FILHO *et al.*, 1999, [31] BARBOSA-FILHO *et al.*, 1989

2.5 Antioxidantes

Os radicais livres desempenham papel fundamental no metabolismo celular, no entanto, quando em excesso, podem gerar estresse oxidativo, levando as alterações teciduais responsáveis por diversas patologias, incluindo o câncer (DRÖGE, 2002). São espécies químicas que apresentam como característica a presença de um único elétron não-pareado em uma órbita externa. A energia criada por essa configuração instável é liberada através de reações com moléculas adjacentes, como compostos químicos inorgânicos ou orgânicos, particularmente com moléculas essenciais das membranas e ácidos nucleicos. Além disso, os radicais livres desencadeiam reações catalíticas através das quais as moléculas que reagem com eles são convertidas em radicais livres e propagam a cadeia de lesão.

Por serem naturalmente instáveis, os radicais livres costumam decompor-se espontaneamente, contudo, há vários sistemas não enzimáticos que contribuem para a inativação das reações de radicais livres. Dentre estes, pode-se citar os antioxidantes.

Antioxidantes são compostos que protegem o sistema biológico através do bloqueio e o desencadeamento da formação de radicais livres ou os inativam e detêm a lesão por radicais. Entre os antioxidantes mais conhecidos estão as vitaminas, principalmente C e E, e os flavonóides, entre os quais se podem citar a quercetina, rutina, hesperidina, naringina, naringenina, e sakuranetina (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000) (Figura 10). Os organismos vivos possuem sistemas antioxidantes endógenos para manter a formação de radicais livres em níveis toleráveis (GORDON, 1996).

Os polifenóis estão usualmente presentes em plantas como produtos do seu metabolismo. Entre uma de suas funcionalidades está à capacidade de proteger as plantas contra patógenos e predadores e principalmente contra o estresse fotossintético e formação de espécies reativas de oxigênio (LIMA, *et al*, 2007). Por estarem amplamente distribuídos nas

mais diversas espécies de vegetais, os polifenóis constituem-se num importante componente da dieta humana (SCHULZ, *et al*, 2000). Baseado em sua estrutura química, os polifenóis podem ser divididos em pelo menos dez diferentes classes, sendo que as principais são os flavonóides, taninos, ácidos fenólicos e derivados.

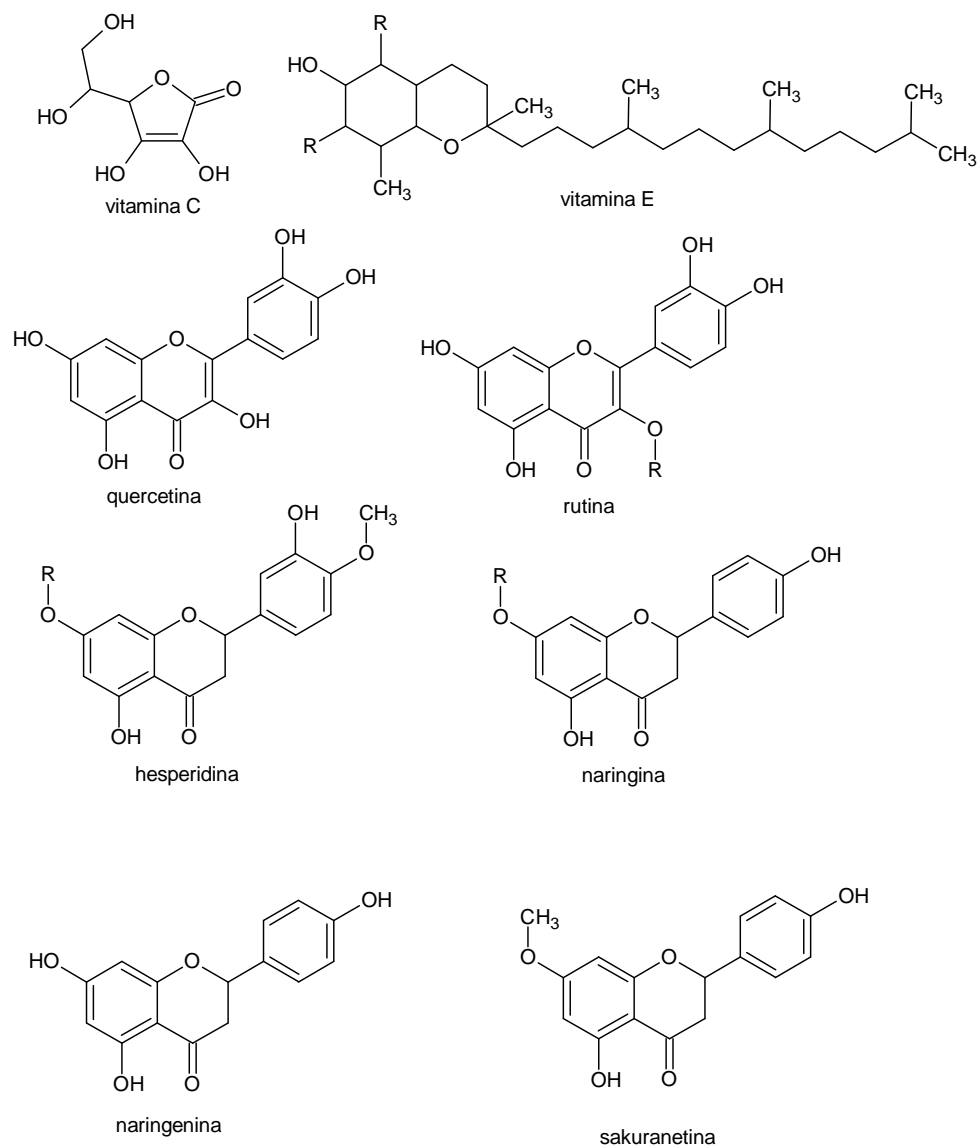


Figura 10 - Estrutura química das principais compostos antioxidantes

Os flavonóides estão entre os antioxidantes fenólicos mais potentes de origem vegetal (NARAYANA *et al*, 2001). Podem ser encontrados como agliconas livres ou na forma de *O*-heterosídeos ou *C*-heterosídeos. Subdividem-se em flavonas, catequinas, isoflavonas, flavonóis e antocianinas.

Taninos que são compostos intensamente hidroxilados, insolúveis com carboidratos e proteínas, porém seu derivado, o ácido tânico, tem apresentado atividade antioxidante em reações oxidativas mediadas por íons metálicos (SCHULZ *et al*, 2000).

Em função da limitada capacidade do organismo de anular a atividade oxidativa dos compostos reativos, recomenda-se a ingestão de antioxidantes exógenos de origem alimentar que possam aumentar a proteção dos componentes celulares vitais e preservar assim sua função biológica.

Para a determinação da atividade antioxidante de material vegetal, um dos métodos mais populares é baseado no uso do radical livre estável difenilpicrilhidrazil (DPPH). A molécula de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil, DPPH (Figura 11A) é caracterizada como um radical livre estável, por força da deslocalização eletrônica sobressalente sobre a molécula como um todo, de modo que as moléculas não dimerise, como seria o caso com a maioria dos outros radicais livres. A deslocalização também dá origem à cor violeta profunda, caracterizada por uma banda de absorção na solução de etanol em cerca de 520 nm (MOLYNEUX, 2004).

Quando uma solução de DPPH é misturada com a de uma substância que pode doar um átomo de hidrogênio, então dá origem a forma reduzida (Figura 11B) com a perda da coloração violeta (é esperado um resíduo de cor amarelo pálido devido ao grupo picril ainda presente).

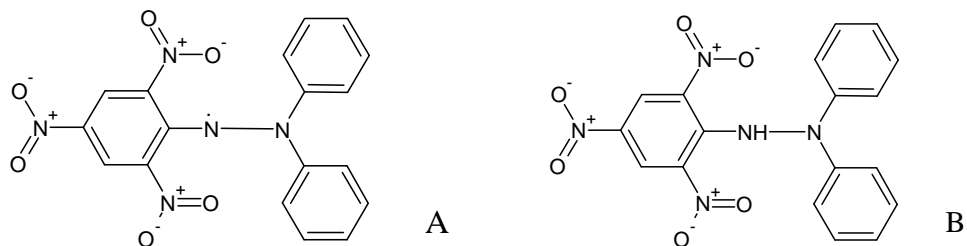


Figura 11 – 1,1-difenil-2-picrilhidrazil – DPPH: A - radical livre; B - forma reduzida

Representando o radical DPPH por Z' e a molécula doadora por AH, a reação primária é :



onde ZH é a forma reduzida (Figura 11B) e A' é o radical livre produzido. Este último radical será submetido a mais reações que controlam a estequiometria global, que é o número de moléculas de DPPH reduzido (descolorido) por uma molécula redutora (MOLYNEUX, 2004).

Esta reação é, portanto, destinada a fornecer a ligação com as reações que ocorrem em um sistema de oxidantes, tais como a auto-oxidação de lipídios ou outros compostos insaturados; o DPPH molécula Z' visa, assim, representar os radicais livres formados no sistema cuja atividade está a ser reprimida pela substância AH.

Um parâmetro, bastante utilizado, para a interpretação dos resultados do método DPPH, é a “concentração eficiente” ou valor CE_{50} (chamado também de valor IC_{50}). Este é definido como a concentração de substrato que provoca a perda de 50% da atividade do DPPH (cor).

2.6 Atividades biológicas

2.6.1 Atividade inibidora de acetilcolinesterase

Os compostos inibidores de acetilcolinesterase (AChE) produzem melhoras de sintomas cognitivos, comportamentais e funcionais relacionados as demências hipocolinérgicas, que tem a doença de Alzheimer como principal representante. Esses agentes vêm sendo utilizados desde o final da década de 70, quando diversos estudos encontraram nesta patologia uma base neuroquímica de depressão de neurônios colinérgicos no núcleo basal de Meynert e outros que se projetam para a região. Muitas têm sido as drogas testadas com o intuito de modificar o curso dessa doença, que seriam as chamadas drogas estabilizadoras e modificadoras da doença, mas nenhuma ainda mostrou evidências consistentes de uso para esse fim (LAKS; ENGELHARD *apud* LAKS; ENGELHARDT, 2003).

A doença de Alzheimer está associada com a diminuição dos diversos neurotransmissores cerebrais, como a acetilcolina, a noradrenalina e a serotonina, em que o tratamento sintomático da doença envolve primariamente a restauração da função colinérgica. Sugere-se, portanto, que uma elevação no nível da acetilcolina poderia ser útil para melhorar um dos sinais da doença, a deficiência de aprendizagem (BIERER *et al.*, 1995). Até a presente data, os inibidores da colinesterase demonstraram a maior eficiência no tratamento clínico na doença de Alzheimer (TREVISAN; MACEDO, 2003).

O medicamento considerado mais efetivo no tratamento da doença de Alzheimer é a galantamina, um alcalóide inibidor da enzima AChE, composto isolado de plantas da família Amaryllidaceae. Esta substância apresenta menos limitações que outras já utilizadas.

Nos tecidos dos mamíferos existem múltiplas colinesterases (enzimas que catalisam a hidrólise de ésteres de colina) que não são específicas. Nos vertebrados têm sido definidas duas atividades hidrolíticas da acetilcolina (MA *apud* HAINES, 1997):

A primeira é a acetilcolinesterase, responsável pela degradação da acetilcolina nas junções neuromusculares ou nos terminais nervosos de neurônios da matéria cinzenta do cérebro e, ainda, em tecidos reconhecidos como não-colinérgicos, tais como as estruturas hematopoiéticas, os eritrócitos, os pulmões e o baço, onde se desconhece a sua função. A biossíntese da acetilcolina faz-se a partir da colina e da acetil-CoA por ação da enzima colina acetiltransferase. A degradação da acetilcolina faz-se por hidrólise catalizada pela AChE, de que resulta a colina e o ácido acético.

A última é a butirilcolinesterase que se encontra no plasma sanguíneo, no fígado, no pâncreas, no coração, na matéria branca do cérebro e em quase todos os tecidos, exceto nos eritrócitos. Desconhece-se o significado fisiológico desta enzima, mas a determinação da sua atividade tem uma importância clínica muito grande ao nível, por exemplo, da detecção da inibição toxicológica (ex. por inseticidas) e como marcadora de insuficiência hepática.

A determinação da atividade das colinesterases permite avaliar a função hepática, uma vez que o fígado é muito rico em colinesterases. Também permite avaliar a intoxicação por alguns inseticidas, pois estes diminuem não-competitivamente a sua atividade. A determinação da atividade da butirilcolinesterase pode ainda ser útil no diagnóstico de certos tumores malignos, asma brônquica e a tuberculose pulmonar.

Dentre os bioensaios rápidos e sensíveis, a utilização da enzima acetilcolinesterase é uma alternativa para a detecção e seleção de amostras com ação anticolinesterase.

2.6.2 Atividade inibidora do fator de agregação plaquetária

O acidente vascular cerebral - AVC é considerado a primeira causa morte no Brasil (LESSA, 1999) e a principal causa de incapacidade motora, sensitiva e cognitiva (SHAH; GONDEK, 2000). As plaquetas possuem papel fundamental na formação de trombos e êmbolos e na conservação da hemostasia normal (PACKAM, 1994). Os antiagregantes plaquetários são usados principalmente no tratamento da doença tromboembólica arterial, pois bloqueia o depósito de plaquetas na superfície da placa ateroscleróticas rota (COLLABORATIVE, 2002), prevenindo a recorrência de AVCs.

Sintomas característicos de defeitos da hemostasia primária, tais como: sangramento nas mucosas, epistaxes, menorragia, pequenas equimoses na pele, sangramento anormal no trans e pós-operatório e sangramento contínuo de pequenos cortes ou feridas, são consideradas anormalidades da função plaquetária (LEWIS, 2006).

Produtos sintetizados a partir do safrol (BARREIRO; FRAGA, 1999), encontrado principalmente nos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea sp.*) e *Ocotea quixos* (BALLABENI, 2007), possuem propriedades de anti-PAF pela inibição da cascata do ácido araquidônico e da atividade da trombina.

As causas de diminuição da PAF podem ser congênicas ou adquiridas. Entre as causas congênicas estão a doença de von Willebrand, a trombastenia de Glanzmann e a síndrome de Bernard-Soulier. Todas essas patologias estão relacionadas a defeitos na fase de adesão plaquetária (GOODMAN; GILMAN, 2006).

Entre as condições adquiridas que causa diminuição da PAF, temos o uso de medicações inibidoras, doenças auto-imunes que produzem anticorpos contra as plaquetas, desordens mieloproliferativas, uremia por insuficiência renal, desordens adquiridas do armazenamento de ADP e produtos de degradação da fibrina (GOODMAN; GILMAN, 2006).

Algumas condições podem produzir aumento da PAF, quais sejam quadros de hipercoagulabilidade que indicam um risco de acidente vascular cerebral, trombose venosa profunda e outras condições associadas com a formação de coágulo (LEWIS, 2006).

O teste para verificar possíveis propriedades dos óleos em atividade anti-PAF é um procedimento *in vitro* usado para medir a taxa na qual as plaquetas, em uma amostra de plasma, formam ou não um aglomerado após a adição do óleo essencial, observada através da absorvância de luz pelo plasma rico em plaquetas que diminui com a PAF. A variação de absorvância é monitorizada em um registrador gráfico automático (LEWIS, 2006).

2.6.3 Atividade citotóxica em células tumorais

A neoplasia é uma das doenças mais temidas pela sociedade por ser um estigma de mortalidade e dor, sendo a segunda causa de mortes no Brasil (MINISTÉRIO, 1971). Esta doença é caracterizada pelo crescimento descontrolado de células mutantes. Existem quase 200 tipos que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, os quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecido e órgãos, vizinhos ou distantes.

Os fatores de risco de câncer podem ser encontrados no meio ambiente ou podem ser hereditários. Bioquimicamente, as alterações que geram as neoplasias ocorrem em genes especiais denominados protooncogenes, que a princípio são inativos em células normais, que quando ativados, transformam-se em oncogenes, responsáveis pela malignização das células normais, ou seja, células tumorais. Essas células passam a se comportar de forma anormal, multiplicando-se descontroladamente. Com a multiplicação celular ocorre a necessidade de que novos vasos sanguíneos sejam formados para que haja a nutrição destas células, em um processo chamado angiogênese. A manutenção e o acúmulo de massa dessas células formam os tumores malignos e elas também podem adquirir a capacidade de se desprenderem do

tumor e de migrarem, invadindo inicialmente os tecidos vizinhos e chegando ao interior de um vaso sanguíneo ou linfático, disseminam-se, chegando a órgãos distantes, formando as metástases (SPENCER; JONHSTON, 2001).

Muitos fármacos eficazes contra o câncer exercem sua ação sobre as células que se encontram no ciclo celular, e são denominados fármacos ciclo-celular específicos. Um segundo grupo de agentes, denominados fármacos ciclo-celular não específicos, tem a capacidade de exterminar as células tumorais independentemente de estarem atravessando o ciclo (SALMONM, 1998).

Os produtos naturais ciclo-celular específicos incluem alguns compostos citotóxicos, usados clinicamente no tratamento de neoplasias, como os alcalóides vegetais, entre os quais, têm-se: i) alcalóides da vinca (vimblastina e vincristina) que tem ação pela inibição do fuso mitótico, ligando-se às proteínas microtubulares e, conseqüentemente, interrompendo a divisão celular na metáfase (OLIVEIRA; ALVES, 2002); ii) taxol (conhecido comercialmente como Paclitaxel[®]) atua também pela inibição do fuso mitótico, dimerização da tubulina e estabilização dos túbulos, protegendo-os da despolimerização, o que resulta na perda da viabilidade celular (OLIVEIRA; ALVES, 2002); iii) podofilotoxina (ou epipodofilotoxinas), tendo-se como principais a etoposida e teniposida, derivados semi-sintéticos da podofilotoxina, extraída da raiz do podofilo (*Podophyllum peltatum*) que atua pelo bloqueio das células nas fases S e G₂ e inibição da enzima topoisomerase II, o que promove lesão no DNA (OLIVEIRA; ALVES, 2002).

Os alcalóides aporfínicos, encontrados significativamente na família Lauraceae, possuem como atividade biológica mais representativa, a citotóxica, que tem sido demonstrada frente a diversas linhagens de células tumorais (CAVÉ; LÉBOUF; WATERMAN, 1987). Este é o caso, por exemplo, da liriodenina, que foi usada como modelo comparativo com outros dois alcalóides aporfínicos, dicentrina e bulbocapnina, para explorar

a relação entre estrutura e atividade inibidora sobre topoisomerase II, em que as duas primeiras apresentaram excelentes resultados (STÉVIGNY; BAILLY; QUENTIN-LECLERCQ, 2005).

2.6.4 Doenças negligenciadas

Entre as doenças negligenciadas podemos encontrar a leishmaniose e a doença de Chagas.

A leishmaniose é uma doença tropical causada por protozoário do gênero *Leishmania*. Atinge cerca de 400 mil pessoas por ano, não só nos países mais pobres, mas também nos desenvolvidos. A leishmaniose apresenta características clínicas e epidemiológicas diversas, em cada área geográfica, sendo reunidas em quatro grupos: i) leishmaniose cutânea; ii) leishmaniose mucocutânea, podem provocar lesões destrutivas nas mucosas do nariz, boca e faringe; iii) leishmaniose visceral ou calazar, atinge o baço, fígado, medula óssea e tecidos linfóides; iv) leishmaniose difusa, apresenta formas disseminadas cutâneas em pacientes que haviam sido tratados de leishmaniose visceral (REY, 1991).

Os parasitas isolados de todos os casos não são idênticos entre si, existindo vários tipos de *Leishmania*, para cada forma de leishmaniose. As leishmânias, que atacam o homem, podem ser classificadas em complexos fenotípicos, agrupados em dois subgêneros: *Viannia* e *Leishmania* (REY, 1991).

O subgênero *Viannia* compreende o complexo “*Leishmania brasiliensis*”, enquanto o subgênero *Leishmania* compreende os complexos “*Leishmania mexicana*” e “*Leishmania donovani*” (REY, 1991).

Os insetos vetores das leishmanioses são pequenos, castanho-claros, facilmente reconhecíveis pela atitude que adotam quando pousados, pois as asas permanecem

entreabertas e ligeiramente levantadas, em vez de se cruzarem sobre o dorso. Pertencem à família *Psychodidae* e subfamília *Phlebotominae* (REY, 1991).

O tratamento das leishmanioses tem sido feito com a utilização de metais pesados, em particular os compostos antimoniais estilbogluconato de sódio e antimoniato de meglunina, como drogas de primeira escolha. Quando este tipo de terapia não é efetivo, outros medicamentos são usados, dentre estes a pentamidina e a anfotericina B lipossomal, medicamentos de administração injetável para os quais o paciente necessita de supervisão clínica ou hospitalização durante o tratamento devido à gravidade dos possíveis efeitos colaterais (CHAN-BOCAB; PENA-RODRÍGUEZ, 2001). Assim o tratamento da leishmaniose não é satisfatório em termos de efetividade e toxicidade e a resistência a drogas já existentes.

A doença de Chagas é uma zoonose causada pelo hemoflagelado *Trypanossoma cruzi*. A maior parte dos casos de infecção em seres humanos ocorre através do contato da pele ou mucosas com as fezes ou urina de insetos hematófagos contaminados por *T. cruzi*. Nem todos os barbeiros estão infectados com o protozoário. Até o momento somente os mamíferos são suscetíveis a infecção.

De acordo com a OMS, a prevalência da doença de Chagas é de 13 milhões de casos (MOREL; LAZDINS, 2003). Por ser uma doença crônica incapacitante, o custo econômico é elevado, e, como a população acometida é habitualmente de baixo nível sócio-econômico, os gastos são cobertos pelo governo.

Atualmente, só há uma droga existente no mercado para o tratamento específico, o benzonidazol, eficaz somente na forma aguda ou crônica recente da doença, e ainda podem induzir efeitos colaterais tóxicos ao paciente. É necessária a busca de novos compostos para o tratamento da doença de Chagas, que apresentem maior eficácia no tratamento de pacientes na fase crônica e menor toxicidade (URBINA *et al.*, 2003).

3 METODOLOGIA

3.1 Material vegetal

As amostras do material vegetal, descritas no Quadro 4, foram coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke, INPA, Manaus, Amazonas, nos meses de março de 2007 e 2008. O material vegetal de cada espécie foi obtido de um mesmo indivíduo, na fase estéril, com exceção do material botânico obtido de *Endlicheria chalisea*, na fase de frutificação. Todas as espécies têm exsicatas depositadas e foram identificadas no Projeto Flora da Reserva Ducke.

Após a coleta, as diferentes partes da planta foram separadas, limpas, analisadas quanto à presença de fungos, galhas e ataques de insetos e reservadas para extração de seu óleo essencial e preparação do extrato em etanol.

Reg.	Nome científico	Nome vulgar	Órgão(s) da planta
1276	<i>Aniba panurensis</i> (Meisn.) Mez	Louro-amarelo	Folhas e galhos
1473	<i>Aniba rosaeodora</i> Ducke	Pau-rosa	Galhos
4861	<i>Dicypellium manausense</i> W. A. Rodrigues	Louro-preto	Folhas e galhos
889	<i>Endlicheria chalisea</i> Chanderbali	-	Folhas, galhos e frutos
1727	<i>Licaria cannella angustata</i> H. W. Kurz	Louro-pirarucu	Folhas e galhos
1890	<i>Licaria martiniana</i> (Mez) Kosterm.	Louro	Folhas e galhos
1272	<i>Mezilaurus duckei</i> van der Werff	Itauba-abacate	Folhas e galhos
820	<i>Mezilaurus itauba</i> (Meisn.) Taub. Ex Mez	Itauba-amarela	Folhas e galhos
1731	<i>Ocotea nigrescens</i> Vicentini	Louro-preto	Folhas
1730	<i>Ocotea splendens</i> (Meisn.) Baill	Itauba-pixuna	Folhas
1739	<i>Rhodostemonodaphne negrensis</i> Madriñán	-	Folhas
3839	<i>Rhodostemonodaphne parvifolia</i> Madriñán	-	Folhas e galhos
3193	<i>Pleurothyrium vasquezii</i> van der Werff	Louro-chumbo	Folhas e galhos
5409	<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Werff	Louro-gamela	Folhas e galhos

Quadro 4 - Dados de coleta das espécies vegetais

3.2 Extração dos óleos essenciais

O material vegetal seco foi triturado em moinho de facas e submetido à hidrodestilação por um período de 4 h, utilizando aparelho do tipo Clevenger modificado. Os óleos essenciais extraídos foram secos com sulfato de sódio anidro, acondicionados em pequenos frascos de vidro âmbar e mantidos sob refrigeração. O cálculo do rendimento foi realizado através da relação da massa do óleo obtido com a massa de material vegetal seco utilizada na extração.

