

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO
HEXÂNICO DAS FOLHAS, GALHOS E FRUTOS DE
Eschweilera ovalifolia (DC) Nied. (Lecythidaceae)

CHANDERLEI DE CASTRO TAVARES

MANAUS 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

CHANDERLEI DE CASTRO TAVARES

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO
HEXÂNICO DAS FOLHAS, GALHOS E FRUTOS DE
Eschweilera ovalifolia (DC) Nied. (Lecythidaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. PIERRE ALEXANDRE DOS SANTOS

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. MARIA DE MENESES PEREIRA

MANAUS 2014

FICHA CATALOGRÁFICA

T231c Tavares, Chanderlei de Castro
Caracterização química do extrato hexânico das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. (Lecythidaceae) / Chanderlei de Castro Tavares. 2014
112 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Pierre Alexandre dos Santos
Coorientadora: Maria de Meneses Pereira
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –

Universidade Federal do Amazonas

1. *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.. 2. Castanharana. 3. Triagem fitoquímica. 4. CG-EM. I. Santos, Pierre Alexandre dos II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

CHANDERLEI DE CASTRO TAVARES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO
HEXÂNICO DAS FOLHAS, GALHOS E FRUTOS DE
Eschweilera ovalifolia (DC) Nied. (Lecythidaceae)

Dissertação apresentada à banca aprovada
pelo Programa de Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas, com intuito de obtenção do
título de mestre.

Aprovado em: 28 de março de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. PIERRE ALEXANDRE DOS SANTOS
FCF/UFAM

Prof^a. Dr^a RITA DE CASSIA SARAIVA NUNOMURA
(DQ/UFAM)

Prof^a. Dr^a. MARIA DA PAZ LIMA
(CPPN/INPA)

Dedico aos meus pais Raimunda Alves de Oliveira e João Gomes de Araújo (*in memoriam*), meus irmãos, meu filho Heitor da Silva Tavares e minha namorada Lorrany Ataíde.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador por acreditar que eu poderia desenvolver o projeto, apoio e acompanhamento constante, mesmo após sua ida para outra instituição;

À minha coorientadora pelo apoio e sugestões;

À professora MSc. Fernanda Guilhaon Simplício pela parceria e por passar tanto entusiasmo no que diz respeito às pesquisas em produtos naturais;

Ao professor MSc. Paulo Roberto Castro da Costa pelas dicas e informações de elevado valor prático;

Ao professor Ádley Antonini Neves de Lima pela amizade e parceria em outros trabalhos;

Aos colegas de mestrado pela amizade, compartilhamento de experiências e conhecimentos, em especial para Carol Pacheco, Rodrigo Otávio, Jessyca Celestino, Nayana Yared e Gabrielly Conrado;

À minha namorada Lorrany Ataíde pelo apoio, amor e carinho;

À CAPES pelo apoio financeiro (bolsa);

Aos alunos de iniciação científica do laboratório de produtos naturais: Tallita Machado, Gabriel Oliveira e Marcos Gurgel;

Aos professores, técnicos administrativos, funcionários da conservadora e de segurança da FCF-UFAM.

Finalmente, à banca examinadora por aceitar o convite e, me proporcionar a satisfação de ser avaliado por profissionais tão comprometidos.

"Cada planta é um livro, com informações preciosas, sobre o desenvolvimento da floresta, seu passado remoto, seu futuro. Destruir a floresta é como incendiar mil Alexandrias".

(Otto Gottlieb)

RESUMO

Eschweilera ovalifolia (DC) Nied. (Lecythidaceae) é uma planta nativa do Brasil, porém não endêmica. Pode ser encontrada no estado do Amazonas e em países que fazem parte da Amazônia internacional. Popularmente conhecida como castanharana (Brasil) e machimango (Peru), é uma árvore exclusiva de região periodicamente alagada, podendo atingir aproximadamente de 20-30 m de altura. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo químico do extrato hexânico das folhas, galhos e frutos de *E. ovalifolia*, coletada em Maués-AM. Para tanto, as amostras foram secadas em estufa de ar circulante e trituradas, a fim de se obter os extratos hexânicos. Triagem fitoquímica foi realizada sobre extratos hidroalcoólico e aquoso a 20% dos órgãos estudados. O extrato hexânico das folhas foi fracionado por cromatografia em coluna aberta (CC) e o extrato bruto e suas frações analisaram-se por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), enquanto que os extratos hexânicos dos galhos e frutos foram analisados diretamente por CG-EM. A triagem fitoquímica sugeriu haver diferenças na constituição química entre os órgãos do vegetal em estudo, além disso, sugeriu ausência de cumarinas e antraquinonas para todos os órgãos estudados. Após análise por CG-EM foram identificados hidrocarbonetos, ácidos graxos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e tocoferóis nos extratos apolares das folhas, galhos e frutos. Portanto, quimicamente as partes estudadas não apresentaram diferenças drásticas.

Palavras-chave: *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied., castanharana, triagem fitoquímica, CG-EM.

ABSTRACT

Eschweilera ovalifolia (DC.) Nied. is a plant native to Brazil but, not endemic. Can be found in the state of Amazonas and in countries that are parts of the international Amazon. Popularly known as castanharana (Brazil) and machimango (Peru), it is a unique tree periodically flooded region, reaching approximately 20-30 m in height. The aim of this work was the chemical study of the hexane extract of the leaves branches and fruits *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. (Lecythidaceae), collected in Maués-AM. For both, samples were dried in an oven circulating air and milled in order to obtain the hexane extracts. Phytochemical screening was performed on hydroalcoholic and 20% aqueous extracts of the organs studied. The hexane extract of the leaves was fractionated by column chromatography (CC) and the crude extract and its fractions were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), while the hexane extracts of branches and fruits were analyzed directly GC-MS. Phytochemical screening suggested that there are differences in chemical composition between the organs of the plant under study, moreover, suggested the absence of coumarins and anthraquinones for all organs studied. After analysis by GC-MS were identified hydrocarbons, fatty acids, sesquiterpenes, diterpenes, triterpenes and tocopherols in nonpolar extracts of leaves, branches and fruit. Therefore, chemically parts studied showed no dramatic differences.

Key-Words: *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied., castanharane, Phytochemical screening, GC-MS.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Vias do metabolismo especial..... | 24 |
| Figura 2 – Origem biossintética dos terpenos..... | 25 |
| Figura 3 – Algumas estruturas químicas de núcleos triterpênicos encontradas em Lecythidaceae e outros grupos de plantas..... | 26 |
| Figura 4 – Triterpeno modificado e esteroides..... | 27 |
| Figura 5 – <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC.) Nied. A: Folhas. B: inflorescência. C: flor. D: fruto muito imaturo. E: fruto crescido. F: fruto aberto e suas sementes..... | 33 |
| Figura 6 – Substâncias encontradas em <i>Eschweilera rabeliana</i> Mori e <i>Eschweilera longipes</i> Miers..... | 40 |
| Figura 7 – Substâncias encontradas em <i>Eschweilera rabeliana</i> Mori e <i>Eschweilera longipes</i> Miers..... | 41 |
| Figura 8 – Substâncias encontradas em <i>Eschweilera longipes</i> Miers..... | 42 |
| Figura 9 – Substâncias encontradas em <i>Eschweilera coriaceae</i> Mori..... | 43 |
| Figura 10 – Indivíduo adulto de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC.) Nied. em seu habitat natural..... | 46 |
| Figura 11 – Fluxograma da obtenção dos extratos hexânicos e metanólicos das partes estudadas de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied.... | 47 |
| Figura 12 – Núcleo fundamental dos triterpenos pentacíclicos..... | 51 |
| Figura 13 – Evolução do fracionamento em coluna aberta do extrato hexânico das folhas (EHF) de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC.) Nied..... | 58 |
| Figura 14 – Perfil cromatográfico de EHF..... | 59 |
| Figura 14.1 – Espectro de massas da substância identificada como n-tetradecano..... | 60 |
| Figura 14. 2 – Espectro de massas da substância identificada como 4,4,7 α -trimetil-5,6,7,7 α -tetraidro-2(4 <i>H</i>)-benzofuranona (Didroactinidiolídeo)..... | 61 |
| Figura 14.3 – Espectro de massas da substância identificada como ácido dodecanoico (ácido láurico)..... | 62 |
| Figura 14.4 – Espectro de massas da substância identificada como ácido | |

| | |
|--|----|
| tetradecanoico (ácido mirístico)..... | 62 |
| Figura 14.5 – Espectro de massas da substância identificada como 7,11,15-trimetil-3-metileno-hexadec-1-eno (neofitadieno)..... | 63 |
| Figura 14.6 – Espectro de massas da substância identificada como ácido hexadecanoico (ácido palmítico)..... | 64 |
| Figura 14.7 – Espectro de massas da substância identificada como hexadecanoato de etila (palmitato de etila)..... | 64 |
| Figura 14.8 – Espectro de massas da substância identificada como ácido octadecanoico (ácido esteárico)..... | 65 |
| Figura 14.9 – Espectro de massas da substância identificada como octadecanoato de etila (estearato de etila)..... | 65 |
| Figura 14.10 – Espectro de massas da substância identificada como 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo..... | 66 |
| Figura 14.11 – Espectro de massas da substância identificada como γ -tocoferol..... | 66 |
| Figura 14.12 – Espectro de massas da substância identificada como α -tocoferol (vitamina E)..... | 67 |
| Figura 14.13 – Espectro de massas da substância identificada como estigmasterol..... | 67 |
| Figura 14.14 – Espectro de massas da substância identificada como β -sitosterol..... | 68 |
| Figura 14.15 – Espectro de massas da substância identificada como β -amirina..... | 68 |
| Figura 14.16 – Espectro de massas da substância identificada como β -friedelanol..... | 69 |
| Figura 14.17 – Espectro de massas da substância identificada como friedelina..... | 69 |
| Figura 15 – Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração FRHEO-1.. | 71 |
| Figura 15.1 – Espectro de massas da substância identificada como óxido de cariofileno..... | 72 |
| Figura 15.2 – Espectro de massas da substância identificada como epóxido de humuleno II..... | 73 |
| Figura 15.3 – Espectro de massas da substância identificada como | |

| | |
|---|----|
| tetradecanoato de etila..... | 73 |
| Figura 15.4 – Espectro de massas da substância identificada como fitona..... | 74 |
| Figura 15.5 – Espectro de massas da substância identificada como hexadecanoato de metila (palmitato de metila)..... | 74 |
| Figura 15.6 – Espectro de massas da substância identificada como eicosanoato de etila..... | 75 |
| Figura 16 – Perfil Cromatográfico dos constituintes das frações 75 e 76... | 77 |
| Figura 16.1 – Espectro de massas da substância identificada como octadecadienoato de metila (linoleato de metila)..... | 78 |
| Figura 17 – Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração FRHEO-2... | 78 |
| Figura 18 – Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração 87..... | 79 |
| Figura 18.1 – Espectro de massas da substância identificada como 4-alil-2-metoxifenol (eugenol)..... | 80 |
| Figura 18.2 – Espectro de massas da substância identificada como 3,7,11-trimetil-1, 6,10-dodecatrien-3-ol (nerolidol)..... | 80 |
| Figura 18.3 – Espectro de massas da substância identificada como 2,6,9,9-tetrametil-2,6,10-cicoundecatrien-1-ona (zerumbona)..... | 81 |
| Figura 18.4 – Espectro de massas da substância identificada como 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona..... | 81 |
| Figura 18.6 – Espectro de massas da substância identificada como manool..... | 82 |
| Figura 19 – Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração 88..... | 83 |
| Figura 20 - Perfil Cromatográfico dos precipitados 1 e 2..... | 84 |
| Figura 21 – Perfil Cromatográfico dos constituintes presentes no extrato hexânico dos galhos (EHGA)..... | 86 |
| Figura 21.1 – Espectro de massas da substância identificada como ácido octadecadienoico (ácido linoleico)..... | 87 |
| Figura 21.2 – Espectro de massas da substância identificada como ácido octadec-13-enoico..... | 88 |
| Figura 21.3 – Espectro de massas da substância identificada como β -amirenona..... | 88 |

| | |
|--|----|
| Figura 21.4 – Espectro de massas da substância identificada como acetato de β -amirina..... | 89 |
| Figura 21.5 – Espectro de massas da substância identificada como acetato de β -amirenona..... | 90 |
| Figura 22 – Perfil Cromatográfico dos constituintes presentes no extrato hexânico dos frutos (EHFr)..... | 93 |
| Figura 22.1 – Espectro de massas da substância identificada como deca-2,4-dienal..... | 94 |
| Figura 22.2 – Espectro de massas da substância identificada como ácido pentadecanoico..... | 94 |
| Figura 22.3 – Espectro de massas da substância identificada como tetracosanoato de metila..... | 95 |
| Figura 22.4 – Espectro de massas da substância identificada como cicloartenol..... | 95 |
| Figura 22.5 – Espectro de massas da substância identificada como 24-metilenocicloartenol..... | 96 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Eluentes e suas proporções utilizadas no fracionamento do extrato hexânico das folhas (EHF) de <i>Eschweilera ovalifolia</i> em coluna cromatográfica (FE: sílica gel)..... | 54 |
| Tabela 2 - Frações/frações reunidas, frações coletadas e precipitados analisados por CG-EM e suas respectivas massas..... | 55 |
| Tabela 3 - Massas e rendimentos dos extratos hexânicos (HEX) e metanólicos (MeOH) das folhas, galhos e frutos de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied..... | 56 |
| Tabela 4 - Testes fitoquímicos para os extratos hidroetanólico e aquoso a 20% das folhas, galhos e frutos de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied..... | 57 |
| Tabela 5 - Substâncias identificadas em EHF e seus respectivos índices de similaridade (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), razão massa/carga do pico base (P.B), fórmula molecular (F.M) e massa molecular (M.M)..... | 70 |
| Tabela 6 - Substâncias identificadas na amostra FRHEO-1 e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM)..... | 76 |
| Tabela 7 - Substâncias identificadas na fração 87 e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM)..... | 83 |
| Tabela 8 - Substâncias identificadas na fração 88 e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM)..... | 84 |
| Tabela 9 – Substâncias identificadas em EHF e suas frações/frações reunidas distribuídas por classe química..... | 85 |
| Tabela 10 – Substâncias identificadas em EHGA e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM)..... | 90 |
| Tabela 11 – Substâncias identificadas em EHGA distribuídas por classe química..... | 92 |
| Tabela 12 – Substâncias identificadas em EHFr e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM)..... | 97 |

| | |
|--|----|
| Tabela 13 – Substâncias identificadas em EHF _r distribuídas por classe química..... | 98 |
|--|----|

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 – Subfamílias, regiões e gêneros de Lecythidaceae..... | 31 |
| Quadro 2 – Sesquiterpeno de Lecythidaceae..... | 34 |
| Quadro 3 – Norisoprenoides de Lecythidaceae..... | 35 |
| Quadro 4 – Derivado de ácido graxo de Lecythidaceae..... | 35 |
| Quadro 5 – Tocoferóis de Lecythidaceae..... | 35 |
| Quadro 6 – Triterpenos de Lecythidaceae..... | 36 |
| Quadro 7 – Saponina de Lecythidaceae..... | 36 |
| Quadro 8 – Esteróide de Lecythidaceae..... | 37 |
| Quadro 9 – Ácidos fenólicos, flavonoides e derivados de Lecythidaceae..... | 37 |
| Quadro 10 – Triterpenos de <i>Eschweilera</i> | 37 |
| Quadro 11 – Esteróides de <i>Eschweilera</i> | 37 |
| Quadro 12 – Saponina de <i>Eschweilera</i> | 38 |
| Quadro 13 – Tocoferol e tocotrienol de <i>Eschweilera</i> | 38 |
| Quadro 14 – Polifenóis, ácido fenólico e flavonoide de <i>Eschweilera</i> | 39 |
| Quadro 15 – Metabólitos de <i>Eschweilera rabeliana</i> Mori..... | 39 |

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AcOEt – Acetato de etila

CC – Cromatografia em coluna

CCDC – Cromatografia em camada delgada comparativa

CG-EM – Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

EHF – Extrato hexânico das folhas

EHFr - Extrato hexânico dos frutos

EHGA – Extrato hexânico dos galhos

FE – Fase estacionária

FM – Fórmula molecular

FRHEO – Fração do extrato hexânico das folhas

HEX – Hexano

IS – Índice de similaridade

MeOH – Metanol

MM – Massa molecular

PB – Pico base

T_R – Tempo de retenção

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 18 |
| 2 | OBJETIVOS | 20 |
| | 2.1 Objetivo geral..... | 20 |
| | 2.2 Objetivos específicos..... | 20 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 21 |
| | 3.1 Metabolismo vegetal..... | 21 |
| | 3.2 Terpenos..... | 22 |
| | 3.3 Aspectos gerais sobre a fitoquímica..... | 28 |
| | 3.4 Aspectos biológicos e ecológicos..... | 30 |
| | 3.4.1 Lecythydaceae..... | 30 |
| | 3.4.2 Lecythydoideae..... | 32 |
| | 3.4.2.1 <i>Eschweilera</i> | 32 |
| | 3.4.2.2 <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied..... | 33 |
| | 3.5 Aspectos químicos | 34 |
| | 3.5.1 Lecythydaceae..... | 34 |
| | 3.5.2 <i>Eschweilera</i> | 38 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 44 |
| | 4.1 Materiais e instrumentos utilizados..... | 44 |
| | 4.2 Material vegetal..... | 45 |
| | 4.3 Preparo do material vegetal..... | 46 |
| | 4.4 Preparo dos extratos..... | 46 |
| | 4.5 Triagem fitoquímica..... | 47 |
| | 4.5.1 Ensaio fitoquímico..... | 48 |
| | 4.5.1.1 Preparo do extrato hidroetanólico a 20%..... | 48 |
| | 4.5.1.2 Preparo do extrato aquoso a 20%..... | 48 |
| | 4.5.1.3 Pesquisa de alcaloides..... | 49 |
| | 4.5.1.4 Pesquisa de ácidos orgânicos | 49 |
| | 4.5.1.5 Pesquisa de fenóis..... | 49 |
| | 4.5.1.6 Pesquisa de flavonoides..... | 49 |
| | 4.5.1.7 Pesquisa de cumarinas..... | 50 |
| | 4.5.1.8 Pesquisa de antraquinonas..... | 50 |
| | 4.5.1.9 Pesquisa de triterpenos e esteroides..... | 50 |
| | 4.5.1.10 Pesquisa de heterosídeos antociânicos..... | 51 |
| | 4.5.1.11 Pesquisa de heterosídeos saponínicos..... | 51 |
| | 4.5.1.12 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos..... | 51 |
| | 4.5.1.13 Pesquisa de gomas, taninos e mucilagens..... | 52 |
| | 4.5.1.14 Pesquisa de taninos..... | 52 |
| | 4.5.1.15 Pesquisa de aminogrupos..... | 52 |
| | 4.5.1.16 Pesquisa de ácidos voláteis..... | 52 |
| | 4.5.1.17 Pesquisa de ácidos fixos..... | 53 |
| | 4.6 Análise do extrato hexânico das folhas, galhos e frutos de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied. por CCDC..... | 53 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.7 | Fracionamento por cromatografia em coluna aberta do extrato hexânico das folhas de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied..... | 53 |
| 4.8 | Análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas..... | 54 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 56 |
| 5.1 | Obtenção dos extratos..... | 56 |
| 5.2 | Análise fitoquímica para os extratos hidroetanólico e aquoso a 20% das folhas, galhos e frutos de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied..... | 56 |
| 5.3 | Fracionamento do extrato hexânico das folhas (EHF) de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied. por cromatografia em coluna aberta (CC)..... | 57 |
| 5.4 | Análise do extrato hexânico das folhas (EHF) de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied. por CG-EM..... | 58 |
| 5.5 | Análise das frações/frações reunidas e precipitados obtidos a partir do fracionamento de EHF de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied..... | 71 |
| 5.5.1 | Fração FRHEO-1..... | 71 |
| 5.5.3 | Frações 75 e 76..... | 77 |
| 5.5.4 | Fração FRHEO-2..... | 78 |
| 5.5.5 | Fração 87..... | 79 |
| 5.5.6 | Fração 88..... | 83 |
| 5.5.7 | Precipitados 1 e 2..... | 84 |
| 5.6 | Análise do extrato hexânico dos galhos (EHGA) de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied. por CG-EM..... | 87 |
| 5.7 | Análise do extrato hexânico dos frutos (EHFr) de <i>Eschweilera ovalifolia</i> (DC) Nied. por CG-EM..... | 94 |
| 6 | CONCLUSÕES | 100 |
| 7 | REFERÊNCIAS | 101 |

1 INTRODUÇÃO

As plantas superiores constituem uma das fontes mais importantes de novas substâncias utilizadas diretamente como agentes medicinais. Além disso, elas fornecem modelos para modificações estruturais e otimização das propriedades farmacológicas e bioquímicas (BRAZ-FILHO, 2010).

Mesmo empiricamente, as plantas medicinais continuam a ser usadas pela população até hoje e jamais foram completamente substituídas pelos fármacos sintéticos (BRESOLIN e CECHINEL-FILHO, 2003).

Sabe-se que a maioria dos fármacos de origem vegetal utilizados atualmente foi pesquisada e, posteriormente, levada ao mercado baseando-se em informações da chamada medicina tradicional ou popular, demonstrando assim que as substâncias de origem vegetal têm papel essencial na obtenção de medicamentos e, que partindo do conhecimento popular, bons resultados podem ser obtidos (COLOMBO, 2008).

A classificação de espécies vegetais pela química, conhecida como quimiotaxonomia, quando associada às observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para o estudo das propriedades terapêuticas dos vegetais. Isto mantém em evidência o consumo de fitoterápicos, validando as informações acumuladas por gerações sobre o uso popular das plantas medicinais (NUNES-JUNIOR, 1988; STEIN, 2005).

Apesar de muitos desses metabólitos especiais ou micromoléculas valerem mais do que ouro, conhecemos apenas uma fração muito reduzida desse arsenal químico. Estima-se que apenas 10 a 30% das espécies de Angiospermas, e cerca de 1% das espécies brasileiras, tenham sido investigadas do ponto de vista químico (GOTTLIEB e BORIN, 2012).

No Brasil dispomos de um esplêndido acervo natural de vegetais nos ambientes aquáticos e terrestres; um potencial químico adormecido, de exuberância inteiramente desproporcional ao esforço relativamente pequeno das pesquisas desenvolvidas para seu conhecimento e utilização (BRAZ-FILHO, 2010).

Na floresta Amazônica, destaca-se Lecythydaceae como a terceira família mais abundante, sendo Eschweilera, o maior gênero em número de

espécie desta família, apresenta maior número de árvores do que qualquer gênero de plantas na Amazônia (STEEGE et al., 2006). A família é constituída de três subfamílias, 17 gêneros e aproximadamente 300 espécies que ocorrem na forma de árvores grandes e médias, com ampla distribuição (MORI e PRANCE, 1990).

Lecythidaceae possui representantes ecologicamente importantes em muitas florestas dos Neotrópicos. Estão presentes em regiões diferentes como áreas alagadas por rios de água negra (igapó) e branca (várzea), regiões montanhosas, savanas (cerrados) e vegetações secundárias (capoeiras) formadas após distúrbios em ambientes naturais, exceto naquelas que sofreram queimadas (MORI, 1990).

Sementes de espécies dessa família são comestíveis, sendo a mais conhecida *Bertholletia excelsa* Bonpl. (castanha-do-Brasil) por sua importância econômica e social na região Amazônica, devido ao seu valor nutricional (MORI e PRANCE, 1987; 1990).

Existem espécies de Lecythidaceae que são utilizadas na medicina tradicional indígena como remédio (HOPKINS, 1999) e, estudos têm buscado atividade antileucêmica em espécies de *Eschweilera* (CRAGG, 2006).

Eschweilera pertence à Lecythidaceae (Lecythidoideae) e pode ser encontrado no centro-oeste, norte e nordeste do Brasil. Poucos são os estudos existentes acerca deste gênero; entretanto, estudos relativos à sua química resultaram no isolamento e identificação de diferentes tipos de triterpenos (CARVALHO et al., 1995,1998; COSTA et al., 2003).

Com base nas informações acima e à escassez de estudos sobre *Eschweilera*, este trabalho visa o estudo químico de uma espécie deste gênero coletada em uma área de igapó da região de Maués, município do estado do Amazonas, com o intuito de ampliar o conhecimento químico do mesmo e conseqüentemente da família.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a caracterização química do extrato hexânico das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. (Lecythidaceae) por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Preparar extrato hexânico dos galhos, folhas e frutos;
- ✓ Fazer testes fitoquímicos para verificar os grupos químicos presentes nas folhas, galhos e frutos;
- ✓ Fracionar o extrato hexânico das folhas;
- ✓ Determinar o perfil químico do extrato hexânico das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* por CG-EM;
- ✓ Comparar a constituição química dos órgãos vegetais estudados;
- ✓ Relacionar o perfil químico da espécie *Eschweilera ovalifolia* (DC.) Nied. com outras da família Lecythidaceae;
- ✓ Contribuir para o conhecimento químico da espécie em estudo e da família Lecythidaceae.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Metabolismo vegetal

O metabolismo é definido como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorre nas células vivas, suprindo o organismo de energia, renovando suas moléculas e garantindo a continuidade do estado organizado (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Nas plantas, este metabolismo pode ser dividido em metabólitos primários como açúcares, aminoácidos, nucleotídeos e lipídeos com distribuição ubiqüitária, e singularmente metabólitos especiais (DEWICK, 2009; GOTTLIEB e BORIN, 2012).

Metabólitos especiais não têm uma função óbvia. Eles podem possuir um papel ecológico como atrativo de polinizadores, representando adaptações químicas ao estresse do meio ambiente, ou responsável pela defesa química da planta contra micro-organismos, herbivoria, ou até mesmo outras plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009). A função do metabolismo especial ainda é um assunto de debate: se estas micromoléculas têm ou tiveram alguma importância adaptativa tão essencial para a sobrevivência dos organismos produtores. Uma análise do cenário evolutivo invalida todas as hipóteses que colocam esse metabolismo apenas com significado ecológico e sem qualquer significado evolutivo (GOTTLIEB e BORIN, 2012).

Os estudos das substâncias do metabolismo micromolecular foram iniciados pelos químicos orgânicos do século XIX e início do século XX, devido às suas diversas aplicações (TAIZ e ZEIGER, 2002). O homem faz uso destas micromoléculas como alimentos altamente nutritivos (nutracêuticos), temperos, aromas e fragrâncias, óleos vegetais, resinas, inseticidas, matérias-primas agrícolas, bem como medicamentos e para outros fins industriais. Além disso, pela sua particularidade para cada família, gênero e espécie, podem ser utilizados como caracteres taxonômicos para auxiliar na classificação de plantas (WAKSMUNDZKA-HAJNOS et al., 2008).

Os metabólitos em questão são divididos em cinco grupos principais: terpenos, substâncias fenólicas, nitrogenadas, glicosinolatos e policetídeos (figura 1) (CROUTEAU et al., 2000; DEWICK, 2009). Os metabólitos especiais representam um meio de comunicação química entre as plantas e o ambiente

ao seu redor, portanto, a biossíntese de determinadas classes pode ser afetada por mudanças nas condições ambientais (KUTCHAN, 2001).

O teor dessas micromoléculas pode variar consideravelmente dependendo de vários fatores, tais como: sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano, radiação UV, temperatura, composição atmosférica, altitude, herbivoria e ataque de patógenos, idade, micronutrientes, macronutrientes e água; sendo que a constância de concentrações de metabólitos especiais é praticamente uma exceção (GOBBO NETO e LOPES, 2007).

Dos principais grupos de metabólitos citados, nesta revisão serão considerados apenas os terpenos, por serem os metabólitos de interesse precípua neste trabalho.