3.3 Análise dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram diluídos em hexano e as soluções obtidas foram submetidas à análise por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) para a análise quantitativa e determinação dos índices de retenção, e por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrômetro de massas (CG-EM), para a obtenção dos espectros de massas. Foram realizadas três repetições para cada óleo essencial analisado.

3.3.1 Análise em CG-DIC

Os óleos foram diretamente analisados em cromatógrafo em fase gasosa modelo CG 2010 da Shimadzu[®] com detector por ionização de chama (DIC). As análises foram realizadas com coluna CP-Sil 5 CB (100% dimetilpolisiloxano) da Varian[®], com medidas de 15 m x 0,25 mm x 0,25 µm, sendo utilizado como gás de arraste hélio (He) em fluxo de 2,0 mL/min. A injeção em modo split 1:10 foi realizada com injetor a 250°C. A temperatura do detector foi

de 290°C e o forno foi programado de 60°C a 180°C a 3°C/min. Foram co-injetados padrões de hidrocarbonetos lineares (C₉-C₂₂) para a determinação dos índices de retenção.

3.3.2 Análise em CG-EM

Após a análise por CG-DIC, os óleos foram analisados em cromatógrafo em fase gasosa modelo QP-2010 da Shimadzu[®] com detector por espectrometria de massas (CG-EM). As análises foram realizadas com coluna VF-1MS da Varian[®], com medidas de 15 m x 0,25 mm x 0,25 µm. As condições da análise foram às mesmas utilizadas por CG-DIC. Para a detecção foi aplicada a técnica de impacto eletrônico a 70 eV.

3.3.3 Análise por RMN ¹H

Os espectros de RMN ¹H foram registrados em 500 MHz em um espectrofotômetro Bruker modelo DRX-500 com a amostra dissolvida em CDCl₃ com 10% de TMS (Aldrich).

3.4 Identificação dos constituintes dos óleos essenciais

A determinação da composição química dos óleos essenciais foi realizada através dos dados de tempo de retenção, obtidos por CG-DIC, e dos espectros de massas, obtidos por CG-EM. Os índices de retenção foram calculados utilizando a equação de Van der Dool-Kratz, relacionando os tempos de retenção dos compostos presentes nos óleos essenciais com os tempos de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos lineares (C₉-C₂₂) que foi co-injetada com a amostra. Os índices de retenção e os espectros de massas foram comparados com dados da espectroteca Wiley 7.0 e da literatura (ADAMS, 2001).

3.5 Obtenção dos extratos em etanol

Os extratos foram obtidos por maceração do material seco em etanol 100%, à temperatura ambiente. As soluções permaneceram em contato cerca de três dias e depois foram filtradas usando-se algodão como agente filtrante. Em seguida, foram concentradas em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, até eliminação do solvente. O cálculo do rendimento foi realizado através da relação da massa do extrato obtido com a massa de material vegetal seco utilizada na maceração.

3.6 Prospecção fitoquímica (MATOS, 1980)

Os testes fitoquímicos foram efetuados pela dissolução do extrato etanólico com etanol 90%, na proporção 1:4 ou 1:6, a depender da necessária diluição do extrato (indicada pela coloração escura quando muito concentrado). Os métodos utilizados nesta abordagem são apenas qualitativos. Esta metodologia, descrita no Quadro 5, teve como objetivo detectar a ocorrência de vários constituintes químicos presentes nos extratos etanólicos de espécies da família Lauraceae, para os testes sete porções de 3-4 mL do extrato dissolvido em etanol foram colocados em tubos de ensaio numerados de 1 a 7.

3.6.1 Teste para esteróides e triterpenóides

A amostra vegetal seca foi extraída três vezes com 1-2 mL de clorofórmio, triturando bem o resíduo com o solvente. A solução clorofórmica foi filtrada gota a gota num pequeno funil fechado com algodão, coberto com alguns decigramas de Na_2SO_4 anidro, para um tubo de ensaio. Adicionou-se 1 mL de anidrido acético e agitou-se suavemente. Foram adicionadas

três gotas de H₂SO₄ concentrado e novamente a solução foi agitada, observando-se o rápido desenvolvimento de cores.

A coloração azul seguida da verde permanente foi um indicativo da presença de esteróides livres. Coloração parda até vermelha indicou triterpenóides pentacíclicos livres.

Tubos de ensaio	Meio reacional	Cor desenvolvida	Constituinte
Tubo 1	3 gotas de FeCl ₃ alcoólico 1 mol/L	entre azul e vermelho precipitado azul precipitado verde	fenóis taninos hidrolizáveis taninos condensados
Tubo 2	pH 3	vermelho	antocianinas, antocianidinas chalconas e auronas
Tubo 3	pH 8,5	lilás	antocianinas, antocianidinas
Tubo 4	pH 11	azul púrpura amarelo vermelho púrpura vermelho laranja	antocianinas, antocianidinas flavonas, flavonóis, xantonas chalconas, auronas flavanonóis
Tubo 5	pH 1-3	vermelho pardo amarelada	leucoantocianidinas catequinas
Tubo 6	pH 11	vermelho laranja	flavanonas
Tubo 7	Alguns cg de Mg + 0,5mL de HCl concentrado	vermelho	flavonóis, flavononas, flavanóis, xantonas

Quadro 5 – Procedimentos da prospecção fitoquímica

3.6.2 Teste para saponinas

Os resíduos insolúveis em clorofórmio separados no teste anterior foram solubilizados em água destilada e filtrados para um tubo de ensaio. O tubo com a solução foi agitado fortemente por dois a três minutos e observou-se a formação da espuma.

Uma espuma persistente e abundante indicou a presença de saponinas (heterosídeos saponínicos).

3.7 Prospecção de alcalóides

3.7.1 Teste A para alcalóides

Foram adicionados 2 mL de HCl 10% a 2 mL da solução etanólica. A mistura foi aquecida por 10 minutos e depois de esfriada foi filtrada.

O filtrado foi dividido em quatro tubos de ensaio. E para cada tubo foram adicionadas algumas gotas de um dos reativos de reconhecimento: Dragendorff, Mayer, Wagner e Hager.

Leve turbidez ou precipitado respectivamente roxa a laranja, branco a creme, marrom e marrom, indicaram a presença de alcalóides.

3.7.2 Teste B para alcalóides

Foram colocadas 50 mg da amostra seca e pulverizada em uma cápsula de porcelana, onde foi macerada durante 5 minutos com 1 mL de ácido tartárico (ácido 2,3-dihidroxiбутanodióico) a 5% e em seguida filtrada para um tubo de ensaio. Lavou-se o resíduo com mais 1 mL da solução tartárica. Ao filtrado adicionou-se 0,3 mL do reagente de Mayer.

A formação de precipitado foi indicativa da presença de alcalóides.

3.8 Determinação de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras de extrato etanólico das espécies estudadas foi feita por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu com modificações (BONOLI *et al.*, 2004; FOLIN; CIOCALTEAU, 1927).

Foram preparadas soluções em metanol HPLC com concentrações de 0,50000 a 0,03125 µg/mL do padrão ácido gálico e para os extratos etanólicos uma solução de 10 µg/mL. As soluções foram submetidas à adição do reativo Folin-Ciocalteu e cinco minutos depois, a adição da solução de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). As leituras da reação foram realizadas após 90 minutos em espectrofotômetro UV-Vis a 724 nm.

O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. A equação da curva de calibração do ácido gálico foi $C = 6,472x + 0,019$, onde C é a concentração do ácido gálico, x é a absorbância a 724 nm e o coeficiente de correlação $R = 0,9998$. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.9 Análise qualitativa da atividade antioxidante

Os extratos etanólicos e os óleos essenciais foram analisados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) através do método de seqüestro do radical livre DPPH, pela metodologia de Mensor através da capacidade seqüestrante do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) 0,4 mmol/L em metanol por trinta segundos. As placas foram observadas até o aparecimento de manchas amarelas sob fundo de coloração púrpura, indicativo de possível atividade antioxidante e a quercetina (Sigma-Aldrich, ≥ 98% HPLC) foi utilizada como padrão positivo de comparação (MENSOR, 2001).

3.10 Análise quantitativa da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada por meio da capacidade seqüestrante do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), utilizando quercetina (Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$ HPLC) como padrão, expressos como valores de concentração eficiente (CE_{50}).

O método (MENSOR, 2001) foi adaptado ao ensaio em microplaca. Os extratos etanólicos, os óleos essenciais e a quercetina foram diluídos em metanol HPLC, obtendo uma solução estoque a 1 mg/mL. As concentrações foram obtidas a partir de diluições sucessivas na própria microplaca, em uma proporção de 1:1, sendo a concentração inicial para os extratos e óleos de 30 $\mu\text{g/mL}$ e resultando em uma concentração final de 0,469 $\mu\text{g/mL}$; e para o padrão quercetina, uma concentração inicial de 5 $\mu\text{g/mL}$, obtendo uma concentração final de 0,08 $\mu\text{g/mL}$. As amostras diluídas tiveram suas absorbâncias medidas em leitora de microplaca (Bio-Rad, modelo 3550 UV) a 517 nm para a obtenção do branco. Em seguida, foram submetidas à adição do reativo DPPH (0,3 mM), incubando a reação por 30 minutos em ambiente escuro e novamente foi feita a leitura da absorbância na leitora de microplaca UV-Vis a 517 nm.

A concentração eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE_{50}), foi determinada através da regressão linear dos valores obtidos utilizando o programa Microsoft Office Excel 2007.

Os resultados apresentados neste estudo correspondem à média de três repetições ($n=3$) \pm desvio padrão da média.

3.11 Ensaio qualitativo da atividade inibidora da acetilcolinesterase

A inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), através da Cromatografia em Camada Delgada (CCD), dos extratos e dos óleos essenciais, foi avaliada seguindo a metodologia descrita por Elmann *et al.* (1961), adaptada por Rhee *et al.* (2001). Este bioensaio consiste na aplicação da amostra em CCD, seguida da pulverização da placa com o reagente de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico, DTNB) e uma solução de iodeto de acetiltiocolina (ATCI) em tampão e deixa secar. Após este procedimento, pulveriza-se a placa com a enzima AChE (3 U/mL). Decorridos alguns minutos (~10), a inibição enzimática pode ser constatada pela ausência da cor amarela e concomitante surgimento de um halo branco.

3.12 Ensaio quantitativo da atividade inibidora da acetilcolinesterase

Para o ensaio quantitativo da reação enzimática no ensaio de microplaca, utilizou-se uma leitora de microplaca Bio-Rad, modelo 3550 UV, absorvância a 405 nm, baseado no método de Ellman (ELLMAN *et al.*, 1961; RHEE *et al.*, 2001). O método consiste na hidrólise do substrato acetiltiocolina pela enzima, gerando como produto a tiocolina, que reage com o reagente de Ellman, produzindo 2-nitrobenzoato-5-mercaptopiocolina e 5-tio-2-nitrobenzoato, que podem ser detectados a 405 nm. Nas 96 cavidades da placa, adicionaram-se 25 µL de 15 mM de iodeto de acetilcolina (ACTI); 125 µL de 3 mM de ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB ou reagente de Ellman); 50 µL de 50 mM Tris/HCl pH 8, contendo 0,1% de albumina sérica bovina (BSA); 25 µL da amostra a ser analisada, dissolvida em MeOH, diluída 10 vezes em 50 mM Tris/HCl pH 8; mediu-se a absorvância a cada 13 s por 5 vezes. Adicionou-se 25 µL da enzima (0,22 U/mL); mediu-se novamente a absorvância a cada 13 s por 8 vezes. Os extratos foram testados nas concentrações 5 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5

mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL e 0,01 mg/mL. A velocidade das reações foi calculada utilizando-se o software Prism V4.0 (GraphPad Software Inc.). Corrigiram-se os aumentos em absorbância, devido à hidrólise espontânea, por meio da subtração da velocidade da reação antes de se adicionar a enzima com a velocidade da reação depois de se adicionar a enzima. A porcentagem de inibição calculou-se pela comparação das velocidades das amostras em relação ao branco (10% MeOH no tampão 50 mM Tris/HCl pH 8). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.13 Teste de atividade antiagregante plaquetária

O estudo da agregação plaquetária através da curva de agregação plaquetária (CAP) é um método baseado na medida da formação de agregados de plaquetas após sua exposição a um agente agregante. As medidas foram realizadas em um agregômetro (PA-04, Qualitem, São Paulo, Brasil), basicamente um espectrofotômetro capaz de medir a variação da transmissão da luz através de uma suspensão de plaquetas, quando estas se agregam na presença de agonista. Utilizando como padrão antiagregante ácido acetilsalicílico (0,01%) e como agregante adenosina difosfato (ADP), da Sigma $\geq 95\%$, a 10 $\mu\text{mol/L}$, as amostras dos óleos (5 μL) foram adicionadas em 385 μL de plasma rico em plaquetas (PRP) com concentração de aproximadamente 300.000 plaquetas por microlitro, adicionadas ao agregômetro juntamente com 10 μL do agente agregante, com uma concentração final de 1%. A taxa de agregação plaquetária foi monitorada por 5 minutos e comparada com uma amostra contendo apenas o PRP e o agente agregante (LEWIS, 2006).

3.14 Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

Para a avaliação da citotoxicidade foram utilizados três tipos de linhagens tumorais: MDA-MB435 (mama - humano), HCT-8 (côlon - humano) e SF-295 (glioblastoma - humano), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

As amostras dos extratos etanólicos foram dissolvidas em DMSO puro estéril e testadas na concentração final de 50 µg/mL.

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

As células foram plaqueadas na concentração de $0,1 \times 10^6$ cél/mL para as linhagens MDA/MB-435 e SF-295 e $0,7 \times 10^5$ cél/mL para a linhagem HCT-8. Em seguida foram adicionadas as amostras na concentração final de 50 µg/mL. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism*.

3.15 Avaliação da atividade contra protozoários parasitas

3.15.1 Leishmania amazonensis

Formas promastigotas são previamente cultivadas em garrafas plásticas contendo meio de cultura Warren suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) por 48 h a 25°C. Após esse período, em uma placa de 24 poços, é feita a inoculação de 1×10^6 parasitas/mL em cada poço, juntamente com meio de cultura e 10% de SFB, adicionado a várias concentrações do extrato a ser testado (concentração máxima de 500 ou 1000 $\mu\text{g/mL}$, dependendo do experimento), sendo 1 mL o volume final de cada poço. A placa é incubada por 72 h a 25°C e ao final do período é realizada a contagem dos parasitas em câmara de Neubauer, em microscópio óptico, e a concentração que inibe o crescimento do parasita em 50% é determinada.

3.15.2 Trypanosoma cruzi

Formas epimastigotas são previamente cultivadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) por 96 h a 28°C. Após esse período, em uma placa de 24 poços, é feita a inoculação de 1×10^6 parasitas/mL em cada poço, juntamente com meio de cultura e 10% de SFB, adicionado a várias concentrações do extrato etanólico a ser testado (concentração máxima de 500 ou 1000 $\mu\text{g/mL}$, dependendo do experimento), sendo 1 mL o volume final de cada poço. A placa é incubada por 96 h a 28°C e

ao final do período é realizada a contagem dos parasitas em câmara de Neubauer, em microscópio óptico, e a concentração que inibe o crescimento do parasita em 50% é determinada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies de plantas estudadas neste trabalho fazem parte de uma série de plantas selecionadas pelo grupo de pesquisa Química de Biomoléculas da Amazônia (Q-BiomA) objetivando o estudo de seus constituintes alcaloídicos e voláteis. Todas as espécies fazem parte da flora Amazônica, e possuem pouco ou nenhum estudo químico, enzimático, biológico e farmacológico.

As extrações e os ensaios químicos e biológicos foram realizados conforme a disponibilidade dos equipamentos e reagentes e, portanto os testes não foram realizados com todas as espécies e partes da planta até a presente data.

4.1 Rendimento

Na família Lauraceae, o gênero *Aniba* Aublet, entre os estudados, foi o melhor produtor de óleo essencial em relação ao rendimento em massa do óleo obtido com a massa do material vegetal utilizado na extração.

O óleo essencial dos galhos de *A. rosaeodora* e das folhas de *A. panurensis* foram os que apresentaram melhores rendimentos (1,33 e 1,31%, respectivamente), seguidos do óleo das folhas de *L. martiniana* (0,91%). Os outros óleos essenciais tiveram rendimentos abaixo de 0,50%, com o menor rendimento para os galhos de *R. parvifolia* e *S. rubra* que obtiveram apenas 0,01%, conforme pode ser verificado na Tabela 1.

O extrato etanólico das folhas de *P. vasquezii* foi o que apresentou melhor rendimento (15,8%) seguido dos extratos das folhas de *M. itauba* (8,54%) e de *A. panurensis* (8,04%). Os menores rendimentos foram para os galhos de *L. cannella angustata* (3,00%) e de *R.*

parvifolia (3,02%). Os rendimentos em massa do extrato bruto obtido com a massa do material vegetal utilizado na extração com etanol 100% são apresentados na Tabela 1.

Tanto os extratos etanólicos quanto os óleos essenciais extraídos das folhas, quando comparados com os dos galhos da mesma espécie, apresentaram melhor rendimento, ao contrário do que se encontra na literatura para o rendimento em geral de outras espécies. Este dado mostra que, caso a substância de interesse esteja presente em diferentes partes da planta, é vantajoso fazer a extração exclusivamente das folhas, pois além do rendimento ser maior, também é de fácil manejo e favorece a conservação da espécie.

Espécie botânica	Órgão	Rendimento dos óleos essenciais (%)	Rendimento dos extratos EtOH (%)
<i>A. panurensis</i>	folhas	1,31	8,04
	galhos	-	6,09
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	1,33	4,71
<i>D. manausense</i>	folhas	0,03	5,63
	galhos	-	3,81
<i>E. chalisea</i>	folhas	0,46	7,51
	galhos	0,21	5,06
	frutos	0,07	-
<i>L. cannella angustata</i>	folhas	-	4,86
	galhos	-	3,00
<i>L. martiniana</i>	folhas	0,91	5,30
	galhos	0,13	4,00
<i>M. duckei</i>	folhas	0,13	6,32
	galhos	0,09	4,29
<i>M. itauba</i>	folhas	-	8,54
	galhos	0,17	6,52
<i>O. nigrescens</i>	folhas	0,23	3,59
<i>O. splendens</i>	folhas	0,35	6,06
<i>R. negrensis</i>	folhas	0,07	5,46
<i>R. parvifolia</i>	folhas	0,01	5,69
	galhos	-	3,02
<i>P. vasquezii</i>	folhas	0,12	15,89
	galhos	0,10	4,18
<i>S. rubra</i>	folhas	0,14	6,69
	galhos	0,01	4,67

Tabela 1 – Rendimento dos óleos essenciais e extratos brutos em etanol de espécies da família Lauraceae

4. 2 Composição química dos óleos essenciais

4.2.1 Análise química da composição dos óleos essenciais de *A. panurensis* e *A. rosaeodora*

A análise por cromatografia em fase gasosa com detectores de ionização de chama (CG-DIC) e de espectrometria de massas (CG-EM) possibilitou a determinação da composição química dos óleos essenciais obtidos em percentuais de 98,8% para os galhos de *Aniba rosaeodora* e de 100% para o óleo das folhas de *A. panurensis*.

Trinta e quatro componentes voláteis foram identificados com base nos seus espectros de massas, comparados com os da literatura e com espectroteca eletrônica, e em seus índices de retenção, obtidos por comparação de tempos de retenção com hidrocarbonetos lineares.

O perfil químico do óleo hidrodestilado das folhas de *A. panurensis* revelou uma proporção elevada de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (Figura 12), minoritários no óleo dos galhos de *A. rosaeodora*, que apresentou a maior composição de monoterpenos (89,4%), devido à sua alta concentração de linalol (86,0%) (Figura 13), valor que se aproxima do encontrado na literatura (MAIA *et al*, 2007). No óleo essencial dos galhos de *A. rosaeodora* o segundo constituinte mais abundante foi o epóxi de cariofileno (2,8%). Os demais constituintes apresentaram percentual inferior a 2% (Tabela 2).

A estrutura do linalol foi identificada no óleo essencial de *A. rosaeodora* utilizando-se também os dados dos espectros de RMN de ^1H , que indicou a presença de três singletos CH_3 em δ 1,20, 1,53 e 1,61. O espectro de RMN de ^1H também foi semelhante ao que consta na literatura (BRYLIAKOV *et al*, 2003) (Figura 14).

O linalol é um monoterpeno alcoólico terciário de cadeia aberta que tem sido aplicado com sucesso como sedativo e anticonvulsivo, e que também possui propriedades acaricida,

bactericida e fungicida já descrita (BELAICHE; TANTOUI-ELARAKI; IBRAHIMY. 1995; ELISABETSKY; BRUM; SOUZA, 1999; PRATES *et al.*, 1998; SUGAWARA *et al.*, 1998). O linalol possui uma larga aplicação em várias áreas do conhecimento humano, sendo necessária sua produção em quantidades sempre crescentes. Uma de suas características que influi no valor comercial dos óleos que o contém é a presença de um carbono quiral na sua estrutura, possuindo dois estereoisômeros: coriandrol e licareol. A quantidade destes dois isômeros influi não somente no aroma, mas também nas atividades farmacológicas.

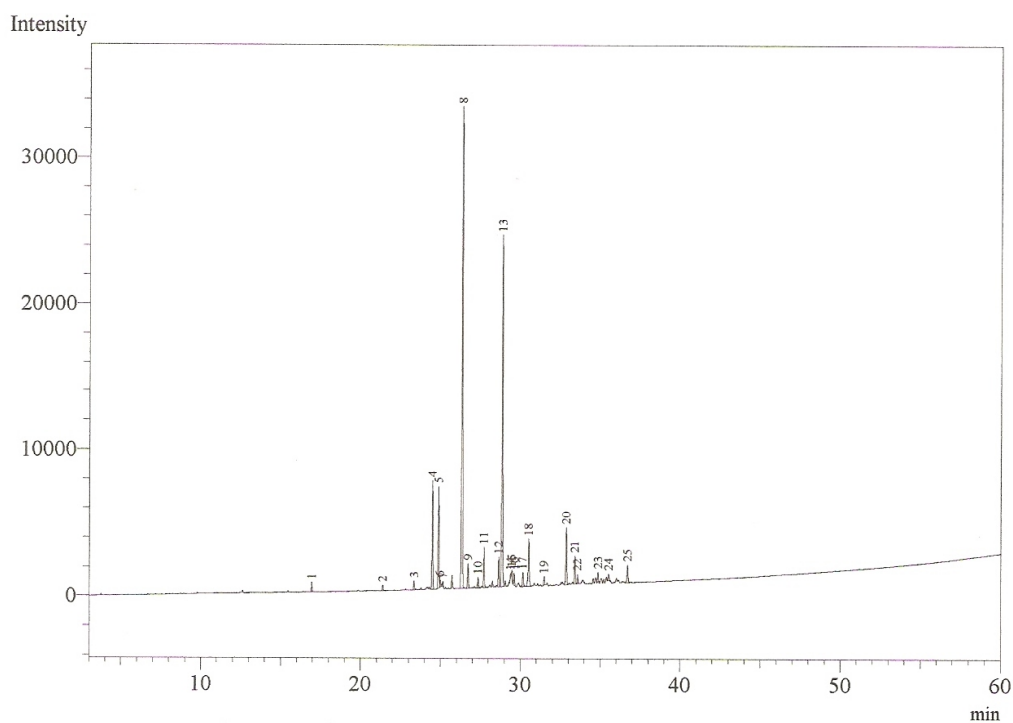


Figura 12 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Aniba panurensis*

O linalol não foi detectado no óleo essencial das folhas de *A. panurensis*. A baixa concentração, e mesmo ausência, do linalol nas outras espécies de Lauraceae estudadas ilustra e comprova um sério problema da indústria de óleos essenciais na Região Norte do país, em

que espécies similares são utilizadas como sucedâneas do pau-rosa, apesar de não possuírem seu aroma.