3.2 Terpenos

Esta é considerada a maior classe de produtos naturais. As substâncias pertencentes a este grupo são compostas por unidades de isopreno com cinco carbonos, agrupadas de diversas maneiras. As substâncias desta classe são sintetizadas a partir de duas vias biossintéticas: via do ácido mevalônico e do metileritritol fosfato (DEWICK, 2009).

As reações da via do ácido mevalônico ocorrem no citossol, onde três moléculas de acetil-CoA são ligadas para formar o ácido mevalônico, esta molécula passa por reações de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação para produzir o pirofosfato de isopentenila (IPP). O IPP também pode ser sintetizado a partir de um derivado da 1-deoxixilulose-5-fosfato, o metileritritol-4-fosfato (MEP) que ocorre nos plastídeos (BAKKALI et al., 2008).

Os terpenos podem ser classificados de acordo com a sua estrutura básica e função, porém a nomenclatura evoluiu de acordo com as combinações das unidades base de cinco carbonos (C5) (BERTHELOT et al., 2012), desta forma o IPP e seu isômero pirofosfato de dimetilalila (DMAPP) se unem formando o pirofosfato de geranila (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a qual é precursora dos monoterpênicos. O GPP pode se ligar a outra molécula de IPP, formando uma estrutura de 15 carbonos (pirofosfato de farnesila - FPP), precursor da maioria dos sesquiterpênicos. A adição de outra molécula de IPP ao FPP forma o pirofosfato de geranilgeranila (GGPP), composto por 20

átomos de carbono, que dará origem aos diterpenos, da mesma forma se a um GGPP for condensado um IPP resultará em sesterterpenos (C₂₅), e por último o FPP e GGPP podem se agrupar para formar triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀), respectivamente (HEMMERLIN et al., 2012).

Mono, sesqui e diterpenos são substâncias que podem constituir óleos voláteis, e conferem a determinadas plantas seu aroma característico. Triterpenos e esteroides possuem origem biossintética comum - o esqualeno (**1**, figura 3), formado de 6 unidades de isopreno (BAKKALI et al., 2008; BERTHELOT et al., 2012).

Triterpenos (figura 3) do tipo esqualeno (**1**), ursano (**2**), oleanano (**3**), friedelano (**4**) e lupano (**5**) podem ser encontrados em Lecythidaceae e diversos grupos de plantas (EL-SEEDI et al., 1999; PETTIT et al., 2004; CONNOLLY e HILL, 2008).

Triterpenos são frequentemente encontrados na forma de limonoides, que são triterpenoides modificados. Segundo Cespedes et al. (2000) o melhor exemplo de limonoide é a azadiractina (**7**). Outra forma de encontrar os triterpenos é na forma de saponinas, que são seus heterosídeos; Porém as saponinas podem possuir também núcleo esteroidal, baseado na estrutura do ciclopentanoperidrofenantreno (WINA et al., 2005). Esteroides são comuns nas plantas como parte estrutural da membrana celular. Os de ocorrência mais frequente pertencem ao grupo dos esteróis 4-desmetil: β -sitosterol (**8**), estigmasterol (**9**) e campesterol (**10**) (WEIHRAUCH e GARDNER, 1978).

Os carotenoides ou tetraterpenoides, derivados de oito unidades de isopreno, em geral são pigmentos relacionados à fotoproteção e atração de polinizadores nas plantas; além de serem precursores da vitamina A (GRACE et al., 2014).

A figura 2 descreve como ocorre a biossíntese dos terpenos enfatizando apenas precursores e produtos, assim como as duas principais vias responsáveis pela síntese dessas substâncias.

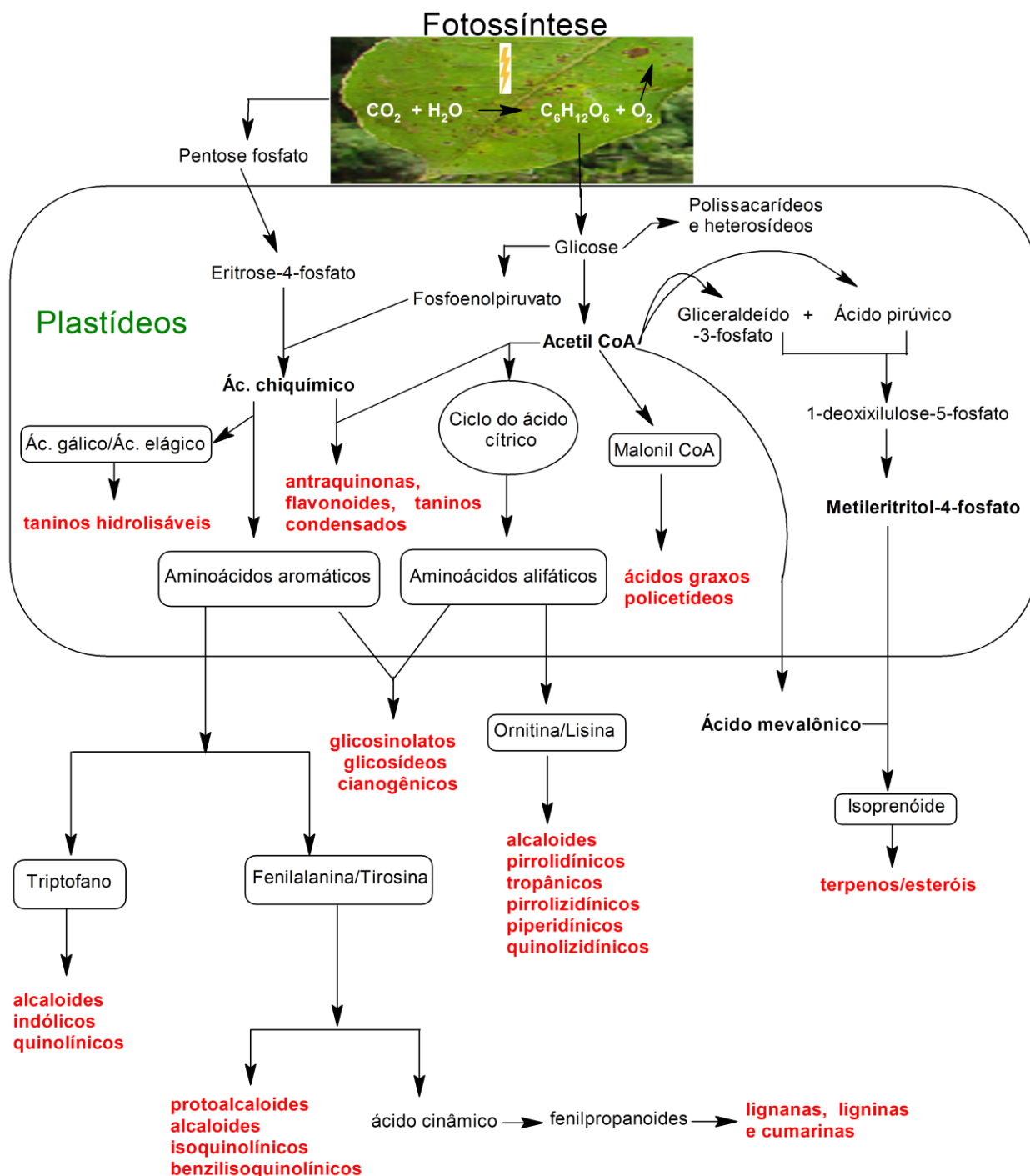


Figura 1- Vias do metabolismo especial (adaptado de CROUTEAU et al., 2000; SIMÕES et al., 2004; DEWICK, 2009).

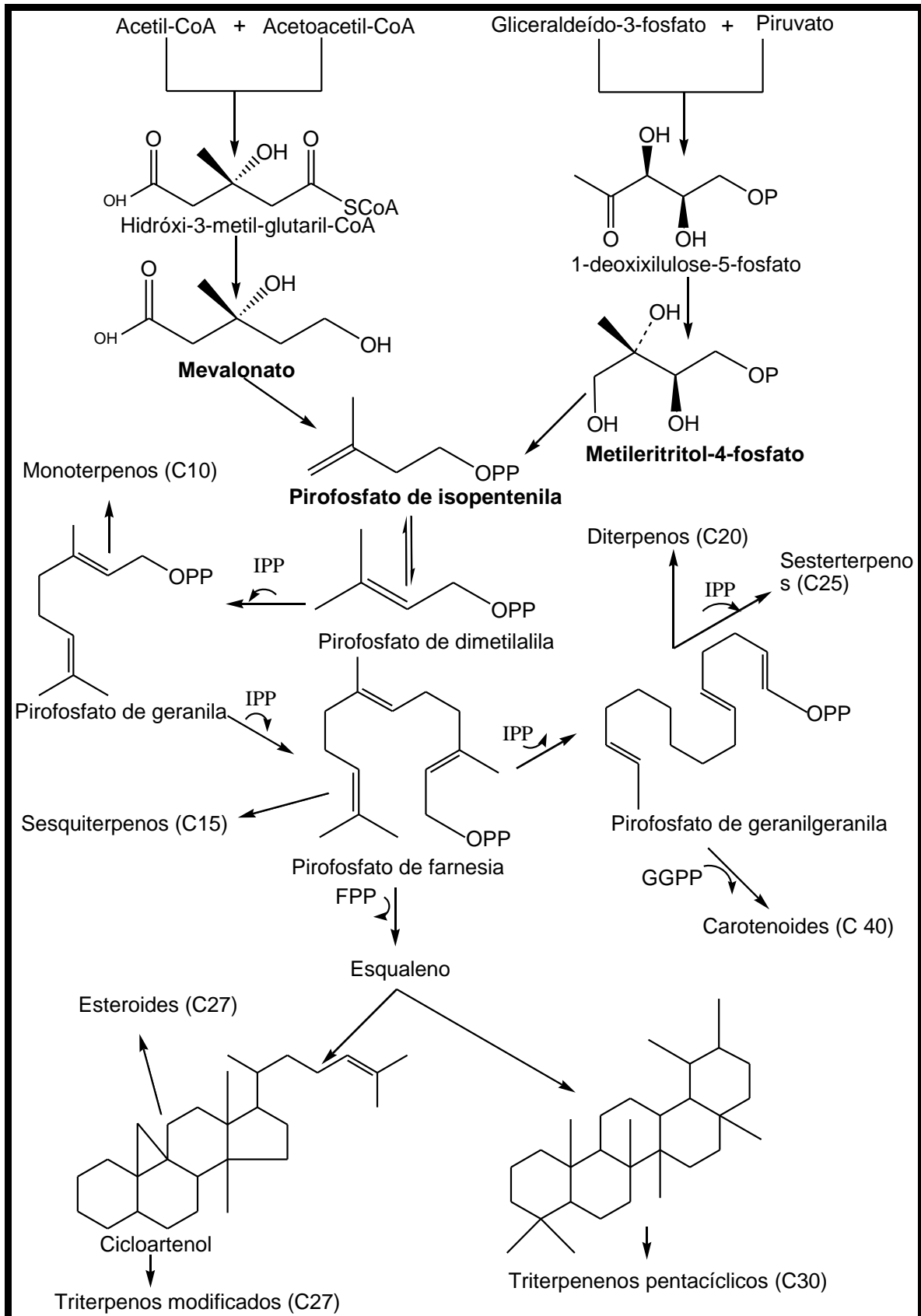


Figura 2 - Origem biossintética dos terpenos (DEWICK, 2009)

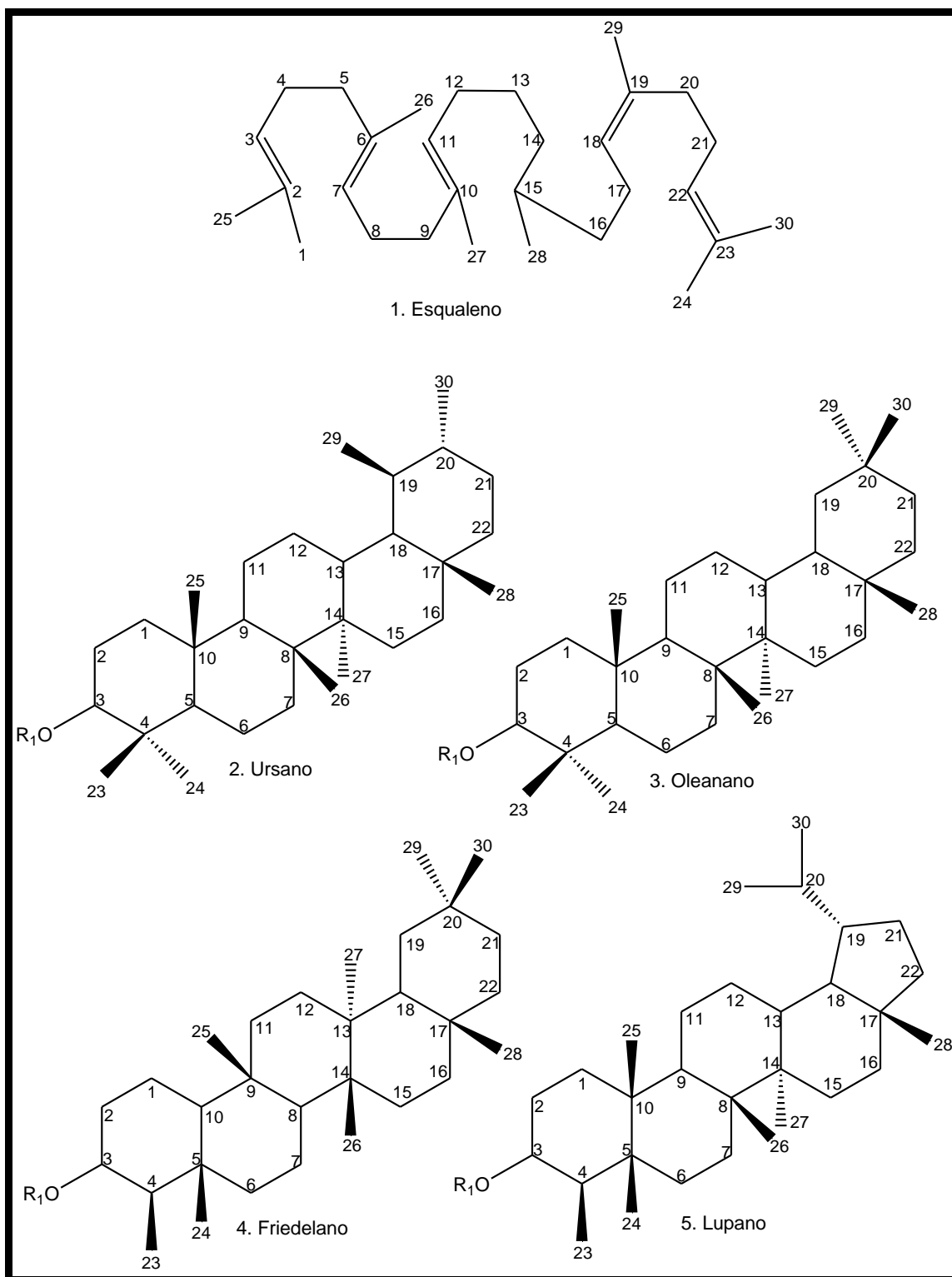


Figura 3 - Algumas estruturas químicas de núcleos triterpênicos encontrados em Lecythidaceae e outros grupos de plantas. Adaptado de EL-SEEDI et al., 1999; PETTIT et al., 2004; CONNOLLY e HILL, 2008.

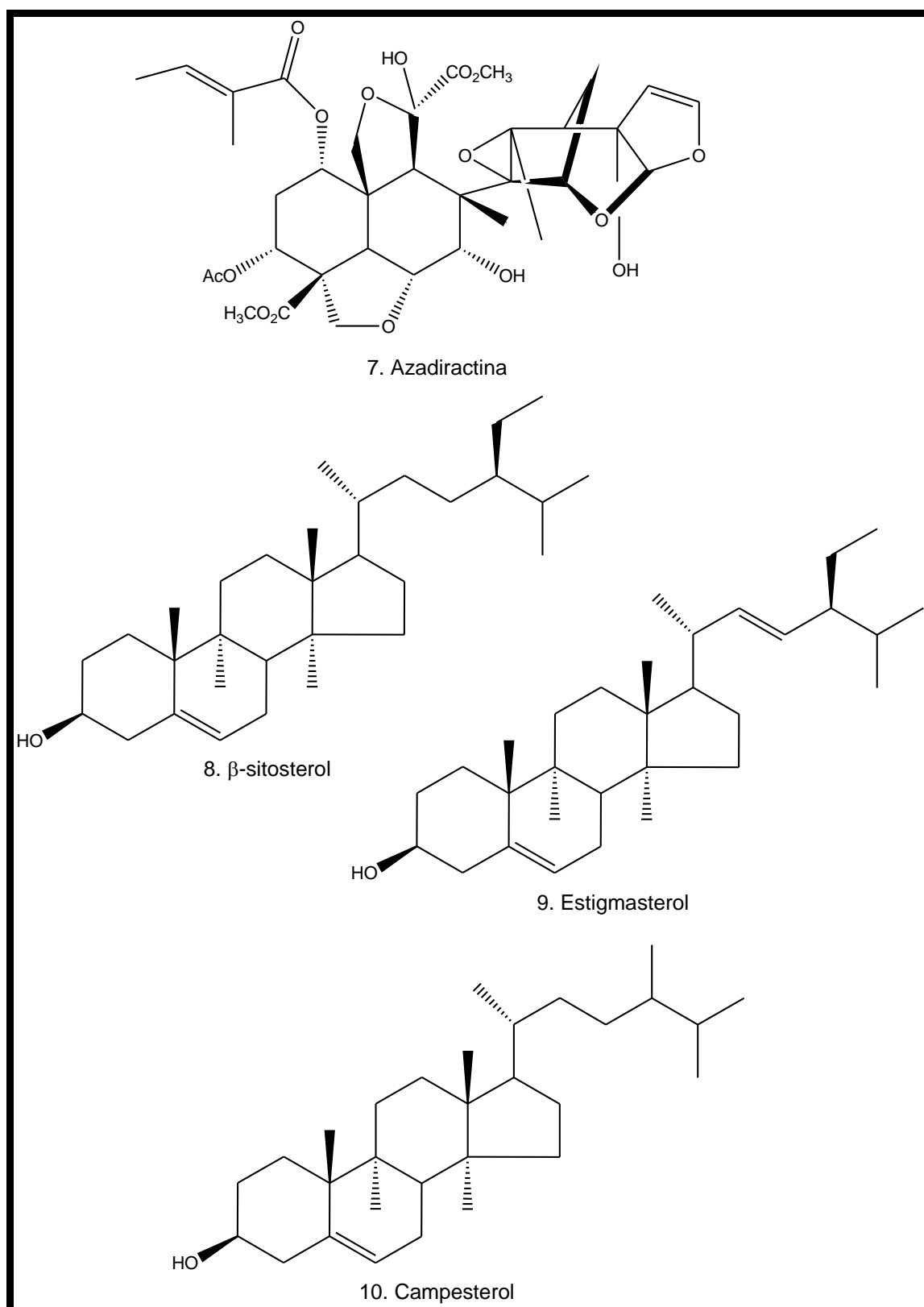


Figura 4 – Triterpeno modificado e esteroides. Adaptado de CESPEDES et al., 2000; WEIHRAUCH e GARDNER, 1978.

3.3 Aspectos gerais sobre estudos fitoquímicos

O crescimento da pesquisa de produtos naturais nos últimos anos deve-se principalmente ao rápido avanço de técnicas de isolamento e análise de substâncias bioativas em plantas, e pela facilidade da busca de informações em vários sistemas de bases de dados (NIERO et al., 2003).

A primeira etapa da investigação fitoquímica é a coleta do material vegetal. É essencial que a seleção do material coletado seja feita com cuidado, evitando coletar partes da planta doente e outros interferentes que não sejam de interesse para a investigação (SIMÕES et al., 2004).

Deve-se registrar o local, hora e data da coleta, já que o meio ambiente, hora do dia e a época do ano exercem grande influência sobre a produção e o acúmulo dos metabólitos vegetais (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Segue-se então a extração, e antes de executá-la deve-se levar em consideração uma série de fatores que interferem nesta operação, como as características do material vegetal, seu grau de divisão, meio extrator (solventes) e a metodologia, nunca sendo descartada a possibilidade de formação de artefatos (NIERO et al., 2003).

A identificação da estrutura de substâncias presentes em um extrato é feita geralmente a partir da purificação, visando o isolamento e / ou análise de misturas menos complexas através de métodos cromatográficos, espectroscópicos e espectrométricos (PATITUCCI et al., 1995).

Os métodos cromatográficos são os procedimentos de separação e isolamento mais amplamente utilizados atualmente, servindo, também, para fins de identificação e análise de misturas e de substâncias isoladas (MARÇO e POPPI, 2008).

Alguns desses métodos cromatográficos são: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia em coluna (CC), cromatografia em fase gasosa (CG) e cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE) (COLLINS et al., 2006; MARÇO e POPPI, 2008; GISELE et al., 2013).

Para identificar ou elucidar estruturalmente as substâncias isoladas há técnicas espectroscópicas e espectrométricas: espectroscopia nas regiões do ultravioleta (UV) e infravermelho (IV); ressonância magnética nuclear de

hidrogênio (RMN de ^1H) e de carbono-13 (RMN de ^{13}C) e a espectrometria de massas (EM) (RIBEIRO e SOUZA, 2007).

Atualmente, têm-se aparelhos equipados com bibliotecas contendo informações espectroscópicas e espectrométricas de um grande número de substâncias já conhecidas (SILVERSTEIN, 2007).

A cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-EM) com ionização por impacto de elétrons (IE) é uma das técnicas mais aplicadas na caracterização de substâncias químicas voláteis, devido à simplicidade, precisão e rapidez (AVATO et al., 2005; VÁGI et al., 2005).

Esta técnica permite a separação dos constituintes pela cromatografia gasosa, que são introduzidos individualmente em ordem de eluição na câmara de ionização do espectrômetro de massas. O espectro de massas obtido para cada um dos constituintes geralmente indica a massa molecular e o seu padrão de fragmentação (ADAMS, 2007; GISELE et al., 2013).

O padrão de fragmentação pode ser comparado eletronicamente com aqueles constantes da biblioteca de espectros de massas. Desse modo, é possível resolver picos cromatográficos parcialmente superpostos. Assim, a espectrometria de massas acoplada à cromatografia gasosa fornece fragmentações dos componentes individuais separados (SILVERSTEIN, 2007; TAVARES et al., 2005).

Este procedimento vem sendo aplicado com sucesso na identificação de substâncias de estruturas conhecidas porque, em sua maioria, os dados gerados podem ser comparados diretamente com os valores de tempo de retenção (índice de retenção) obtidos em colunas de polaridades diferentes e com os espectros de massas dos constituintes voláteis publicados (ADAMS, 2007).

Além disso, pode-se apresentar o espectro na forma de um gráfico ou uma tabela. O gráfico tem a vantagem de mostrar sequências de fragmentação. No espectro de massas por impacto de elétrons, gerado por um computador na forma de um gráfico de barras, a abundância relativa dos picos apresentados como percentagem do pico base (100%), é lançada contra a razão massa/carga (m/z) (SILVERSTEIN, 2007).

3.4 Aspectos biológicos e ecológicos

3.4.1 Lecythidaceae

Uma espécie bem conhecida de Lecythidaceae é *Bertholletia excelsa* H.B.K (castanha-do-Brasil), por sua importância econômica devido ao alto valor nutricional de suas amêndoas, tornando-a apreciada internacionalmente (PACHECO e SCUSSEL, 2006).

A castanha-do-Brasil possui potencial econômico elevado em função de sua ampla empregabilidade, que vai desde a indústria alimentícia até a confecção de artesanato, representando um dos principais componentes para a economia das famílias extrativistas na Amazônia brasileira (CAMARGO et al., 2010).

Mori et al. (2007) consideram a família representada por três subfamílias: Foetidioideae, Planchonioideae e Lecythidoideae (quadro 1). Foetidioideae e Planchonioideae são de ocorrência nos trópicos da Ásia e África, enquanto que Lecythidoideae é de ocorrência exclusiva nos trópicos da América.

Nos trópicos americanos esta família atingiu sua maior diversidade em espécies, sendo mais diversificada em habitats de terra firme na Amazônia Central e nas Guianas. E o maior número de espécies se encontra na Amazônia brasileira e internacional (MORI et al., 2010).

Várias espécies desta família se desenvolvem em diferentes habitats. Algumas espécies de *Eschweilera* e de *Gustavia* estão adaptadas a matas acima de 1.000 metros. A maioria delas encontra-se nos Andes e no Oeste da América do Sul (MORI, 1990). Do mesmo modo algumas espécies estão adaptadas a habitat mais seco de savanas como *Eschweilera nana* (O. Berg) Miers, uma espécie amplamente distribuída no cerrado do Brasil central; *Lecythis brancoensis* (R. Knuth) S.A. Mori e *Lecythis schomburgkii* O. Berg também são encontradas em savana no estado de Roraima (MORI, 1990).

Finalmente, espécies encontradas na região Amazônica como *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. e *Eschweilera tenuifolia* (O. Berg) Miers são adaptadas a habitats periodicamente alagados (MORI, 1990).

Recentemente duas novas espécies de Lecythidaceae (*Eschweilera awaensis* S.A. Mori & Cornejo e *Grias subbullata* Cornejo & S.A. Mori) foram descobertas no Noroeste do Equador (CORNEJO e MORI, 2011).

Quadro 1 - Subfamílias, regiões e gêneros de Lecythidaceae de acordo com Mori et al. (2007).

| Subfamílias | Regiões | Gêneros |
|------------------------|---|---|
| Foetidioideae | Madagascar, Ilhas Maurício e Leste da África tropical | <i>Foetidia</i> |
| Lecythidoideae | Neotropical | <i>Allantoma</i> <i>Bertholletia</i> <i>Cariniana</i> <i>Corythophora</i> <i>Couratari</i> <i>Couroupita</i> <i>Eschweilera</i> <i>Grias</i> <i>Gustavia</i> <i>Lecythis</i> |
| Planchonioideae | África e Ásia tropical | <i>Abdulmajidia</i> <i>Barringtonia</i> <i>Petersianthus</i> <i>Chydenanthus</i> <i>Careya</i> <i>Planchonia</i> |

3.4.2 Lecythidoideae

Esta subfamília só ocorre na região neotropical, compreende em torno de 200 espécies agrupadas em 10 gêneros, amplamente distribuídas no Brasil. Espécies endêmicas são encontradas na Mata Atlântica (MATTA e ESCUDELLER, 2012).

O gênero com maior número de espécies descritas é *Eschweilera* (90) seguido por *Gustavia* (40), *Lecythis* (26), *Couratari* (19), *Cariniana* (09), *Grias* (07), *Corythophora* (04) e *Couroupita* (03), *Allantoma lineata* (Mart. ex O.Berg) Miers e *Bertholletia excelsa* Bonpl. pertencem a gêneros monotípicos (MORI, 2004).

3.4.2.1 *Eschweilera*

Espécies deste gênero podem ser encontradas no Brasil, Colômbia, Venezuela, Nicarágua, Suriname, Peru e Equador (MORI et al., 2010).

Espécies de *Eschweilera* são mais conhecidas por seu potencial madeireiro, são usadas na fabricação de móveis, cercas, em obras e combustível doméstico (COSTA e CARVALHO, 2003).

Este gênero é constituído por 90 espécies conhecidas, em geral são árvores de sub-bosque, dossel ou emergentes. Suas folhas são espalhadas ao longo dos ramos, vão de pequenas a grande porte, com (5-59 cm) de comprimento, glabras com venação reticulada. As inflorescências podem ser caulinares, terminais ou axilares, racemosas com crescimento determinado em ráquis. As flores apresentam: simetria zigomorfa, pétalas e sépalas, ápice plano, lábios estaminais, capuz androecial totalmente enrolado; estames vestiginais, anteras deiscentes lateralmente, ovário locular, óvulos numerosos ligados à base, estilo sem colarinho estilar. Os frutos são deiscentes, mantendo-se na árvore mesmo depois de maduros, pericarpo de espessura fina. Sementes não aladas, pouco numerosas por lóculo, grossas e arredondadas, não envolvidas em mucilagem e com embrião macropodial (MORI et al., 2010).

3.4.2.1.1 *Eschweilera ovalifolia* (DC.) Nied.

Eschweilera ovalifolia (DC.) Nied. é geralmente encontrada na região amazônica, tanto brasileira quanto internacional, principalmente em florestas inundadas do Brasil (figura 8), Peru, Colômbia e Equador. Contudo, encontra-se em maior número no estado do Amazonas, Brasil (MORI et al., 2010).



Figura 5 – *Eschweilera ovalifolia* (DC.) Nied. **A:** Folhas. **B:** inflorescência. **C:** flor. **D:** fruto muito imaturo. **E:** fruto crescido. **F:** fruto aberto e suas sementes. Adaptado de MORI et al., 2010.

Conhecida popularmente como castanharana, no Brasil e machimango, no Peru. São árvores com 20-30 m (metros) de altura e 20-50 cm (centímetro) de diâmetro, possuem cascas cinza, com fissuras verticais e descamação em placas de tamanhos irregulares. Limbo da folha é elíptico, oblongo, de 9-30 x 4-17 cm, papiráceo a coriáceo, glabro, com poços na parte inferior; base obtusa; ápice de redondo a obtuso, acuminado, o cume vai de 0,2-0,4 cm de largura; margem anterior ondulada; nervura principal pubescente na margem inferior (pubescência fina), 10-15 pares de nervuras secundárias. Os galhos jovens são finamente tomentosos; suas folhas possuem de 1,0 a 1,5 cm de largura e com uma camada fina de pelos. Floração em panículas terminais ou subterminais, de 10-21 cm de largura; ráquis finamente tomentosas. Flores observadas somente em capuz possuem de 4-5 cm de diâmetro. Pedicelo de 3-4 mm de largura. Pétalas amareladas, às vezes brancas de 20-39 x 12-24 mm. Androceu com 350-500 estames, fixos na margem do anel estaminal. Ovário

com estilo curto, com 4-10 óvulos por lóculo. Os frutos são deprimidos-globosos de 3,5-5 x 6-8 cm. Pericarpo de 2-3 mm de espessura. Sementes completamente rodeadas por um arilo (MORI et al., 2010).

3.5 Aspectos químicos

3.5.1 Lecythidaceae

Os quadros de 2-12 apresentam as principais substâncias isoladas ou identificadas em espécies da família Lecythidaceae. Verifica-se que os metabólitos encontrados com maior frequência nos estudos são os terpenoides, especialmente triterpenos, saponinas triterpênicas e esteroides. O gênero *Gustavia* foi quem mais forneceu triterpenos e *Barringtonia* saponinas triterpênicas.

Quadro 2 – Metabólitos de *Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn.

| Classe | Substância | Referência |
|-------------|--|---|
| Triterpenos | α e β -amirina ácido 2 α ,3 β ,19 β - trihidroolean-12-en-23,28- dioico | PRAKASA SASTRY et al., 1967 BARUA et al., 1976 |
| Saponinas | tanginol ácido barringtogenico barringtogenol C barringtósídeos A, B e C acutangulosídeos A,B,C,D,E,F | BARUA et al., 1976 PRAKASA SASTRY et al., 1967 BARUA e CHAKRABARTI, 1965 PAL et al., 1994 MILLLS et al., 2005 |
| Esteroides | β e γ -sitosterol | PRAKASA SASTRY et al., 1967 |

Quadro 3 – Metabólitos de *Barringtonia butonica* J.R.Forst. & G.Forst.

| Classe | Substância | Referência |
|-----------|----------------------------------|----------------------|
| Saponinas | camelliagenin A barrigenol A1 | BILLET e HEITZ, 1974 |

Quadro 4 – Metabólitos de *Bertholletia excelsa* Bonpl.

| Classe | Substância | Referência |
|--|---|------------------------|
| Triterpenos | ácido betulínico | CAMPOS et al., 2005 |
| Esteroides | β -sitosterol estigmasterol campesterol sitostanol | CHUNHIENG et al., 2008 |
| Tocoferóis | α , β e γ -tocoferol | CHUNHIENG et al., 2008 |
| Ácidos fenólicos, flavonoides e derivados | ácido gálico ácido elágico ácido vanílico ácido protocatéquico catequina galocatequina taxifolina miricetina quercetina | JOHN e SHAHIDI, 2010 |

Quadro 5 – Metabólitos de *Careya arborea* Roxb.

| Classe | Substância | Referência |
|-------------|---|----------------------|
| Triterpenos | ácido maslínico ácido 2 α -hidroxi-ursólico careiagenolídeo | DAS e MAHATO, 1982 |
| Esteroides | α -espinasterol α -espinasterona Δ^{22} – stigmastenol | MAHATO e DUTTA, 1972 |

Quadro 6 – Metabólitos de *Gustavia augusta* L.

| Classe | Substância | Referência |
|---------------------------|---|----------------------|
| Sesquiterpenos | <i>trans</i> -cariofileno α -humuleno | ALMEIDA et al., 2011 |
| Norisoprenoides | blumenol B 6- <i>epi</i> -blumenol B | |
| Triterpenos | friedoolean-14-en-3 β -ol friedoolean-14-en-3-ona friedoolean-14-en-3 α -ol α e β -amirina lupeol 3 α -hidroxi-lupeol ácido betulínico | |
| Esteroides | α -espinasterol α -espinasterona estigmasterol | |
| Derivados de ácido graxos | palmitato de etila estearato de etila oleato de etila linoleato de etila hidnocarpato de etila | |

Quadro 7 – Metabólitos de *Gustavia elliptica* S.A.Mori.

| Classe | Substância | Referência |
|-------------|---|--------------------|
| Triterpenos | friedelina friedelanol α e β -amirina ursa-9(11), 12-dien-3-ol moretenol | SOUZA et al., 2001 |

Quadro 8 – Metabólitos de *Gustavia hexapetala* (Aubl.) Sm.

| Classe | Substância | Referência |
|-------------|------------------|---------------------|
| Triterpenos | ácido betulínico | PETTIT et al., 2004 |
| | ácido oleanólico | |
| | ácido ursólico | |
| | β -amirina | |
| Cumarina | Xantiletina | |
| Xantona | Linquexantona | |
| Depsídeo | Gustatina | |

Quadro 9 – Metabólitos de *Lecythis pisonis* Cambess.

| Classe | Substância | Referência |
|-------------|-----------------------------|-----------------------|
| Triterpenos | α e β -amirina | OLIVEIRA et al., 2012 |
| | uvaol | |
| | eritrodiol | |
| | ácido ursólico | |
| | ácido oleanólico | |
| | 3β -friedelanol | |
| Esteroides | β -sitosterol | OLIVEIRA et al., 2012 |
| | estigmasterol | |

Quadro 10 – Metabólitos de *Petersianthus macrocarpus* (P.Beauv.) Liben.

| Classe | Substância | Referência |
|-----------|----------------------|----------------------|
| Saponinas | petersaponina I e II | MASSIOT et al., 1992 |

Quadro 11 – Metabólitos de *Planchonia careya* (F.Muell.) R.Knuth.

| Classe | Substância | Referência |
|-------------|-----------------|--------------------|
| Flavonoides | kaempferol 3-O- | MCRAE et al., 2008 |
| | gentiobiosídeo | |
| | isoquercitrina | |

Quadro 12 – Metabólitos de *Planchonia grandis* Ridl.

| Classe | Substância | Referência |
|------------|------------|----------------------|
| Flavonoide | kaempferol | CRUBLET et al., 2003 |

A presença constante de determinado grupo de metabólitos em espécies de uma família de vegetais fornece informações valiosas, tanto no sentido de utilizar este conhecimento como um parâmetro para classificação vegetal pela química como direcionar ou relacionar ao uso na medicina popular.

3.5.2 *Eschweilera*

Trabalhos referentes ao estudo químico de espécies de *Eschweilera* demonstram isolamento e ou identificação de triterpenos pentacíclicos, tocoferol, tocotrienol, esteroide e saponina de extratos apolares das cascas e folhas de *Eschweilera rabeliana* Mori (CARVALHO et al., 1995) e *Eschweilera longipes* Miers (CARVALHO et al., 1998; COSTA et al., 2003); de *Eschweilera coriaceae* (DC) Mori foram isolados substâncias fenólicas do extrato polar das cascas (YANG et al., 1998). As classes, metabólitos, espécies e órgãos estudados são apresentados nos quadros de 13-15, bem como as referências utilizadas.

Quadro 13 – Metabólitos de *Eschweilera coriaceae* (DC.) Mori.

| Classe | Substância | Órgão | Referência |
|---|--|--------|-------------------|
| Polifenóis, ácido fenólico e flavonoide | eschweilenol A (19), B (20) e C(21) ácido elágico (22) galato de epigallocatequina-3- (23) | Cascas | YANG et al., 1998 |

Quadro 14 – Metabólitos de *Eschweilera longipes* Miers.

| Classe | Substância | Órgão | Referência |
|-------------|---|--|--------------------------|
| Saponina | 3 β -O- β -D-glucopiranosilsterol (18) | Folha | COSTA et al., 2003 |
| Tocoferol | α -tocoferol (14) | Casca | CARVALHO et al., 1998 |
| Tocotrienol | tocotrienol (15) | Casca | CARVALHO et al., 1998 |
| Triterpenos | friedelina (1) friedelanol (5) α -amirina (3) β -amirina (4) cinamato de α -amirina (6) cinamato de β -amirina (7) α -amirenona (8) β -amirenona (9) 3- <i>epi</i> -lupeol (10) 3- α -hidroxi-taraxasterol (11) 3 β , 24-diidroxifriedelano (16) ácido 1 β -hidroxieucáfico (17) | Casca casca folha/casca folha/casca casca casca folha folha casca Casca folha folha | CARVALHO et al., 1998 |
| Esteroides | β -sitosterol (12) estigmasterol (13) | Casca Casca | COSTA et al., 2003 |

Quadro 15 – Metabólitos de *Eschweilera rabeliana* Mori

| Classe | Substância | Órgão | Referência |
|-------------|--|-------------------------|--------------------------|
| Triterpenos | friedelina (1) 3- <i>epi</i> -friedelanol (2) β -amirina (4) | casca casca folha | CARVALHO et al., 1995 |

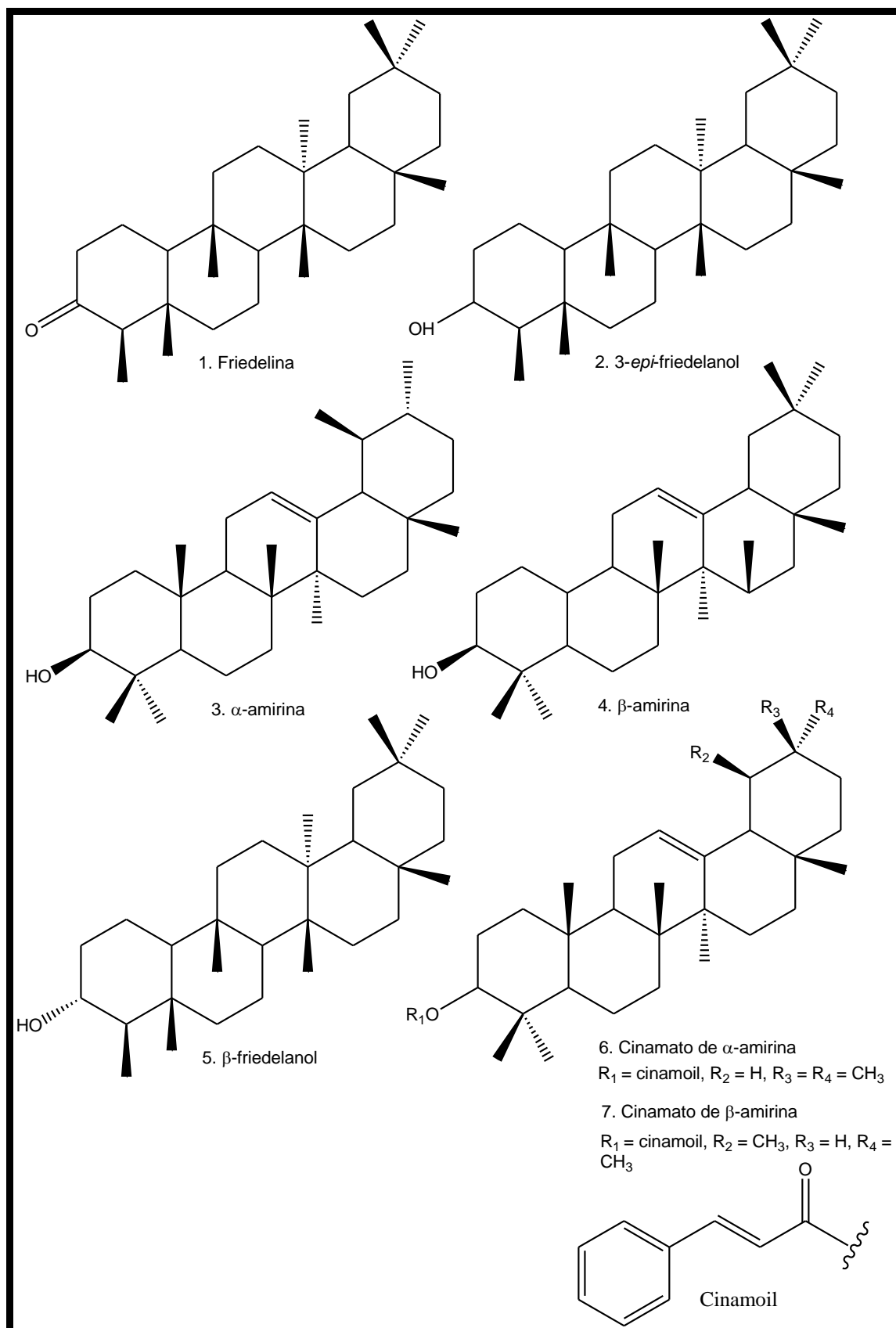


Figura 6 - Substâncias encontradas em *Eschweilera rabeliana* e *Eschweilera longipes* Miers (CARVALHO et al., 1995, 1998; COSTA et al., 2003).

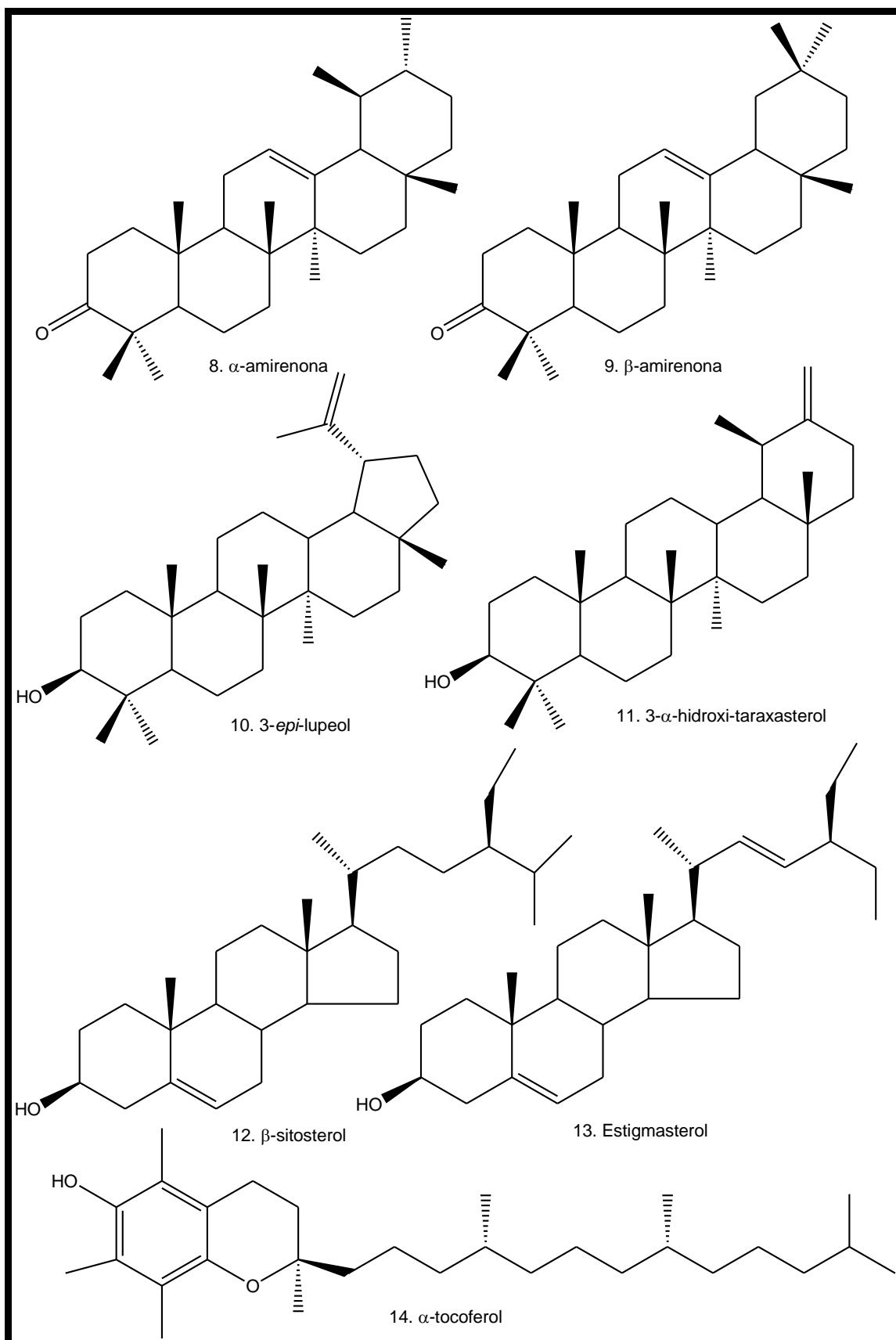


Figura 7 - Substâncias encontradas em *Eschweilera rabeliana* Mori e *Eschweilera longipes* (CARVALHO et al., 1995, 1998; COSTA et al., 2003).

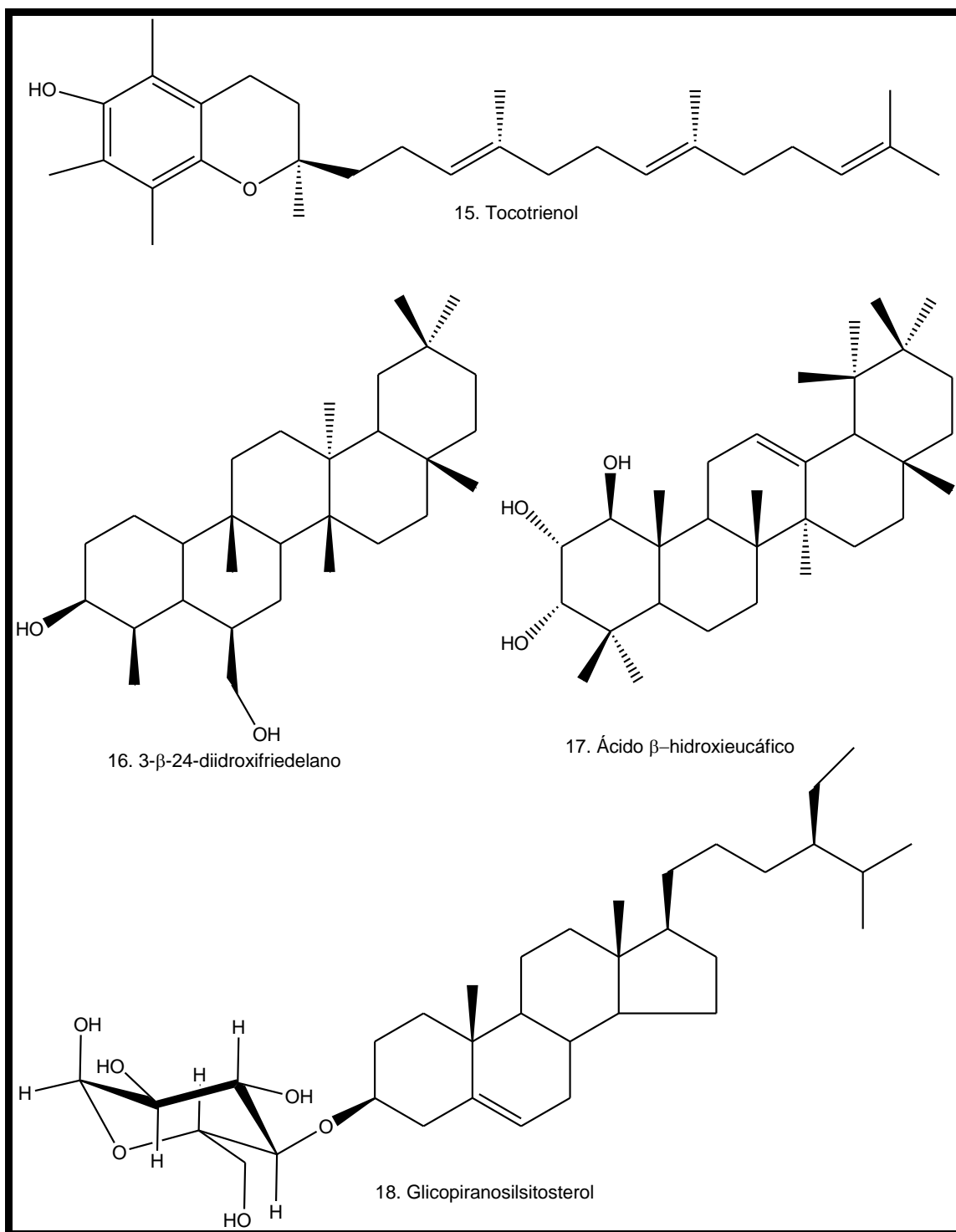


Figura 8 - Substâncias encontradas em *Eschweilera longipes* Mires (CARVALHO et al., 1998; COSTA et al., 2003).

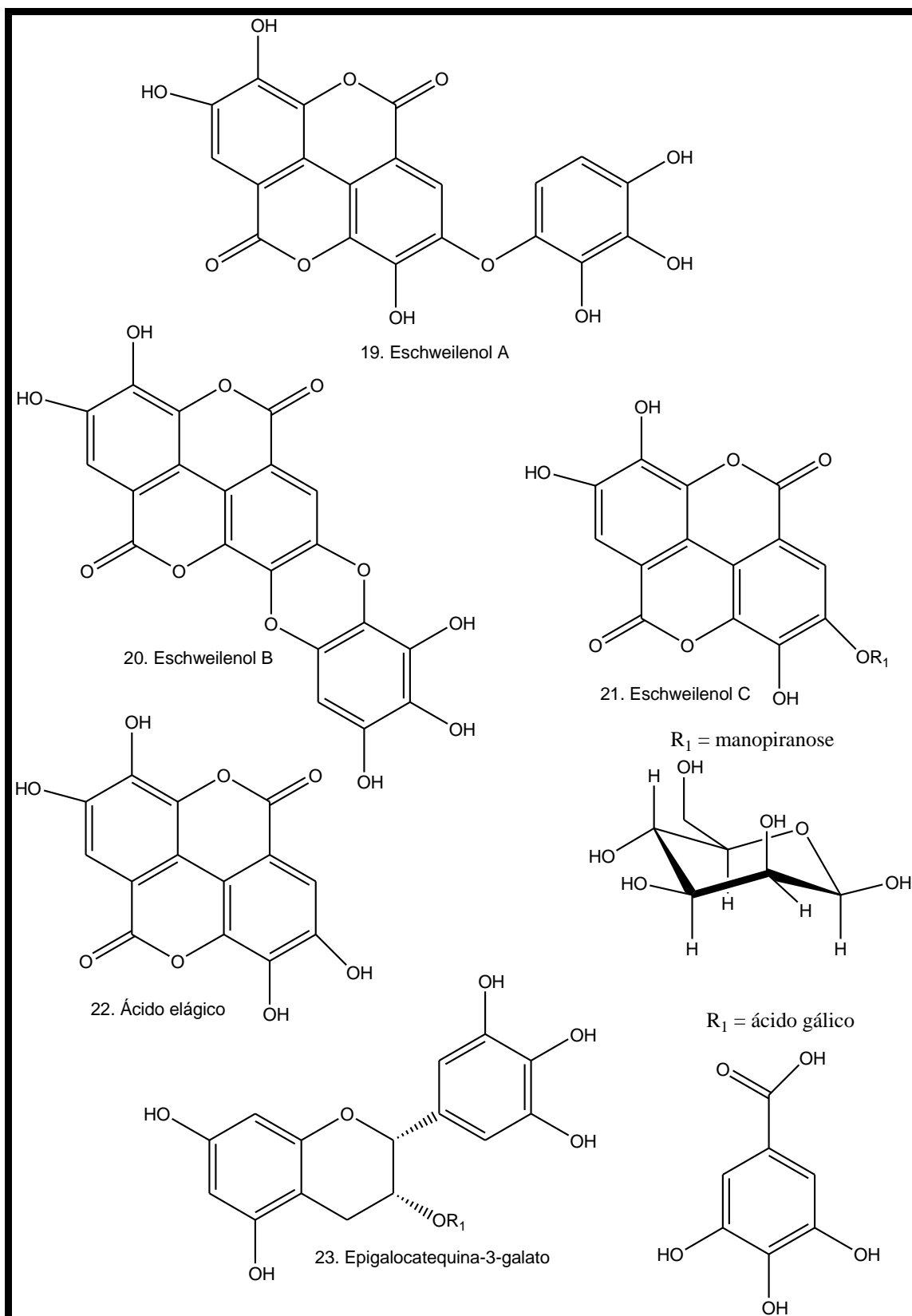


Figura 9 - Substâncias encontradas em *Eschweilera coriaceae* Mori (YANG et al., 1998).

Considerando-se, também, os estudos realizados com outras espécies deste gênero, verifica-se presença de metabólitos de grande interesse

farmacológico e industrial. Dentre eles triterpenos, esteroides, saponinas e polifenóis. Assim, o estudo químico de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied., além de ser o primeiro com esta espécie, contribuirá com o conhecimento sobre a química da família Lecythidaceae.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material e instrumentos utilizados

Moinho: Para triturar o material vegetal foi utilizado moinho de facas do tipo Willey TECNAL®, modelo TE – 680.

Extração: Para as extrações foi utilizada lavadora ultrassônica UNIQUE, modelo USC – 2800, com capacidade de 9,5 L.

Solventes: Para as extrações, cromatografia em camada delgada (CCDC) e cromatografia em coluna, utilizaram-se solvente grau comercial, purificados por destilação fracionada e P.A.; para as análises em cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas foram utilizados solventes da marca Mallinckrodt, grau espectroscópico e PA.

Cromatografia em camada delgada: Foram utilizadas cromatoplasmas de alumínio recobertas com sílica gel, ALUGRAM® SIL G/UV Macherey-Nagel. As amostras dissolvidas foram aplicadas, com auxílio de capilar de vidro e após desenvolvimento, as placas foram reveladas, sucessivamente, por exposição à irradiação ultravioleta $\lambda = 254$ e 365 nm, lâmpada QUALITY, modelo BLB, 6w, acoplada à lanterna BOIT-LUV01, e nebulizadas com solução de anisaldeído sulfúrico 0,5%, ou $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 0,1 N, seguido de aquecimento em chapa aquecedora a cerca de 110 °C.

Soluções reveladoras: anisaldeído sulfúrico 0,5% - adicionou-se 0,5 mL de anisaldeído em 10 mL de ácido acético glacial, e diluiu-se em 85 mL de metanol. Posteriormente, adicionou-se lentamente 5 mL ácido sulfúrico sobre a primeira solução (WAGNER e BLADT, 1996). Sulfato de cério(IV) 0,1 N - dissolveram-se 8,4 g de sulfato de cério em 100 mL de água destilada,

contendo 5,6 mL de ácido sulfúrico concentrado, por aquecimento. Após resfriamento, completou-se com água para 200 mL (MORITA e ASSUMPÇÃO, 1972).