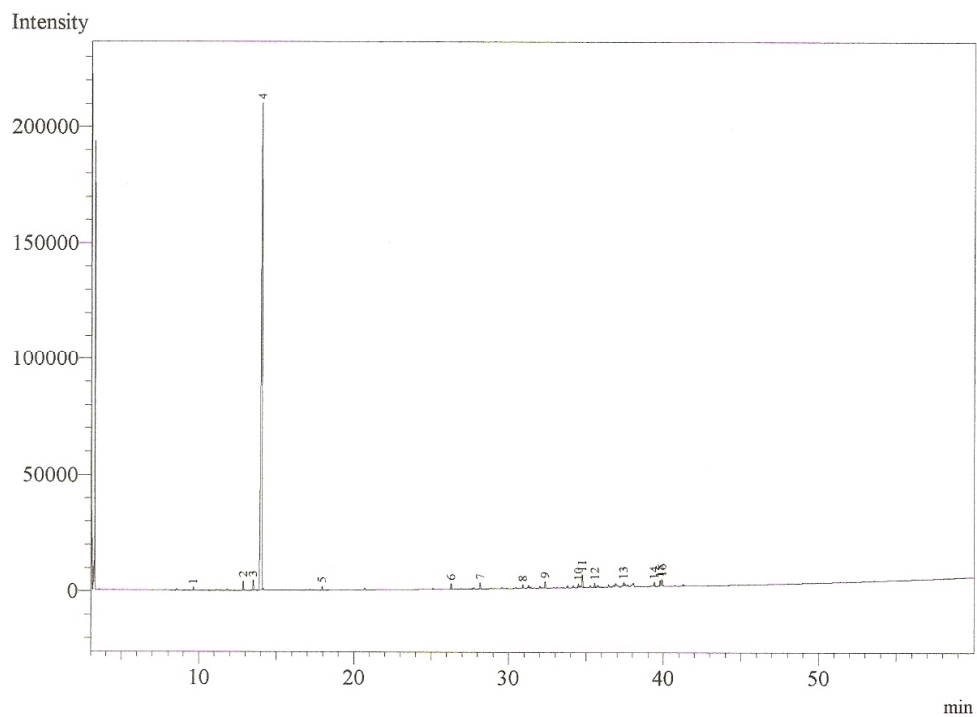


Figura 13 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Aniba rosaeodora*

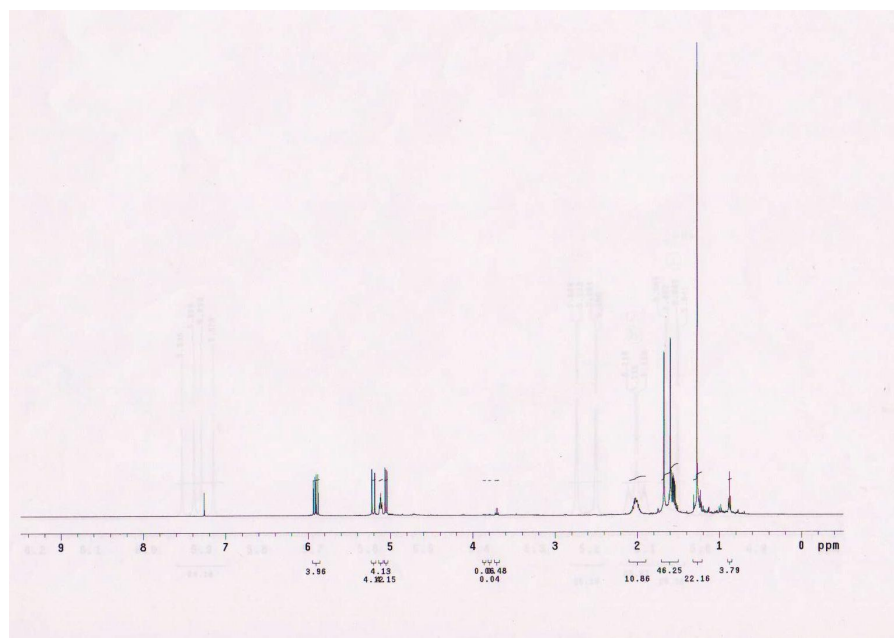


Figura 14 – Espectro de RMN ^1H do óleo essencial dos galhos de *Aniba rosaeodora*

Composição	IR	<i>A panurensis</i> folhas	<i>A rosaeodora</i> galhos
1. sabineno	968	-	0,1 (pico 1)
2. <i>Z</i> -epóxi de linalol	1064	-	1,3 (pico 2)
3. <i>E</i> - epóxi de linalol	1081	-	1,5 (pico 3)
4. linalol	1100	-	86,0 (pico 4)
5. α -terpineol	1186	0,7 (pico1)	0,5 (pico 5)
6. timol	1290	0,3 (pico 2)	-
7. α -cubebeno	1349	0,5 (pico 3)	-
8. α -copaeno	1376	7,5 (pico 4)	0,9 (pico 6)
9. β -bourboneno	1383	7,0 (pico 5)	-
10. β -elemeno	1388	1,4 (pico 6)	-
11. dodecanal	1391	1,0 (pico 7)	-
12. β -cariofileno	1408	33,5 (pico 8)	1,0 (pico 7)
13. <i>E</i> - α -bergamoteno	1434	1,5 (pico 9)	-
14. α -guaieno	1442	0,6 (pico 10)	-
15. α -humuleno	1451	2,7 (pico 11)	-
16. α -amorfenol	1476	1,8 (pico 12)	0,7 (pico 8)
17. germacreno D	1478	25,4 (pico 13)	-
18. biciclogermacreno	1494	1,6 (pico 14)	-
19. α -muuroleno	1497	1,0 (pico 15)	-
20. γ -cadineno	1509	1,0 (pico 16)	0,9 (pico 9)
21. <i>E</i> -calameneno	1513	0,6 (pico 17)	-
22. δ -cadineno	1520	2,7 (pico 18)	-
23. <i>E</i> -cadina-1,4-dieno	1537	0,6 (pico 19)	-
24. santalenona	1566	-	0,7 (pico 10)
25. epóxi de cariofileno	1576	4,1 (pico 20)	2,8 (pico 11)
26. viridiflorol	1587	2,0 (pico 21)	-
27. guaiol	1591	0,6 (pico 22)	0,8 (pico 12)
28. 10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	1622	0,5 (pico 23)	-
29. γ -eudesmol	1629	0,4 (pico 24)	-
30. α -cadinol	1642	-	1,2 (pico 13)
31. n-tetradecanol	1671	1,2 (pico 25)	-
32. ni	1695	-	0,7 (pico 14)
33. ni	1707	-	0,5 (pico 15)
34. longifolol	1709	-	0,6 (pico 16)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		-	0,1
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		1,0	89,3
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		89,3	3,4
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		7,5	6,0
<i>Outros</i>		2,2	-

Tabela 2 - Composição percentual dos óleos essenciais do gênero *Aniba*

Conforme pode ser observado no cromatograma da Figura 12, o β -cariofileno foi o constituinte majoritário do óleo essencial das folhas de *A. panurensis*. Este metabólico volátil influi em seu aroma e possui diversas atividades biológicas, tais como: antiinflamatória, antialérgica, anestésica local, antifúngica e anticarcinogênica (CHINOUE *et al.*, 1996; FERNANDES *et al.*, 2007; GHERLADINI *et al.*, 2001; PASSOS *et al.*, 2007; ZHENG; KENNEY; LAM, 1992).

No óleo essencial das folhas de *A. panurensis* foram detectados principalmente os hidrocarbonetos sesquiterpênicos β -cariofileno (33,5%), germacreno D (25,4%), α -copaeno (7,5%) e β -bourboneno (7,1%). A somatória dos demais terpenos encontrados neste óleo equivale a menos de 10% da sua composição total (Tabela 2). Para esta espécie não há relatos de estudos realizados com o óleo essencial.

4.2.2 Análise química da composição do óleo essencial das folhas de *Dicypellium manausense*

No óleo essencial das folhas de *D. manausense* foram identificados 26 componentes, principalmente de sesquiterpenos, representando 97,8% da constituição volátil. Conforme pode ser observado no cromatograma da Figura 15, os principais constituintes detectados foram β -cariofileno (39,5%), biciclogermacreno (20,0%) e germacreno D (6,8%). Os demais constituintes deste óleo são encontrados na Tabela 3. Para esta espécie não há relatos de estudos realizados com o óleo essencial.

No trabalho realizado por Alencar *et al.* (1971) em que fizeram a análise por cromatografia gás-líquido e espectrometria de ressonância magnética nuclear do óleo essencial da madeira de *D. caryophyllatum*, conhecida popularmente como cravo-do-maranhão ou pau-cravo, foi detectada a presença de eugenol em alto teor (95,5%), ao lado do

metileugenol (1,6%) e outros constituintes menores. Isto mostra a grande diferenciação da composição química entre óleos essenciais de diferentes espécies do mesmo gênero.

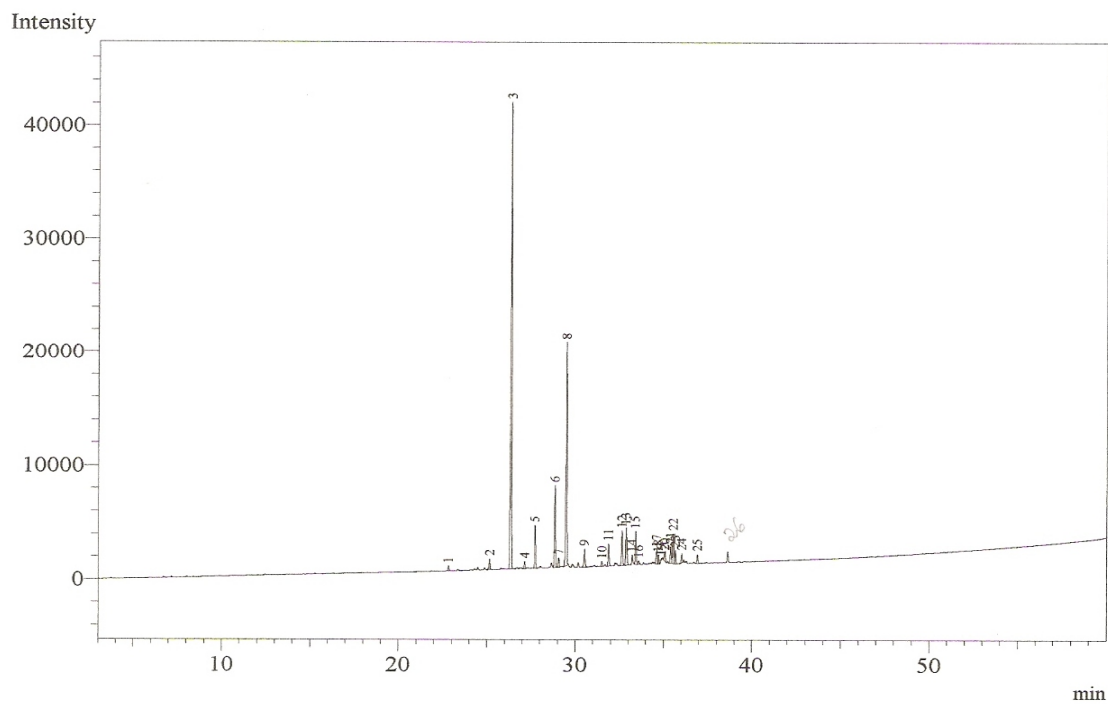


Figura 15- Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Dicypellium manausense*

Composição	IR	<i>D. manausense</i>
1. δ -elemeno	1336	0,5 (pico 1)
2. β -elemeno	1388	1,0 (pico 2)
3. β -cariofileno	1408	39,5 (pico 3)
4. aromadendreno	1438	0,5 (pico 4)
5. α -humuleno	1451	3,6 (pico 5)
6. germacreno D	1478	6,8 (pico 6)
7. β -selineno	1484	0,7 (pico 7)
8. biciclogermacreno	1494	20,0 (pico 8)
9. δ -cadineno	1520	1,2 (pico 9)
10. <i>E</i> -cadina-1,4-dieno	1537	0,3 (pico 10)
11. germacreno B	1554	1,9 (pico 11)
12. santalenona	1566	2,8 (pico 12)
13. espatulenol	1571	3,3 (pico 13)
14. epóxi de cariofileno	1576	1,4 (pico 14)
15. não identificado	1583	0,9 (pico 15)
16. viridiflorol	1587	3,1 (pico 16)
17. epi-cedrol	1614	1,3 (pico 17)
18. 10-epi- γ -eudesmol	1622	0,6 (pico 18)
19. não identificado	1624	0,9 (pico 19)
20. γ -eudesmol	1629	1,2 (pico 20)
21. epi- α -cadinol	1637	1,5 (pico 21)
22. α -cadinol	1642	3,4 (pico 22)
23. torreyol	1646	1,1 (pico 23)
24. 14-hidroxi- <i>Z</i> -cariofileno	1657	1,2 (pico 24)
25. não identificado	1681	0,4 (pico 25)
26. isolongifolol	1727	0,9 (pico 26)
<i>Hydrocarbonetos monoterpênicos</i>		-
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		-
<i>Hydrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		76,0
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		21,8
<i>Outros</i>		?

Tabela 3 - Composição percentual do óleo essencial das folhas de *Dicypellium manausense*

4.2.3 Análise química da composição do óleo essencial de *Endlicheria chalisea*

Os componentes químicos identificados dos óleos essenciais das folhas, galhos e frutos, incluindo seus respectivos índices de retenção e porcentagens, estão sumarizados na Tabela 4. Um elevado percentual da composição química dos óleos foi determinado (100% para as folhas e galhos e 99,1% para os frutos).

O óleo essencial das folhas revelou ser constituído majoritariamente por sesquiterpenos (93,0%), dos quais o β -elemeno (44,7%) foi o principal componente (Figura 16). Outros componentes identificados em teores significativos foram β -bisaboleno (8,7%), β -selineno (7,6%) e α -copaeno (7,3%). Da mesma forma, no óleo essencial dos galhos prevaleceram os sesquiterpenos, os quais representaram 99,0% do total do óleo (Figura 17). Os constituintes majoritários foram β -elemeno (25,4%), β -cariofileno (18,4%), viridiflorol (16,2%) e 14-hidroxi-Z-cariofileno (12,5%). Em nenhum dos óleos foi detectado a presença de monoterpenos oxigenados. Para esta espécie não há relatos de estudos realizados com o óleo essencial.

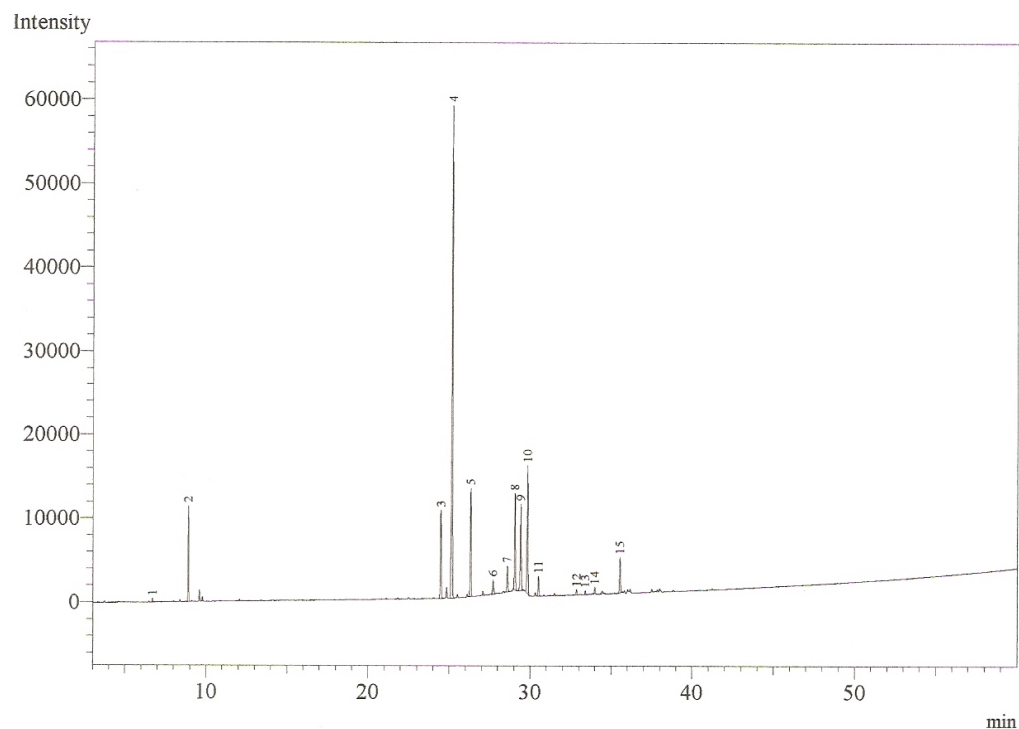


Figura 16 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Endlicheria chalisea*

Estudos recentes têm demonstrado que o β -elemeno, substância majoritária dos óleos essenciais das folhas e galhos, possui atividades antitumorais, incluindo o glioblastoma (YAO *et al.*, 2008a,b) e o câncer de pulmão (ZHAO *et al.*, 2007).

Composição	IR	Folhas	Galhos	Frutos
1. α -tujeno	924	-	-	0,3 (pico 1)
2. α -pineno	932	-	-	1,6 (pico 2)
3. camfeno	943	-	-	0,4 (pico 3)
4. mirceno	986	-	-	0,8 (pico 4)
5. α -felandreno	1000	6,4 (pico 1)	1,0 (pico 1)	-
6. <i>p</i> -cimeno	1020	0,6 (pico 2)	-	27,4 (pico 5)
7. limoneno	1025	-	-	2,9 (pico 6)
8. <i>E</i> -cinamaldeído	1217	-	-	13,1 (pico 7)
9. timol	1290	-	-	2,9 (pico 8)
10. α -ylangeno	1365	-	-	1,2 (pico 9)
11. α -copaeno	1376	7,3 (pico 3)	1,6 (pico 2)	-
12. β -cubebeno	1378	-	-	0,9 (pico 10)
13. β -elemeno	1388	44,7 (pico 4)	25,4 (pico 3)	16,5 (pico 11)
14. β -cariofileno	1408	8,7 (pico 5)	18,4 (pico 4)	1,4 (pico 12)
15. <i>Z</i> - α -bergamoteno	1412	-	1,0 (pico 5)	-
16. α -humuleno	1451	1,2 (pico 6)	1,9 (pico 6)	-
17. γ -gurjuneno	1475	-	0,8 (pico 7)	-
18. α -amorfeno	1476	1,6 (pico 7)	-	2,1 (pico 13)
19. β -selineno	1484	7,6 (pico 8)	4,1 (pico 8)	6,7 (pico 14)
20. biciclogermacreno	1494	6,7 (pico 9)	3,5 (pico 9)	3,3 (pico 15)
21. β -bisaboleno	1502	10,4 (pico 10)	3,3 (pico 10)	-
22. δ -cadineno	1520	1,2 (pico 11)	-	-
23. <i>E</i> -cadina-1,4-dieno	1537	-	1,5 (pico 11)	-
24. santalenona	1566	-	-	1,5 (pico 16)
25. epóxi de cariofileno	1576	0,3 (pico 12)	3,1 (pico 12)	1,9 (pico 17)
26. viridiflorol	1587	0,3 (pico 13)	16,2 (pico 13)	-
27. rosifoliol	1596	-	1,2 (pico 14)	2,8 (pico 18)
28. <i>epi</i> -cedrol	1614	0,2 (pico 14)	1,3 (pico 15)	-
29. <i>epi</i> - α -cadinol	1637	2,9 (pico 15)	-	-
30. <i>epi</i> - α -muurolol	1640	-	-	10,0 (pico 19)
31. α -cadinol	1642	-	2,6 (pico 16)	-
32. torreiol	1646	-	0,8 (pico 17)	-
33. 14-hidroxi- <i>Z</i> -cariofileno	1657	-	12,5 (pico 18)	-
34. não identificado	1695	-	-	0,9 (pico 20)
35. longifolol	1709	-	-	1,5 (pico 21)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		7,0	1,0	33,2
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		-	-	2,9
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		89,3	61,4	32,1
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		3,7	37,6	17,8
<i>Outros</i>		-	-	13,1

Tabela 4 - Composição percentual dos óleos essenciais de *Endlicheria chalisea*

No óleo essencial dos frutos de *E. chalisea* o percentual de monoterpênicos e sesquiterpênicos é mais aproximado (36,1 e 49,9%, respectivamente). O principal constituinte detectado foi o hidrocarboneto monoterpênico *p*-cimeno (27,4%), seguidos por β -elemeno (16,5%), o mesmo constituinte presente nas folhas e galhos, o *E*-cinamaldeído (13,1%) que

apresenta propriedades fungicidas e inseticidas e o sesquiterpeno oxigenado *epi- α -muurolol* (10,0%) (Figura 20).

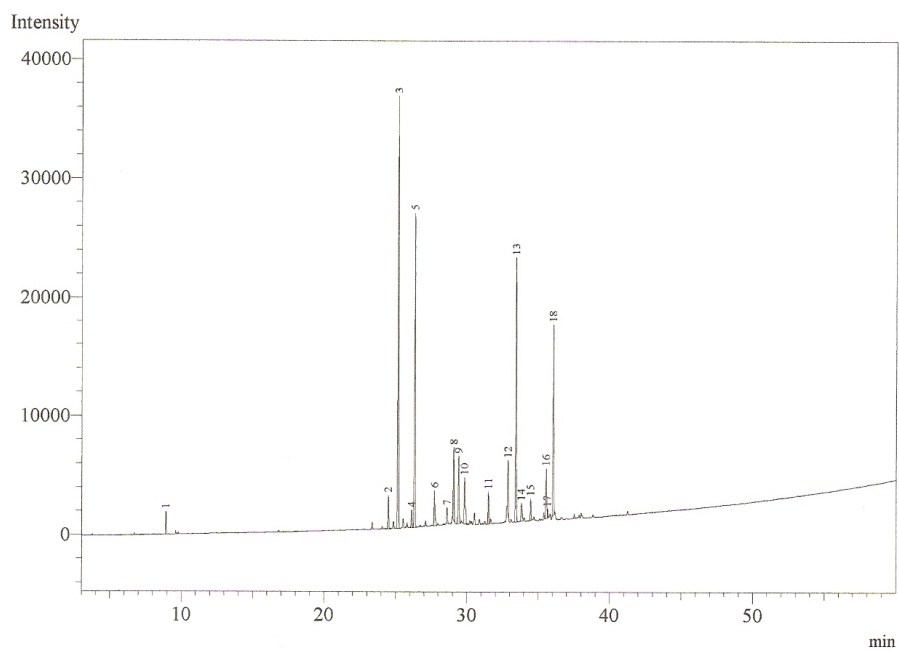


Figura 17 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Endlicheria chalisea*

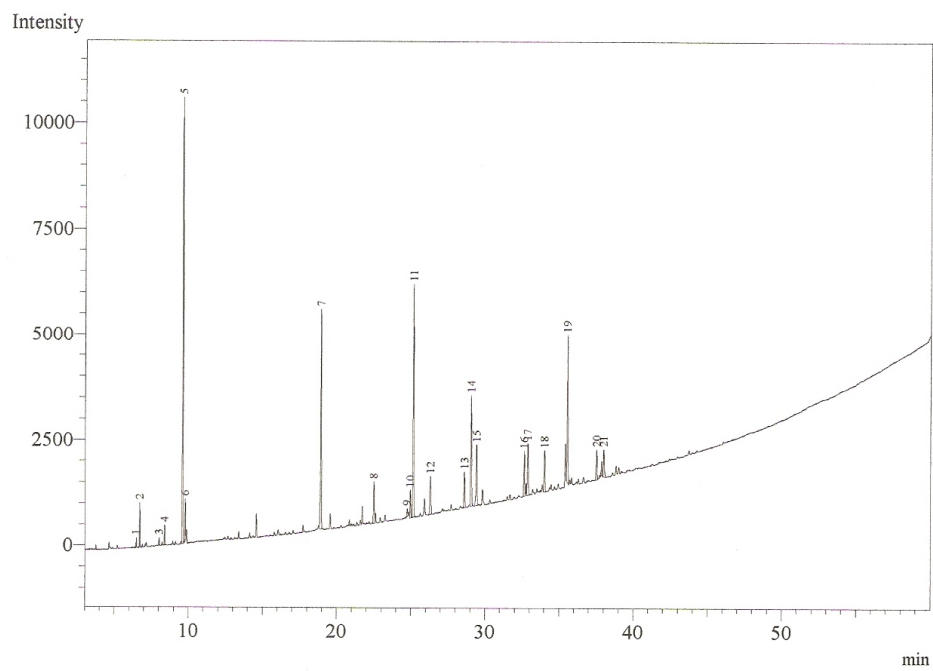


Figura 18 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos frutos de *Endlicheria chalisea*

4.2.4 Análise química da composição do óleo essencial de *Licaria martiniana*

A análise por cromatografia em fase gasosa com detectores de ionização de chama (CG-DIC) e de espectrometria de massas (CG-EM) possibilitou a determinação da composição química dos óleos essenciais obtidos em percentuais de 100%. Para esta espécie não há relatos de estudos realizados com o óleo essencial.