Cromatografia em coluna aberta (CC): Foi empregada coluna de vidro (30,5 x 6,0 cm), utilizando como adsorvente sílica gel 60 (230 - 400 mesh), Merck®.

Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM): cromatógrafo a gás (Shimadzu®) CG-EM QP-2010, equipado com coluna capilar DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura). Utilizando hélio como gás de arraste. Temperatura de injeção 250 °C, a temperatura na interface do sistema foi de 290 °C. Método de ionização por impacto eletrônico (70 eV), e separador por quadrupolo.

As análises por CG-EM foram realizadas pela técnica Izabel Cristina Casanova Turatti, no Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos (NPPNS/FCFRP), Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP, coordenado pelo Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes.

4.2 Material vegetal

No dia 26 de fevereiro de 2012 foram coletadas folhas, galhos, frutos e flores de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. na região do rio Maués-Açu, município de Maués, estado do Amazonas. A espécie está localizada em área de igapó, próximo à ilha do sol, margem direita, coordenadas geográficas Sul 03°30'01.4"; Oeste 57°40'20,7". A identificação da espécie foi realizada pelo Prof. Dr. Valdely Ferreira Knupp, fundador-curador do Herbário EAFM do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Campus Manaus - Zona Leste (IFAM-CMZL), onde uma exsicata foi depositada sob o número 10293.

A figura 8 mostra um indivíduo adulto de *E. ovalifolia*, em seu habitat natural, no município de Maués-AM.



Figura 10 – Indivíduo adulto de *Eschweilera ovalifolia* (DC.) Nied. em seu habitat natural.

Fonte: SANTOS, P.A.

4.3 Preparo do material vegetal

Após a coleta, fez-se a separação das diferentes partes do vegetal (folhas, galhos e frutos) e seleção do material vegetal que aparentava ser mais sadio, isento de manchas e lesões semelhantes às causadas por fungo. Em seguida estes materiais foram submetidos à estabilização e secagem em estufa com circulação de ar forçada por uma semana a 50 °C. Após secagem e estabilização os frutos se abriram e suas sementes foram retiradas, então o ouriço (pixídio) foi reduzido a pedaços menores para possibilitar sua trituração. Em seguida, o material seco foi triturado usando moinho de facas do tipo Wiley.

4.4 Preparo dos extratos

Após trituração, 1.000 kg do material obtido a partir das folhas e galhos; 310 g dos frutos foi submetido à extração exaustiva por maceração a frio com hexano (HEX) e metanol (MeOH) auxiliada por banho de ultrassom em

ciclos de 15 min., cada. Os extratos líquidos foram filtrados em papel de filtro qualitativo, reunidos e concentrados em rotaevaporador. Os extratos após rotaevaporação foram levados à capela de exaustão para eliminação do solvente residual e armazenados em frascos de vidro.

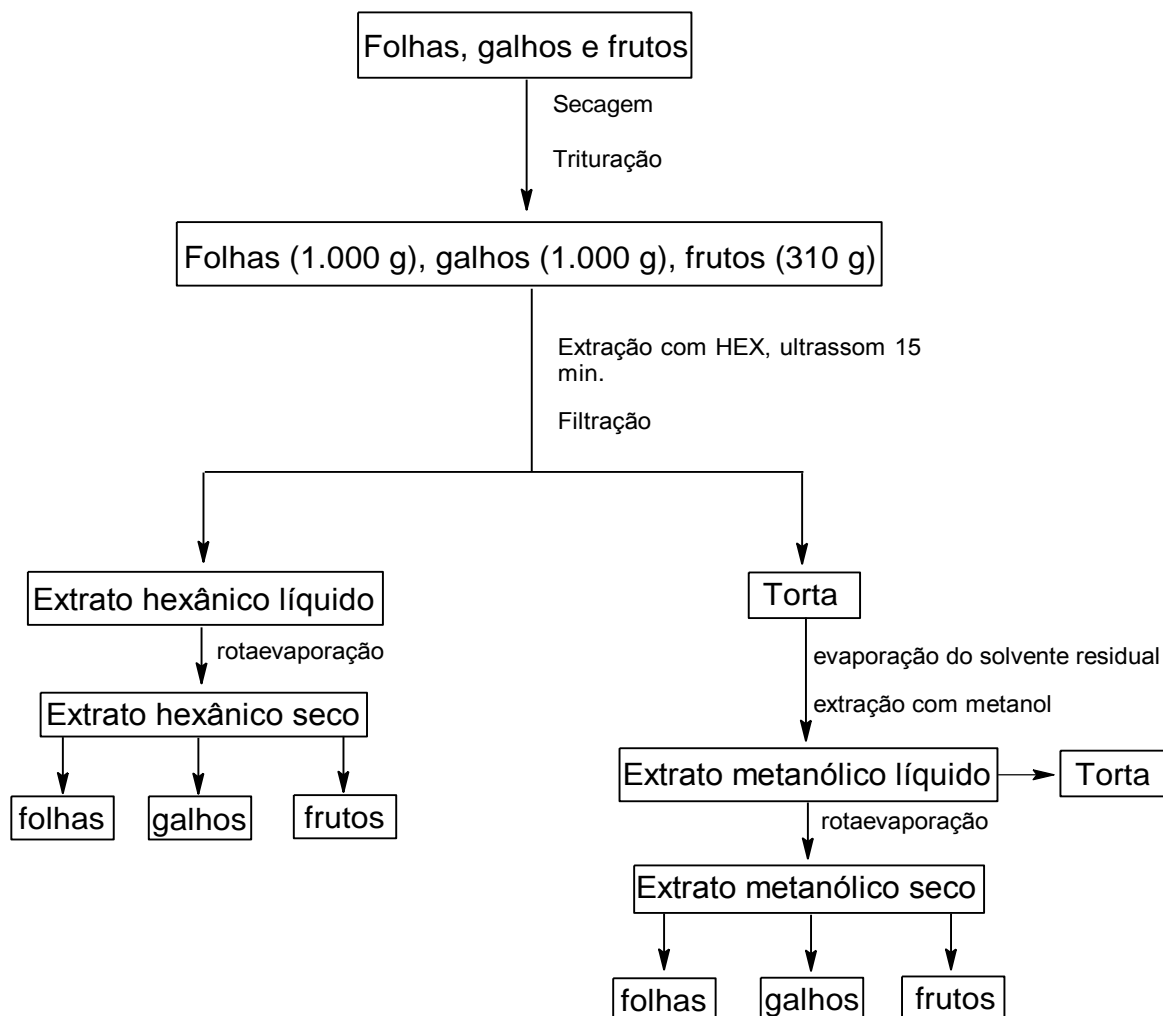


Figura 11 - Fluxograma da obtenção dos extratos hexânicos e metanólicos das partes estudadas de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.

4.5 Triagem fitoquímica

Foram realizados ensaios fitoquímicos qualitativos, baseados na formação de cor ou precipitado, para verificação da presença dos principais grupos de metabólitos especiais em soluções extrativas hidroetanólica (álcool 70%) e aquosa a 20% (p/v) das folhas, galhos e frutos. É importante ressaltar

que tais reações podem produzir resultados falsos positivos, por isso são consideradas apenas como indicativo da presença de determinados metabólitos.

4.5.1 Ensaio fitoquímico

Os ensaios de análise fitoquímica foram realizados de acordo com Moreira (1979). Pelo método de maceração preparou-se um extrato hidroetanólico a 20% e outro aquoso a 20% dos órgãos do vegetal em estudo. A partir destes extratos foi determinada a presença dos seguintes grupos químicos:

- Extrato hidroetanólico 20%: alcaloides, ácidos orgânicos, fenóis, flavonoides, cumarinas, antraquinonas, triterpenos e esteroides.
- Extrato aquoso 20%: glicosídeos antociânicos, saponinas, heterosídeos cianogenéticos, gomas, taninos e mucilagens, taninos condensados e hidrolisáveis, aminogrupos, ácidos voláteis e ácidos fixos.

4.5.1.1 Preparo do extrato hidroetanólico a 20%

A extração foi realizada por maceração de 20 g das partes estudadas de *E. ovalifolia* secadas e trituradas em 100 mL de álcool etílico a 70% (setenta por cento) em banho-maria a 70 °C por 90 minutos. Após 24 h o macerado foi filtrado com papel em filtro e o volume completado com o mesmo solvente até 100 mL. Os extratos foram mantidos refrigerados até a realização dos ensaios fitoquímicos.

4.5.1.2 Preparo do extrato aquoso a 20%

Extração foi realizada em banho-maria a 70 °C por 90 minutos de 20 g das partes estudadas de *E. ovalifolia* secadas e trituradas em 100 mL de água destilada. Após 24 h o macerado foi filtrado em papel de filtro e o volume completado com água destilada até 100 mL. Os extratos foram mantidos refrigerados até a realização dos ensaios fitoquímicos.

4.5.1.3 Pesquisa de alcaloides

Foi realizada utilizando-se os reativos gerais para alcaloides (Mayer, Dragendorff, Bouchardart e Berthrand) da seguinte forma: levou-se a secura 25 mL do extrato hidroalcoólico em banho-maria, seguido de dissolução do resíduo em 1 mL de etanol e 20 mL de ácido clorídrico a 1%. Transferiu-se o extrato clorídrico para 5 tubos de ensaio (1 mL em cada tubo) e adicionou-se a cada um os reativos mantendo o quinto tubo como branco. O aparecimento de precipitado indica reação positiva. Para contraprova, 15 mL do extrato hidroalcoólico foram transferidos para um funil de separação e alcalinizados com hidróxido de amônio até pH 10. Efetuou-se extração com a mistura éter/clorofórmio (3:1) e submeteu-se o extrato às mesmas reações para alcaloides.

4.5.1.4 Pesquisa de ácidos orgânicos

O excedente da solução etérea da pesquisa de alcaloides foi levado à secura e redissolvido em 5,0 mL de água destilada. O pH ácido desta solução indica a presença de ácidos orgânicos.

4.5.1.5 Pesquisa de fenóis

Utilizaram-se 2,0 mL da solução obtida na pesquisa de ácidos orgânicos adicionando 2 gotas de solução aquosa de cloreto de ferro(III) 1%. O desenvolvimento de coloração entre o azul e o vermelho confirma a presença de fenóis.

4.5.1.6 Pesquisa de flavonoides

Os flavonoides foram pesquisados pela reação de Shinoda, ou reação de cianidina. Transferiram-se 5,0 mL de extrato hidroalcoólico para um tubo de ensaio e adicionaram-se 200 mg de limalha de magnésio e 1,0 mL de ácido clorídrico fumegante, pelas paredes do tubo. A formação de cor alaranjada indica presença de flavonóis.

4.5.1.7 Pesquisa de cumarinas

Foram transferidos para um béquer 15,0 mL de extrato hidroalcoólico depois foram acidificados até pH 1, concentrado-se, em banho-maria a 60 °C até 7 mL. Adicionaram-se ao resíduo 5,0 mL de água deionizada e extraiu-se em funil de separação com éter etílico em 3 porções de 5,0 mL. O volume do extrato orgânico foi reduzido para 5,0 mL em banho-maria a 60 °C. Aplicaram-se 3 gotas do extrato etéreo em 2 pontos de um papel de filtro previamente marcado, deixando secar para em seguida adicionar uma gota de hidróxido de sódio 1 N em cada mancha. Cobriu-se uma das manchas com moeda e observou-se em luz UV de ondas longas. A fluorescência azul ou verde-amarelada indica reação positiva.

4.5.1.8 Pesquisa de antraquinonas

Foram levados a ebulição 10,0 mL do extrato alcoólico por sete minutos, sob refluxo, adicionados 1,5 mL de ácido sulfúrico 10%. Após o resfriamento foram transferidos para um funil de separação junto com 15,0 mL de água destilada e fizeram-se 3 extrações com 5,0 mL de tolueno. O extrato toluênico foi concentrado a 5,0 mL e transferido para um tubo de ensaio. Agitado em seguida com 5,0 mL de solução reagente de hidróxido de sódio. O aparecimento de coloração rósea ou avermelhada indica a presença de hidroxiantraquinonas e naftoquinonas.

4.5.1.9 Pesquisa de triterpenos e ou esteroides

Foram evaporados 10,0 mL do extrato alcoólico e extraído por 3 (três) vezes sucessivas com 3,0 mL de diclorometano. Concentraram-se os extratos obtidos a um volume de 3,0 mL e transferiram-se para um tubo de ensaio, onde foram adicionados 2,0 mL de anidrido acético. Cautelosamente adicionaram-se 3 gotas de ácido sulfúrico. O desenvolvimento de coloração azul passando a verde demonstra indicação da presença de esteroides e / ou triterpenos.

A coloração verde, mostra indícios de função hidroxila no carbono 3 e dupla ligação entre os carbonos 5 e 6 (Figura 10) (MOREIRA, 1979).

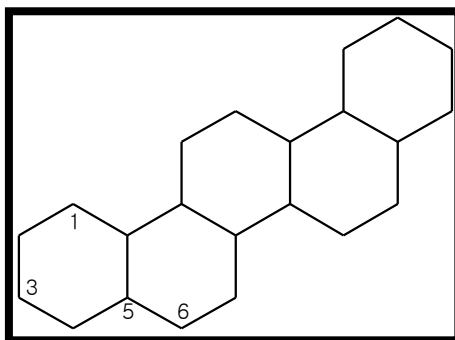


Figura 12 - Núcleo fundamental dos triterpenos pentacíclicos.

4.5.1.10 Pesquisa de heterosídeos antociânicos

Foram separadas 3 porções de 3,0 mL do extrato aquoso em 3 tubos de ensaio e foram neutralizados com solução de hidróxido de potássio 5% até obter os pHs 5,5 (pH do extrato aquoso), 7,0 (neutro) e 9,5 (básico). Mudança na coloração das porções neutralizadas indica presença de heterosídeos antociânicos.

4.5.1.11 Pesquisa de heterosídeos saponínicos

Agitaram-se os 3 tubos obtidos no ensaio anterior, energicamente, durante 5 minutos. Espuma persistente em um dos tubos indica a presença de saponinas, confirmada pela adição de solução aquosa de ácido clorídrico 1%.

4.5.1.12 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos

Transferiram-se 10,0 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio, com o cuidado de não umedecer as paredes superiores. Adicionaram-se 1,0 mL de ácido sulfúrico 1N, e então, com auxílio de uma rolha uma prendera-se uma tira de papel picro-sódico dentro do tubo. Levou-se o tubo de ensaio ao banho-maria em temperatura de 60 °C, por 30 minutos. A formação de cor vermelha no papel indica a presença de heterosídeos cianogênicos.

4.5.1.13 Pesquisa de gomas, taninos e mucilagens

A duas porções de 5,0 mL do extrato aquoso foram adicionadas 5 gotas de solução de acetato básico e acetato neutro de chumbo 10%. A formação de precipitado é indicativa da presença de gomas, taninos e mucilagens.

4.5.1.14 Pesquisa de taninos

Adicionaram-se a 5,0 mL de extrato aquoso, 5 gotas de cloreto de ferro(III) 1%. Na formação de precipitado escuro, transferiram-se 5,0 mL do extrato aquoso para um balão de fundo chato de 100,0 mL e nele acrescentaram-se 5 gotas de formaldeído a 37% e 4,0 mL de ácido clorídrico. A mistura foi aquecida, sob refluxo, por 1 hora. Após seu resfriamento, filtrou-se a solução e o material retido foi lavado com água destilada e álcool.

Se no material retido no filtro houver a formação de coloração pela adição de algumas gotas de solução aquosa de hidróxido de potássio 5%, indica a formação de taninos condensados. Se no filtrado, pelo excesso de acetato de sódio e a adição de 10 gotas de cloreto de ferro (III) 1%, houver formação de precipitado escuro ou azul indica a presença de taninos hidrolisáveis.

4.5.1.15 Pesquisa de aminogrupos

Concentraram-se 10,0 mL de extrato aquoso à metade à temperatura de 50 °C. Em um papel de filtro, colocaram-se cinco gotas do extrato concentrado e após secar, o papel foi nebulizado com solução butanólica de ninhidrina. Em seguida foi aquecido em estufa a 90-100 °C por 15 minutos. Se houver o aparecimento de cor azul-violácea indica a presença de aminogrupos.

4.5.1.16 Pesquisa de ácidos voláteis

Acidificaram-se 10,0 mL do extrato aquoso com ácido sulfúrico 1 N e ferveu-se em um tubo de ensaio em banho-maria. Com papel indicativo de pH mediram-se a acidez dos vapores. A coloração ácida indica a presença de ácidos voláteis.

4.5.1.17 Pesquisa de ácidos fixos

Transferiram-se 20,0 mL de extrato para um balão de destilação juntamente com 2,0 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 1 N, aqueceu-se o conteúdo sob refluxo, por 30 minutos, após resfriar foi acidificado com ácido sulfúrico 1 N e extraiu-se 3 vezes com 10,0 mL de éter etílico. Reuniram-se os extratos etéreos, filtrou-se e foi levado à secura. Aqueceram-se o resíduo durante 10 minutos a 100 °C e após, adicionaram-se 5,0 mL de solução de hidróxido de amônio 1 N, filtrou-se novamente e transferiram-se para um papel de filtro três gotas de modo a obter uma mancha de 1 cm de diâmetro. Secou-se o papel em estufa a 100 °C por 10 minutos e então foi tratado com o reagente de Nessler. O desenvolvimento de coloração indica a presença de ácidos fixos.

4.6 Análise do extrato hexânico das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. por CCDC

Aproximadamente 5,0 mg dos extratos hexânicos secos de cada parte da planta foram redissolvidos em 0,5 mL de diclorometano e aplicado em cromatoplasmas com dimensões de 2,0 x 5,0 cm. Foram testadas como fase móvel: hexano 100% e misturas com acetato de etila. Como revelador físico foi utilizada luz ultravioleta (UV) 365 nm (nanômetro) e 254 nm, usaram-se os seguintes reveladores químicos: anisaldeído 0,5% e sulfato de cério(IV) 0,1 N, seguidos de aquecimento a 110 °C.

4.7 Fracionamento por cromatografia em coluna aberta do extrato hexânico das folhas de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.

O processamento do extrato hexânico das folhas foi realizado pela dissolução de 11,03 g do extrato hexânico seco em hexano e incorporado em sílica gel 60 para obtenção de uma pastilha. Esta foi aplicada no topo de uma coluna cromatográfica (30,5 x 6,0 cm), empacotada da seguinte forma: hexano foi utilizado para fazer uma suspensão de 410 g de sílica, a qual foi transferida para a coluna. Após a aplicação da pastilha, a coluna foi eluída com sistema de solventes em gradiente crescente de polaridade, sendo utilizados hexano,

acetato de etila, metanol e suas misturas (Tabela 3). A eluição foi monitorada por CCDC, e os reveladores foram irradiação UV a 365 nm e 254 nm; anisaldeído 0,5%, sulfato de cério(IV) 0,1 N que se apresentaram como as melhores alternativas de revelador químico.

As frações obtidas foram analisadas pelos mesmos métodos do controle de eluição. As frações semelhantes foram reunidas dissolvendo-as em hexano ou acetato de etila.

Tabela 1 - Eluentes e suas proporções utilizadas no fracionamento do extrato hexânico das folhas (EHF) de *Eschweilera ovalifolia* em coluna cromatográfica (FE: sílica gel).

| Eluentes | Proporções% | Frações Coletadas |
|------------|-------------|-------------------|
| HEX | 100 | 1-35 |
| HEX: AcOET | 9,9: 0,1 | 36-81 |
| HEX: AcOET | 9,8: 0,2 | 82-102 |
| HEX: AcOET | 9:1 | 103-138 |
| HEX: AcOET | 8:2 | 139-154 |
| HEX: AcOET | 7:3 | 155-175 |
| HEX: AcOET | 6:4 | 176-196 |
| HEX: AcOET | 1:1 | 197-207 |
| AcOET | 100 | 208-218 |
| AcOET:MeOH | 8:2 | 219-234 |
| AcOET:MeOH | 7:3 | 235-245 |
| AcOET:MeOH | 6:4 | 246-256 |
| AcOET:MeOH | 1:1 | 257-276 |
| MeOH | 100 | 277-307 |

AcOET: acetato de etila; HEX: hexano; MeOH: metanol

4.8 Análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas

As análises dos extratos hexânicos e das frações obtidas por Cromatografia em coluna do extrato hexânico das folhas (tabela 4) foram realizadas por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas.

A temperatura da coluna variou de 100 a 290 °C, a 6,3 °C·min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 250 °C e 280 °C,

respectivamente, fluxo de hélio 1,2 mL/min. O índice de retenção relativo foi obtido utilizando-se o 5- α -colestano como padrão interno de referência.

A identificação das substâncias foi realizada através de comparação dos espectros de massas obtidos das amostras com aqueles das espectrotecas NIST08, WILLEY7, FFNSC 1.3 e do próprio laboratório onde as amostras foram analisadas.

Tabela 2 - Frações/frações reunidas, frações coletadas e precipitados analisados por CG-EM e suas respectivas massas.

| Frações/Frações reunidas | Frações coletadas | Massas (mg) |
|--------------------------|-------------------|-------------|
| FRHEO-1 | 70-74 | 75,0 |
| 75 | 75 | 76,1 |
| 76 | 76 | 78,1 |
| FRHEO-2 | 77-81 | 56,0 |
| 87 | 87 | 200,0 |
| 88 | 88 | 150,0 |
| Precipitado 1 | - | 82,1 |
| Precipitado 2 | - | 56,2 |

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção dos extratos

Os extratos metanólicos apresentaram maiores rendimentos, principalmente o extrato metanólico dos frutos (40,65%) que apresentou rendimento superior a todos os outros.

Tabela 3 - Massas e rendimentos dos extratos hexânicos (HEX) e metanólicos (MeOH) das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.

| Órgãos (g) | Extrato | Massa do extrato bruto (g) | Rendimento (%) |
|---------------|---------|----------------------------|----------------|
| Folhas | HEX | 24,25 | 2,43 |
| | MeOH | 247,25 | 24,73 |
| Galhos | HEX | 10,47 | 1,05 |
| | MeOH | 174,17 | 17,42 |
| Frutos | HEX | 0,78 | 0,25 |
| | MeOH | 126,00 | 40,65 |

5.2 Análise fitoquímica para os extratos hidroetanólico e aquoso a 20% das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.

As reações realizadas para os testes fitoquímicos sugerem algumas diferenças na composição química entre os extratos obtidos. Indica também a ausência de cumarinas e antraquinonas nos três órgãos.

Apesar de serem de cunho qualitativo, as reações de análise fitoquímica funcionam como um dispositivo norteador para os trabalhos de isolamento, identificação, elucidação estrutural e avaliação da atividade biológica de extratos vegetais. Assim, a partir dos resultados obtidos para as folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. pode-se inferir que as reações indicam presença de metabólitos importantes nas partes estudadas.

Tabela 4 - Testes fitoquímicos para os extratos hidroetanólico e aquoso a 20% das folhas, galhos e frutos de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.

| Metabólitos | Resultados | | |
|-------------------------------------|------------|--------|--------|
| Extrato hidroetanólico a 20% | | | |
| | Folhas | Galhos | Frutos |
| Alcaloides | - | + | + |
| Ácidos orgânicos | + | + | + |
| Fenóis | + | - | + |
| Cumarinas | - | - | - |
| Heterosídeos flavônicos | + | + | + |
| Antraquinonas | - | - | - |
| Esteroides e / ou triterpenos | + | + | + |
| Extrato aquoso a 20% | | | |
| | Folhas | Galhos | Frutos |
| Heterosídeos antociânicos | + | + | + |
| Heterosídeos saponinicos | - | + | + |
| Heterosídeos cianogenéticos | - | - | + |
| Gomas, taninos e mucilagens | + | + | + |
| Taninos | + | + | + |
| Aminogrupos | + | + | + |
| Ácidos voláteis | + | + | + |
| Ácidos fixos | + | + | + |

5.3 Fracionamento do extrato hexânico das folhas (EHF) de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. por cromatografia em coluna aberta (CC)

O critério de pureza previamente estabelecido foi visualização de banda única em cromatograma obtido por CCDC, utilizando solventes com polaridades diferentes.

Após o processo de fracionamento foram recolhidas 307 frações, com volume aproximado de 100,0 mL cada. Todas as frações recolhidas foram rotaevaporadas e analisadas por CCDC, com isso observaram-se que as amostras, em sua maioria, apresentavam-se muito diferentes e em misturas complexas, portanto possibilitando a reunião em poucos grupos. Um número reduzido apresentou constituição menos complexa para serem submetidas à análise por CG-EM. Sendo assim, as amostras com características adequadas para reunião e análise estão listadas na tabela 2 (pág. 55).

Durante o processo de concentração das frações 87 e 88, formou-se um precipitado branco; o solvente foi eliminado por rotaevaporação e, em seguida, foram submetidas à recristalização utilizando acetato de etila gelado. Separaram-se os precipitados resultantes com auxílio de pipeta Pasteur, obtiveram-se suas massas e fizeram-se análises por CCDC. Tais precipitados apresentaram-se como bandas cromatográficas únicas e com fator de retenção (R_f) aproximado de 0,35 em hexano: acetato de etila (9:1) como fase móvel. Porém, somente após análise por CG-EM verificou-se que os dois precipitados são a mesma substância, o triterpeno friedelanol (Figura 14.16, pág. 69).

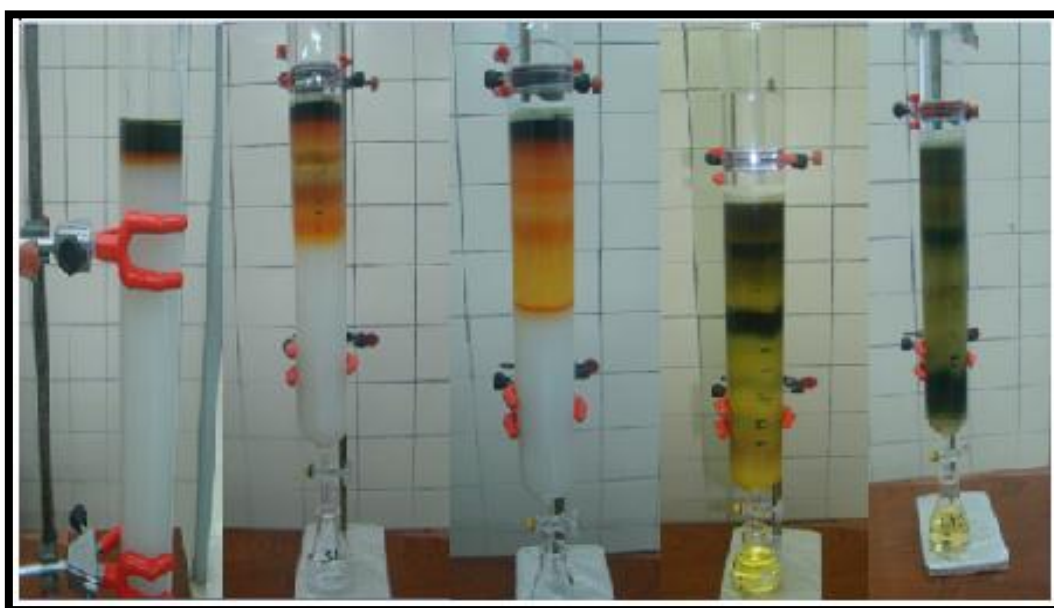


Figura 13 - Evolução do fracionamento em coluna aberta do extrato hexânico das folhas (EHF) de *Eschweilera ovalifolia* (DC.) Nied.
Fonte: Santos, P.A.

5.4 Análise do extrato hexânico das folhas (EHF) de *Eschweilera ovalifolia* (DC.) Nied. por CG-EM

Os parâmetros utilizados nas análises dos espectros de massa para a identificação dos constituintes químicos foram presença do pico do íon molecular, o pico base e a comparação visual com os espectros fornecidos pelas espectrotecas do equipamento; padrão de fragmentação em relação aos espectros de massa descritos na literatura e índice de similaridade acima de 90%.