Quarenta componentes voláteis foram identificados com base nos seus espectros de massas, comparados com os da literatura e com espectroteca eletrônica, e em seus índices de retenção, obtidos por comparação de tempos de retenção com hidrocarbonetos lineares. Os percentuais de cada componente, obtidos através de integração por CG-DIC, são apresentados na Tabela 5.

O perfil químico desses óleos revelou uma proporção elevada de hidrocarbonetos sesquiterpênicos. O β -cariofileno foi o constituinte majoritário dos óleos de *L. martiniana*, com concentração variando de 21,4% (galhos) a 41,7% (folhas).

Os principais constituintes do óleo essencial das folhas de *L. martiniana* foram β -cariofileno (41,7%), β -selineno (7,9%), isovalerato de linalol (5,9%) e linalol (5,3%) (Figura 19). O percentual de hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados e sesquiterpênicos oxigenados foram todos aproximados de 10%.

No óleo essencial dos galhos de *L. martiniana* foram detectados β -cariofileno (21,4%), espatulenol (11,5%), linalol (6,5%) e α -cadinol (5,9%) (Figura 20). O espatulenol, além de influir no aroma de muitos óleos de interesse comercial para a indústria de perfumes, possui propriedade antibacteriana e moderada atividade citotóxica contra células do tipo KB (CHINOUE *et al.*, 1996; PACCIARONI *et al.*, 2000; ULUBELEN *et al.*, 1994).

A composição química destes óleos difere de outros obtidos do mesmo gênero e do mesmo local de coleta, como os dos óleos essenciais de *Licaria canella* uma fonte abundante de benzoato de benzila (SILVA *et al.*, 2009).

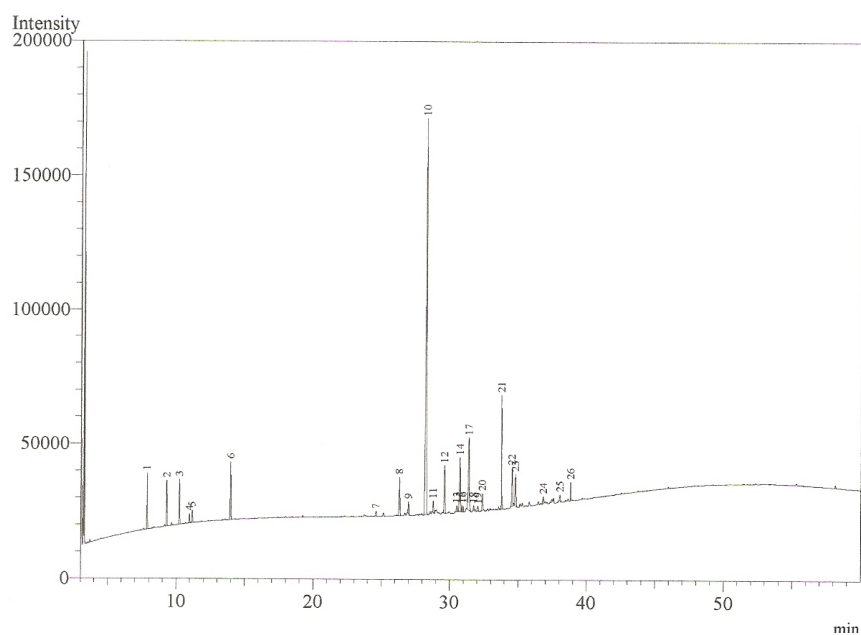


Figura 19 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Licaria martiniana*

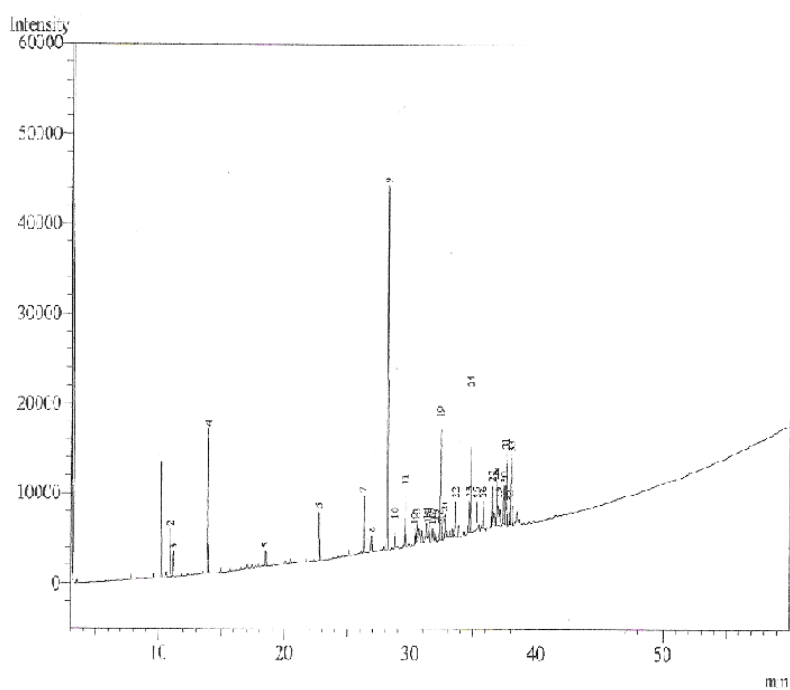


Figura 20 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Licaria martiniana*

Composição	IR	Folhas	Galhos
1. α -pineno	932	3,8 (pico 1)	-
2. β -pineno	974	3,4 (pico 2)	-
3. α -felandreno	1000	3,6 (pico 3)	4,71 (pico 1)
4. <i>p</i> -cimeno	1020	0,7 (pico 4)	1,79 (pico 2)
5. limoneno	1025	1,2 (pico 5)	-
6. β -felandreno	1026	-	1,19 (pico 3)
7. linalol	1100	5,3 (pico 6)	6,52 (pico 4)
8. <i>n</i> -decanal	1200	-	0,77 (pico 5)
9. timol	1290	-	2,45 (pico 6)
10. δ -elemeno	1336	0,16 (pico 7)	-
11. α -copaeno	1376	4,24 (pico 8)	3,25 (pico 7)
12. β -elemeno	1388	1,13 (pico 9)	1,04 (pico 8)
13. β -cariofileno	1408	41,69 (pico 10)	21,38 (pico 9)
14. <i>E</i> - α -bergamoteno	1434	2,00 (pico 11)	1,53 (pico 10)
15. α -humuleno	1451	4,78 (pico 12)	3,45 (pico 11)
16. <i>E</i> - β -farneseno	1450	-	0,58 (pico 12)
17. <i>Z</i> -cadinina-1(6),4-dieno	1462	0,17 (pico 13)	0,60 (pico 13)
18. isovalerato de linalol	1469	5,88 (pico 14)	0,73 (pico 14)
19. γ -gurjuneno	1475	0,18 (pico 15)	-
20. α -amorfeno	1476	1,35 (pico 16)	1,70 (pico 15)
21. β -selineno	1484	7,90 (pico 17)	0,98 (pico 16)
22. α -muuroleno	1497	-	1,04 (pico 17)
23. β -bisaboleno	1502	1,26 (pico 18)	2,27 (pico 18)
24. (<i>E,E</i>)- α -farneseno	1505	0,06 (pico 19)	-
25. γ -cadineno	1509	0,88 (pico 20)	5,74 (pico 19)
26. <i>E</i> -calameneno	1513	-	1,43 (pico 20)
27. δ -cadineno	1520	-	1,27 (pico 21)
28. <i>E</i> - γ -bisaboleno	1535	-	0,76 (pico 22)
29. elemol	1544	1,16 (pico 21)	0,78 (pico 23)
30. santalenona	1566	3,56 (pico 22)	-
31. espatulenol	1571	-	11,51 (pico 24)
32. epóxi de cariofileno	1576	3,99 (pico 23)	1,89 (pico 25)
33. viridiflorol	1587	-	1,40 (pico 26)
34. rosifoliol	1596	0,52 (pico 24)	1,37 (pico 27)
35. epi-cedrol	1614	0,44 (pico 25)	2,47 (pico 28)
36. 10-epi- γ -eudesmol	1622	-	2,31 (pico 29)
37. γ -eudesmol	1629	-	2,81 (pico 30)
38. α -cadinol	1642	0,69 (pico 26)	5,90 (pico 31)
39. torreyol	1646	-	1,23 (pico 32)
40. 14-hidroxi- <i>Z</i> -cariofileno	1657	-	3,17 (pico 33)
<i>Hydrocarbonetos monoterpênicos</i>		12,7	7,7
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		11,2	9,7
<i>Hydrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		65,8	47,0
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		10,4	34,8
<i>Outros</i>		-	0,8

Tabela 5 - Composição percentual dos óleos essenciais de *Licaria martiniana*

4.2.5 Análise química da composição dos óleos essenciais de *M. duckei* e *M. itauba*

A análise por cromatografia em fase gasosa equipada com detector de ionização de chama e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas através dos cálculos de índice de retenção possibilitou determinar um percentual acima de 99% da composição química dos óleos essenciais de um total de 45 constituintes. A quantidade relativa de cada constituinte está apresentada na Tabela 6.

Todas as espécies demonstraram predominância de sesquiterpenos, principalmente de hidrocarbonetos sesquiterpênicos. A fração monoterpêica foi melhor representada em *M. itauba* (9,7%), com predominância de α -pineno (7,6%).

Foram identificados 100% dos constituintes químicos detectados do óleo essencial das folhas de *M. duckei*, dos quais 2,6% são monoterpenos e 97,4% são sesquiterpenos. Os constituintes majoritários foram epóxi de cariofileno (33,4%) e β -cariofileno (32,7%), conforme apresentado na Figura 21.

Do óleo essencial dos galhos de *M. duckei* foram identificados 100% dos constituintes, sendo 4,1% de monoterpenos e 95,9% de sesquiterpenos e os constituintes majoritários foram santalenona (21,7%), β -cariofileno (18,4%), α -muuroleno (10,7%), β -bisaboleno (7,5%) e α -cadinol (6,1%), conforme apresentado na Figura 22.

A identificação dos constituintes químicos do óleo essencial dos galhos de *M. itauba* foi de 99%, sendo 9,7% representados por monoterpenos e 89,3% representados por sesquiterpenos. Os constituintes majoritários foram β -cariofileno (51,8%), germacreno D (9,1%), α -pineno (7,6%) e α -copaneno (6,4%) (Figura 23).

A estrutura do β -cariofileno foi identificada no óleo essencial de *M. itauba* utilizando-se também os dados dos espectros de RMN de ^1H (Figura 24): δ 5,29 (*m*, 1H; H-5), 4,82, 4,94

(2s, 2H; H-15a e H-15b), 2,33 (q, J = 9,3 Hz, 1H; H-9), 2,00 – 2,20 (m, 4H; H-6 e H-7), 1,91, 1,99 (2 m, 2H; H-3a e H-3b), 1,69 (m, 1H; H-1), 1,52, 1,67 (m, 2H; H-10a e H-10b), 1,61 (s, 3H; H-14), 1,26 (m, 2H; H-2), 1,00 (s, 3H; H-12), 0,97 (s, 3H; H-13).

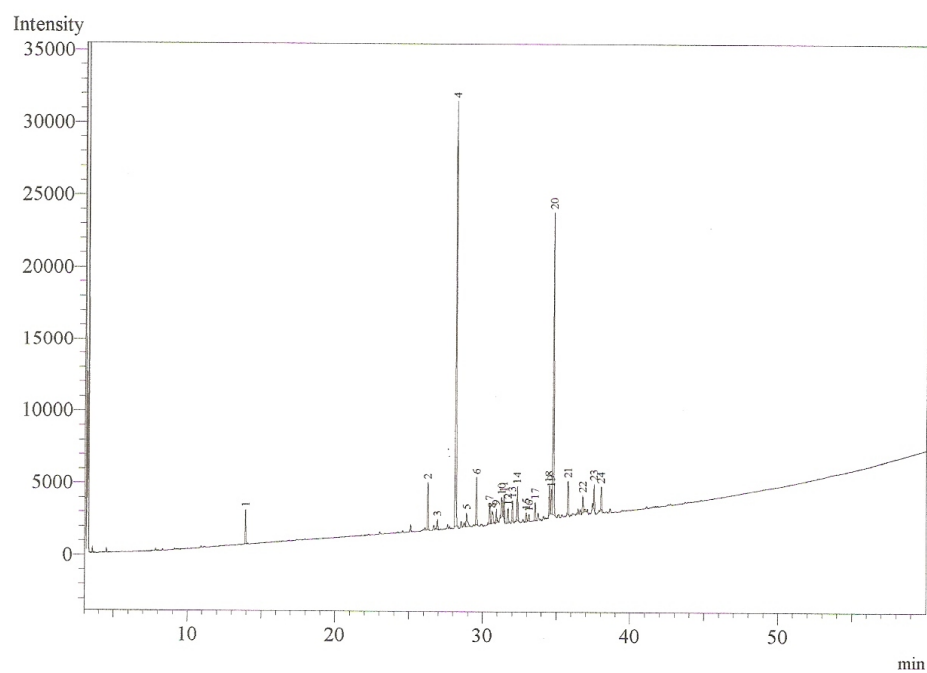


Figura 21 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Mezilaurus duckei*

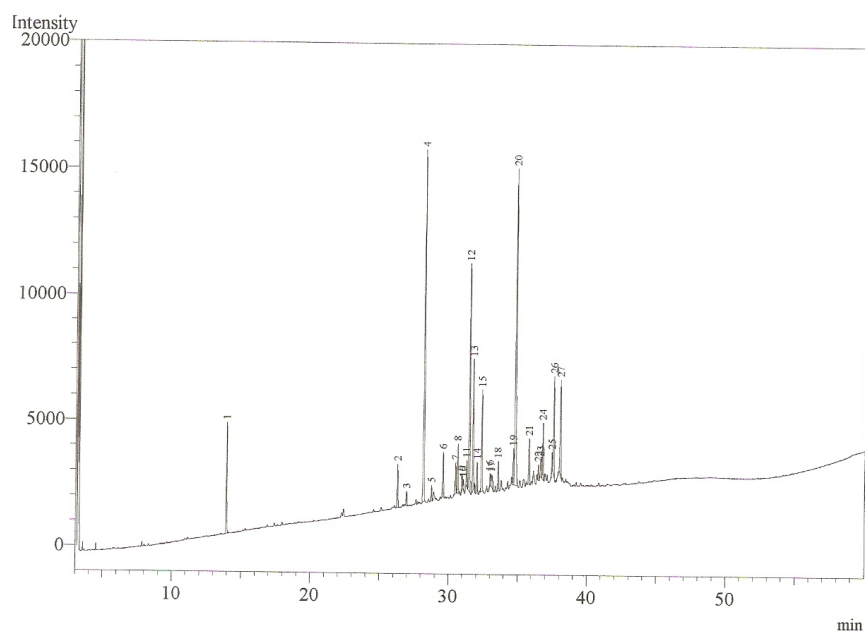


Figura 22 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Mezilaurus duckei*

Composição	IR	Folhas de <i>M. duckei</i>	Galhos de <i>M. duckei</i>	Galhos de <i>M. itauba</i>
1. α -tujeno	924	-	-	0,5 (pico 1)
2. α -pineno	932	-	-	7,6 (pico 2)
3. β -pineno	974	-	-	0,5 (pico 3)
4. mirceno	986	-	-	0,4 (pico 4)
5. limoneno	1025	-	-	0,5 (pico 5)
6. linalol	1100	1,9 (pico 1)	3,8 (pico 1)	-
7. α -terpineol	1186	-	-	0,2 (pico 6)
8. δ -elemeno	1336	-	-	0,5 (pico 7)
9. α -cubebeno	1349	-	-	0,8 (pico 8)
10. α -ylangeno	1365	3,6 (pico 2)	2,2 (pico 2)	-
11. α -copaeno	1376	-	-	6,4 (pico 9)
12. β -elemeno	1388	0,7 (pico 3)	0,6 (pico 3)	2,0 (pico 10)
13. β -cariofileno	1408	32,6 (pico 4)	18,4 (pico 4)	51,8 (pico 11)
14. <i>E</i> - α -bergamoteno	1434	-	1,3 (pico 5)	-
15. α -guaieno	1442	1,6 (pico 5)	-	-
16. α -humuleno	1451	3,9 (pico 6)	2,5 (pico 6)	5,7 (pico 12)
17. <i>Z</i> -cadinina-1(6),4-dieno	1462	1,3 (pico 7)	1,6 (pico 7)	-
18. isovalerato de linalol	1469	0,7 (pico 8)	0,3 (pico 8)	-
19. γ -gurjuneno	1475	-	3,3 (pico 9)	-
20. α -amorfenol	1476	1,7 (pico 9)	-	-
21. germacreno D	1478	-	1,3 (pico 10)	9,1 (pico 13)
22. β -selineno	1484	2,0 (pico 10)	1,5 (pico 11)	-
23. biciclogermacreno	1494	-	-	1,6 (pico 14)
24. α -muuroloeno	1497	1,3 (pico 11)	10,7 (pico 12)	-
25. β -bisaboleno	1502	2,6 (pico 12)	7,5 (pico 13)	-
26. γ -cadineno	1509	1,5 (pico 13)	3,3 (pico 14)	-
27. <i>E</i> -calameneno	1513	-	0,1 (pico 15)	0,8 (pico 15)
28. δ -cadineno	1520	0,2 (pico 14)	0,4 (pico 16)	5,2 (pico 16)
29. <i>E</i> - γ -bisaboleno	1535	0,3 (pico 15)	0,2 (pico 17)	-
30. <i>E</i> -cadinina-1,4-dieno	1537	1,4 (pico 16)	1,4 (pico 18)	-
31. B germacreno	1554	0,3 (pico 17)	0,3 (pico 19)	-
32. santalenona	1566	2,4 (pico 18)	21,7 (pico 20)	-
33. espatulenol	1571	-	1,7 (pico 21)	-
34. epóxi de cariofileno	1576	33,4 (pico 19)	0,5 (pico 22)	2,4 (pico 17)
35. não identificado	1583	-	-	0,7 (pico 18)
36. viridiflorol	1587	-	0,2 (pico 23)	-
37. guaiol	1591	3,0 (pico 20)	2,7 (pico 24)	-
38. rosifoliol	1596	-	-	0,7 (pico 19)
39. <i>epi</i> -cedrol	1614	0,6 (pico 21)	-	0,6 (pico 20)
40. 10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	1622	-	2,0 (pico 25)	-
41. γ -eudesmol	1629	-	-	0,6 (pico 21)
42. <i>epi</i> - α -cadinol	1637	-	-	0,4 (pico 22)
43. α -cadinol	1642	1,7 (pico 22)	6,1 (pico 26)	1,1 (pico 23)
44. 14-hidroxi- <i>Z</i> -cariofileno	1657	1,4 (pico 23)	4,4 (pico 27)	-
45. não identificado	1681	-	-	0,3 (pico 24)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		-	-	9,5
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		2,6	4,1	0,2
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		54,9	56,6	83,5
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		42,5	39,3	5,8

Tabela 6 - Composição percentual dos óleos essenciais do gênero *Mezilaurus*

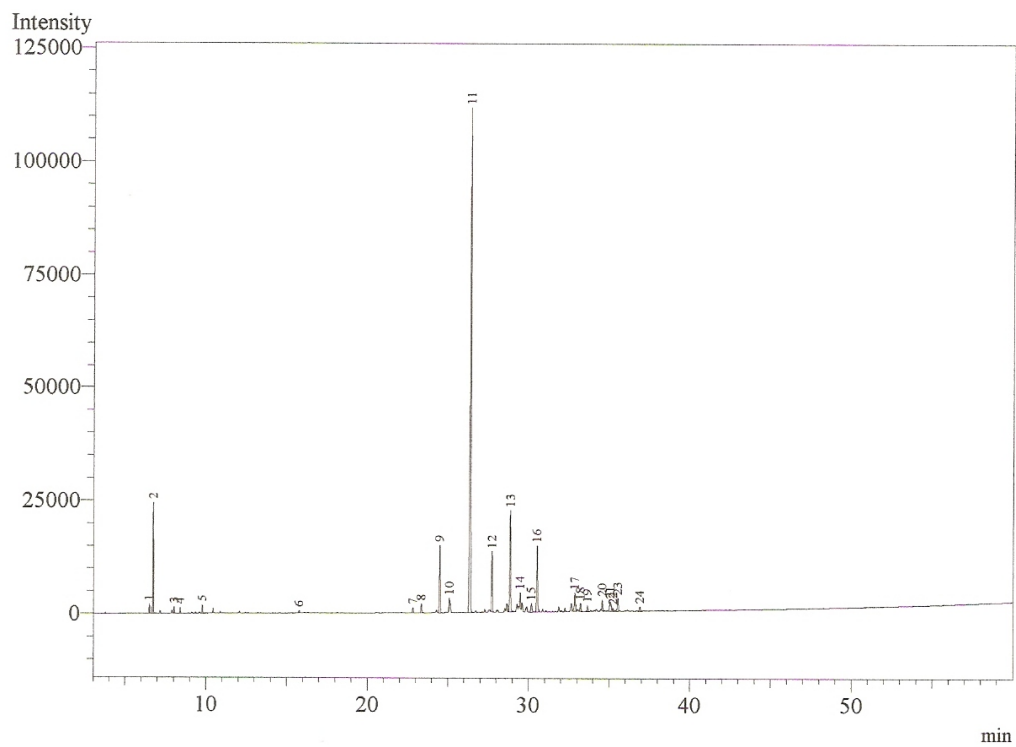


Figura 23 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Mezilaurus itauba*

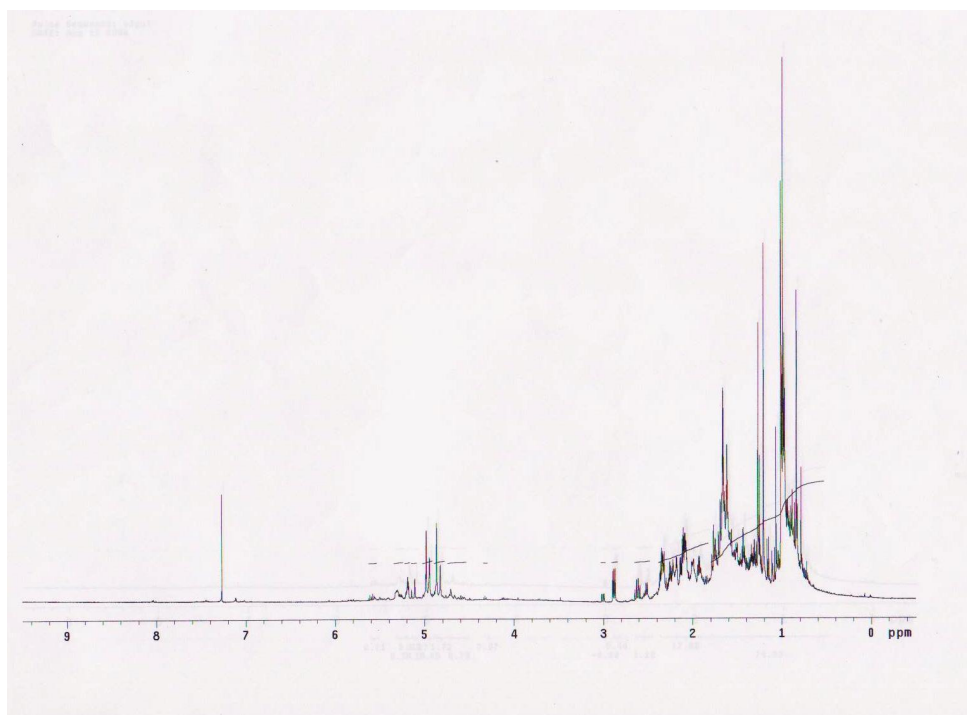


Figura 24 – Espectro de RMN ¹H do óleo essencial dos galhos de *Mezilaurus itauba*

4.2.6 Análise química da composição dos óleos essenciais de *O. nigrescens* e *O. splendens*

As análises dos óleos essenciais por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa estão mostradas na Tabela 7, registrando-se os principais constituintes químicos presentes nestes óleos.

Trinta e três componentes presentes nos óleos essenciais das folhas de *Ocotea* sp. foram identificados por dados cromatográficos e espectrométricos. O perfil químico desses óleos mostrou diferenças significativas na composição entre as espécies estudadas (Figuras 25 e 26). O óleo de *O. nigrescens* mostrou ser constituído exclusivamente de terpenos (24,8% monoterpenos e 75,2% sesquiterpenos), sendo detectado como majoritários o β -cariofileno (37,9%), β -pineno (6,9%), α -pineno (6,7%) e α -copaeno (6,2%).

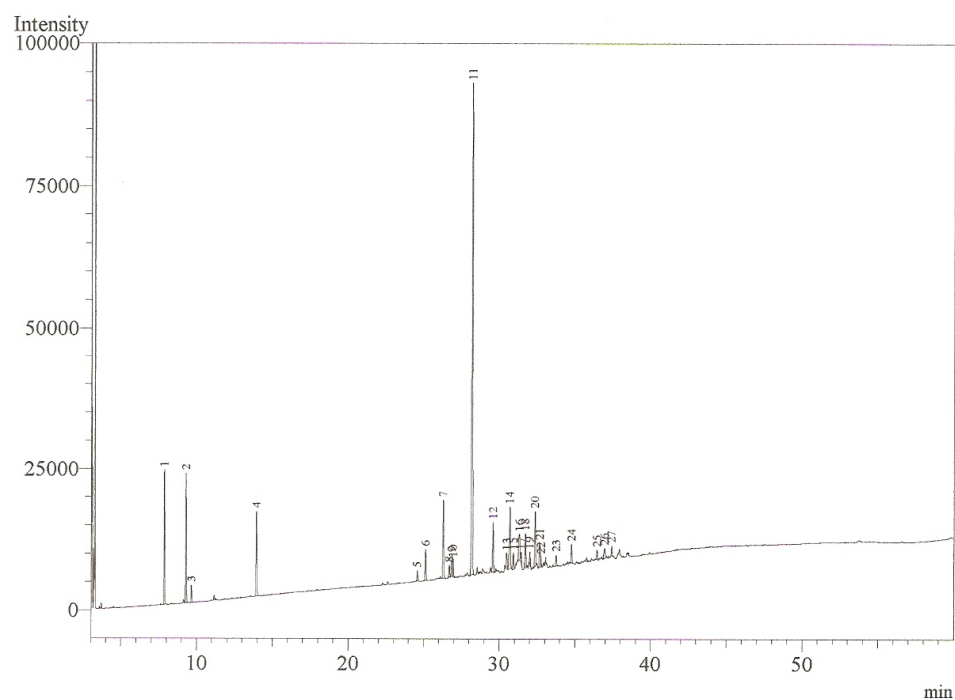


Figura 25 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Ocotea nigrescens*

Composição	IR	Folhas de <i>O. nigrescens</i>	Folhas de <i>O. splendens</i>
1. α -pineno	932	6,7 (pico 1)	0,3 (pico 1)
2. β -pineno	974	6,9 (pico 2)	0,1 (pico 2)
3. mirceno	986	0,8 (pico 3)	-
4. linalol	1100	5,5 (pico 4)	0,7 (pico 3)
5. δ -elemeno	1336	0,6 (pico 5)	-
6. α -cubebeno	1349	1,7 (pico 6)	-
7. α -ylangeno	1365	1,1 (pico 7)	-
8. α -copaeno	1376	6,2 (pico 8)	0,9 (pico 4)
9. β -cubebeno	1378	0,9 (pico 9)	-
10. β -elemeno	1388	0,4 (pico 10)	1,1 (pico 5)
11. β -cariofileno	1408	37,9 (pico 11)	51,0 (pico 6)
12. <i>E</i> -cariofileno	1420	-	0,8 (pico 7)
13. α -guaieno	1442	-	4,5 (pico 8)
14. α -humuleno	1451	3,8 (pico 12)	6,2 (pico 9)
15. <i>Z</i> -cadina-1(6),4-dieno	1462	1,0 (pico 13)	0,4 (pico 10)
16. isovalerato de linalol	1469	4,9 (pico 14)	5,7 (pico 11)
17. α -amorfenol	1476	2,2 (pico 15)	0,8 (pico 12)
18. β -selineno	1484	3,7 (pico 16)	3,0 (pico 13)
19. biciclogermacreno	1494	-	1,2 (pico 14)
20. α -muuroleno	1497	1,2 (pico 17)	0,3 (pico 15)
21. β -bisaboleno	1502	3,1 (pico 18)	0,4 (pico 16)
22. γ -cadineno	1509	2,7 (pico 19)	2,5 (pico 17)
23. δ -cadineno	1520	2,5 (pico 20)	-
24. <i>E</i> - γ -bisaboleno	1535	0,6 (pico 21)	-
25. <i>E</i> -cadina-1,4-dieno	1537	-	1,2 (pico 18)
26. elemol	1544	1,2 (pico 22)	6,5 (pico 19)
27. santalenona	1566	-	0,6 (pico 20)
28. epóxi de cariofileno	1576	1,9 (pico 23)	9,9 (pico 21)
29. rosifoliol	1596	0,4 (pico 24)	0,6 (pico 22)
30. epi-cedrol	1614	1,2 (pico 25)	-
31. α -cadinol	1642	1,0 (pico 26)	0,4 (pico 23)
32. 14-hidroxi- <i>Z</i> -cariofileno	1657	-	0,3 (pico 24)
33. rimueno	1909	-	0,8 (pico 25)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		14,3	0,3
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		10,5	6,3
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		69,4	74,3
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		5,8	18,3
<i>Outros</i>		-	0,8

Tabela 7 - Composição percentual dos óleos essenciais do gênero *Ocotea*

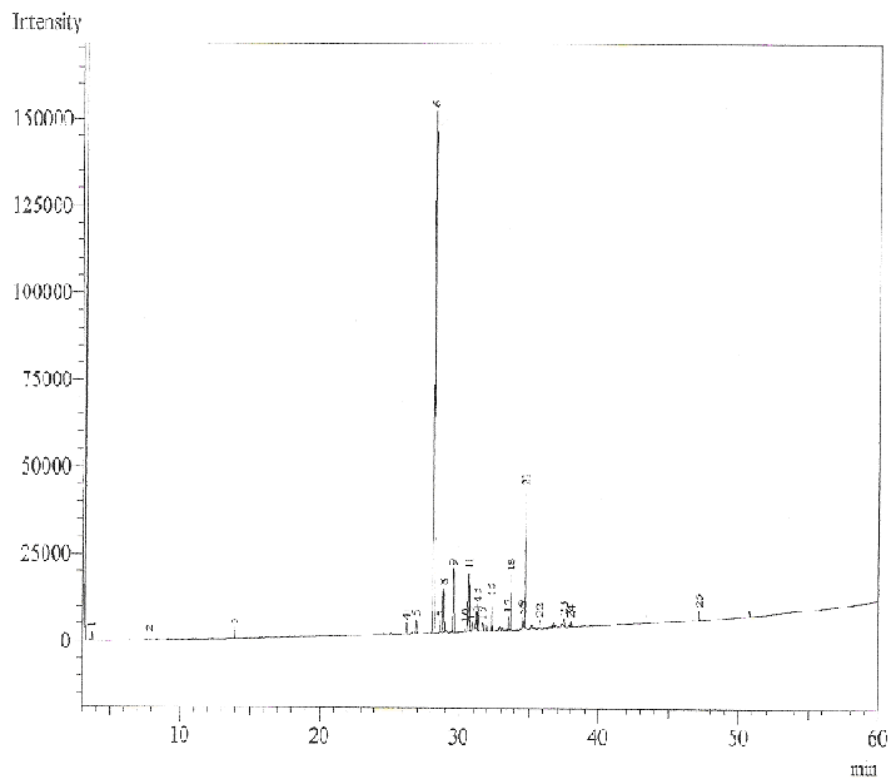


Figura 26 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Ocotea splendens*

Os compostos α -pineno e β -pineno tiveram seu intenso potencial antibacteriano comprovado (LEITE *et al.*, 2007).

O óleo essencial de *O. splendens* foi constituído principalmente de sesquiterpenos (92,6%), sendo 74,3% de hidrocarbonetos sesquiterpênicos. Este elevado percentual de sesquiterpenos deve-se principalmente ao teor detectado de β -cariofileno ser de 51,0%. Também foi detectado em quantidades significativas o epóxi de cariofileno (9,9%), elemol (6,5%) e α -humuleno (6,2%).

4.2.7 Análise química da composição do óleo essencial de *Rhodostemonodaphne parvifolia*

A relação dos constituintes químicos dos óleos essenciais obtidos das folhas e galhos de *R. parvifolia*, suas quantidades relativas e respectivos índices de retenção (IR) são apresentados na Tabela 8.

Através dos dados espectrométricos e de cromatografia foram detectados 20 compostos presentes nos dois óleos analisados. O percentual da composição química dos óleos essenciais determinado foi de 100%.

Dos constituintes químicos detectados no óleo essencial das folhas 14,13% são monoterpenos e 85,87% são sesquiterpenos, em que os constituintes majoritários foram o β -cariofileno (41,30%), β -selineno (13,60%) e germacreno B (7,75%), como apresentado na Figura 27. No óleo essencial dos galhos também se observou teores menores de monoterpenos (15,40%) em relação aos sesquiterpenos (84,60%), tendo como majoritários β -cariofileno (16,20%), linalol (15,40%) e *epi*-cedrol (13,30%), como apresentado na Figura 28.

O perfil químico desses óleos revelou uma proporção elevada de sesquiterpenos, principalmente de hidrocarbonetos sesquiterpênicos. Na maioria dos óleos essenciais de Lauraceae reportados na literatura observa-se a predominância de sesquiterpenos, principalmente de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (CICCIÓ; CHAVERRI, 2008; GOTTLIEB *et al.*, 1981; TELASCREA *et al.*, 2008).

A presença de hidrocarbonetos monoterpênicos só foi observada no óleo essencial das folhas sendo representada apenas por dois compostos com porcentagem inferior a 1% (α -pineno e sabineno).

Composição	IR	Folhas	Galhos
1. α -pineno	932	0,7 (pico 1)	-
2. sabineno	968	1,0 (pico 2)	-
3. linalol	1100	5,7 (pico 3)	15,4 (pico 1)
4. δ -elemeno	1336	-	3,5 (pico 2)
5. α -ylangeno	1365	6,8 (pico 4)	-
6. α -copaeno	1376	-	2,5 (pico 3)
7. β -elemeno	1388	-	2,4 (pico 4)
8. β -cariofileno	1408	41,3 (pico 5)	16,2 (pico 5)
9. <i>E</i> - α -bergamoteno	1434	-	1,9 (pico 6)
10. α -humuleno	1451	5,3 (pico 6)	2,1 (pico 7)
11. isovalerato de linalol	1469	6,8 (pico 7)	-
12. α -amorfenol	1476	3,5 (pico 8)	3,7 (pico 8)
13. germacreno D	1478	-	9,1 (pico 9)
14. β -selineno	1484	13,6 (pico 9)	-
15. γ -cadineno	1509	1,5 (pico 10)	1,7 (pico 10)
16. elemol	1544	-	5,8 (pico 11)
17. germacreno B	1554	7,8 (pico 11)	5,7 (pico 12)
18. santalenona	1566	5,5 (pico 12)	8,6 (pico 13)
19. <i>epi</i> -cedrol	1614	-	13,3 (pico 14)
20. <i>epi</i> - α -cadinol	1637	0,7 (pico 13)	8,2 (pico 15)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		1,6	-
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		12,5	15,4
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		79,7	48,7
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		6,2	35,9
<i>Outros</i>		-	-

Tabela 8 - Composição percentual dos óleos essenciais de *Rhodostemonodaphne parvifolia*

O linalol foi o único monoterpeneo oxigenado encontrado no óleo essencial dos galhos, além de ser um dos seus constituintes majoritários. Nas folhas, além do linalol (5,71%) detectou-se a presença de isovalerato de linalol (6,77%).

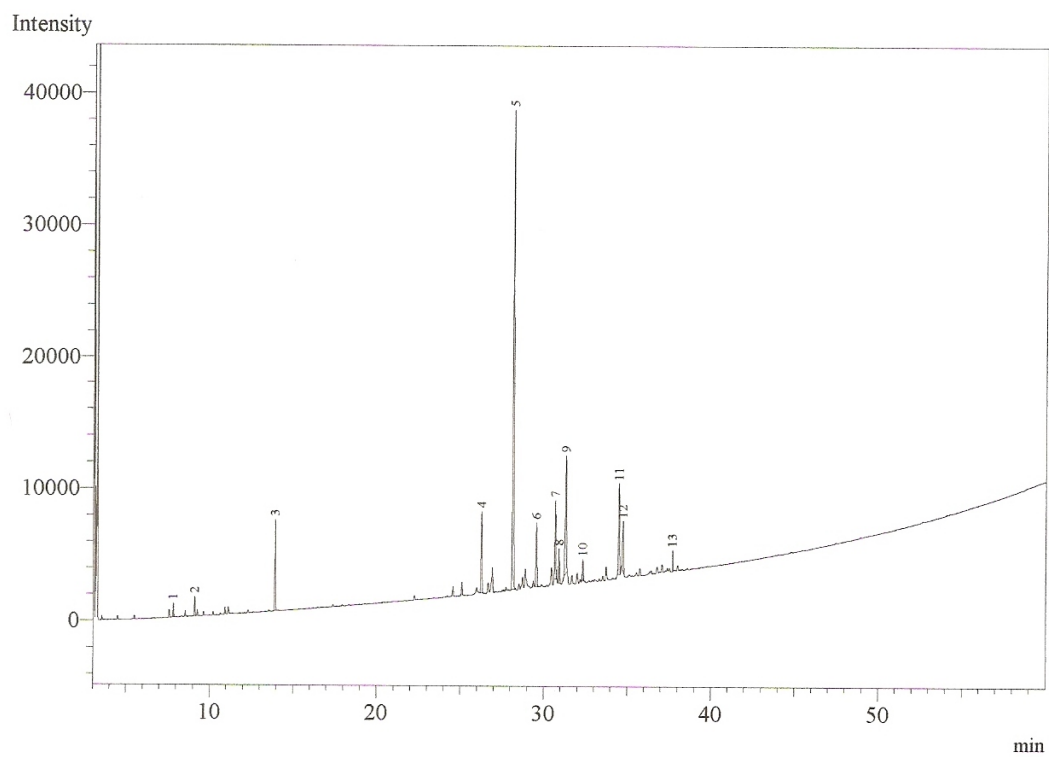


Figura 27 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Rhodostemonodaphne parvifolia*

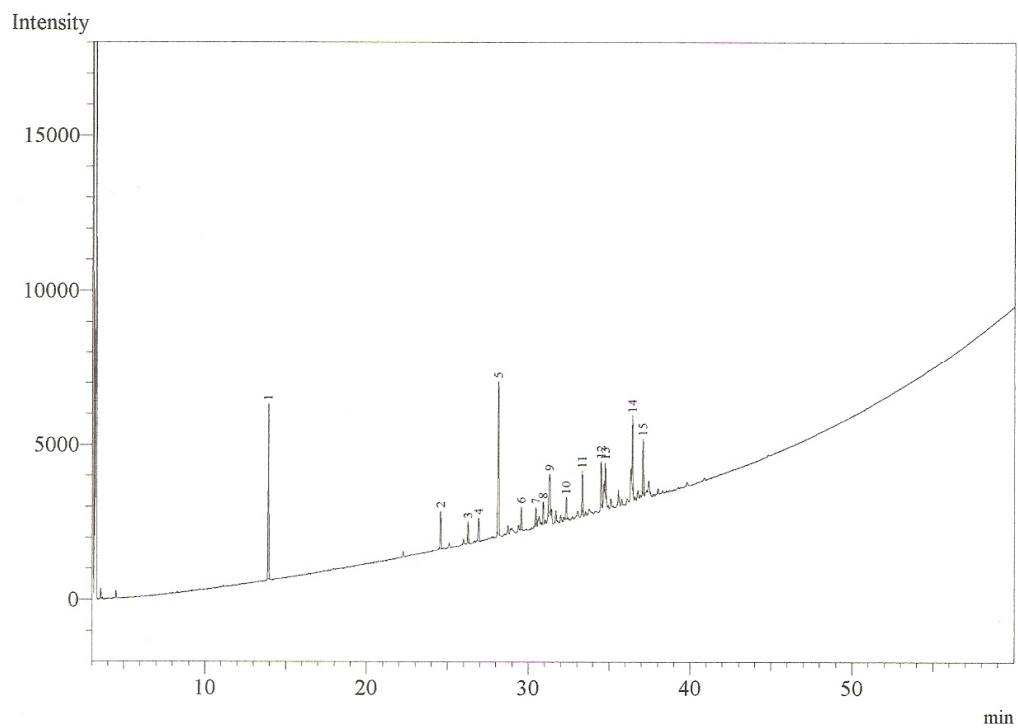


Figura 28 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Rhodostemonodaphne parvifolia*

4.2.8 Análise química da composição do óleo essencial de *Pleurothyrium vasquezii*

Os componentes químicos identificados dos óleos essenciais das folhas e galhos, incluindo seus respectivos índices de retenção e porcentagens, estão sumarizados na Tabela 9. Foi determinado um percentual de 100% da composição química dos óleos. Não há relatos de estudos realizados sobre a composição química de nenhum óleo essencial do gênero *Pleurothyrium*.

O óleo essencial das folhas revelou ser constituído majoritariamente por sesquiterpenos (89,4%), dos quais 68,1% são hidrocarbonetos sesquiterpênicos e 21,3% sesquiterpenos oxigenados. O percentual de monoterpenos foi de 10,6%, apenas hidrocarbonetos monoterpênicos. O principal componente, como apresentado na Figura 29, foi o germacreno D (15,6%). Outros componentes identificados em teores significativos foram biciclogermacreno (13,7%), santalenona (11,2%), β -selineno (5,4%) e α -amorfeno (5,0%).

Da mesma forma, no óleo essencial dos galhos prevaleceram os sesquiterpenos, os quais representaram um teor de 92,9% do total do óleo (Figura 30), onde 58,8% foram hidrocarbonetos sesquiterpênicos e 34,1% sesquiterpenos oxigenados. O teor de monoterpenos foi inferior ao das folhas, apenas 7,1%, dos quais 5,3% foram monoterpenos oxigenados e 1,8% de hidrocarbonetos monoterpênicos. Os constituintes majoritários foram γ -eudesmol (8,2%), germacreno D (8,0%), δ -cadineno (7,6%), *epi*-cedrol (5,3%) e γ -cadineno (5,1%).

Composição	IR	Folhas	Galhos
1. α -pineno	932	4,6 (pico 1)	0,7 (pico 1)
2. β -pineno	974	4,4 (pico 2)	0,5 (pico 2)
3. <i>p</i> -cimeno	1020	1,7 (pico 3)	0,3 (pico 3)
4. limoneno	1025	-	0,3 (pico 4)
5. β -felandreno	1026	-	0,2 (pico 5)
6. dihidrolinalol	1131	-	0,2 (pico 6)
7. camfor	1141	-	0,2 (pico 7)
8. δ -terpineol	1163	-	0,3 (pico 8)
9. δ -elemeno	1336	-	1,2 (pico 9)
10. α -cubebeno	1349	-	0,6 (pico 10)
11. α -ylangeno	1365	-	0,7 (pico 11)
12. α -copaeno	1376	2,0 (pico 4)	1,6 (pico 12)
13. β -elemeno	1388	1,6 (pico 5)	3,6 (pico 13)
14. β -cariofileno	1408	3,9 (pico 6)	-
15. <i>Z</i> - α -bergamoteno	1412	-	4,9 (pico 14)
16. <i>E</i> -cariofileno	1420	-	2,7 (pico 15)
17. <i>E</i> - α -bergamoteno	1434	-	0,7 (pico 16)
18. α -guaiano	1442	-	2,4 (pico 17)
19. aromadendreno	1438	2,9 (pico 7)	0,6 (pico 18)
20. α -humuleno	1451	1,8 (pico 8)	2,5 (pico 19)
21. <i>Z</i> -cadina-1(6),4-dieno	1462	-	0,9 (pico 20)
22. isovalerato de linalol	1469	-	4,6 (pico 21)
23. α -amorfeno	1476	5,0 (pico 9)	-
24. germacreno D	1478	15,6 (pico 10)	8,0 (pico 22)
25. β -selineno	1484	5,4 (pico 11)	2,2 (pico 23)
26. biciclogermacreno	1494	13,7 (pico 12)	2,6 (pico 24)
27. α -muuroleno	1497	3,0 (pico 13)	3,5 (pico 25)
28. (<i>E,E</i>)- α -farneseno	1505	-	1,1 (pico 26)
29. γ -cadineno	1509	4,6 (pico 14)	5,1 (pico 27)
30. <i>E</i> -calameneno	1513	2,0 (pico 15)	0,9 (pico 28)
31. δ -cadineno	1520	4,1 (pico 16)	7,6 (pico 29)
32. <i>E</i> - γ -bisaboleno	1535	-	2,0 (pico 30)
33. <i>E</i> -cadina-1,4-dieno	1537	0,7 (pico 17)	0,7 (pico 31)
34. germacreno B	1554	1,7 (pico 18)	2,9 (pico 32)
35. santalenona	1566	11,2 (pico 19)	4,6 (pico 33)
36. espatulenol	1571	-	1,7 (pico 34)
37. epóxi de cariofileno	1576	2,9 (pico 20)	1,2 (pico 35)
38. viridiflorol	1587	-	2,0 (pico 36)
39. guaiol	1591	-	0,9 (pico 37)
40. rosifoliol	1596	-	3,8 (pico 38)
41. <i>epi</i> -cedrol	1614	-	5,3 (pico 39)
42. γ -eudesmol	1629	0,9 (pico 21)	8,2 (pico 40)
43. <i>epi</i> - α -muurolol	1640	-	4,5 (pico 41)
44. α -cadinol	1642	3,3 (pico 22)	-
45. torreyol	1646	3,0 (pico 23)	2,0 (pico 42)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		10,6	1,8
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		-	5,3
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		68,1	58,8
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		21,3	34,1

Tabela 9 - Composição percentual dos óleos essenciais de *Pleurothyrium vasquezii*

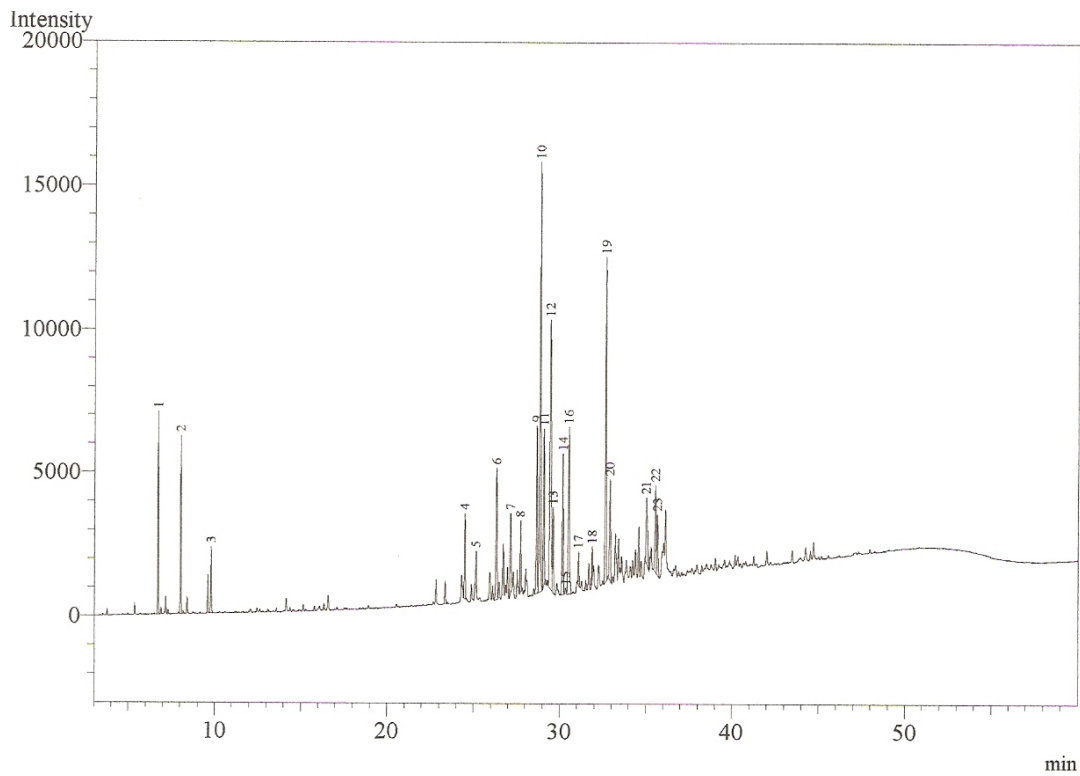


Figura 29 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Pleurothyrium vasquezii*