Para a identificação de substâncias por CG-EM, a porcentagem de similaridade aceita como confiável é variável. Neste trabalho foram considerados aceitos os valores a partir de 90 %, de acordo com Jham et al. (2007) e Paiva et al. (2011).

A análise de EHF resultou na identificação de um hidrocarboneto (n-tetradecano), quatro ácidos graxos (ácidos dodecanoico, tetradecanoico, hexadecanoico, octadecanoico); dois ésteres (hexadecanoato de etila e octadecanoato de etila), uma cetona (5,6, 7,7 α -tetraidro-4,4,7 α -trimetil-2(4H)-benzofuranona), uma lactona terpenoidica (4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo), um diterpeno (neofitadieno), três triterpenos (β -amirina, β -friedelanol e friedelina), dois esteróis (estigmasterol e β -sitosterol), uma vitamina (α -tocoferol) e um de seus isômeros (γ -tocoferol). Perfazendo um total de dezessete (17) substâncias identificadas para esta amostra.

As substâncias identificadas são comumente encontradas em cera epicuticular, óleos voláteis e extratos apolares (BRANCO; PIZZOLATTI, 2002; JETTER et al., 2011; XIONG et al., 2013). Porém, podem ser encontradas também em extratos polares (SAKTHIVEL et al., 2010).

A seguir é apresentado o perfil cromatográfico de EHF (figura 14) e o espectro de massas de cada uma das substâncias identificadas [figuras 14.1 a 14.17 (pág.60 a 69)].

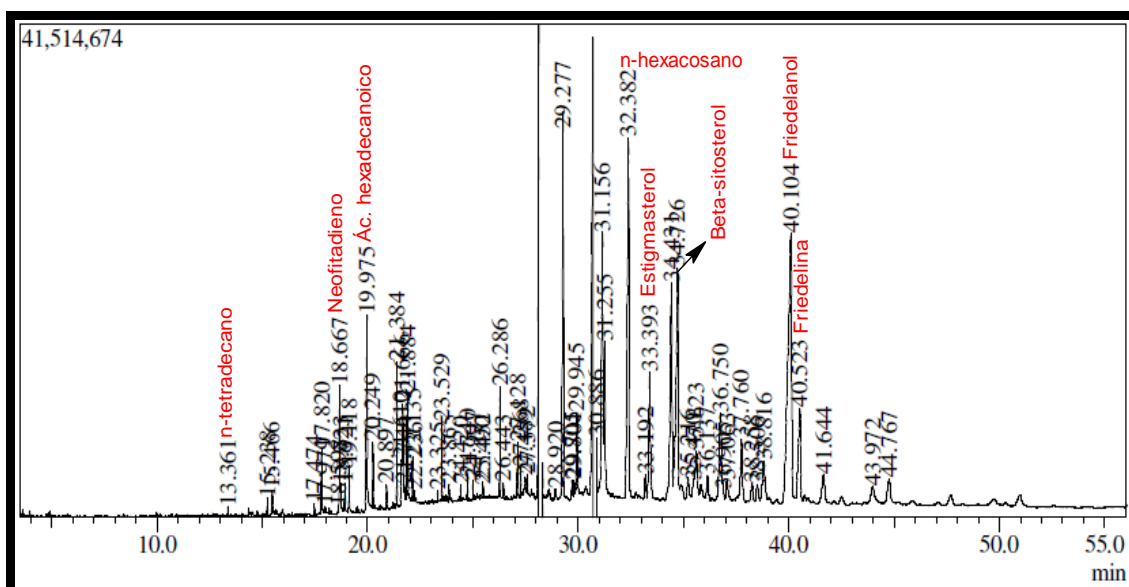


Figura 14 - Perfil cromatográfico de EHF.

As figuras abaixo mostram os espectros de massas relativos aos picos do cromatograma de EHF. Em cada um deles a figura “a” mostra o espectro de massas da amostra e a figura “b” mostra o espectro de massas da biblioteca, com o qual apresenta índice de similaridade acima de 90%.

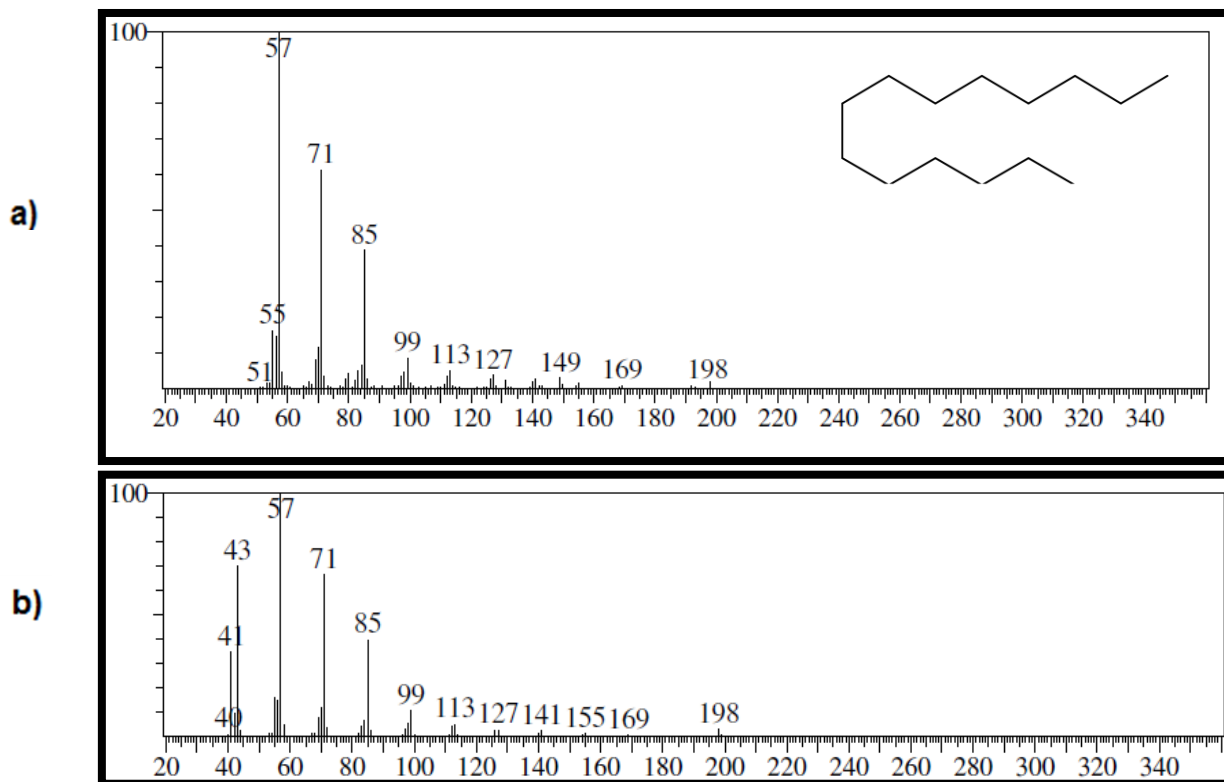


Figura 14.1 - Espectro de massas da substância identificada como n-tetradecano.

O espectro de massas acima é característico de alcanos, nesse caso o hidrocarboneto alifático n-tetradecano, pois apresenta seus principais fragmentos em intervalos de 14 unidades (m/z : pico do íon molecular (198, M^+), 57 (pico base), 71 e 85). De acordo com esses dados espectrométricos existe grande possibilidade de a substância acima ser realmente este hidrocarboneto. O alcano em questão possui várias fontes, como por exemplo, fungos, vegetais, insetos e a partir de petróleo, assim como pela pirólise de ácidos graxos saturados e insaturados (ALVES et al., 1988; ALENCAR et al., 2005; VEIGA-JUNIOR et al., 2007; VALDUGA et al., 2010).

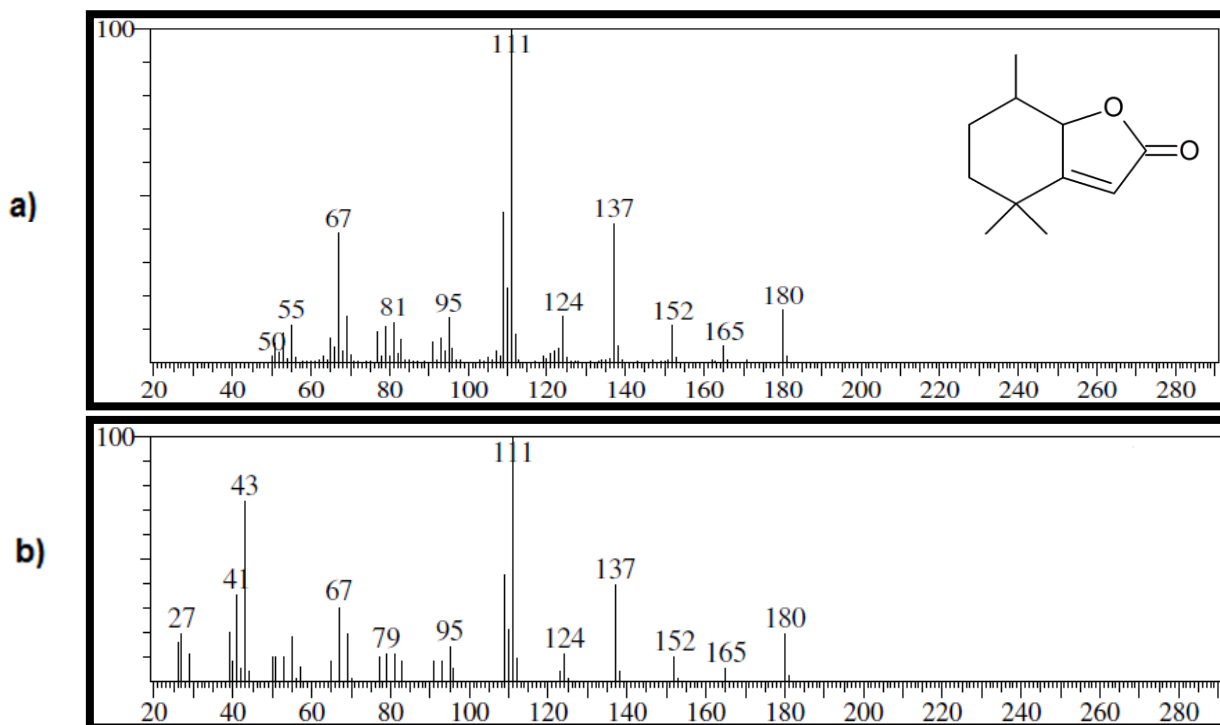


Figura 14. 2 - Espectro de massas da substância identificada como 4,4,7 α -trimetil-5,6,7,7 α -tetraidro-2(4*H*)-benzofuranona (Diidroactinidiolídeo).

A substância acima apresenta espectro de massas cujos principais íons são (m/z): (180, M^{+}), 111 (pico base), 109 e 137 representando assim o perfil de fragmentação típico da lactona terpênica diidroactinidiolídeo, apontada como uma das substâncias responsáveis pelo aroma de tabaco e chás (BORSE et al., 2002; HUANG et al., 2006). Esta substância é oriunda da degradação oxidativa ou biológica dos carotenoides e foi isolada pela primeira vez de folhas da espécie *Actinidia polygama* (Sieb. et Zucc.) Planch. (SAKAN et al., 1967).

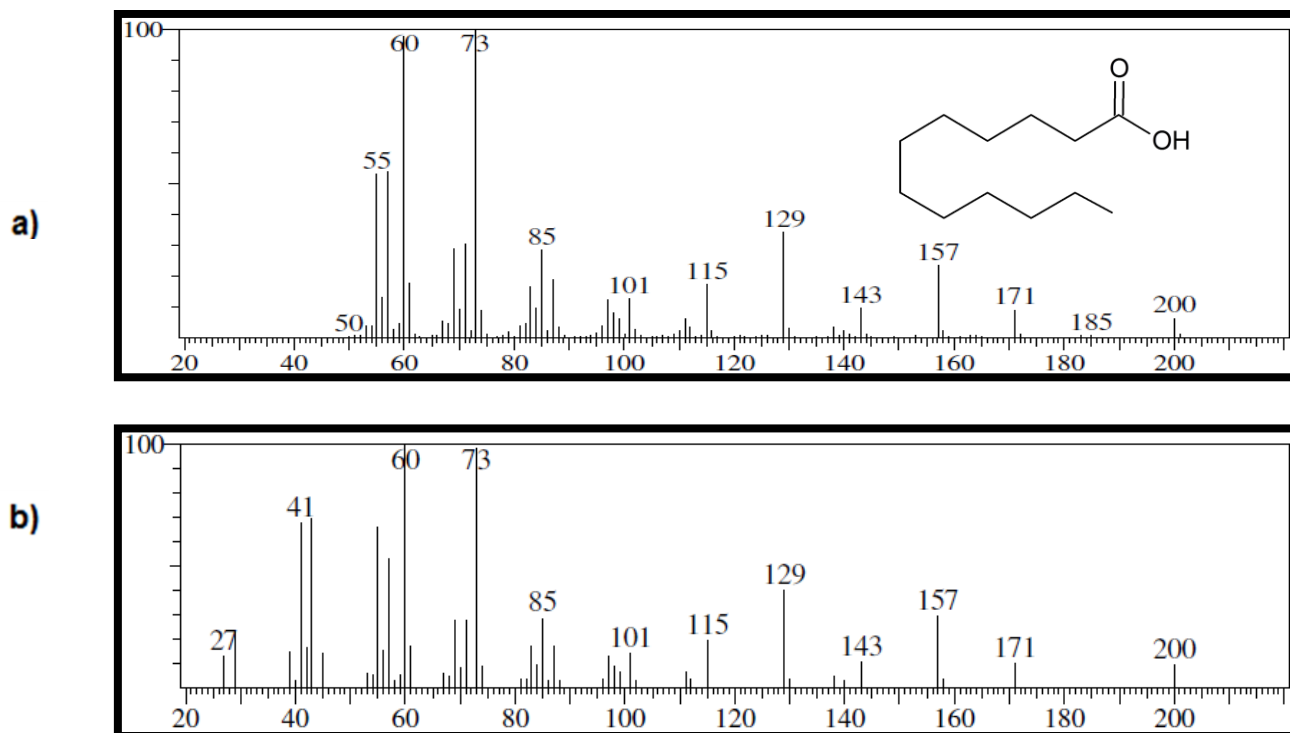


Figura 14.3 - Espectro de massas da substância identificada como ácido dodecanoico (ácido láurico).

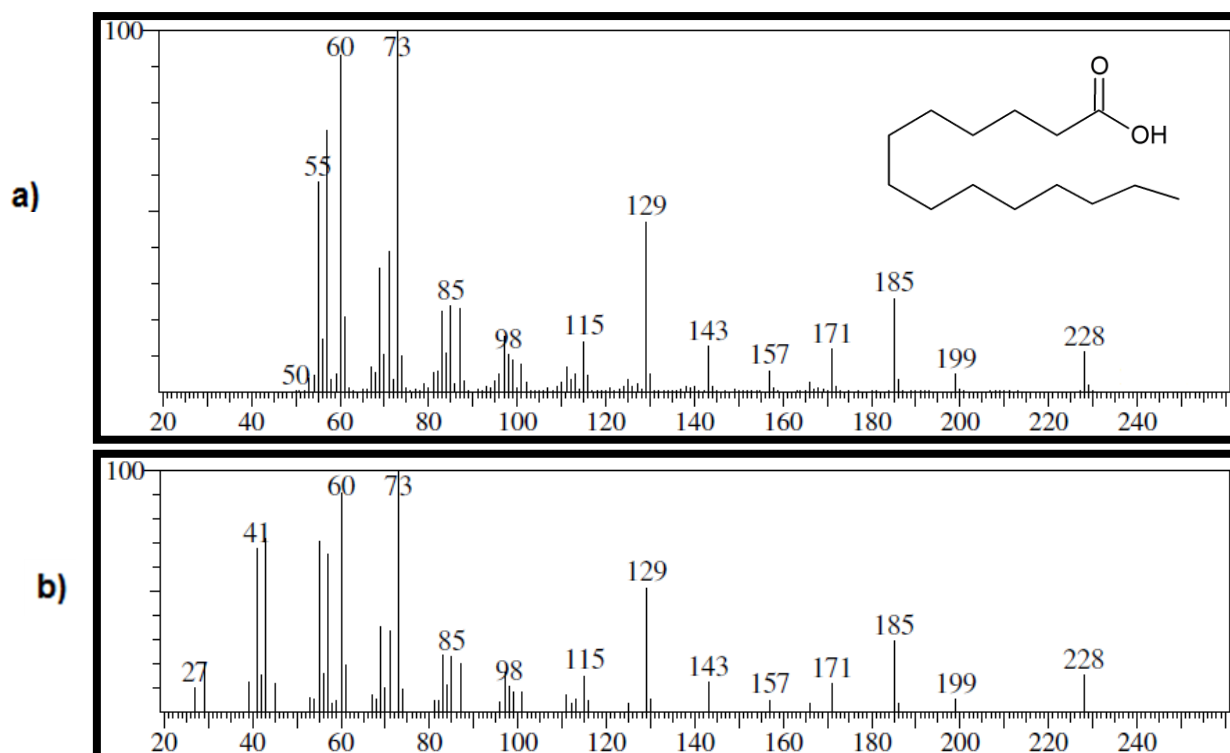


Figura 14.4 - Espectro de massas da substância identificada como ácido tetradecanoico (ácido mirístico).

As figuras 14.3 e 14.4 demonstram os espectros de massa das substâncias conhecidas como ácido láurico e mirístico, respectivamente. O

primeiro espectro apresenta pico do íon molecular com m/z 200 (M^{++}) e o pico base com m/z 73, além dos picos com m/z : 101, 115; 129; 143; 157 e 171. O segundo espectro apresenta pico do íon molecular com m/z 228(M^+) além dos picos com m/z : 55; 60; 73 (pico base); 85; 98; 115; 129; 143; 157; 171; 185; 199. Nos dois casos pode-se verificar que ocorre uma diferença de 14 unidades de massa entre a maioria dos fragmentos iônicos gerados, indicando a perda de CH_2 (CHOI, 1997). Ácidos graxos dessa natureza são encontrados frequentemente em palmeiras endêmicas da Amazônia (NASCIMENTO et al. 2008; RODRIGUES et al. 2010).

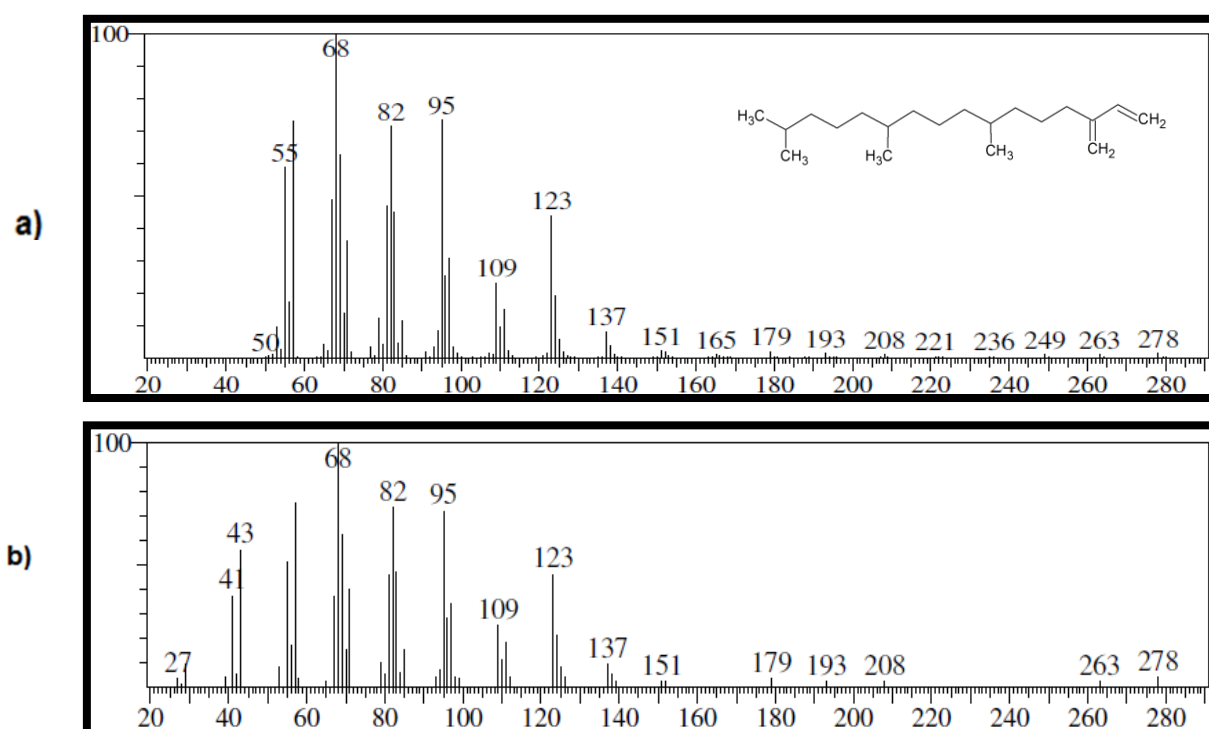
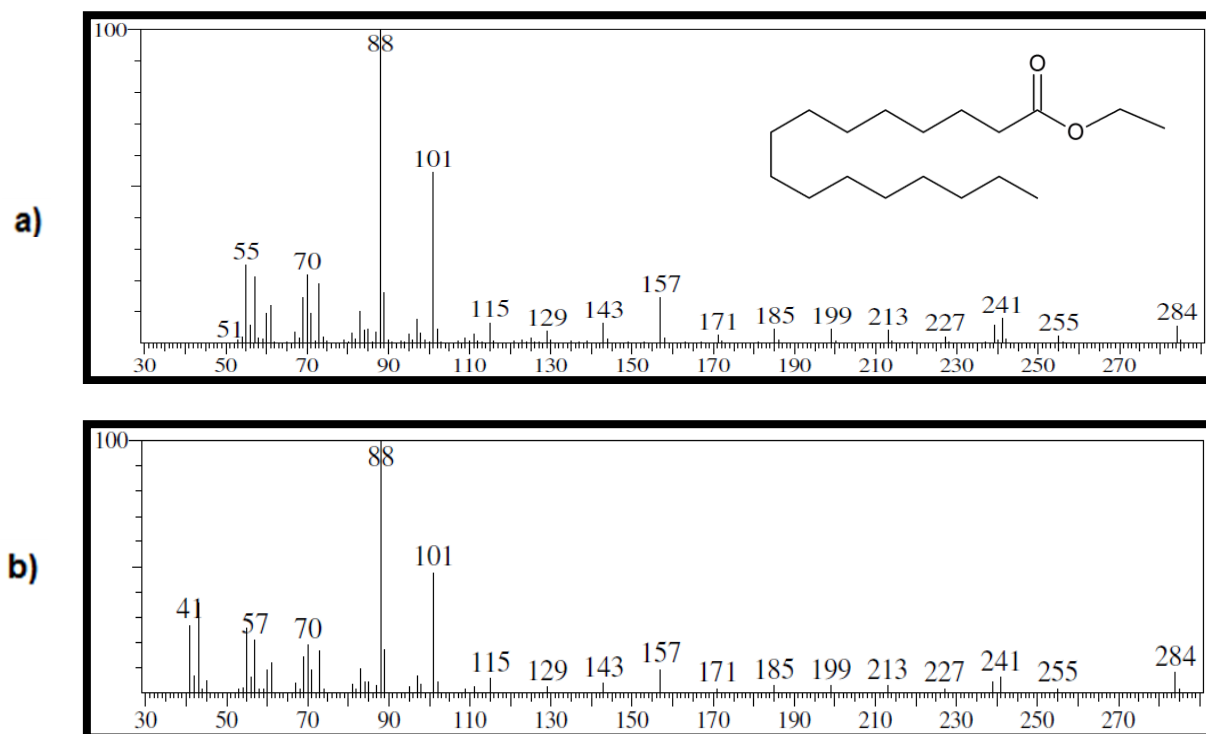
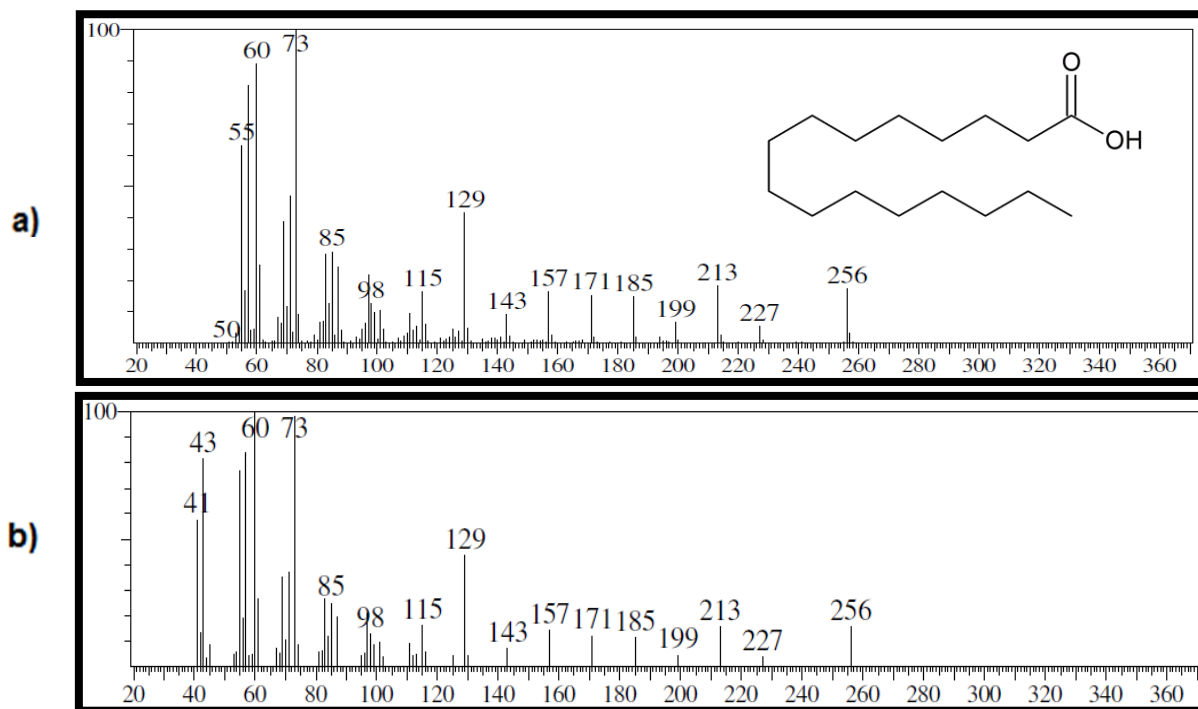


Figura 14.5 - Espectro de massas da substância identificada como 7,11,15-trimetil-3-metileno-hexadec-1-eno (neofitadieno).

O neofitadieno é um diterpeno linear encontrado comumente nas folhas de tabaco, sendo o principal responsável pelo aroma e sabor deste (VALIVITTAN et al., 2014). Este diterpeno pode ser encontrado em óleos voláteis de plantas (ORDAZ et al., 2011) e algas marinhas (OLIVEIRA et al., 2012), recentemente foi encontrado em elevada concentração em extrato acetato de etila de *Tiliacora acuminata* Miers (VALIVITTAN et al., 2014).