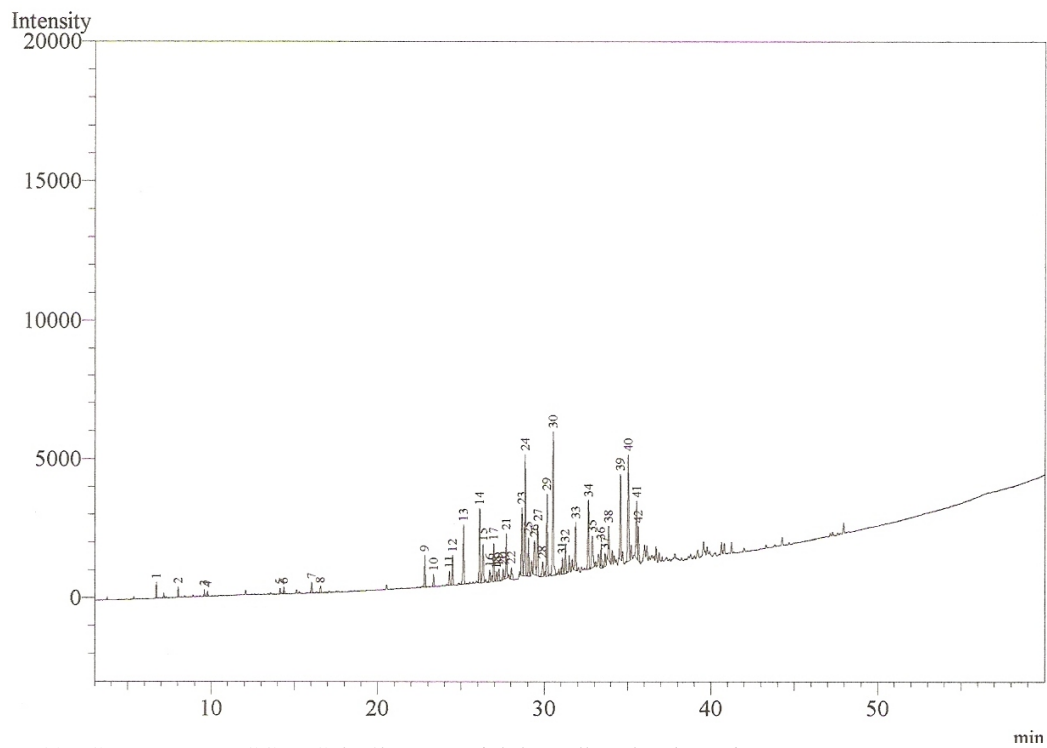


Figura 30 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Pleurothyrium vasquezii*

4.2.9 Análise química da composição do óleo essencial de *Sextonia rubra*

Os óleos essenciais obtidos a partir das folhas e galhos de *S. rubra* mostraram-se predominantemente constituídos por terpenóides. A análise química do óleo das folhas mostrou que as principais classes dos constituintes foram hidrocarbonetos monoterpênicos e sesquiterpênicos (44,6% e 47,7%, respectivamente). Dentre os 24 compostos identificados (Figura 31), compreendendo 95,5% do total do óleo essencial, os constituintes majoritários foram a mistura de α -pineno (21,6%) e β -pineno (15,4%); e os sesquiterpenos α -copaeno (12,5%), germacreno D (12,1%), β -cariofileno (7,1%) e δ -cadineno (5,0%). Os compostos oxigenados foram todos monoterpênicos com percentual de apenas 3,2%.

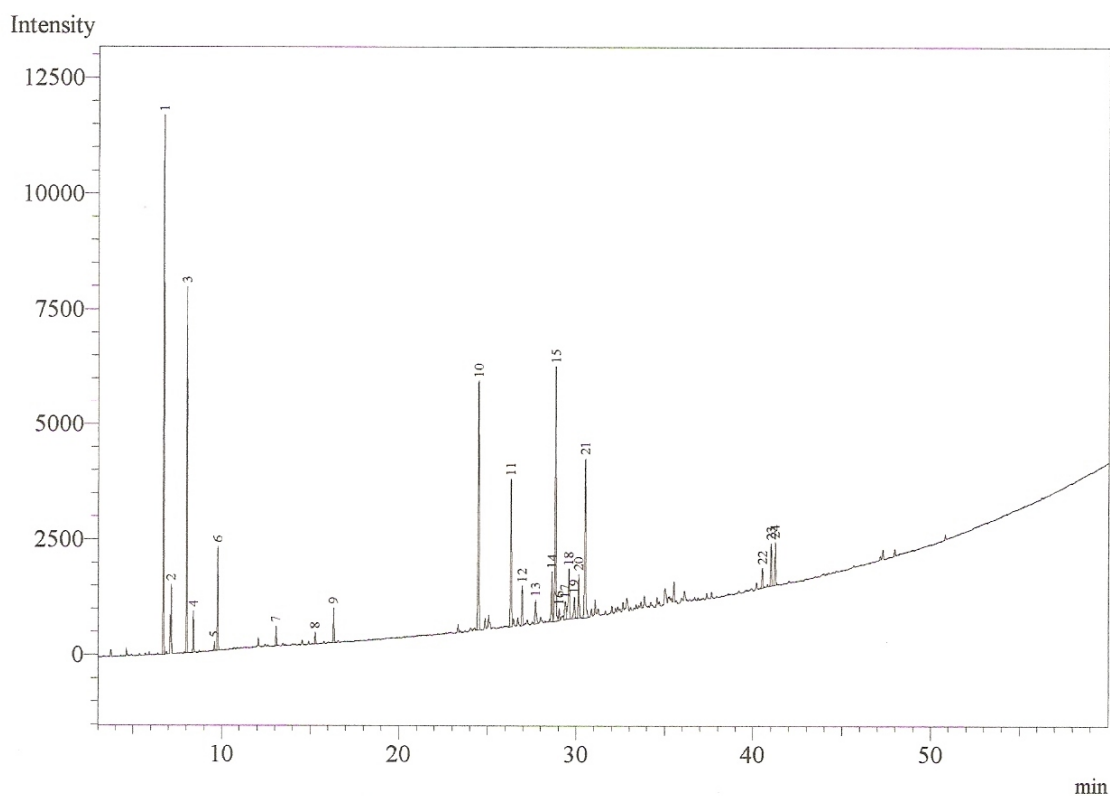


Figura 31 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial das folhas de *Sextonia rubra*

No óleo essencial dos galhos, os hidrocarbonetos monoterpênicos e sesquiterpênicos apresentaram um percentual de 1,2% e 66,8%, respectivamente. Os compostos oxigenados foram mais abundantes (26,6%) do que nas folhas, porém desta vez todos apresentaram esqueleto sesquiterpênicos. Os 28 compostos identificados representam 94,6% do óleo essencial (Figura 32). Os constituintes majoritários foram α -copaeno (22,9%), β -selineno (7,9%), β -elemeno (7,2%), δ -cadineno (6,2%), *epi*- α -cedrol (6,1%) e α -amorfeno (5,6%).

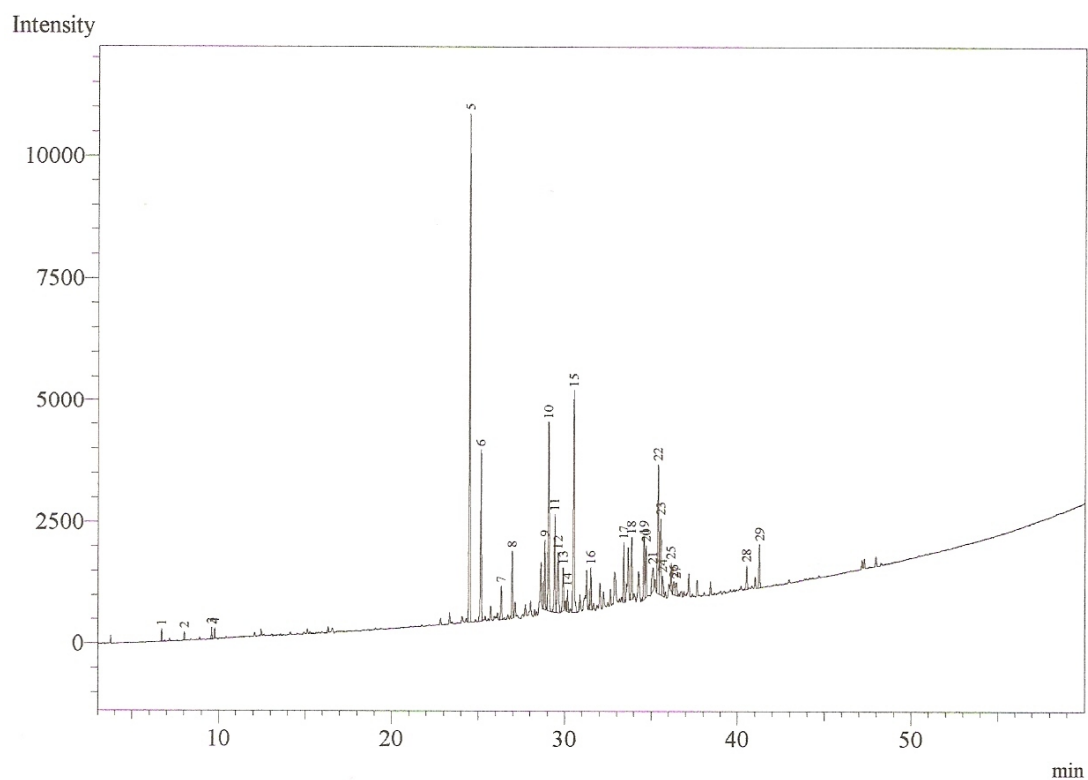


Figura 32 - Cromatograma CG-DIC do óleo essencial dos galhos de *Sextonia rubra*

A composição percentual do óleo essencial dos galhos é quase que exclusivamente de sesquiterpenos, enquanto que a composição percentual de monoterpênicos e sesquiterpenos é praticamente a mesma para o óleo das folhas (Tabela 10).

Composição	IR	Folhas	Galhos
1. α -pineno	932	21,6 (pico 1)	0,4 (pico 1)
2. camfeno	943	1,4 (pico 2)	0,2 (pico 2)
3. β -pineno	974	15,4 (pico 3)	-
4. mirceno	986	1,5 (pico 4)	-
5. <i>p</i> -cimeno	1020	0,3 (pico 5)	0,3 (pico 3)
6. limoneno	1025	4,3 (pico 6)	0,3 (pico 4)
7. linalol	1100	1,0 (pico 7)	-
8. camfor	1141	0,5 (pico 8)	-
9. α -terpineol	1186	1,7 (pico 9)	-
10. α -copaeno	1376	12,5 (pico 10)	22,9 (pico 5)
11. β -elemeno	1388	-	7,2 (pico 6)
12. β -cariofileno	1408	7,1 (pico 11)	1,0 (pico 7)
13. <i>E</i> - α -bergamoteno	1434	1,8 (pico 12)	2,7 (pico 8)
14. α -humuleno	1451	1,1 (pico 13)	-
15. α -amorfeno	1476	2,5 (pico 14)	5,6 (pico 9)
16. germacreno D	1478	12,1 (pico 15)	-
17. β -selineno	1484	-	7,9 (pico 10)
18. biciclogermacreno	1494	0,6 (pico 16)	3,8 (pico 11)
19. α -muuroloeno	1497	1,8 (pico 17)	3,0 (pico 12)
20. β -bisaboleno	1502	-	2,0 (pico 13)
21. (<i>E,E</i>)- α -farneseno	1505	0,4 (pico 18)	-
22. γ -cadineno	1509	1,7 (pico 19)	-
23. <i>E</i> -calameneno	1513	1,1 (pico 20)	2,7 (pico 14)
24. δ -cadineno	1520	5,0 (pico 21)	6,2 (pico 15)
25. <i>E</i> -cadina-1,4-dieno	1537	-	1,8 (pico 16)
26. viridiflorol	1587	-	2,2 (pico 17)
27. rosifoliol	1596	-	4,4 (pico 18)
28. <i>epi</i> -cedrol	1614	-	3,6 (pico 19)
29. 10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	1622	-	2,0 (pico 20)
30. γ -eudesmol	1629	-	1,1 (pico 21)
31. <i>epi</i> - α -cadinol	1637	-	6,1 (pico 22)
32. <i>epi</i> - α -muurolol	1640	-	3,1 (pico 23)
33. α -cadinol	1642	-	4,2 (pico 24)
34. não identificado	1681	-	0,9 (pico 25)
35. não identificado	1695	-	0,8 (pico 26)
36. não identificado	1777	0,6 (pico 22)	1,3 (pico 27)
37. não identificado	1791	1,7 (pico 23)	-
38. não identificado	1800	2,2 (pico 24)	2,3 (pico 28)
<i>Hidrocarbonetos monoterpênicos</i>		44,6	1,2
<i>Monoterpenos oxigenados</i>		3,2	-
<i>Hidrocarbonetos sesquiterpênicos</i>		47,7	66,8
<i>Sesquiterpenos oxigenados</i>		-	26,7
<i>Outros</i>		-	-

Tabela 10 - Composição percentual dos óleos essenciais de *Sextonia rubra*

4.3 Prospecção fitoquímica

Todos os extratos em etanol das espécies estudadas apresentaram taninos condensados, esteróides e alcalóides, conforme apresentado na Tabela 11. Os dois testes realizados para a prospecção de alcalóides apresentaram resultados semelhantes e, portanto foram apresentados sem distinção do método.

O maior número de classes de compostos foi observado nas folhas de *L. cannella angustata*, folhas de *M. duckei* e nas folhas e galhos de *L. martiniana*, identificando-se sete classes dentre as 12 estudadas. O menor número de classes (quatro) foi detectado nos galhos das espécies *A. rosaeodora*, *R. parvifolia* e *L. cannella angustata*.

Os fenóis e as saponinas apresentaram testes positivos em todos os extratos etanólicos, com exceção nas folhas de *R. parvifolia* para os fenóis e *O. splendens* para as saponinas. Enquanto que os taninos hidrolisáveis, antocianinas, antocianidinas e triterpenóides não foram detectadas em nenhum dos extratos. Chalconas e auronas só foram observadas nos galhos de *A. panurensis*, enquanto as leucoantocianidinas foram detectadas nos galhos de *A. panurensis* e *M. duckei*.

As espécies do gênero *Licaria* foram as que apresentaram maior uniformidade na composição química, principalmente a *L. martiniana* em que as classes de compostos detectados nas folhas foram os mesmos para os galhos.

Através dos testes positivos para as diferentes classes de compostos, observa-se possível potencial farmacológico para estas espécies. Taninos e derivados fenólicos possuem propriedades antioxidantes, bactericidas e cicatrizantes (OLIVEIRA; FEGUEIREDO, 2007); as saponinas possuem propriedades antifúngicas e antibacterianas (TAIZ; ZEIGER *apud* TAIZ; ZEIGER, 1991); e os alcalóides possuem atividades antineoplásicas e anticolinesterásicas.

	Ap		Ar	Lca		Lm		Md		On	Os	Rn	Rp	
	F	G	G	F	G	F	G	F	G	F	F	F	F	G
fenol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
tanino hidrolisável	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tanino condensado	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
antocianina/ antocianidina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
flavonóide	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
chalcona e aurona	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
leucoantocianidina	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
catequina	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
esteróide	+	NR	NR	+	NR	+	+	+	NR	+	+	+	+	NR
triterpenóide	-	NR	NR	-	NR	-	-	-	NR	-	-	-	-	NR
saponina	+	NR	NR	+	NR	+	+	+	NR	+	-	+	+	NR
alcalóide	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabela 11 – Prospecção fitoquímica dos extratos brutos em etanol de espécies da família Lauraceae

Legenda: Ap = *Aniba panurensis*, Ar = *Aniba rosaeodora*, Lca = *Licaria cannella angustata*, Lm = *Licaria martiniana*, Md = *Mezilaurus duckei*, On = *Ocotea nigrescens*, Os = *Ocotea splendens*, RN = *Rhodostemonodaphne negrensis*, Rp = *Rhodostemonodaphne parvifolia*, F = folha, G= galho, += presente, -= ausente, NR = não realizado

4.4 Análise da atividade antioxidante pelo método DPPH

O ensaio qualitativo da atividade antioxidante por cromatografia em camada delgada possibilitou a visualização de quais óleos e extratos possuem atividade frente ao radical DPPH, quando comparados ao padrão quercertina (bioflavonóide). O DPPH é um radical cromóforo que simula as espécies reativas de oxigênio, assim ele pode aceitar um eletrón ou radical hidrogênio para se tornar uma molécula estável. De acordo com Blois (1958) possui uma coloração violeta intenso e quando aplicado em placa cromatográfica em forma de solução alcoólica, ele adquire uma coloração amarelo ouro que caracteriza a presença de compostos com atividade antioxidante (WAGNER; BLADT, 1996).

Todos os óleos apresentaram atividade varredora de radicais livres em ensaios qualitativos, realizados em placa cromatográfica de sílica gel. Entretanto, na análise quantitativa as concentrações ativas foram altas, acima de 1000 µg/mL, com exceção para o óleo essencial de *A. rosaeodora*, superior a 700 µg/mL.

Os resultados dos bioensaios da atividade antioxidante qualitativa e quantitativa para os óleos essenciais encontram-se descritos na Tabela 12.

Nenhum dos óleos essenciais analisados possui em sua composição compostos com reconhecida atividade antioxidante em quantidades significativas, tais como à presença de β-cariofileno associado com compostos fenólicos que tem seu potencial antioxidante aumentado através do efeito sinérgico (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992).

Recentemente, foi comprovado que monoterpenos possuem atividade provedora de termotolerância, fotoproteção e antioxidante devido à capacidade de captarem radicais de oxigênio oriundos do processo fotossintético (PEÑUELAS; LLUSIÀ, 2002; PEÑUELAS; MUNNÉ-BOSCH, 2005). E talvez por isso o óleo essencial da espécie *A. rosaeodora* tenha

apresentado melhor resultado, já que nos outros óleos houve a predominância de sesquiterpenos.

Óleo essencial		DPPH qualitativo	DPPH quantitativo (CE ₅₀) µg/mL
Espécie botânica	Órgão		
<i>A. panurensis</i>	folhas	+	> 1000
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	+	> 700
<i>D. manausense</i>	folhas	+	> 1000
<i>E. chalisea</i>	folhas	NR	> 1000
	galhos	NR	> 1000
	frutos	NR	> 1000
<i>L. martiniana</i>	folhas	+	> 1000
	galhos	+	> 1000
<i>M. duckei</i>	folhas	+	> 1000
	galhos	+	> 1000
<i>M. itauba</i>	galhos	+	> 1000
<i>O. nigrescens</i>	folhas	+	> 1000
<i>O. splendens</i>	folhas	+	> 1000
<i>R. parvifolia</i>	folhas	+	> 1000
	galhos	+	> 1000
<i>P. vasquezii</i>	folhas	+	> 1000
	galhos	NR	> 1000
<i>S. rubra</i>	folhas	+	> 1000
	galhos	+	> 1000
Padrão (quercetina)		+	2,541

Tabela 12 – Avaliação da atividade antioxidante, pelo método DPPH, dos óleos essenciais de Lauraceae
 Legenda: CE₅₀ = concentração efetiva para produzir metade de um efeito máximo, NR = não realizado

De acordo com a Tabela 13, observa-se a presença de compostos com atividade antioxidante nos extratos etanólicos testados, comparados com o padrão. Todos os extratos apresentaram grande potencial antioxidante no ensaio qualitativo, exceto os extratos dos gêneros *Rhodostemonodaphne*, *Dicypelium* e *Ocotea*.

Na Tabela 13 também é apresentada a capacidade de seqüestrar o radical DPPH (CE₅₀), exibida pelos extratos etanólicos das espécies amazônicas da família Lauraceae estudadas.

Através dos resultados, pode-se notar que os valores mais altos de CE_{50} foram encontrados para os extratos das folhas de *R. parvifolia* (238,542 $\mu\text{g/mL}$) e *O. nigrescens* (168,726 $\mu\text{g/mL}$). A atividade antioxidante foi maior (isto significa um menor valor de CE_{50}) para os extratos de *L. martiniana* (CE_{50} de 11,168 $\mu\text{g/mL}$ para as folhas e 6,956 $\mu\text{g/mL}$ para os galhos), *M. itauba* (CE_{50} de 10,739 $\mu\text{g/mL}$ para as folhas) e *S. rubra* (CE_{50} de 10,043 $\mu\text{g/mL}$ para as folhas e 8,105 $\mu\text{g/mL}$ para os galhos). Comparando os valores com o padrão (quercetina), o extrato em etanol dos galhos de *L. martiniana* foi o que se comportou de forma mais semelhante ao padrão.

Extrato bruto em etanol		DPPH qualitativo	DPPH quantitativo (CE_{50}) $\mu\text{g/mL} \pm \text{DP}$
Espécie botânica	Órgão		
<i>A. panurensis</i>	Folhas	+	14,370 \pm 0,096
	Galhos	+	27,586 \pm 2,199
<i>A. rosaeodora</i>	Galhos	+	25,209 \pm 0,186
<i>D. manausense</i>	Folhas	+	23,670 \pm 1,475
	Galhos	NR	16,814 \pm 0,486
<i>L. cannella angustata</i>	Folhas	+	15,029 \pm 0,361
	Galhos	+	29,349 \pm 0,245
<i>L. martiniana</i>	Folhas	+	11,168 \pm 1,416
	Galhos	+	6,956 \pm 0,131
<i>M. duckei</i>	Folhas	+	23,253 \pm 0,556
	Galhos	+	13,494 \pm 0,484
<i>M. itauba</i>	Folhas	+	10,739 \pm 0,240
<i>O. nigrescens</i>	Folhas	+	168,726 \pm 21,798
<i>O. splendens</i>	Folhas	+	-
<i>R. negrensis</i>	Folhas	-	-
<i>R. parvifolia</i>	Folhas	-	238,542 \pm 5,699
<i>P. vasquezii</i>	Folhas	+	-
<i>S. rubra</i>	Folhas	+	10,043 \pm 0,317
	Galhos	NR	8,105 \pm 1,152
Padrão (quercetina)		+	2,845 \pm 0,206

Tabela 13 – Avaliação da atividade antioxidante, pelo método DPPH, dos extratos em etanol de Lauraceae
 Legenda: CE_{50} = concentração efetiva para produzir metade de um efeito máximo, DP = desvio padrão, NR = não realizado

Em relação à utilização das duas técnicas (qualitativa e quantitativa), é válido, ao se

trabalhar com um número significativo de amostras, realizarem a bioprospecção primeiramente através do ensaio qualitativo e em sequência realizar o ensaio quantitativo apenas para as amostras que apresentarem resultados positivos, economizando desta forma tempo e dinheiro.

4.5 Determinação do teor de fenólicos totais

A quantificação de fenóis totais presente nas amostras dos extratos etanólicos foi feita por meio na espectroscopia na região do visível pelo método de Folin-Ciocalteu com algumas modificações. O teor de fenóis totais foi determinado com a interpolação da absorbância das amostras contra a curva de calibração construída com padrão ácido gálico e foi expresso por mg EAG (equivalente ácido gálico) por g de extrato. A equação de calibração obtida foi de $C = 6,472x + 0,019$, onde C é a concentração equivalente de ácido gálico na amostra, x é a absorbância lida em 724 nm e o coeficiente de correlação encontrado foi de R^2 0,9998.