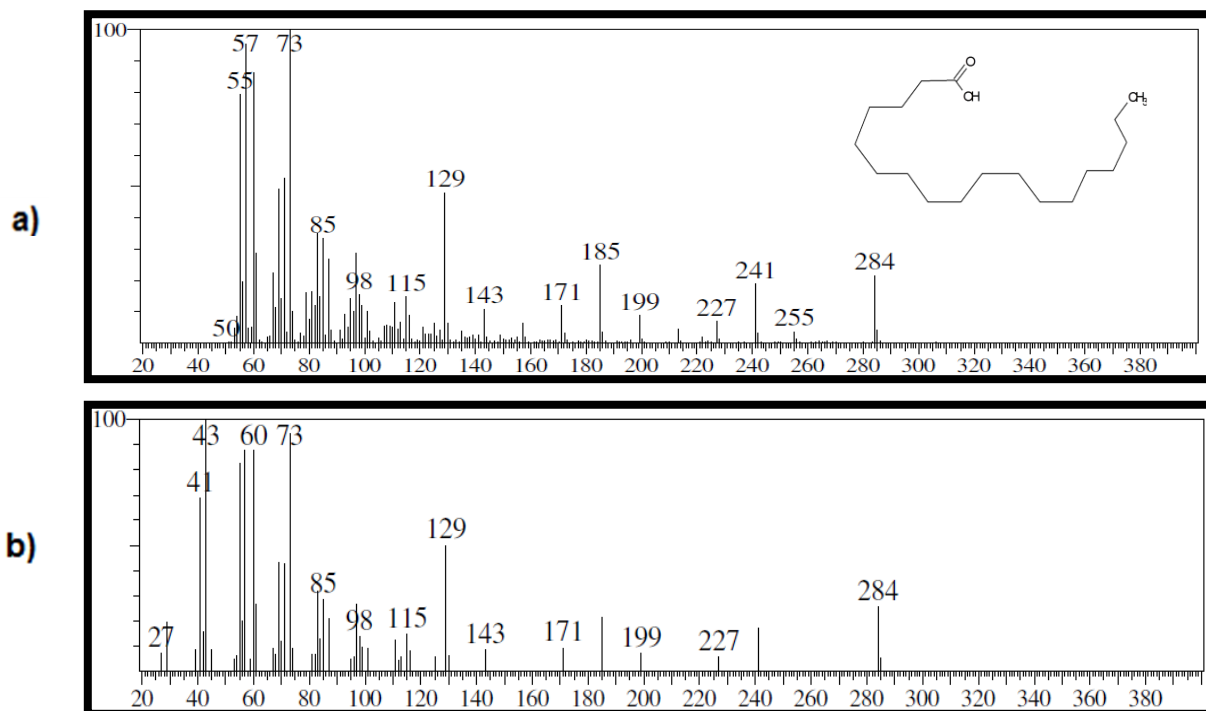


Figura 14.8 - Espectro de massas da substância identificada como ácido octadecanoico (ácido esteárico).

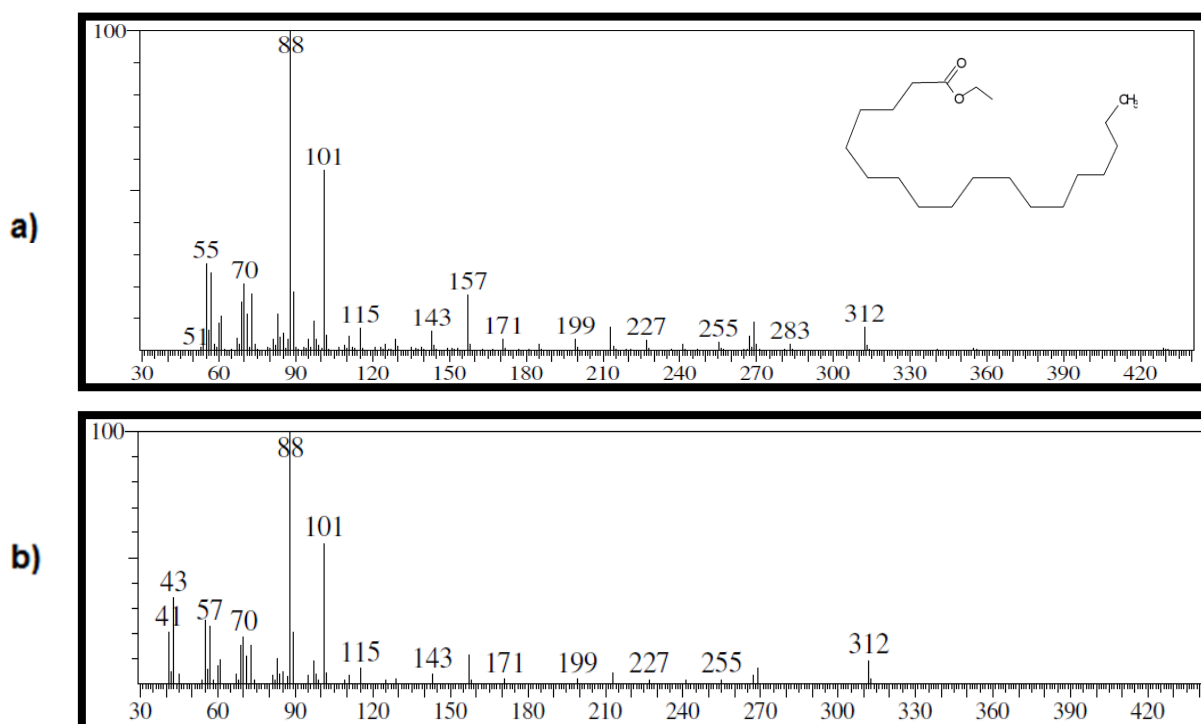


Figura 14.9 - Espectro de massas da substância identificada como octadecanoato de etila (estearato de etila).

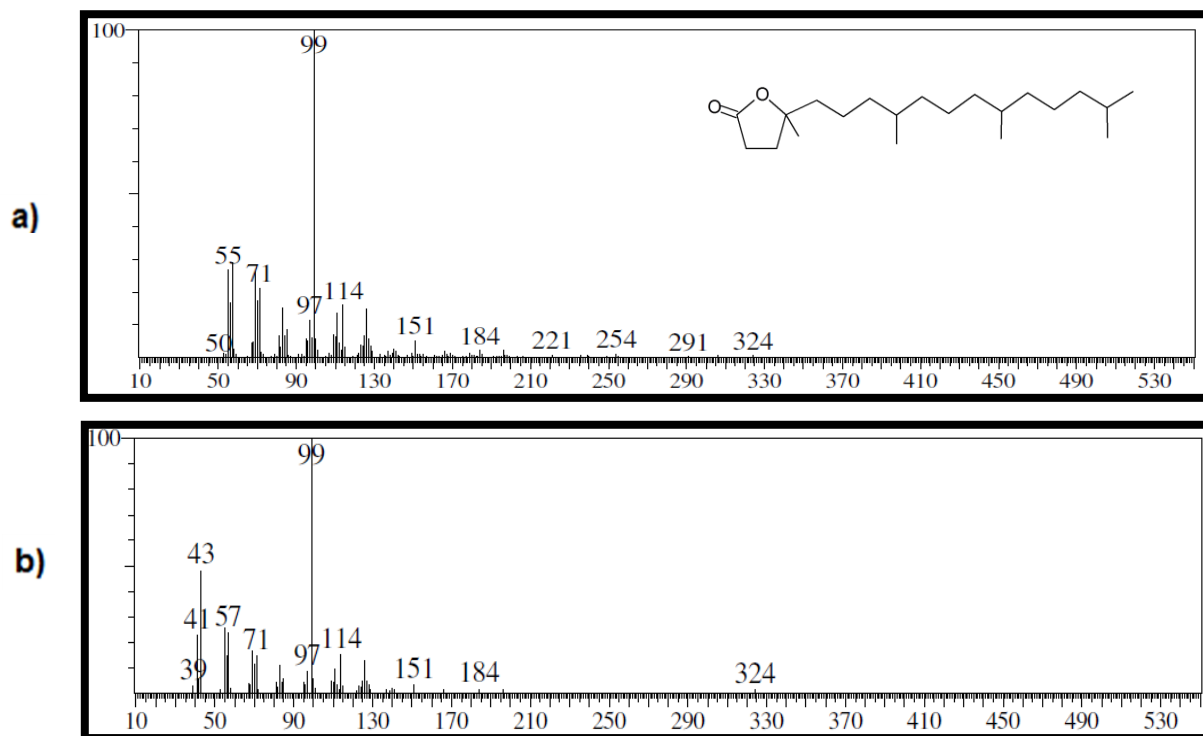


Figura 14.10 - Espectro de massas da substância identificada como 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo.

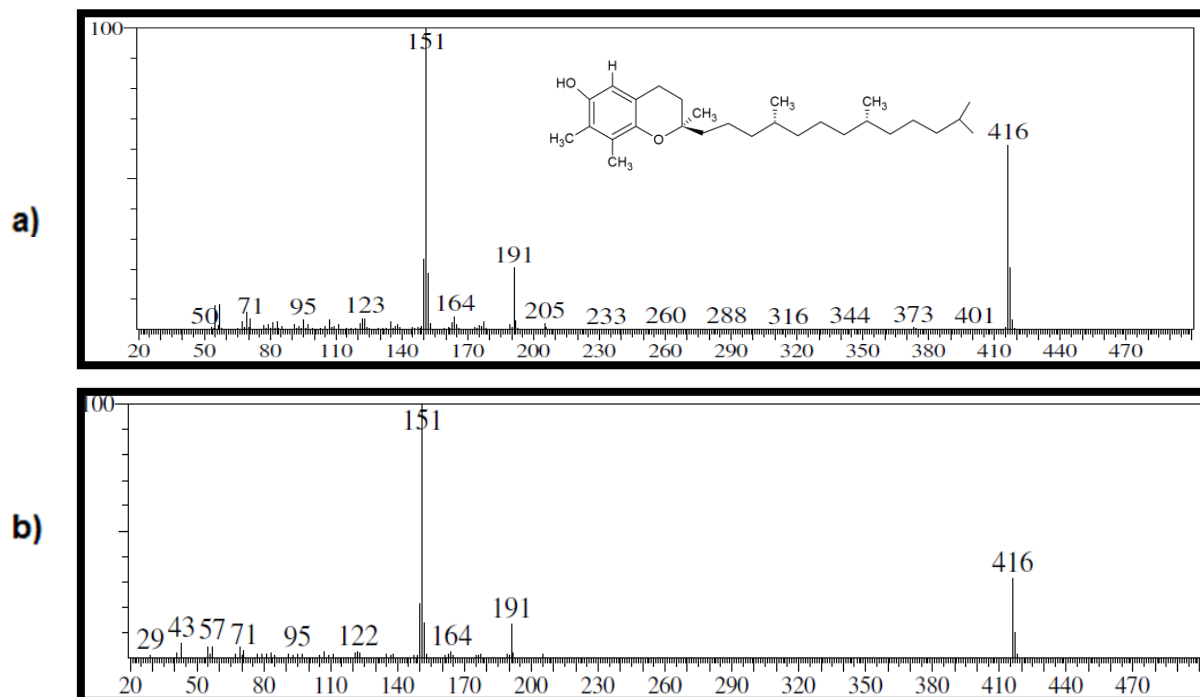


Figura 14.11 - Espectro de massas da substância identificada como γ-tocoferol.

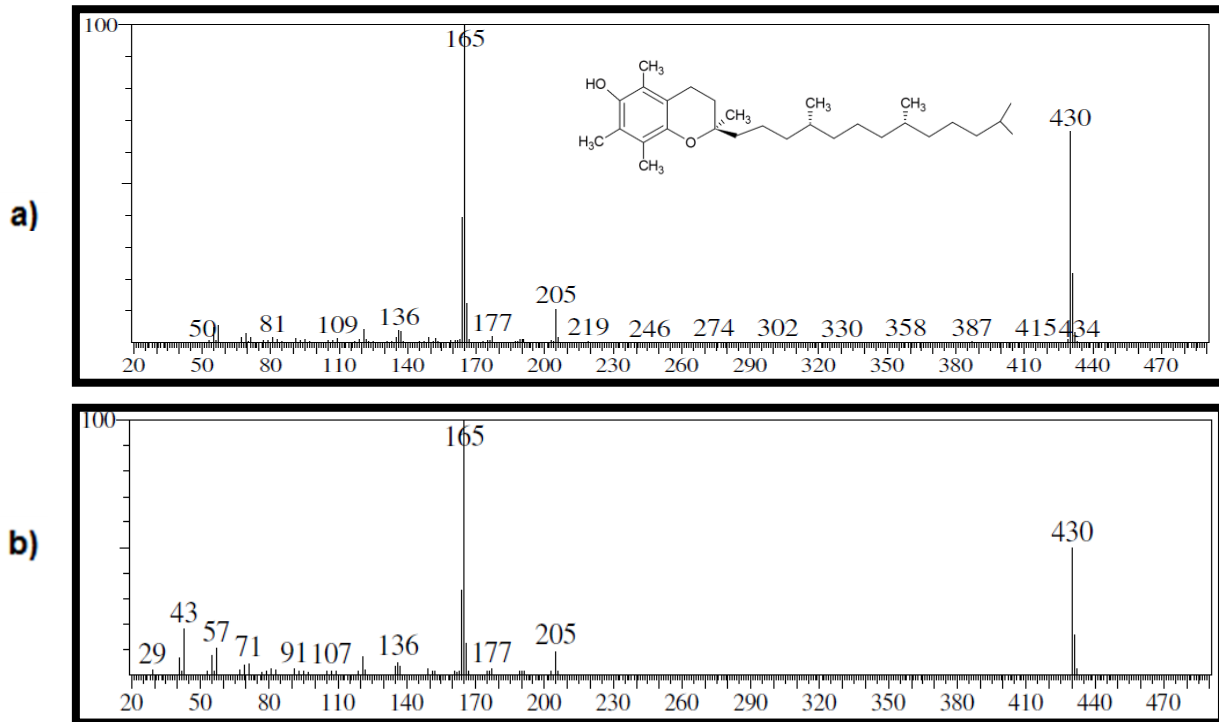


Figura 14.12 - Espectro de massas da substância identificada como α -tocoferol (vitamina E).

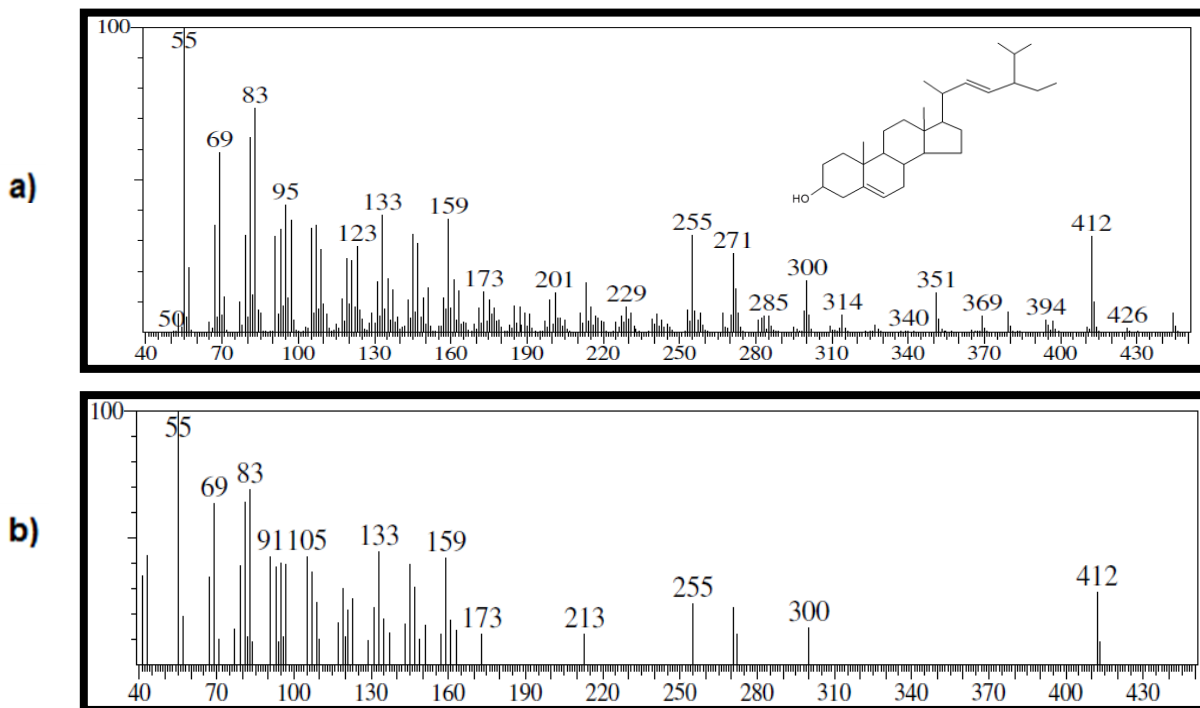
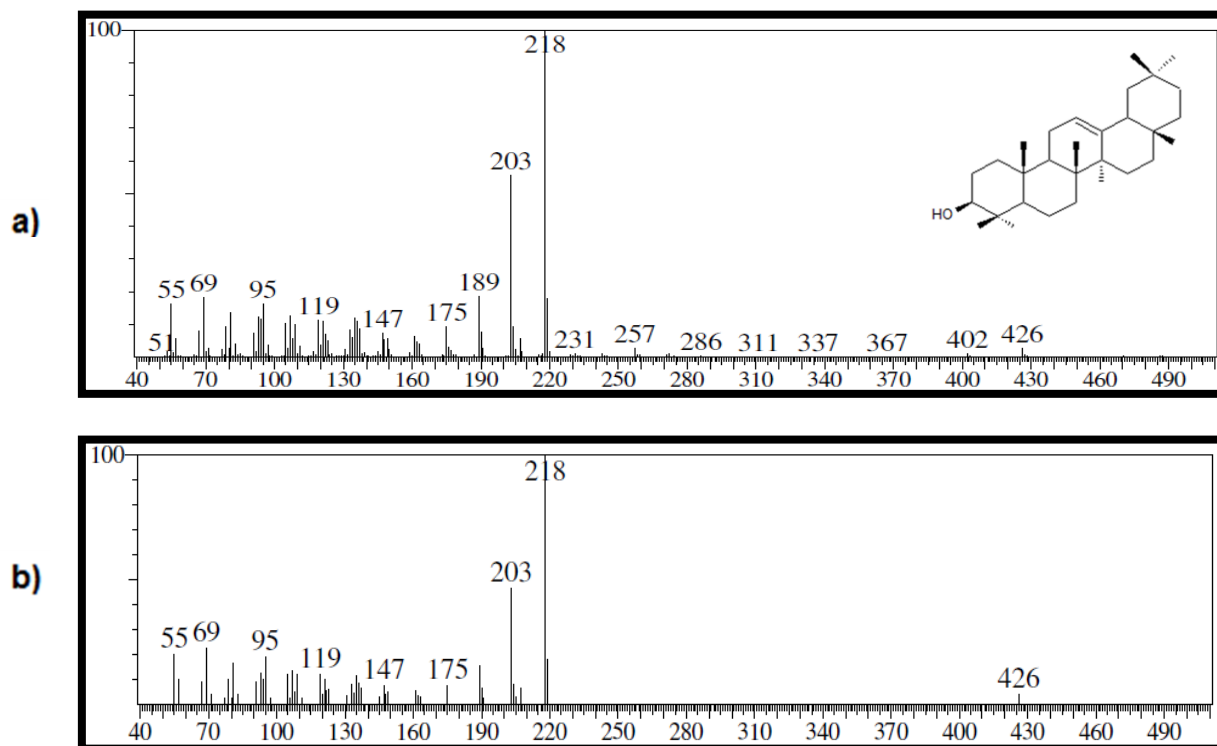
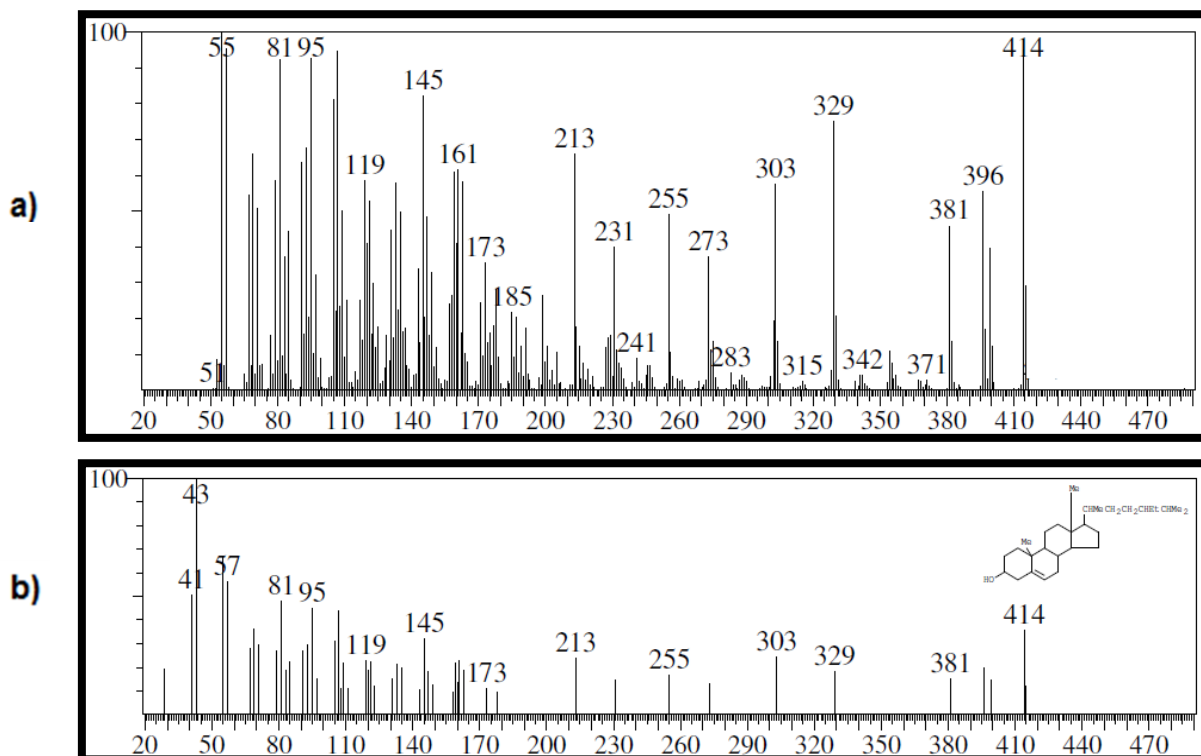


Figura 14.13 - Espectro de massas da substância identificada como estigmasterol.



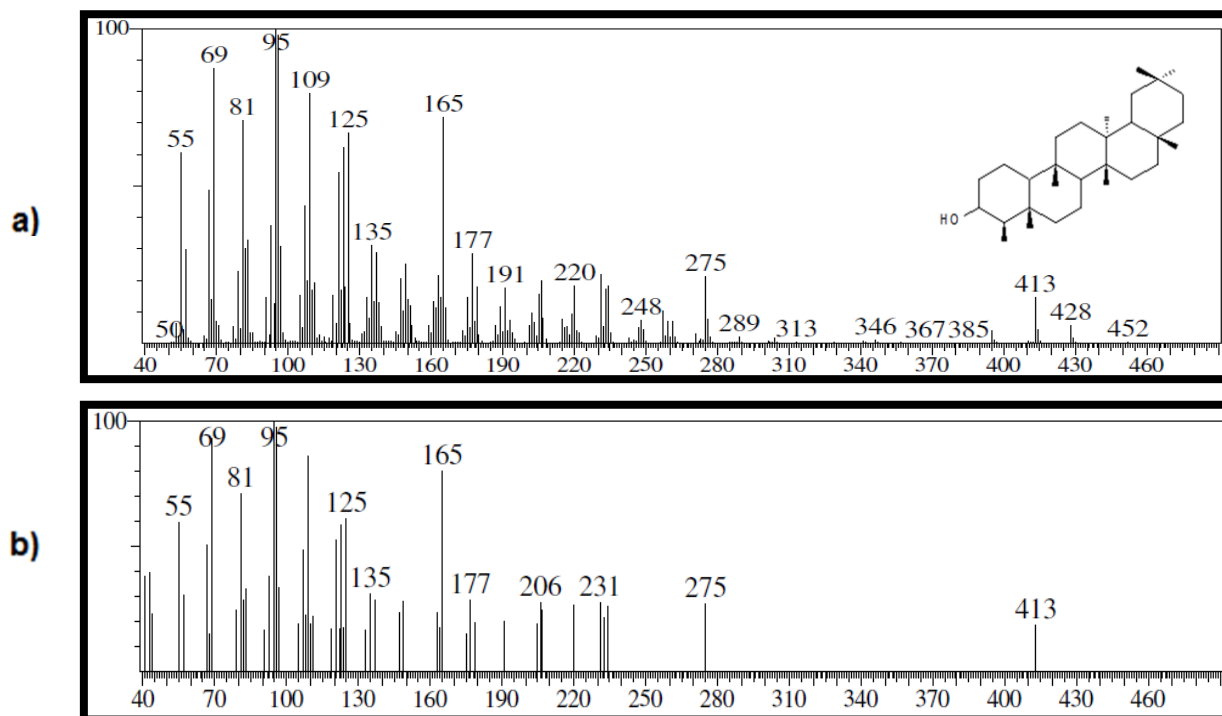


Figura 14.16 - Espectro de massas da substância identificada como β -friedelanol.

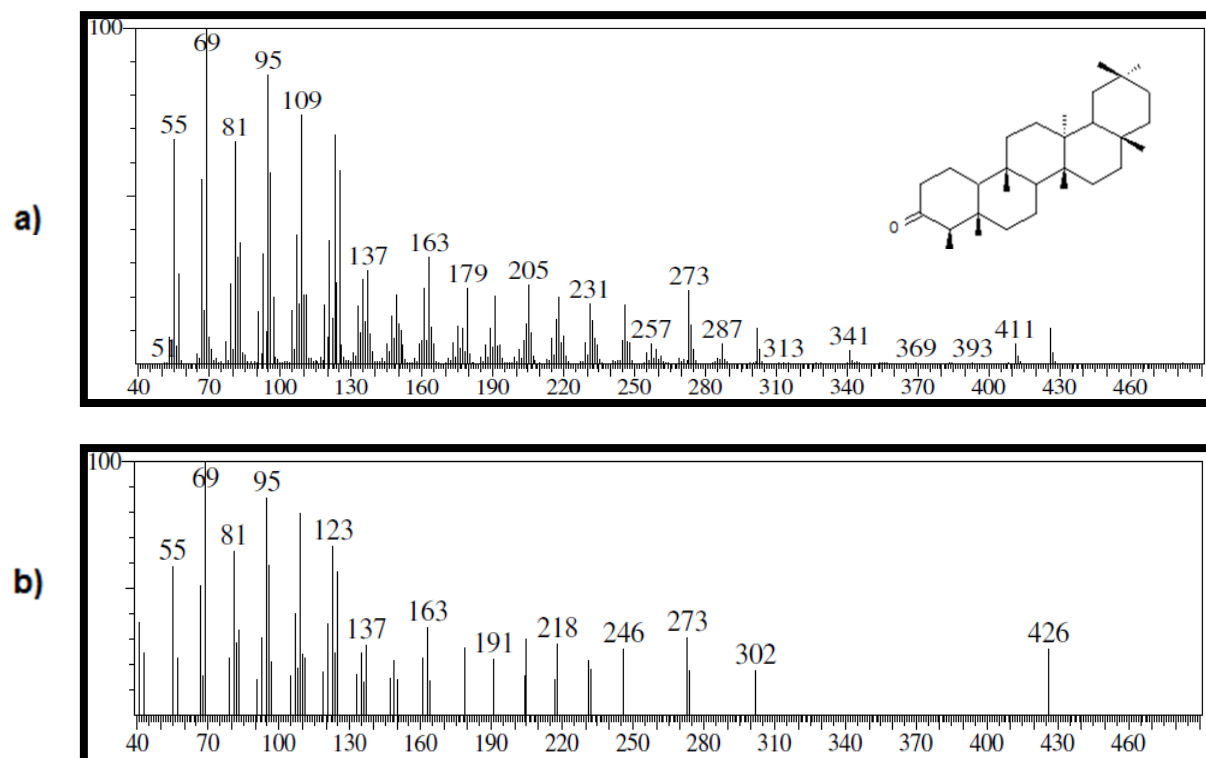


Figura 14.17 - Espectro de massas da substância identificada como friedelina.