Os valores obtidos da quantificação de compostos fenólicos estão representados na Tabela 14. Os extratos etanólicos dos galhos de *L. martiniana* ($184,820 \pm 3,345$ mg EAG/ g do extrato), folhas de *O. splendens* ($205,372 \pm 17,952$ mg EAG/ g do extrato) e folhas de *P. vasquezii* ($224,733 \pm 3,554$ mg EAG/ g do extrato) indicaram um elevado teor de compostos fenólicos, tais extratos também apresentaram bons resultados no ensaio qualitativo de DPPH, podendo sugerir que os compostos fenólicos devam contribuir de alguma forma no sequestro de radicais livres.

Extrato bruto em etanol		Fenólicos totais
Espécie botânica	Órgão	(mg EAG/g do extrato) ± DP
<i>A. panurensis</i>	folhas	90,289 ± 19,064
	galhos	110,525 ± 8,242
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	89,965 ± 10,424
<i>D. manausense</i>	folhas	70,723 ± 7,626
<i>L. cannella angustata</i>	folhas	127,105 ± 5,003
	galhos	72,422 ± 4,746
<i>L. martiniana</i>	folhas	135,344 ± 7,702
	galhos	184,820 ± 3,345
<i>M. duckei</i>	folhas	135,808 ± 18,641
	galhos	116,550 ± 10,209
<i>M. itauba</i>	folhas	144,561 ± 8,080
<i>O. nigrescens</i>	folhas	45,492 ± 3,843
<i>O. splendens</i>	folhas	205,372 ± 17,952
<i>R. negrensis</i>	folhas	45,904 ± 23,589
<i>R. parvifolia</i>	folhas	34,421 ± 2,595
<i>P. vasquezii</i>	folhas	224,733 ± 3,554
<i>S. rubra</i>	folhas	129,268 ± 7,626

Tabela 14 – Determinação do teor de fenólicos totais dos extratos em etanol de Lauraceae
 Legenda: EAG = equivalente de ácido gálico, DP = desvio padrão.

4.6 Análise da atividade inibidora da acetilcolinesterase

Para os óleos essenciais foram realizados apenas o ensaio qualitativo da atividade inibidora de acetilcolinesterase e os resultados são apresentados na Tabela 15.

Resultados positivos de inibição da enzima foi detectada apenas nos galhos de *L. martiniana* e nas folhas de *R. parvifolia* e *M. duckei*, evidenciando uma diferença de atividade de acordo com a parte da planta estudada, já que, para cada espécie, a atividade foi confirmada em apenas um dos órgãos da planta. Tal resultado sugere novos estudos para quantificar a ação inibitória da enzima acetilcolinesterase nas espécies citadas.

Em revisão feita por Barbosa-Filho *et al.* (2006) de vinte e sete monoterpenos relatados, dezessete apresentaram atividade anticolinesterásica, confirmando o trabalho de

Miyazawa *et al.* (1997) em que sugeriram que os monoterpenos são os principais responsáveis pela atividade anticolinesterásica. Porém, neste trabalho de pesquisa, as espécies que possuíam maior teor de monoterpenos não foram as que apresentaram melhores resultados.

Óleo essencial		AchE qualitativo
Espécie botânica	Órgão	
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	-
<i>L. martiniana</i>	folhas	-
<i>M. duckei</i>	galhos	+
	folhas	+
<i>O. nigrescens</i>	galhos	-
	folhas	-
<i>O. splendens</i>	folhas	-
<i>R. parvifolia</i>	folhas	+
	galhos	-

Tabela 15 – Avaliação da atividade inibidora de acetilcolinesterase dos óleos essenciais de Lauraceae

Muitos monoterpenos e sesquiterpenos tiveram sua atividade inibidora de acetilcolinesterase comprovada, tais como o elemol, linalol e α -pineno (MIYAZAMA *et al.*, 1998; PERRY *et al.*, 2000), presentes na maioria dos óleos essenciais analisados, porém quando estas compostos são testadas em conjunto, a atividade inibidora da enzima pode ser reduzida ou intensificada devido ao efeito sinérgico e a inibição competitiva entre elas.

Para os extratos em etanol, os resultados dos ensaios qualitativo e quantitativo da atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase estão apresentados na Tabela 16. A inibição da acetilcolinesterase foi observada em todos as amostras testadas na concentração de 5 mg/mL.

Seis extratos mostraram inibição acima de 50% (folhas e galhos de *A. panurensis*, galhos de *A. rosaeodora*, folhas de *L. cannella angustata*, folhas de *L. martiniana* e folhas de *M. duckei*) e são candidatos a futuro fracionamento bio-guiado, para isolamento de princípios ativos capazes de inibir a enzima acetilcolinesterase.

Levando em consideração que o ensaio qualitativo foi realizado com as amostras na concentração de 1 mg/mL e comparando os dois ensaios (qualitativo e quantitativo) verificase discrepância em alguns resultados, tais como nas folhas de *L. cannella angustata* e *L. martiniana* que apresentaram nenhuma atividade no ensaio qualitativo, porém no quantitativo foi detectada um potencial de inibição de 25% e 22%, respectivamente na concentração de 1 mg/mL; e nas folhas de *R. negrensis* que apresentou atividade positiva no ensaio qualitativo, porém no quantitativo nenhuma atividade foi detectada.

Extrato bruto em etanol		AchE	AchE quantitativo			
Espécie botânica	Órgão	qualitativo	5 mg/mL	1 mg/mL	0,5 mg/mL	0,1 mg/mL
<i>A. panurensis</i>	folhas	-	94	7	3	2
	galhos	+	195	65	16	3
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	-	57	14	1	0
<i>L. cannella angustata</i>	folhas	-	60	25	10	0
	galhos	+	39	9	6	0
<i>L. martiniana</i>	folhas	-	209	22	13	0
	galhos	+	39	15	0	0
<i>M. duckei</i>	folhas	-	171	15	13	3
	galhos	-	22	19	15	8
<i>O. nigrescens</i>	folhas	-	33	4	0	0
<i>O. splendens</i>	folhas	-	7	0	0	0
<i>R. negrensis</i>	folhas	+	5	0	0	0
<i>R. parvifolia</i>	folhas	+	38	15	6	4
	galhos	+	17	14	10	0
Padrão (eserine)		+	-	91	-	-

Tabela 16 – Percentual de inibição da atividade da acetilcolinesterase por extrato bruto em etanol de Lauraceae

Segundo Trevisan; Macedo (2003) a presença de taninos nos extratos pode levar a resultados falsos positivos por promover a desnaturação da enzima acetilcolinesterase e por isso, tem-se de considerar sempre que testes *in vitro* apenas auxiliam na otimização da seleção de amostras e não excluem os testes *in vivo*. Os taninos foram detectados em todos os extratos e, portanto alguns resultados podem estar mascarados.

4.7 Análise do fator de agregação plaquetária dos óleos essenciais

Os testes de agregação plaquetária demonstraram inibição inferior a 37%, comparados ao padrão de inibição, ácido acetilsalicílico (AAS), com inibição de 100% na concentração de 0,01% (Tabela 17).

O efeito de inibição da agregação plaquetária dos óleos essenciais relatados na literatura é atribuído à presença de diferentes componentes como ácidos graxos polinsaturados e polifenóis (CORREA *et al.*, 2009; GOODNIGHT *et al.*, 1982), que não foram detectados nos óleos analisados. O óleo essencial dos galhos de *L. martiniana*, que inibiu melhor a agregação plaquetária (36,95%), diferencia-se dos outros óleos pela presença de espatulenol em quantidade significativa (11,5%).

Óleo essencial		FAP
Espécie botânica	Órgão	(% de inibição)
<i>A. panurensis</i>	folhas	3,57
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	5,19
<i>D. manausense</i>	folhas	3,78
<i>E. chalisea</i>	folhas	3,44
	galhos	3,02
	frutos	17,81
<i>L. martiniana</i>	folhas	4,24
	galhos	36,95
<i>M. duckei</i>	folhas	3,28
	galhos	14,54
<i>O. nigrescens</i>	folhas	10,80
<i>O. splendens</i>	folhas	11,74
<i>R. parvifolia</i>	folhas	7,42
	galhos	15,10
Padrão (AAS)		100

Tabela 17 – Avaliação do fator de agregação plaquetária dos óleos essenciais de Lauraceae

4.8 Análise da citotoxicidade *in vitro* em células tumorais dos extratos em etanol

A atividade citotóxica de todas as amostras está apresentada na Tabela 18, com seus respectivos percentuais de inibição de crescimento.

Todos os extratos apresentaram atividade inibitória de crescimento para a linhagem de célula MDA-MB435, variando de 2,67% (folhas de *R. parvifolia*) a 56% (folhas de *L. martiniana*). Sete extratos apresentaram atividade para a linhagem de célula HCT-8, com melhor resultado de 56,16% para o extrato das folhas de *Licaria canella angustata*. Para a linhagem SF-295 oito extratos apresentaram atividade, sendo o melhor resultado 67,18% (folhas de *L. martiniana*).

Espécie botânica		SF-295	HCT-8	MDAMB-435
<i>A. panurensis</i>	folhas	0	31,88	37,80
<i>L. cannella angustata</i>	folhas	6,09	56,16	19,21
	galhos	0	27,36	15,49
<i>L. martiniana</i>	folhas	67,18	48,54	56,00
	galhos	12,16	-	33,43
<i>M. duckei</i>	folhas	0,48	-	8,83
	galhos	9,17	-	16,18
<i>O. nigrescens</i>	folhas	7,22	-	10,99
<i>O. splendens</i>	folhas	27,82	37,42	18,85
<i>R. negrensis</i>	folhas	-	5,13	14,25
<i>R. parvifolia</i>	folhas	-	3,30	2,67
	galhos	6,3	-	9,93

Tabela 18 – Percentual de inibição do crescimento celular dos extratos em etanol de Lauraceae em três linhagens tumorais testadas na dose única de 50 µg/mL

Legenda: SF-295 = glioblastoma humano, HCT-8 = cólon humano, MDAMB-435 = mama humano.

Apenas três extratos mostraram-se ativos para todas as linhagens de células tumorais (folhas de *L. canella angustata*, *L. martiniana* e *O. splendens*). Os demais extratos

apresentaram atividades inferiores a 50%. Os extratos mais ativos deverão ser fracionados buscando-se o isolamento de compostos purificados com maior atividade antitumoral.

4.9 Bioensaios contra protozoários parasitas dos extratos em etanol

A avaliação da atividade contra protozoários parasitas foi realizada para a *Leishmania amazonensis* na forma promastigota (vetor da doença leishmaniose) e para *Trypanosoma cruzi* na forma epimastigota (vetor da doença de Chagas), os resultados dos ensaios biológicos são apresentados na Tabela 19.

Extrato bruto em etanol		<i>Leishmania amazonensis</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Espécie botânica	Órgão	Promastigota ($\mu\text{g/mL}$)	Epimastigota ($\mu\text{g/mL}$)
<i>A. panurensis</i>	folhas	67	79
<i>A. rosaeodora</i>	galhos	180	490
<i>L. cannella angustata</i>	folhas	210	280
	galhos	69	510
	galhos	130	290
<i>M. duckei</i>	folhas	800	680
<i>O. nigrescens</i>	folhas	720	205
<i>O. splendens</i>	folhas	320	95
<i>R. negrensis</i>	folhas	160	130
<i>R. parvifolia</i>	folhas	80	270

Tabela 19 – Valores da concentração efetiva de 50%, dos extratos brutos em etanol de Lauraceae, contra protozoários parasitas

O extrato bruto em etanol das folhas de *A. panurensis* apresentou atividade significativa contra os dois protozoários (CE_{50} de 67 $\mu\text{g/mL}$ para *L. amazonensis* e CE_{50} de 79 $\mu\text{g/mL}$ para *T. cruzi*). Outras amostras que apresentaram valores significativos foram os galhos de *L. cannella angustata* (CE_{50} de 69 $\mu\text{g/mL}$) e folhas de *R. parvifolia* (CE_{50} de 80 $\mu\text{g/mL}$) para inibição da *L. amazonensis*; e folhas de *O. splendens* (CE_{50} de 95 $\mu\text{g/mL}$) para inibição da *T. cruzi*. Os demais extratos apresentaram CE_{50} acima de 100 $\mu\text{g/mL}$.

Outras espécies da família Lauraceae vêm sendo testadas contra estes protozoários parasitas, tais como, a *Licaria canella* que se mostrou ativa contra as cepas de *L. amazonensis* (SILVA *et al.*, 2009); a *Nectandra lineata* em que foram isoladas duas norlignanas (3'-metoxi-3,4-metilenodioxo-4',7-epoxi-9-nor-8,5'-neolignana-9'-acetoxi e 3'-metoxi-3,4-metilenodioxo-4',7-epoxi-9-nor-8,5'-neolignana-7,8'-dieno) que apresentaram inibição do crescimento de *T. cruzi* na forma epimastigota (CHÉRIGO *et al.*, 2005) e *Nectandra megapotamica* em que dois alcalóides (N-metilriptamina e 6-metoxi-N-metil-1,2,4-tetraidro- β -carbolina) se mostraram inibidores do crescimento de *T. cruzi* (SANTOS-FILHO; SARTIS, 1980).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas empregadas neste trabalho formam um conjunto imprescindível para o estudo da bioprospecção de espécies amazônicas com potencial aromático e medicinal. Somando as informações obtidas na literatura existente à química de bancada foi possível obter uma caracterização das espécies amazônicas pertencentes à família Lauraceae, mostrando que a metodologia empregada foi adequada para a realização dos estudos de bioprospecção.

A partir dos dados analisados neste trabalho, conclui-se que:

1 - Os óleos essenciais das espécies amazônicas da família Lauraceae estudados são constituídos principalmente por terpenos, de baixo peso molecular, na forma de hidrocarbonetos e oxigenados. Em que o conteúdo de sesquiterpenos mostrou-se superior ao de monoterpenos, com exceção do óleo essencial dos galhos de *A. rosaeodora* que apresentou um teor de 89,4% de monoterpenos.

2 - O β -cariofileno foi o constituinte majoritário da maioria dos óleos essenciais obtidos: folhas de *O. nigrescens*, *O. splendens*, *D. manausense*, *M. itauba*, *A. panurensis*, folhas e galhos de *L. martiniana* e *R. parvifolia*. Outros constituintes frequentes na composição dos óleos analisados foram epóxi de cariofileno, santalenona, γ -eudesmol, α -pineno, germacreno D, *p*-cimeno, β -elemeno e α -copaeno.

3 - Os óleos essenciais apresentaram baixa atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH e inibidora do fator de agregação plaquetária. A atividade inibidora de acetilcolinesterase foi detectada apenas nos óleos essenciais dos galhos de *L. martiniana* e das folhas de *M. duckei* e *R. parvifolia*, evidenciando uma diferença da atividade de acordo com a parte da planta estudada, já que, para cada espécie, a atividade foi confirmada em apenas um dos órgãos da planta.

4 – Para todos os óleos essenciais e extratos etanólicos verificou-se que as folhas foram as que forneceram melhor rendimento em massa em relação aos obtidos dos galhos de uma mesma espécie. Isto mostra que, caso a substância de interesse esteja presente em diferentes partes da planta, é vantajoso fazer a extração exclusivamente das folhas, pois além do rendimento ser maior, também é de fácil manejo e favorece a conservação da espécie.

5 – Para os extratos etanólicos, das 12 classes de compostos estudadas mostraram-se mais freqüente a presença de fenóis, taninos condensados, flavanonas, saponinas, esteróide e alcalóides, indicando para estas espécies um possível potencial antioxidante, bactericida, antifúngica, cicatrizante, antineoplásica e anticolinesterásica.

6 – Todos os extratos apresentaram potencial antioxidante frente ao radical livre DPPH, sendo tal atividade mais pronunciada nas espécies *L. martiniana*, *M. itauba* e *S. rubra*. Sendo que a *L. martiniana* também apresentou um alto teor de compostos fenólicos no extrato etanólico dos galhos, justificando seu potencial antioxidante. No extrato das folhas de *O. splendens* também foi indicado um alto teor de compostos fenólicos.

7 – As amostras dos gêneros *Aniba* e *Licaria* apresentaram melhor atividade anticolinesterase e são candidatas a futuro fracionamento bio-guiado para isolamento de princípios ativos capazes de inibir a enzima acetilcolinesterase.

8 – Os extratos etanólicos do gênero *Licaria* foram os que apresentaram melhores atividades contra as células tumorais SF-295, HCT-8 e MDAMB-435. Os extratos mais ativos deverão ser fracionados buscando-se o isolamento de compostos purificados com maior atividade antitumoral.

9 – A amostra das folhas de *A. panurensis* foi a que apresentou melhor atividade nos bioensaios contra os protozoários parasitas *L. amazonensis* e *T. cruzi* e deverá ser fracionada para o isolamento do princípio ativo e novamente testada.

10 – Este estudo abre perspectivas para que novas investigações envolvendo a família Lauraceae sejam realizados, notadamente em relação a definitiva elucidação estrutural dos principais constituintes dos extratos e óleos essenciais proveniente de diferentes partes da planta e no estabelecimento das suas propriedades biológicas.

6 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gás chromatography/ quadrupole mass spectroscopy**, Allured: Card Stream IL, 2001.

AGUIAR, L. M. G. *et al.* Cecilin, a 1-benzyl- β -carboline from *Aniba santaladora*. **Phytochemistry**, n. 19, p. 1859-1860, 1980.

AIBA, C. J.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, O. R. Porosin: a neolignan from *Ocotea porosa*. **Phytochemistry**, v. 12, p. 413-416, 1973.

AIBA, C. J.; CORRÊA, R. G. C.; GOTTLIEB, O. R. Natural occurrence of Erdtman's dehydrodiisoeugenol. **Phytochemistry**, v. 12, p. 1163-1164, 1973.

AIBA, C. J. *et al.* Structure of porosin. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1031-1032, 1976.

_____. Neolignans from *Nectandra miranda*. **Phytochemistry**, v. 16, p. 745-748, 1977.

_____. Benzofuranoid neolignans from *Licaria armeniaca*. **Phytochemistry**, v. 1, p. 2038-2039, 1978.

ALEGRO, L. V. *et al.*, Lignans and neolignans from *Licaria armeniaca*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 1963-1965, 1981.

ALENCAR, J. C.; FERNANDES, N. P. Desenvolvimento de árvores nativas em ensaios de espécies, pau-rosa (*Aniba duckei*, Kostermans). **Acta Amazonica**, v. 8, n. 4, p. 523-541, 1978.

ALENCAR, R. de *et al.* Óleos essenciais de plantas brasileiras. **Acta Amazonica**, v. 1, n. 3, 1971.

ANDRADE, C. H. S.; BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from *Aniba ferrea*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 6, p. 1191-1194, 1980.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2 ed. Viçosa : Editora UFV, 1999.

AUBLET, J. B. C. F. **Histoire des Plantes de la Guiane Française**. London, 1: 327, pl. 124, 1775.

BALLABENI, V. *et al.* Antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from Amazonian Ecuador. **Pharmaceutical Research**, 55, n. 1, 2007.

BARALLE, F. *et al.* Thalictinin from *Ocotea puberula*. **Phytochemistry**, v. 12, p. 948-949, 1973.

BARBOSA-FILHO, J. M ; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from the fruits of *Licaria armeniaca*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 1, p. 319-321, 1987.

BARBOSA FILHO, J. M. *et al.* Neolignans from *Licaria aurea*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 8, p. 2209-2211, 1989.

_____. *Ocotea duckei*: excepcional source of yanganabin and other furofuran lignans. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 71, n. 2, p. 231-238, 1999.

_____. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 258-285, 2006.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; A utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafrás, na síntese de compostos bioativas na cascata do ácido araquidônico: anti-inflamatório, analgésicos e anti-trombóticos. **Química Nova**, v. 22, p. 5, 1999.

BELAICHE, T.; TANTOUI-ELARAKI, A.; IBRAHIMY, A. Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes. **Sciences des Aliments**, v. 15, p. 571-578, 1995.

BERRIDGE *et al.* The biochemical and cellular basics of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, v. 4, p. 14-19, 1996.

BIERER, L. M. *et al.* Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. **Journal of Neurochemistry**, v. 64, n. 749, 1995.

BLANCO, L.C. *et al.* Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória de extratos brutos de *Stachytarpheta cayennensis* e *Pleurothyrium bahiense*. **Revista Universidade Rural, Série Ciência e vida**. Seropédica, RJ, EDUR, v. 25, n. 1, p. 78-84, 2005.

BLOIS, M. S. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2774-2779, 1998.

BONOLI, M. *et al.* Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, v. 52, p. 5195-5200, 2004.

BOTEGA, C. *et al.* Benzylisoquinoline alkaloids and eudesmane sesquiterpenes from *Ocotea pulchella*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 5, p. 1331-1333, 1993.

BRAZ-FILHO *et al.* Neolignans from *Licaria rigida*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2049-2050, 1981.

BRYLIAKOV, K. P.; TALSI, E. P.; STAS'KO, S. N.; Kholdieva, O. A.; POPOV, S. A.; TRACHEV, A. V. Stereoselective oxidation of linalool with tert-butyl hydroperoxide, catalyzed by a vanadium (V) complex with a chiral terpenoid ligand. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, n. 194, p. 79-88, 2003.

BROCHINI, C. B. *et al.* Identificação de componentes de óleos voláteis: análise espectroscópica de misturas de sesquiterpenos. **Química Nova**, São Paulo, n. 1, jan./fev. 1999.

BUCKLE, J. Aromatherapy. **Nursing Times**, v. 89, n. 20, p. 32-35, 1993.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 37-39, 2000.

CAROLL, A. R. A benzyloquinoline alkaloid from *Doryphora sassafras*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 1572-1573, 2001.

CAVÉ, A.; LEOEUF, M.; WATERMAN, P. G. **Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives**. Pelletier. S. W., ed.; John Wiley & Sons: Nova Iorque, v. 5, 1987.

CHAAR, J. da S. Estudos analíticos e modificação química por acetilação do linalol contido no óleo essencial da espécie *Aniba duckei* Kostermans. Tese (doutorado em química). Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

CHAN-BOCAB, M.J.; PENA-RODRÍGUEZ, L.M. Plant natural products with leishmanial activity. **The royal society of chemistry**, v. 18, p. 674-688, 2001.

CHANDERBALI, A. S. *Endlicheria*. Flora Neotropica, **Monograph**, v. 91, p. 1-141, 2004.

CHENG S. –S. *et al.* Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, n. 89, p. 99-102, 2003.

CHÉRIGO, L. *et al.* Antitrypanosomal activity of a novel norlignan purified from *Nectandra lineata*. **Natural Product Research**, v. 19, n. 4, p. 373-377, 2005.

CHINO, I. B. *et al.* Chemical and biological studies on two *Helichrysum* species of Greek origin. **Planta Medica**, v. 62, p. 377-379, 1996.

CHRISTOPHER, D. C.; ROWETT, A. I. The use of cuticular features in the taxonomy of the Lauraceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 83, p. 419-432, 1996.

CICCIÓ, J.F.; CHAVERRI, C. Volatile constituents of the oils from *Povedadaphne quadripinata* (Lauraceae) from “Alberto M. Brenes” biological preserve, Costa Rica. **Química Nova**, v. 31, n. 3 605-609, 2008.

COLLABORATIVE meta-analyses of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients; **BMJ**. n. 324, p. 71, 2002.

CORDELL, G. A.; QUIRN-BEATTIE, M. L.; FARNSWORTH, N. R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 183-205, 2001.

CORREA, J. A. *et al.* Virgin olive oil polyphenol hydroxytyrosol acetate inhibits *in vitro* platelet aggregation in human whole blood: comparison with hydroxytyrosol and acetylsalicylic acid. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 8, p. 1157-1164, 2009.

COSTA, L. G. S.; OHASHI, S. T.; DANIEL, O. O pau-rosa – *Aniba rosaeodora*, Ducke. Belém: FCAP. **Serviço de Documentação e Informação**, 15 p., 1995.

COY, E. D.; CUCA, L. E.; SEFKOW, M. Macrophylin – type bicyclo [3.2.1] octanoid neolignans from the leaves of *Pleurothyrium cinereum*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 7, p. 1245-1248, 2009.

DAVID, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from bark and leaves of *Ocotea porosa*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 2, p. 491-499, 1994a.