Tabela 5 - Substâncias identificadas em EHF e seus respectivos índices de similaridade (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), razão massa/carga do pico base (P.B), fórmula molecular (F.M) e massa molecular (M.M).

| Substâncias | IS (%) | T_R (min.) | Área (%) | PB (m/z) | FM | MM |
|---|--------|--------------|----------|--------------|-------------------|-----|
| n-tetradecano | 96 | 13,361 | 0,06 | 57 | $C_{14}H_{30}$ | 198 |
| 5,6,7,7 α -tetraidro-4,4,7 α - trimetil-2(4 <i>H</i>)- benzofuranona | 92 | 15,238 | 0,15 | 111 | $C_{11}H_{16}O_2$ | 180 |
| ácido dodecanoico | 97 | 15,466 | 0,28 | 73 | $C_{12}H_{24}O_2$ | 200 |
| ácido tetradecanoico | 97 | 17,820 | 0,82 | 73 | $C_{14}H_{28}O_2$ | 228 |
| 7,11,15-trimetil-3-metileno- hexadec-1-eno | 97 | 18,667 | 1,23 | 68 | $C_{20}H_{38}$ | 278 |
| ácido hexadecanoico | 96 | 19,975 | 3,68 | 73 | $C_{16}H_{32}O_2$ | 256 |
| hexadecanoato de etila | 97 | 20,249 | 0,56 | 88 | $C_{18}H_{36}O_2$ | 284 |
| ácido octadecanoico | 93 | 21,884 | 1,99 | 73 | $C_{18}H_{36}O_2$ | 284 |
| octadecanoato de etila | 97 | 22,135 | 0,44 | 88 | $C_{20}H_{40}O_2$ | 312 |
| 4,8,12,16-tetrametil- heptadecan-4-olídeo | 94 | 23,529 | 0,65 | 99 | $C_{21}H_{40}O_2$ | 324 |
| γ -tocoferol | 93 | 29,945 | 1,57 | 151 | $C_{28}H_{48}O_2$ | 416 |
| α -tocoferol | 95 | 31,156 | 6,67 | 165 | $C_{29}H_{50}O_2$ | 430 |
| estigmasterol | 95 | 33,393 | 3,52 | 55 | $C_{29}H_{48}O$ | 412 |
| β -sitosterol | 90 | 34,726 | 7,62 | 43 | $C_{29}H_{50}O$ | 414 |
| β -amirina | 95 | 35,623 | 1,28 | 218 | $C_{30}H_{50}O$ | 426 |
| β -friedelanol | 95 | 40,104 | 16,66 | 95 | $C_{30}H_{52}O$ | 428 |
| friedelina | 96 | 40,523 | 3,20 | 69 | $C_{30}H_{50}O$ | 426 |

5.5 Análise das frações / frações reunidas e precipitados obtidos a partir do fracionamento de EHF de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied.

5.5.1 Fração FRHEO-1

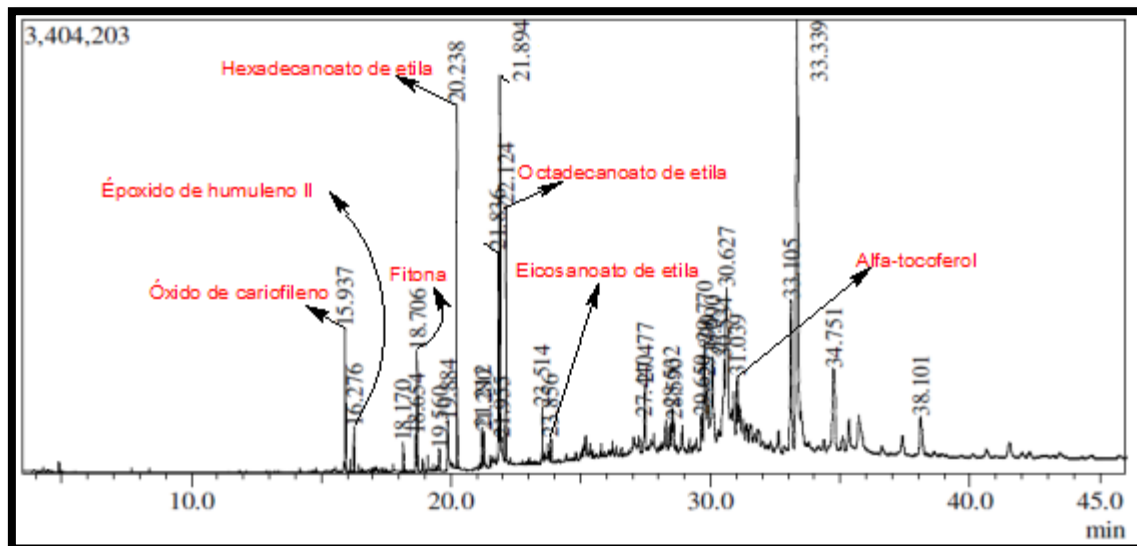


Figura 15 - Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração FRHEO-1.

A partir da visualização do cromatograma foi possível verificar a presença de 29 picos, destes foi possível identificar 12.

As substâncias identificadas são: um ácido graxo (ácido hexadecanoico); sete ésteres graxos (hexadecanoato de metila, hexadecanoato de etila, tetradecanoato de etila, octadecanoato de etila e eicosanoato de etila); dois sesquiterpenos (óxido de cariofileno e epóxido de humuleno II), dois diterpenos (neofitadieno e fitona); α -tocoferol e 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo.

As seguintes substâncias, óxido de cariofileno, epóxido de humuleno II, hexadecanoato de metila, tetradecanoato de etila, eicosanoato de etila e fitona, que foram identificadas em FRHEO-1, não foram detectadas na análise do extrato bruto. Isto, provavelmente por se encontrar em baixa concentração em relação aos outros constituintes.

Óxido de cariofileno [figura 15.1 (pág.72)], epóxido de humuleno II [figura 15.2 (pág. 73)] e fitona [15.4 (pág.74)] são constituintes comuns em óleos voláteis (JAVIDNIA et al., 2009; XIONG et al., 2013).

A presença de ésteres de ácidos graxos é relatada em estudo com espécie da família, onde estes foram encontrados como constituintes majoritários em *Gustavia elliptica* L. (Lecythidaceae) (ALMEIDA et al., 2011).

Ésteres etílicos de ácidos graxos são geralmente preparados para compor o biodiesel, são produzidos a partir da esterificação de seus ácidos graxos de origem. Os óleos de soja e babaçu são as fontes mais conhecidas de ácidos graxos para produção de biodiesel (FERRARI et al.2005; URIOSTE et al., 2008).

A seguir serão apresentados somente os espectros das substâncias que não foram identificadas no extrato hexânico [figuras de 15.1 a 15.6 (pág.72 a 75)]. Em cada um deles a figura “a” mostra o espectro de massas da amostra e a figura “b” mostra o espectro de massas da biblioteca, com o qual apresenta índice de similaridade acima de 90%.

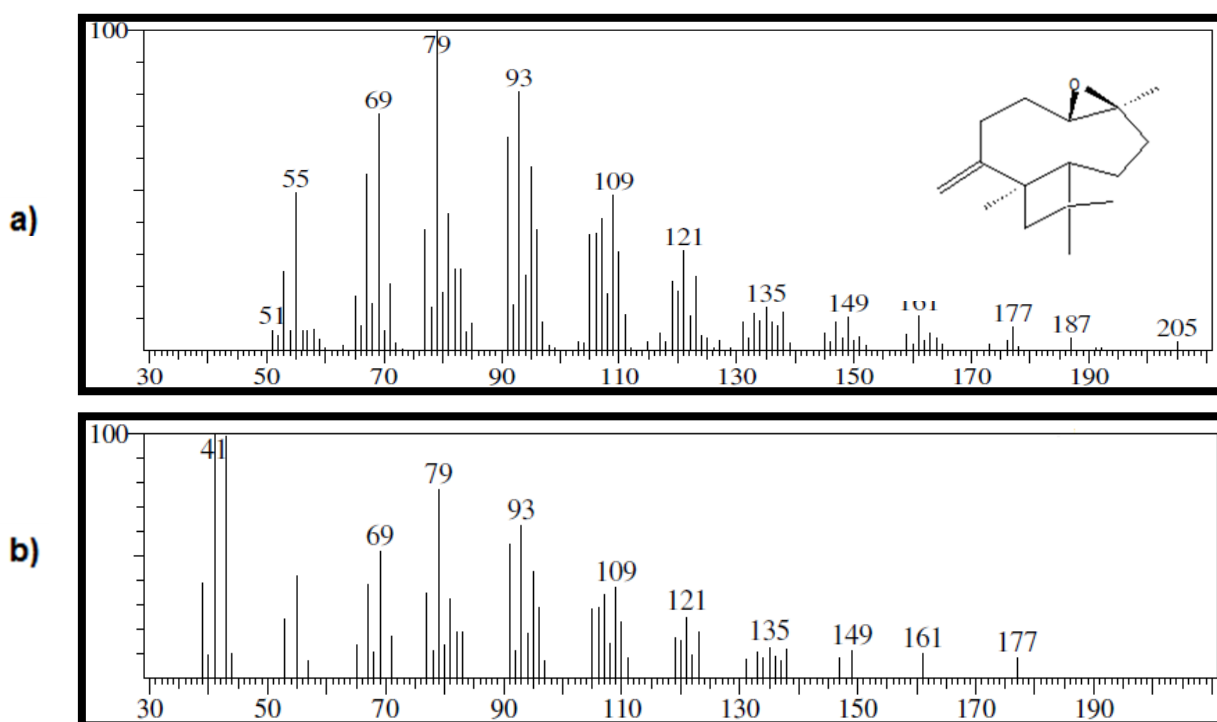


Figura 15.1 - Espectro de massas da substância identificada como óxido de cariofileno.

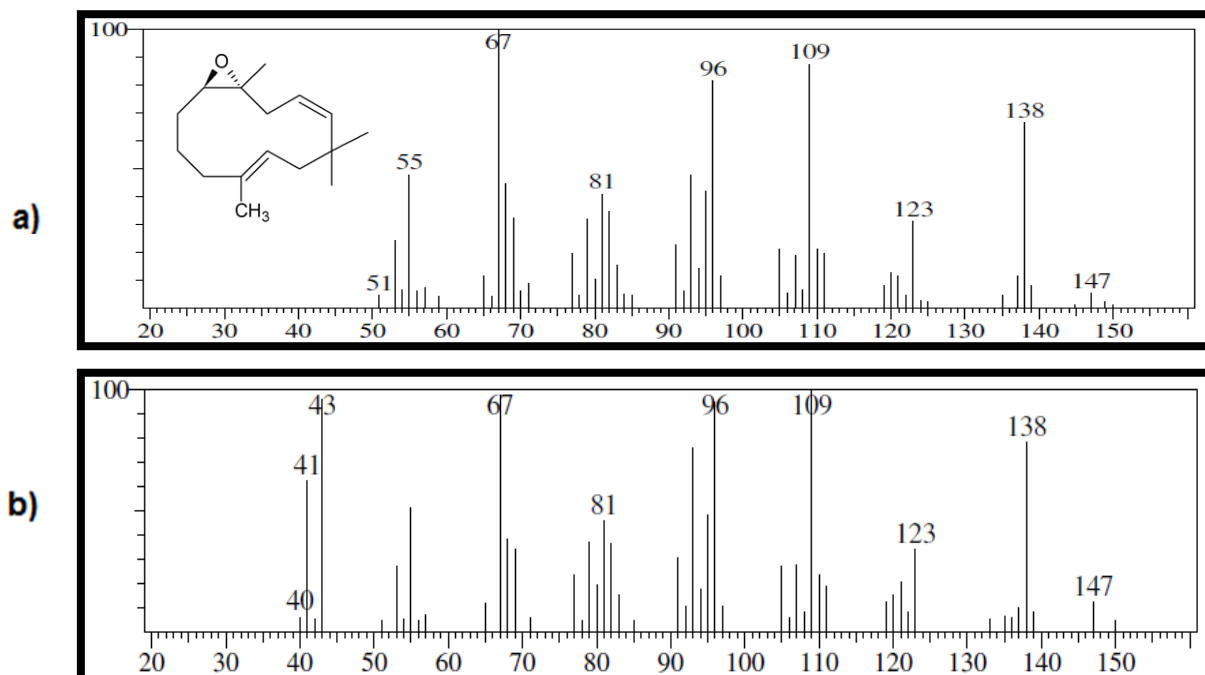


Figura 15.2 - Espectro de massas da substância identificada como epóxido de humuleno II.

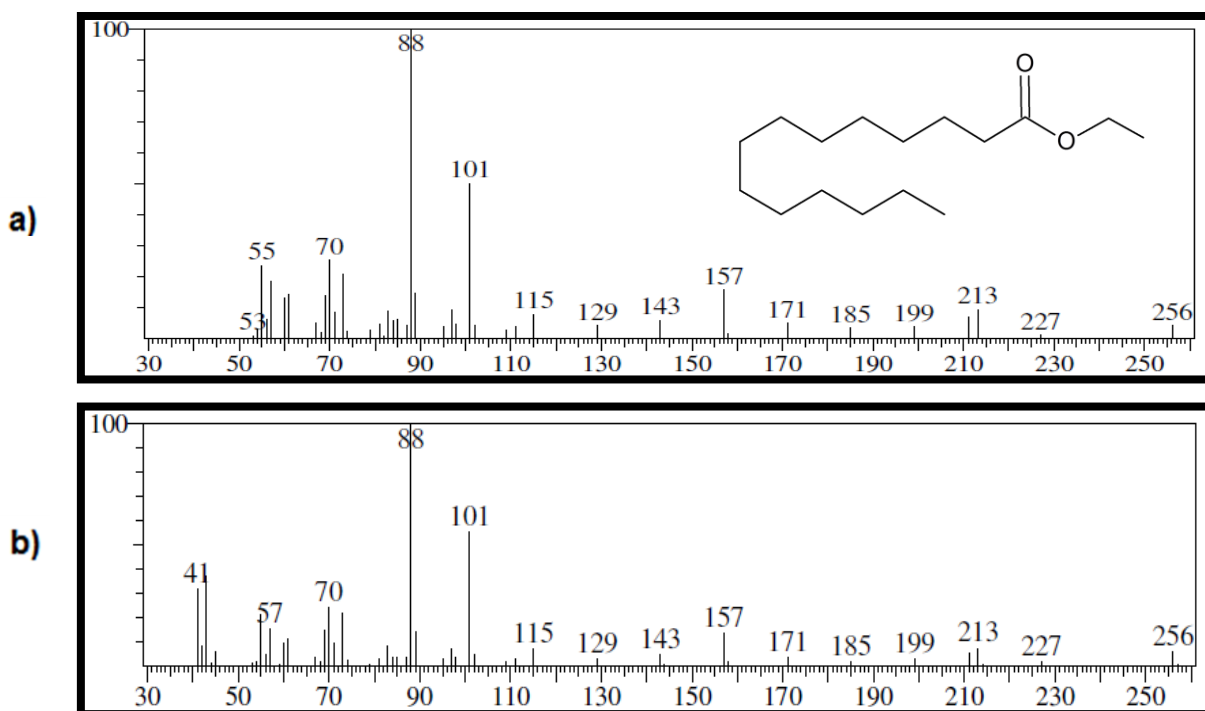


Figura 15.3 - Espectro de massas da substância identificada como tetradecanoato de etila.

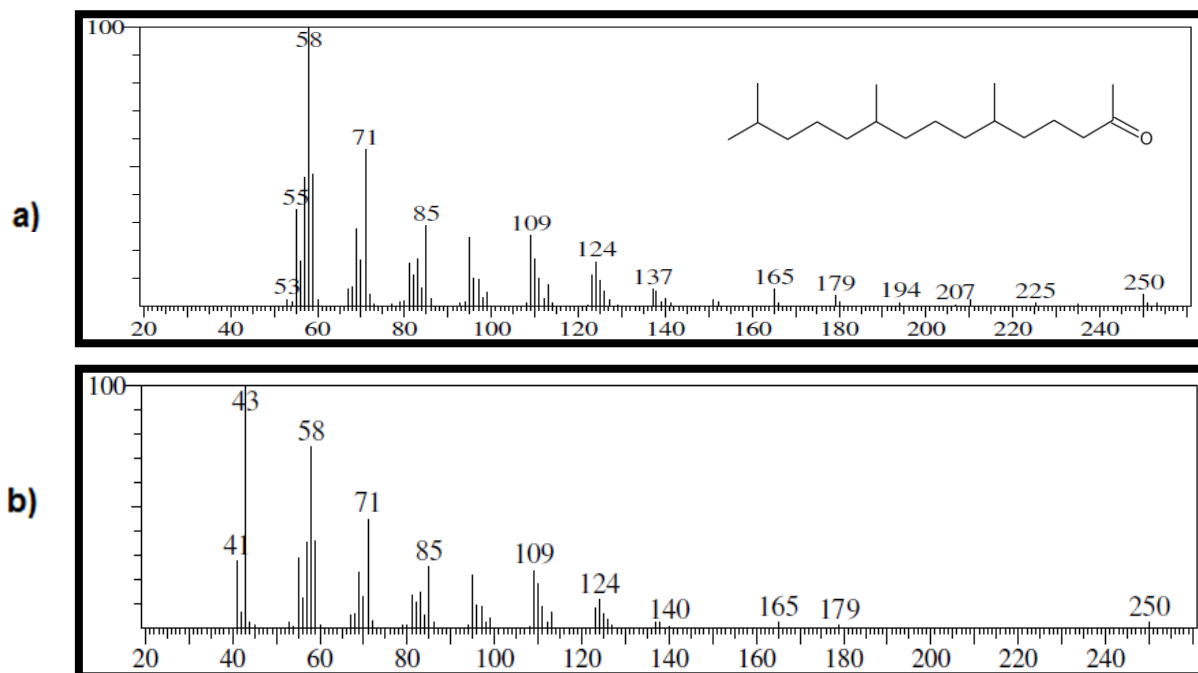


Figura 15.4 - Espectro de massas da substância identificada como fitona.

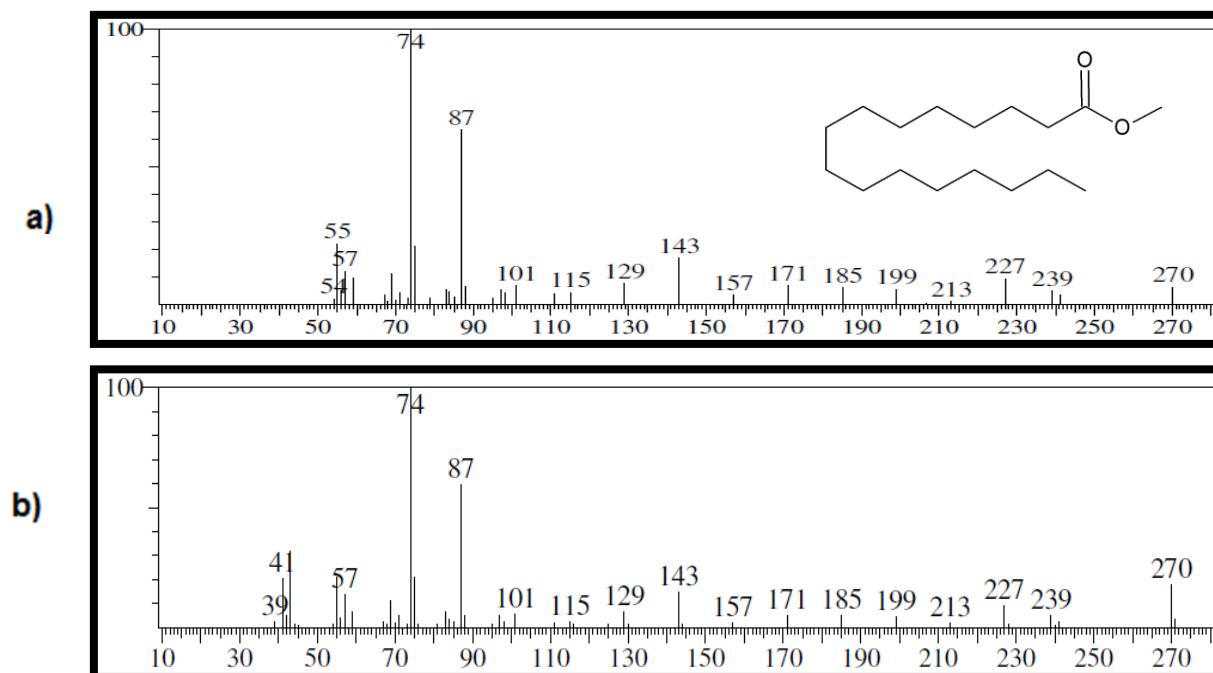


Figura 15.5 - Espectro de massas da substância identificada como hexadecanoato de metila (palmitato de metila).

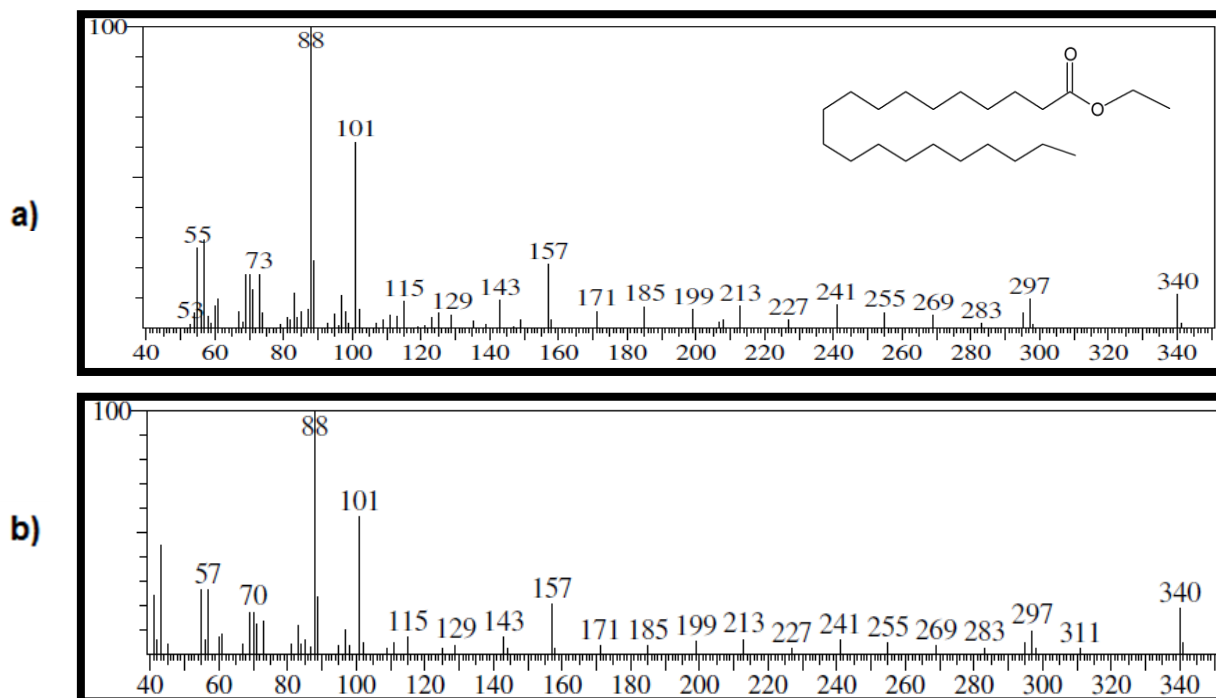


Figura 15.6 - Espectro de massas da substância identificada como eicosanoato de etila.

Tabela 6 - Substâncias identificadas na amostra FRHEO-1 e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM).

| Substâncias | I.S (%) | T_R (min.) | Área (%) | P. B m/z | F. M | M. M |
|--|---------|--------------|----------|------------|-------------------|------|
| óxido de cariofileno | 97 | 15,937 | 2,51 | 79 | $C_{15}H_{24}O$ | 220 |
| epóxido de humuleno II | 94 | 16,73 | 0,80 | 67 | $C_{15}H_{24}O$ | 220 |
| tetradecanoato de etila | 96 | 18,170 | 0,52 | 88 | $C_{16}H_{32}O_2$ | 256 |
| neofitadieno | 96 | 18,654 | 0,62 | 68 | $C_{20}H_{38}$ | 278 |
| fitona | 96 | 18,706 | 1,98 | 58 | $C_{18}H_{36}O$ | 268 |
| hexadecanoato de metila | 95 | 19,560 | 0,32 | 74 | $C_{17}H_{34}O_2$ | 270 |
| ácido hexadecanoico | 95 | 19,884 | 1,02 | 73 | $C_{16}H_{32}O_2$ | 256 |
| hexadecanoato de etila | 96 | 20,238 | 6,11 | 88 | $C_{18}H_{36}O_2$ | 284 |
| octadecanoato de etila | 96 | 22,124 | 4,30 | 88 | $C_{20}H_{36}O$ | 312 |
| 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo | 92 | 23,514 | 0,93 | 99 | $C_{21}H_{40}O_2$ | 324 |
| eicosanoato de etila | 93 | 23,856 | 0,40 | 88 | $C_{22}H_{44}O_2$ | 340 |
| α -tocoferol | 92 | 31,039 | 1,83 | 165 | $C_{29}H_{50}O_2$ | 430 |

5.5.3 Frações 75 e 76

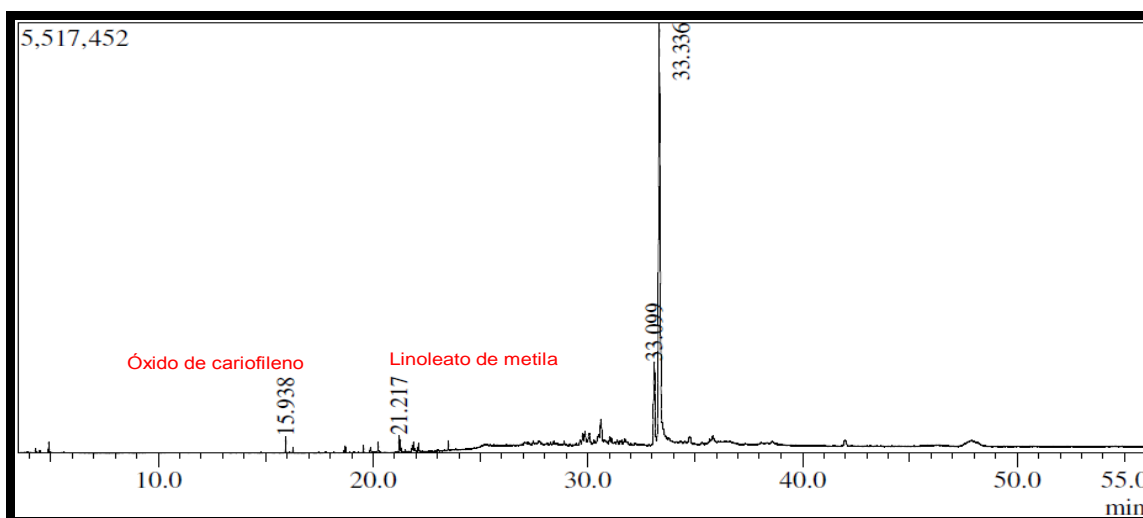


Figura 16 - Perfil Cromatográfico dos constituintes das frações 75 e 76.

As frações 75 e 76 apresentaram 4 picos. Porém, nos dois casos somente dois picos foram identificados. Nas duas frações, o primeiro é o óxido de cariofileno (15, 938 min.) e o segundo o linoleato de metila (octadecadienoato de metila) (21, 217 min.).

Existem dois picos intensos presentes nos cromatogramas das duas frações que não foram identificados, possivelmente deve tratar-se das mesmas substâncias. Tais picos não foram identificados por nenhuma das espectrotescas utilizadas, isto nos leva a acreditar que se trata de substâncias desconhecidas.

O óxido de cariofileno já foi identificado na amostra FRHEO-1 (figura 15.1, pág. 72), por isso é apresentado somente o espectro de massas do linoleato de metila. A figura 16.1 abaixo está dividida em figura “a” mostrando o espectro de massas da amostra e a figura “b” mostrando o espectro de massas da biblioteca, com o qual apresenta índice de similaridade acima de 90%.