_____. Phenylpropanoid – catechins from bark of *Ocotea porosa*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 2, p. 545-546, 1994b.

DAVIS, P. **Aromaterapia**. São Paulo: Martins Fontes, 1996.

DE CARVALHO, M. G.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. The chemistry of brasilian Lauraceae. 79. Neolignans from *Nectandra puberula*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 1, p. 269-272, 1987.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2 nd ed. John Wiley & Sons, Ltd., 2002.

DIAS, A. de F.; GIESBRECHT, A. M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignanas from *Urbanodendron verrucosum*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 5, p. 1137-1139, 1982.

DIAS, S. M. C. *et al.* Eusederins and other neolignans from an *Aniba* species. **Phytochemistry**, v. 25, n. 1, p. 213-217, 1986.

DIAS, D. A.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Further neolignans from *Ocotea porosa*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 11, p. 2613-2616, 1986.

DIAZ, A. M. P. *et al.* The chemistry of Brazilian Lauraceae XLVI. Note on *Aniba* species. **Acta Amazonica**, v. 7, n. 1, p. 41-43, 1977.

DODSON, C. D. *et al.* Neolignans from fruits of *Ocotea veraguensis*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 7, p. 2037-2040, 1987.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, n. 82, p. 47-95, 2002.

EL-FERALY, F. S. Randainol: a neolignan from *Sassafras randaiense*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 10, p. 2329-2331, 1984.

ELISABETSKY, E.; BRUM, L. F. S.; SOUZA, D. O. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. **Phytomedicine**, v. 6, p. 107-113, 1999.

ELLMAN, G. L. *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

FARIAS, J. L. G. de. **Tópicos especiais em tecnologia de produtos naturais**. Série Poema, 1998.

- FELÍCIO, J. D. *et al.* Further neolignans from *Ocotea aciphylla*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 7, p. 1707-1710, 1986.
- FERNANDES, E.S. *et al.* Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-transcaryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, p. 228-236, 2007.
- FERREIRA, M. J. P. Computer-aid method for identification of components in essential oils by ¹³C NMR spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, n. 447, p. 125-134, 2001.
- FERREIRA, Z. S. *et al.*, An unusual porosin type neolignan from *Licaria chrysophylla*. **Phytochemistry**, v. 21, n. 11, p. 2756-2758, 1982.
- FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine and tryptophane determination in proteins. **Journal of Biology and Chemistry**, v.73, p. 424-427, 1927.
- FRANCA, N. C.; GOTTLIEB, O. R. Macrophyllin, a neolignan from *Licaria macrophylla*. **Phytochemistry**, v. 13, p. 2839-2842, 1974.
- GARCIA, E. S. *et al.* Effects of lignoids on a hematophagous bug, *Rhodius prolixus*: feeding, ecdysis and diuresis. **Phytochemistry**, v. 55, p. 611-616, 2000.
- GHELARDINI, C. *et al.* Local anaesthetic activity of beta-caryophyllene. **II Farmaco**, v. 56, p. 387-389, 2001.
- GIESBRECHT, A. M.; FRANCA, N. C.; GOTTLIEB, O. R. The neolignans of *Licaria canella*. **Phytochemistry**, v. 13, p. 2285-2293, 1974.
- GIESBRECHT, A. M.; SOUZA, J. R.; AGUIAR, L. M. G. Synthesis and antibiotic activity of some β-carboline alkaloids. **Supl. Acta Amazonica**, v. 18, n. 1-2, p. 329-332, 1989.
- GONÇALVES, N. B.; CORREA, J. C.; GOTTLIEB, O.R. Analeptic action of anibine. **Nature**, oct 4, v. 182, n. 4640, p. 938-939, 1958.
- GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. p. 585-599, 2006.
- GOODNIGHT, S. H. *et al.* Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis. **Arteriosclerosis**, v. 2, p. 87-113, 1982.
- GORDON, M.H. Dietary antioxidants in disease prevention. **Natural Products Report**, v.4, p. 265-272, 1996.
- GOTTLIEB, O. R. *et al.* Óleos essenciais da Amazônia VII. **Acta Amazonica**, v. 11, n. 1, p. 143-148, 1981.
- GOTTLIEB, O. R.; MORS, W. B. Potential utilization of Brazilian wood extractives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 28, n. 2, p. 196-215, 1980.

- GUILHON, G. M. S. P *et al.* Biciclo [3.2.1] octanoid neolignans from *Licaria brasiliensis*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 8, p. 2847-2850, 1992.
- GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Aporphine alkaloids. **Lloydia**, v. 38, n. 4, p. 275, 1975.
- HAGGLUND, E. **Chemistry of wood**. New York: Academic Press, p. 250, 1964.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. Clarendon, Oxford, 936p., 2000.
- HALL, P.; WALKER, S.; BAWA, K. Effects of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. **Conservation Biology**, v. 10, p. 757-768, 1996.
- HARAGUCHI, M. *et al.*, Neolignans from *Ocotea catharinensis*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 2, p. 561-563, 1983.
- HENRIQUES, A. T. *et al.* Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. *Apud*: SIMÕES, C. M. O *et al.* (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: Editora Universidade, UFRGS, p. 765, 2003.
- HOET, S. *et al.* Alkaloids from *Cassytha filiformes* and related aporphines: antitrypanosomal activity, cytotoxicity, and interaction with DNA and topoisomerases. **Plant Medicine**, v. 70, n. 5, p. 407-413, 2004.
- HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. EdUFSCar: São Paulo, 2003.
- INDRA, B. *et al.* Structure-activity relationship of (\pm)-nantenine derivatives in α -1-adrenoreceptor activity. **European Journal of Pharmacology**, n. 437, p. 173-178, 2002.
- ISHIGE, M. *et al.* Neolignans from *Ocotea catharinensis*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 4121-4128, 1991.
- III JORNADA Paulista de Plantas Mediciniais / I Encontro Racine de Fitoterapia e Fitocosmético. Out./ 1997, Campinas. **Taninos e lignanas: características químicas, farmacológicas e de manipulação**. RACINE Qualificação e Assessoria S/C Ltda, p. 29.
- KAMETANI, T.; IHARA, M.; HONDA, T. Recent chemical progress in berberine alkaloids. **Heterocycles**, v. 4, n. 3, p. 595-624, 1976.
- KASHIWADA, Y. *et al.* Anti-HIV benzyloisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 443-448, 2005.
- KHAN, M. R.; GRAY, A. I.; WATERMAN, P. G. Neolignans from stem bark of *Ocotea veraguensis*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 4, p. 1155-1158, 1987.

- KLAUSMEYER, P. *et al.* A novel antimicrobial indolizinium alkaloid from *Aniba panurensis*. **Journal Natural Products**, v. 67, n. 10, p. 1732-1735, 2004.
- KURZ, H. Revision der Gattung *Licaria* (Lauraceae). **Mitteilungen aus dem Institut für Allgemeine Botanik Hamburg**, v. 28/29, p. 89-221, 2000.
- LAKS, J.; ENGELHARDT, E. O. Diagnóstico clínico e o diagnóstico diferencial. *Apud*: LAKS, J.; ENGELHARDT, E. O. (Orgs.). **Doença de Alzheimer; diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Segmento, 2003.
- LARA, A.; VALVERDE, R.; GÓMEZ, L.; HIDALGO, N. Micropropagación de la planta medicinal *Psychotria acuminata*. **Agronomía Costarricense**, v. 27, n. 2, p. 7-20, 2003.
- LAVABRE, M. **Aromaterapia**. Rio de Janeiro: Edição Record, 1990.
- LEITE, A. M. *et al.* Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 121-126, 2007.
- LESSA, I. Epidemiologia das doenças cerebrovasculares no Brasil. **Revista da Sociedade de Cardiologia**. Estado de São Paulo, n. 4, p. 509, 1999.
- LEWIS, S. M. **Hematologia prática de Dacie e Lewis**. Tradução Renato Failece, 9 ed, Porto Alegre: Artmed, 572 p. 2006.
- LIMA, S.M.V. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- LOBATO, A. M. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 19 (único), p. 355-363, 1989.
- LOPES, M. N. *et al.*, Unusual benzofuranoid neolignans from *Licaria chrysophylla*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 11, p. 2609-2612, 1986.
- MA, T.P. The Basal Ganglia. *Apud*: HAINES, D.E. **Fundamental of Neuroscience**. Churchill Livingstone, New York, p.363-378, 1997.
- MA, W.W.; ANDERSON, J. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Bioactive benzyl benzoates from the roots of *Endlicheria dysodantha*. **Pharmaceutical Biology**, v. 29, n. 3, p. 237-239, 1991.
- MA, W. W.; KOZLOWSKI, J. F.; MCLAUGHLIN, J. L. Bioactive neolignans from *Endlicheria dysodantha*. **Journal of Natural Products**. v. 54, n. 4, p. 1153-1158, 1991.
- MADRIÑÁN, S. *Rhodostemonodaphne* (Lauraceae). **Flora Neotropica**. Monograph 92. New York, New York Botanical Garden. 2004.

- MAGALHÃES, L. M. S.; ALENCAR, J. C. Fenologia do pau-rosa (*Aniba duckei* kostermans), Lauraceae, em floresta primária na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 9, n. 2, p. 227-232, jun. 1972.
- MAIA, J. G. S *et al.* Plant sources of Amazon rosewood oil. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1906-1910, 2007.
- MAIA, J. G. S.; RAMOS, L. S.; LUZ, A. I. R. Estudo do óleo essencial do puxuri por cromatografia de gás/ espectrometria de massa (CG/EM). **Acta Amazonica**, v. 15, n. 1-2, p. 179-183, 1985.
- MARICONI, F. A. M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. 7 ed. São Paulo: Nobel, Tomo II, 466 p. 1983.
- MARQUES, C. A. Importância econômica da família Lauraceae. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 195-206, Jan./Dez., 2001.
- MARQUES, M. O. M. *et al.* Neolignans from *Licaria aurea*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 1, p. 360-361, 1992a.
- _____. Bicyclo [3.2.1] octanoid neolignans from *Ocotea porosa*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 1, p. 275-277, 1992b.
- MARTINES, S. T.; ALMEIDA, M. R.; PINTO, A. C. Alucinógenos naturais: um voo da Europa Medieval ao Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2501-2507, 2009.
- MARTINS, A. P. Essential oils from four *Piper* species. **Phytochemistry**, v. 19, p. 2019-2023, 1998.
- MARTINS, R. C. C. *et al.* Trypanocidal tetrahydrofuram lignans from inflorescences of *Piper solmsianum*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 667-670, 2003.
- MEIRELLES, U. M. F. *et al.* Algumas ações biológicas do 1-(p-metoxibenzil)-6,7-metilenodioxiiisoquinolina. **Acta Amazonica**, v. 7, n. 1, p. 39-40, 1979.
- MENSOR, L. L. Screening of brazilian plant extract for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 127, 2001.
- MEZ, C. Lauraceae Americanae. **Jahrbuch Königlchen Botanischen Gartens**, v. 5, p. 1-556, 1889.
- MINISTÉRIO da Saúde; Mensagem aos médicos. **Câncer Fundamentos, Secretária de Assistência Médica-Divisão Nacional de Câncer**; Brasília, 1971, p. 7-47.
- MITZA, D.; LESCURE, J. P. Madeira para perfume: qual será o destino do pau-rosa? *Apud*: EMPERAIRE, L. (Coord.). **A floresta e jogo. O extrativismo na Amazônia Central**. Editora UNESP, São Paulo, p. 93-102, 2000.

MIYAZAMA, M. *et al.* Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a *p*-menthane skeleton. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 677-679, 1997.

_____. Inhibition of acetylcholinesterase activity by essential oils of *Mentha* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 3431-3434, 1998.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V.S. Planejamento racional de fármacos baseados em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, p. 105-111, 2001.

MORAIS, A. A. *et al.* Óleos essenciais de espécies do gênero *Aniba*. **Acta Amazonica**, v. 2, n. 1, 1972.

MOREL CM, LAZDINS J. Chagas disease. **Nature Reviews Microbiology**. v. 1, p. 14-15, 2003.

MORS, W. B; MAGALHÃES, M. T.; GOTTLIEB, O. R. The chemistry of the genus *Aniba*. X. *Aniba fragrans* Ducke, a valid species. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 19, p. 193-197, 1960.

MOTIDOME, M.; GOTTLIEB, O. R.; KUBITZKI, K. The chemistry of Brazilian Lauraceae. LXXI. Styrylpyrones of *Aniba panurensis* and *A. permollis*. **Acta Amazonica**, v. 12, n. 3, p. 667-668, 1982.

NARAYANA, M. *et al.* Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 33, n. 2-16, 2001.

NEES, C. G. D. Revisio Laurinarum ab Sellowio in Brasilia collectarum et iam in Herbario Regio Berolinensi asservatarum. **Linnaea**, v. 8, n. 1, p. 36-51, 1833.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. Apud: SIMÕES, O. M. C. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/ UFRG/ Ed. Fa UFSC, p. 11-24, 1999.

O EXTRATIVISMO do pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans) – *A. rosaeodora*, Duckei. **SUDAM documenta**, Belém, v. 3, n. 1/4, p. 5-55, out/set, 1971/72.

OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Produtos naturais bioativos de plantas brasileiras e sua contribuição para o desenvolvimento da química medicinal. **Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica**, v. 1, p. 49-58, 2003.

OLIVEIRA, R. B.; ALVES, R. J. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25, p. 976, 2002.

- OLIVEIRA, A. L. S.; FIGUEIREDO, A. D. L. Prospecção fitoquímica das folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl., 2, p. 384-386, 2007.
- PACCIARONI, A. V. *et al.* Bioactive constituents of *Conyza albida*. **Planta Medica**, v. 66, p. 720-723, 2000.
- PACKAM, M. A. Roles on platelets in thrombosis and hemostasis. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, n. 72, p. 278, 1994.
- PALAZZO, M. C. *et al.* Chemical compositions and cytotoxic activities of leaf essential oils of four Lauraceae tree species from Monteverde, Costa Rica. **Records of Natural Products**, v. 3, n. 1, p. 32-37, 2009.
- PASSOS, G.F. *et al.* Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323-333, 2007.
- PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J. Linking photorespiration, monoterpenes and hermotolerance in *Quercus*. **New Phytologist**, v. 155, p. 227-238, 2002.
- PEÑUELAS, J.; MUNNÉ-BOSCH, S. Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 166-169, 2005.
- PERRY, N. S. L. *et al.* In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituents terpenes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 52, n. 7, p. 895-902, 2000.
- PINTO, C. A.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPEZ, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. supl.1, p. 45-61, 2002.
- PRATES, H. T. *et al.* Identification of some chemical components of some chemical components of the essential oil from molasses grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their activity against cattle-tick (*Boophilus microplus*). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, p. 193-197, 1998.
- QUINET, A.; ANDREATA, R. H. P. Lauraceae Jussieu na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, município de Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 82, p. 59-121, 2002.
- REY, L. **Parasitologia**. 2nd ed. Ed. Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, RJ, 1991.
- REZENDE, C. M. A. M. *et al.* The 2-pyrone of *Aniba* species. **Phytochemistry**, v. 10, p. 3167-3172, 1971.
- RHEE *et al.* Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, v. 915, p. 217-223, 2001.

- RIBEIRO, J. E. L. S. *et al.* **Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central.** Manaus: INPA, p. 816, 1999.
- RIBEIRO, R. A. *et al.* Nantenine blocks muscle contraction and Ca^{2+} transient induced by noradrenaline and k^+ in rat vas deferens. **European Journal of Pharmacology**, Inglaterra, v. 470, p. 37-43, 2003.
- RICHTER, H. G. Wood and bark anatomy of Lauraceae I. Aniba Aublet. **IAWA Bulletin n. s.**, v. 2, n. 2-3, p. 79-87, 1981.
- RODRIGUES, M. de M. *et al.* Structural confirmation of neolignans. **Phytochemistry**, v. 23, n. 3, p. 667-669, 1984.
- ROHWER, J. G. The genera *Dicypellium*, *Phyllostemodaphne*, *Systemonodaphne* and *Urbanodendron* (Lauraceae). **Botanische Jahrbücher für Systematik**. v. 110, n. 2, p. 157-171, 1988.
- ROHWER, J. G. Lauraceae. *Apud*: KUBITZKI, K.; ROHWER, J. G.; BITTRICH, V. (eds.). **The families and genera of vascular plants**. v. 2. Berlin, Springer – Verlag, 1993.
- ROWEL, R. **The chemistry of solid wood.** Washington DC: Department of Agriculture – USDA, Forest Service, p. 314-318, 1987.
- SALDANA, M. D. A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R. S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com C supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 4, p. 371-376, 1997.
- SALMONM, S.E. **Farmacologia Básica & Clínica.** Katzung, B.G., ed.; Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, p. 629-655, 1998.
- SANGIRARDI JR. **Botânica fantástica: plantas da mitologia, religião, magia.** Ed. Brasiliense, São Paulo, 113 p, ilustr., 1984.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. *Apud*: SIMÕES, O. M. C. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/ UFRG/ Ed. Fa UFSC, p. 959, 2003.
- SANTOS-FILHO, D.; GILBERT, B. The alkaloids of *Nectandra megapotamica*. **Phytochemistry**, v. 14, p. 821-822, 1975.
- SANTOS-FILHO, D.; SARTIS, S. J. Alcalóides de *Nectandra megapotamica* (Spring) Chodat Et Hassler: Atividade inibidora do desenvolvimento de *Crithidia fasciculata* e *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto**, v. 17, n. 1, p. 21-24, 1980.
- SARTORELLI, P. *et al.* Enantioselective conversion of *p*-hydroxypropenylbenzene to (+)-conocarpan in *Piper regnellii*. **Plant Science**, v. 161, p. 1083-1088, 2001.

SCHULZ, J.B. *et al.* Glutathion, oxidative stress and neurodegeneration. **European Journal of Biochemistry**, n. 267, p. 4904, 2000.

SEHLAPELO, B. M.; DREWES, S. E.; SANDOR, P. Ocobullenone: a bicyclo [3.2.1] octanoid neolignan from *Ocotea bullata*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 5, p. 1352-1353, 1993.

SHAH, H.; GONDEK, K.; Aspirin plus extended-release dipyridamole or cloridogrel compared with aspirin monotherapy for the prevention of recurrent ischemic stroke: a cost-effectiveness analysis. **Clinical Therapeutics**, n. 22, p. 362, 2002.

SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHEPHERD, G. J. **Conhecimento de diversidade de plantas terrestres do Brasil**. Ed. Unicamp: São Paulo, p. 19, 2000.

SIANI, A. C. *et al.* **Óleos essenciais – potencial anti-inflamatório**. **Biotecnologia**. Brasília: KL3 Comunicação, ano III, p. 38-43, 2000.

SIDDIQUI, B. S. Na amide from fruits of *Piper nigrum*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 8, p. 1617-1619, 1997.

SILVA, D. D. da *et al.* Quantificação do linalol no óleo essencial da *Aniba duckei* utilizando uma nova coluna capilar de POLYH4-MD em cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 26, n. 4. São Paulo, jul./ago. 2003.

SILVA, I. G. *et al.* Coclaurine from *Ocotea duckei*. **Biochemical Systematics and Ecology**, n. 30, p. 881-883, 2002.

SILVA, J. B. C.; NAKAGAWA, J. Estudo de fórmulas para cálculo da velocidade de germinação. **Informativo ABRATES**, v. 5, n. 1, p. 62-73, 1995.

SILVA, J. R. A. *et al.* Chemical and biological evaluation of essential oils with economic value from Lauraceae species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1071-1076, 2009.

SILVA, M. *et al.* **Química de los triterpenos**. Washington D. C. Secretaria General de la Organizacion de los Estados Americanos, p. 327-331, 1992.

SILVA, M. L. *et al.* Óleos essenciais da Amazônia VI. **Acta Amazonica**, v. 3, n. 3, 1973.

SILVA, M. L.; MAIA, J. G. S. Arylpropanoids from *Licaria puchury-major*. **Phytochemistry**, v. 12, p. 471-472, 1973.

SILVA, R. *et al.* γ -lactones from *Mezilaurus synandra*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 3, p. 772-773, 1983.

SILVA, W. D.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, O. R. Bicyclooctanoid neolignans from *Ocotea costulatum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 2, p. 661-662, 1989.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia : da planta ao medicamento.** Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade / UFRGS / Ed. da UFSC, 2003.

SKEHAN *et al.* New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107-1112, 1990.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005.

SPENCE, R. A. J.; JONHSTON, P. G. **Oncology.** Jonhston, P. G., ed; Oxford University Press: Oxford, p. 1-14, 121-132, 2001.

STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUENTIN-LECLERCQ, J. Anticancer agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 5, p. 173, 2005.

STROBL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today**, v. 5, p. 29-41, 2000.

SUGAWARA, Y. *et al.* Sedative effect on humans of inhalation of essential oil of linalool: sensory evaluation and physiological measurements using optically active linalools. **Analytica Chimica Acta**, v. 365, p. 293-299, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Surface protection and secondary metabolites defense compounds. *Apud:* TAIZ, L.; E. ZEIGER (eds.). **Plant Physiology.** Califórnia: Cummins company, p.318-345, 1991.

TELASCREA, M. *et al.* Essential oils from leaves of *Cryptocarya* spp from the Atlantic rain forest. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 503-507, 2008.

TYRREL, M. H. **Evolution of natural flavor development with the assistance of modern technologies.** *Fd. Tech.* January, 68-72, 1990.

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003.

TREVISAN, L. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from *Aniba citrifolia*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 3, p. 701, 1984a.

_____. Hexahydrobenzofuranoid neolignans from an *Aniba* species. **Phytochemistry**, v. 33, n. 3, p. 661-665, 1984b.

ULUBELEN, A. *et al.* Terpenoids from *Salvia sclarea*. **Phytochemistry** v. 36, p. 971-974, 1994.

URBINA, J. A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. **Trends Parasitology**, v. 19, p. 495-501, 2003.

VIAL-DEBAS, C. Da tora ao linalol: uma interface economia ecologia. Apud: EMPERAIRE, L. (Coord.). **A floresta e, jogo. O extrativismo na Amazônia Central**. Editora UNESP, São Paulo, p. 183-190, 2000.

VIEGAS JR., C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, A. N. Aspectos silviculturais do “pau-rosa” (*Aniba duckei* Kostermans). I. Estudos preliminares sobre o incremento volumétrico. **Boletim do INPA**. v. 14, n.1, p. 1-14, 1970.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**. 2 ed. New York: Springer Verlag, 1996.

WERFF, H. van der. A revision of the genus *Mezilaurus* (Lauraceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, n. 74, p. 153-182, 1987.

WERFF, H. van der. A revision of the genus *Pleurothyrium* (Lauraceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, n. 80, p. 39-118, 1993.

WOO, S.H. *et al.* Topoisomerase II inhibition by aporphine alkaloids. **Biochemical Pharmacology**, v. 57, n. 10, p.1141-1145, 1999.

WOODS, B.; CALMAN, C. D. Toxic woods. **British Journal of Dermatology**, v. 94, (supplement 13), p. 99, 1976.

WORWOOD, S. **Aromaterapia: um guia de A a Z para o uso terapêutico dos óleos essenciais**. São Paulo: Best Seller, 1995.

YANEZ, R. X; DIAZ, A. M. P; DIAZ, P.P. Neolignans from *Mezilaurus itauba*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 8, p. 1953-1956, 1986.

YAO, Y. *et al.* Anti-tumor effect of β -elemene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK activation. **Cancer Letters**, v. 264, n. 1, p. 127-134, 2008a.

_____. Effect of p38 MAPK on elemene-induced cell cycle arrest in C6 glioblastoma cells. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 88, n. 1, p. 56-58, 2008b.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plant. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 11, p. 413-416, 1996.

ZAMBONI, S. Óleos essenciais. **Revista Brasileira de Química**. São Paulo: XCV, 575 (11), p. 106-109, 1983.

ZANIN, S. M. W.; LORDELLO, A. L. L. Alcalóides aporfinóides do gênero *Ocotea* (Lauraceae). **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 92-98, 2007.

ZHAO, J. *et al.* In vitro combination characterization of the news anticancer plant drug beta-elemene with takanes against human lung carcinoma. **Internacional Journal of Oncology**, v. 31, n. 2, p. 241-252, 2007.

ZHENG, G. Q.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. **Journal of Natural Products**, v. 55, p. 999-1003, 1992.