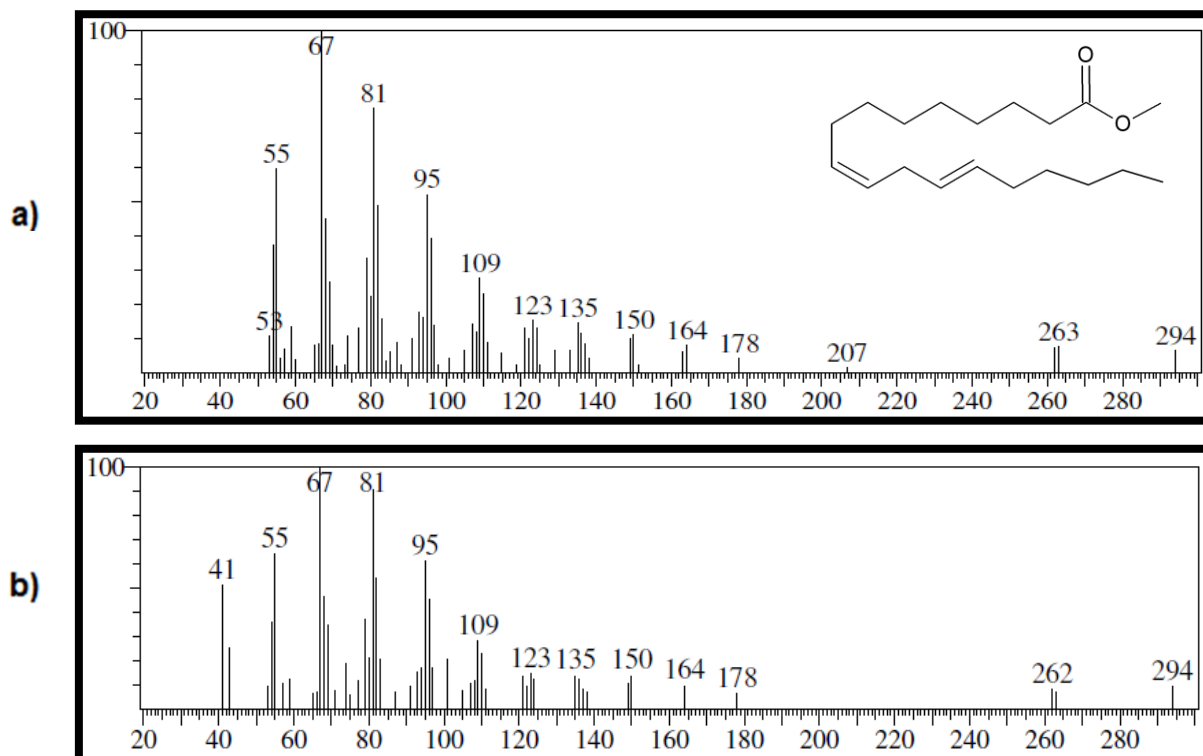


Figura 16.1 - Espectro de massas da substância identificada como octadecadienoato de metila (linoleato de metila).

5.5.4 Fração FRHEO-2

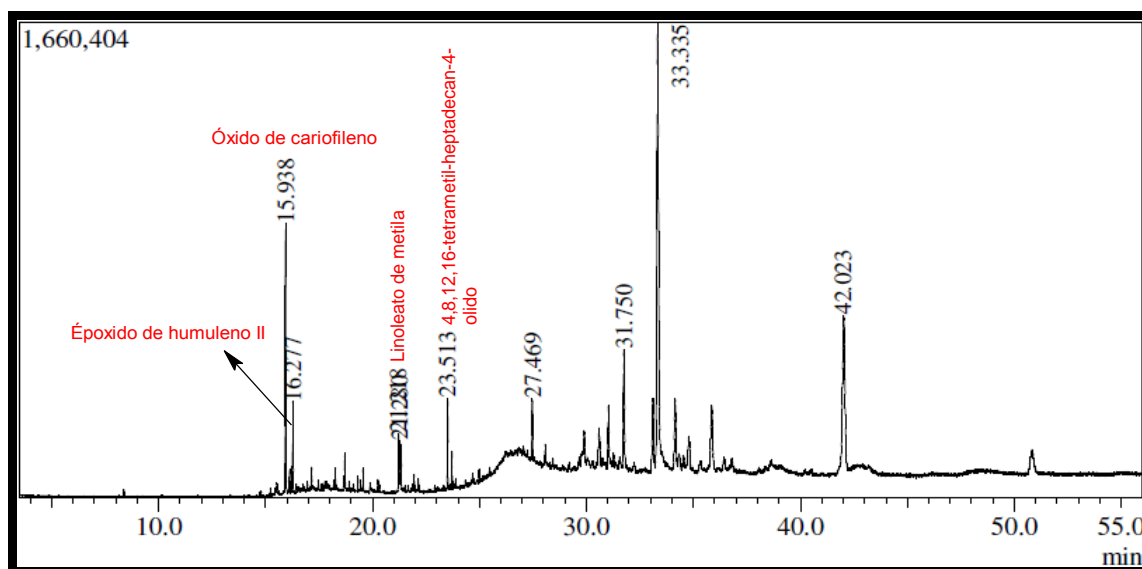


Figura 17 - Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração FRHEO-2.

Em FRHEO-2 foi possível identificar: óxido de cariofileno (15,938 min.), epóxido e humuleno II (16,277 min.), linoleato de metila (21,218 min.) e 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-ólido (23,513 min.). Das substâncias

identificadas aquela que está em maior concentração não foi identificada, assim como outros picos presentes no cromatograma.

Todas as substâncias presentes em FRHEO-2 já foram identificadas em amostras anteriores. Óxido de cariofileno e epóxido humuleno II estão presentes em FRHEO-1, seus espectros de massas estão nas figuras 15.1 e 15.2 (pág.72 e 73), respectivamente.

O linoleato de metila está presente nas frações 75 e 76 [espectro de massas figura 16.1 (pág. 78)]. A lactona 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo foi identificado também em EHF [figura 14.10 (pág. 66)], este foi identificado em elevada concentração em óleo volátil de *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae) (ABADI et al., 2013).

5.5.5 Fração 87

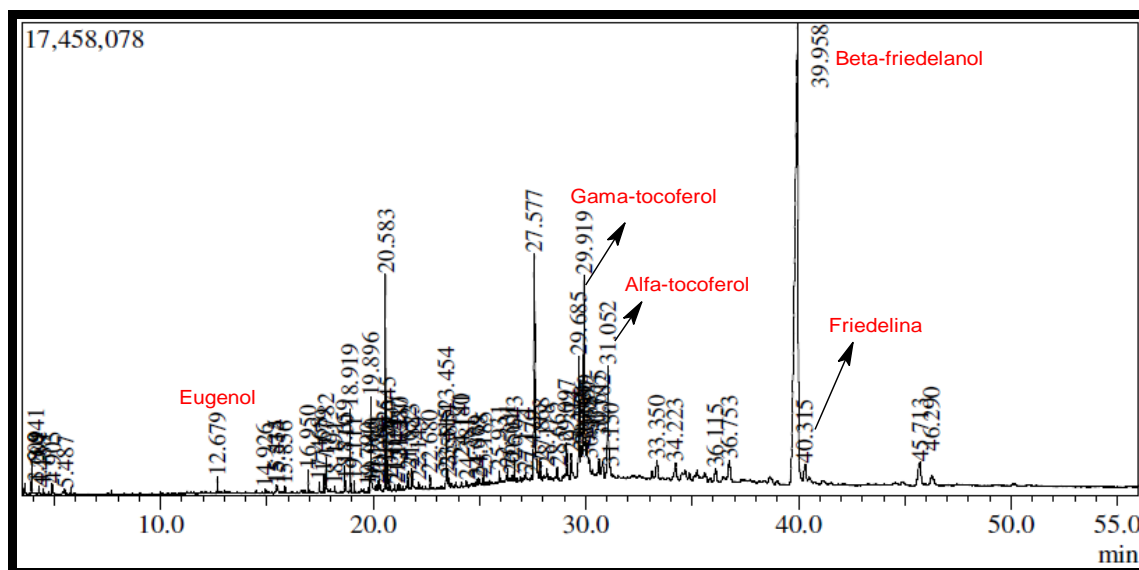


Figura 18 - Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração 87.

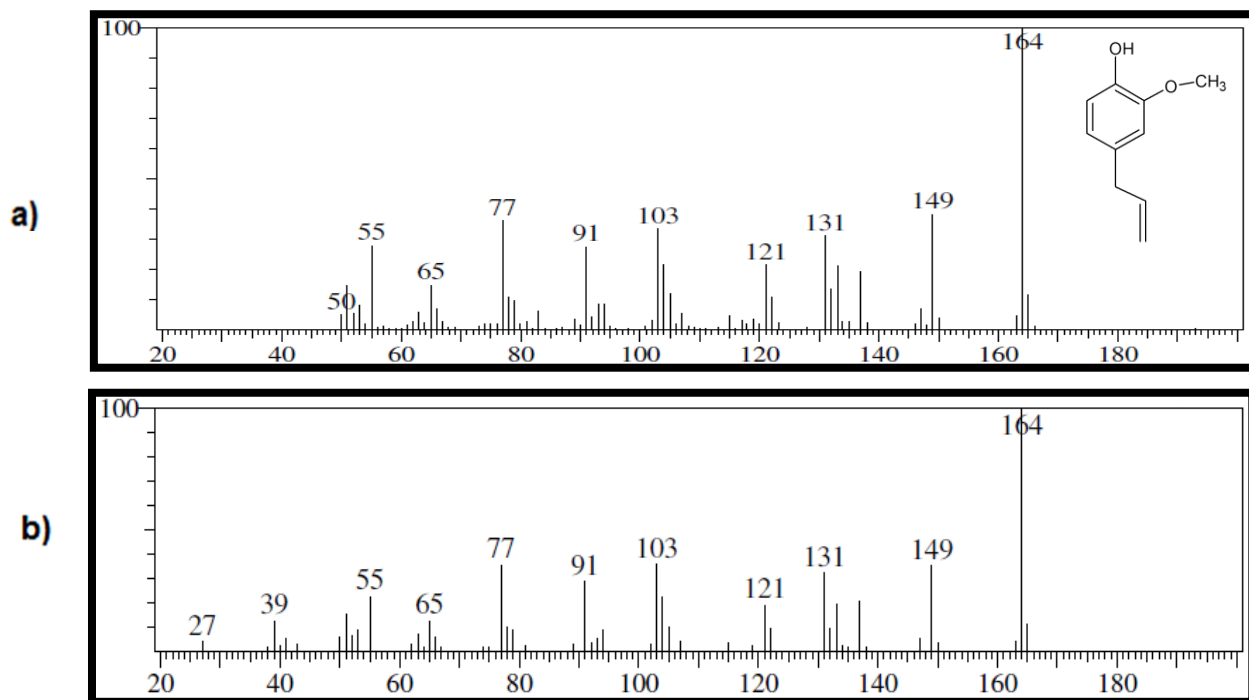


Figura 18.1 - Espectro de massas da substância identificada como 4-aliil-2-metoxifenol (eugenol).

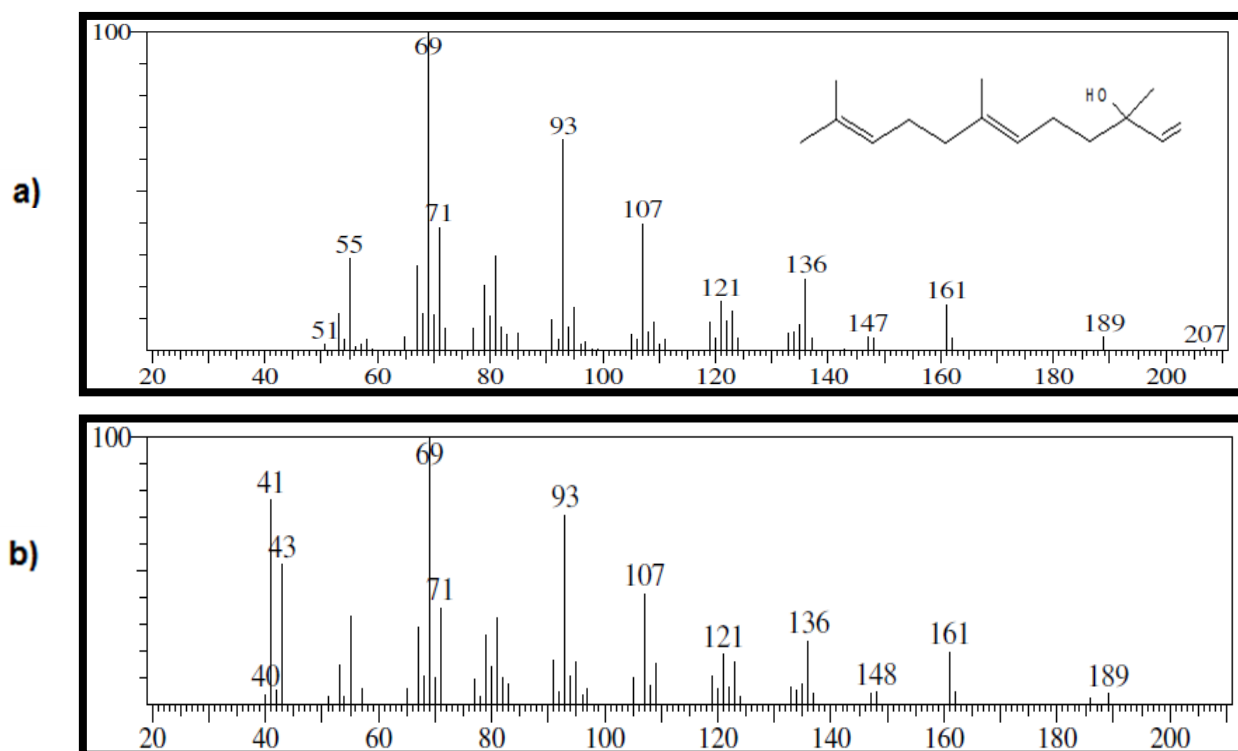


Figura 18.2 - Espectro de massas da substância identificada como 3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-ol (nerolidol).

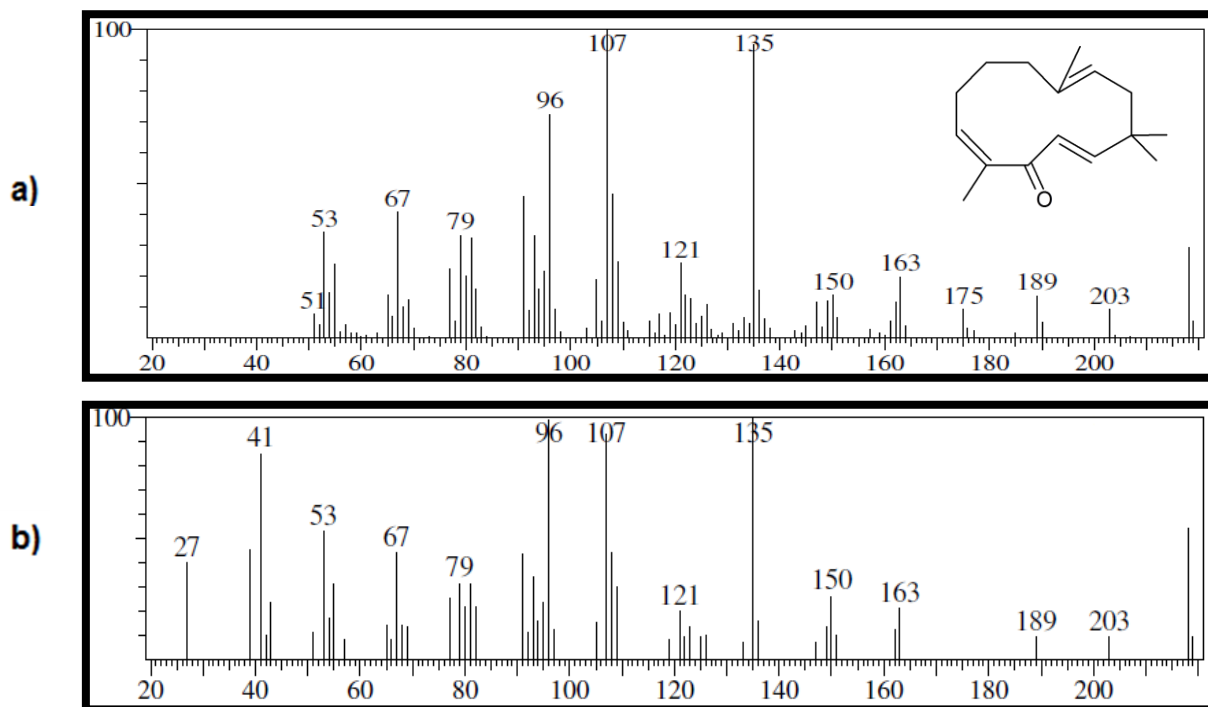


Figura 18.3 - Espectro de massas da substância identificada como 2,6,9,9-tetrametil-2,6,10-ciclundecatrien-1-ona (zerumbona).

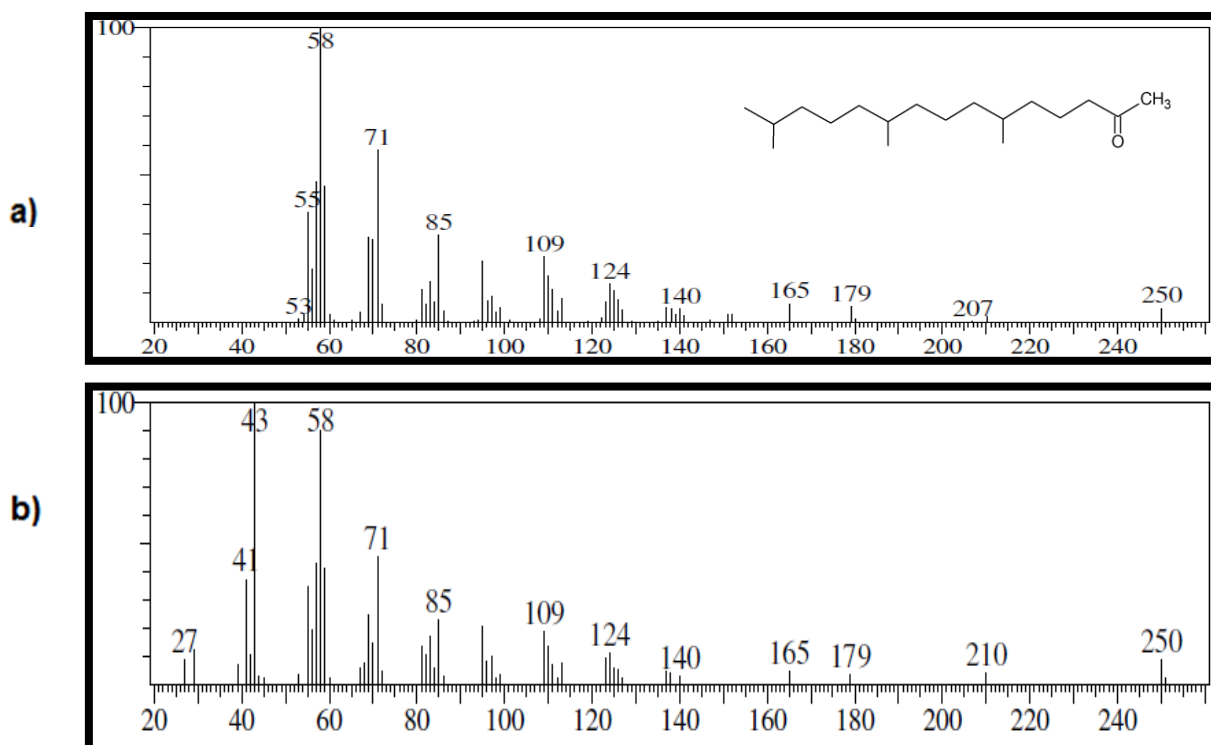


Figura 18.4 - Espectro de massas da substância identificada como 6,10,14-trimetil-pentadecanona.

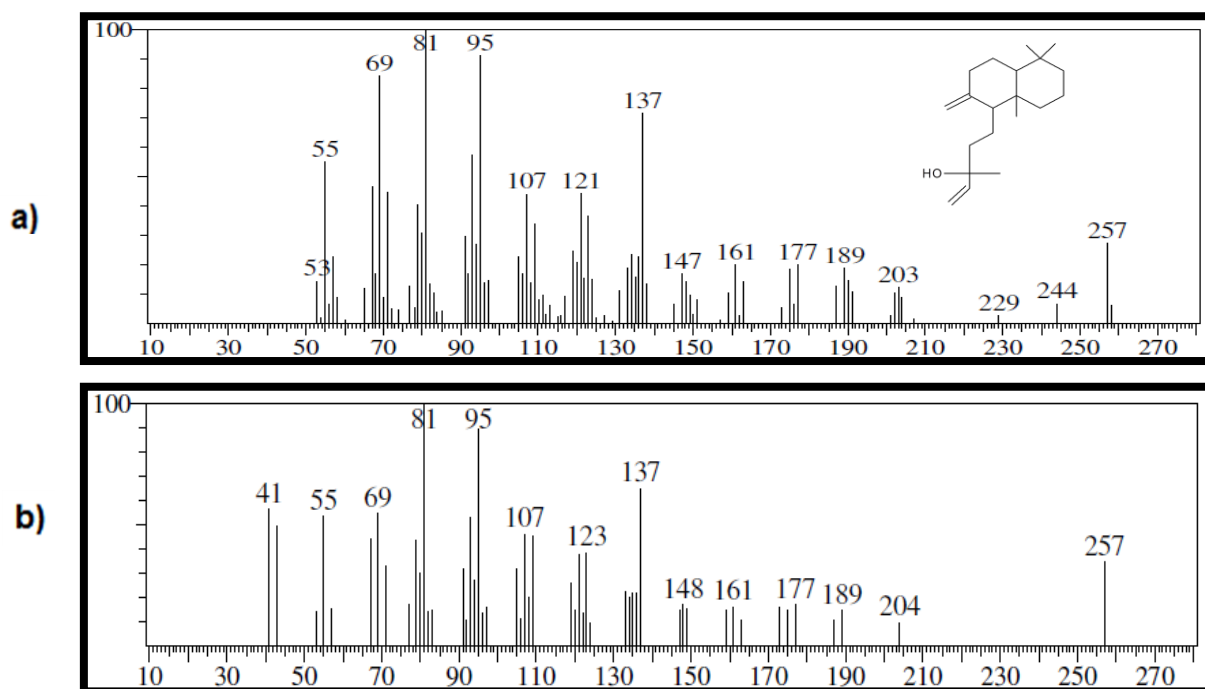


Figura 18.6 - Espectro de massas da substância identificada como manool.

Nesta fração identificou-se: eugenol, nerolidol, zerumbona, neofitadieno, 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona, manool, γ -tocoferol, α -tocoferol, β -friedelanol e friedelina.

A análise do cromatograma [figura 18 (pág. 79)] e seus dados permite observar que a maioria das substâncias identificadas nesta fração está em concentração discreta, exceto γ -tocoferol, α -tocoferol e β -friedelanol.

α -tocoferol, β -friedelanol e friedelina já foram identificados em de *Eschweilera longipes* Miers. (CARVALHO et al., 1998) e *Gustavia elliptica* L. (ALMEIDA et al., 2011), ambas de Lecythidoideae. β -friedelanol e friedelina já foram isolados de *Maytenus ilicifolia* Mart. (Celastraceae) (MOSSI, et al., 2004). Eugenol e nerolidol foram identificados em *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh. (Cinamomum) e apresentaram excelente atividade anti-inflamatória (TUNG et al., 2008).

Zerumbona é comumente encontrada em altas concentrações em raízes e rizomas de espécies de Zingiberaceae, esta substância tem chamado a atenção por sua ampla variedade de atividade biológica, principalmente antitumoral (KIRANA et al., 2003).

O manool é um diterpeno com núcleo labdano encontrado também em folhas de *Catharanthus roseus* [L.] G. Don. (Apocinaceae) (GUEDES DE PINTO et al., 2009).

Tabela 7 - Substâncias identificadas na fração 87 e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM).

| Substâncias | IS (%) | T_R (min.) | Área (%) | PB (m/z) | FM | MM |
|----------------------------------|--------|--------------|----------|--------------|-------------------|-----|
| eugenol | 97 | 12,679 | 0,26 | 164 | $C_{10}H_{12}O_2$ | 164 |
| nerolidol | 94 | 15,514 | 0,09 | 69 | $C_{15}H_{26}O$ | 222 |
| zerumbona | 93 | 17,679 | 0,27 | 107 | $C_{15}H_{22}O$ | 218 |
| neofitadieno | 96 | 18,659 | 0,42 | 68 | $C_{20}H_{38}$ | 278 |
| 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona | 94 | 18,710 | 0,18 | 58 | $C_{18}H_{36}O$ | 268 |
| Manool | 91 | 21,024 | 0,09 | 81 | $C_{20}H_{34}O$ | 290 |
| γ -tocoferol | 93 | 29,919 | 6,33 | 151 | $C_{28}H_{48}O_2$ | 416 |
| α -tocoferol | 95 | 31,052 | 3,67 | 165 | $C_{29}H_{50}O_2$ | 430 |
| β -friedelanol | 96 | 39,958 | 46,55 | 95 | $C_{30}H_{50}O$ | 428 |
| friedelina | 95 | 40,315 | 0,79 | 69 | $C_{30}H_{50}O$ | 426 |

5.5.6 Fração 88

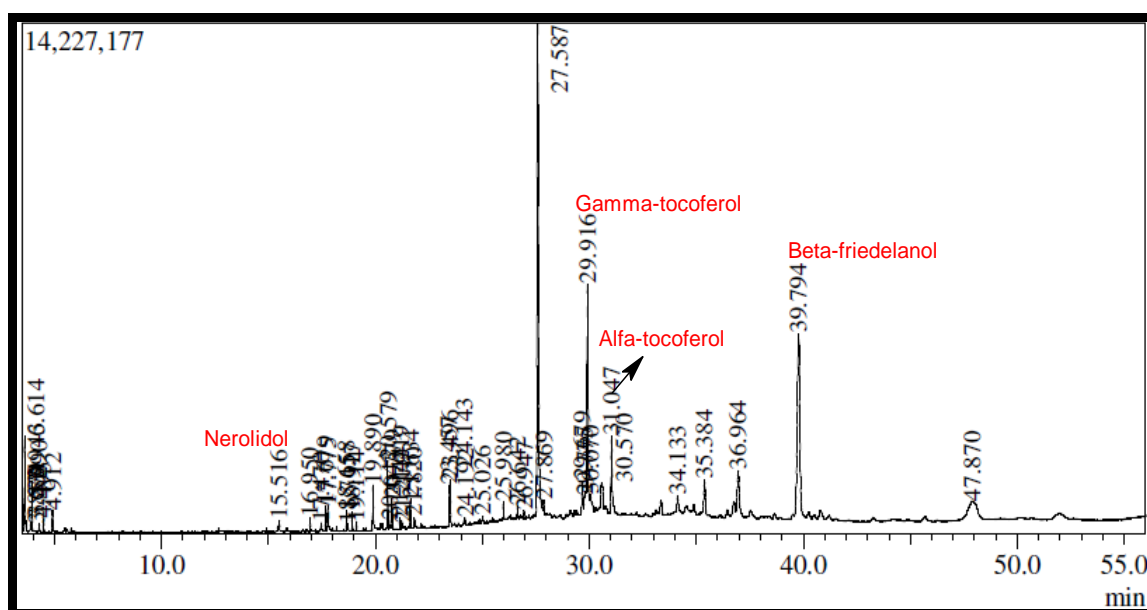


Figura 19 - Perfil Cromatográfico dos constituintes da fração 88.

Nesta fração encontrou-se: nerolidol [figura 18.2 (pág. 80)], zerumbona [figura 18.3 (pág. 81)], ácido tetradecanoico [figura 14.4 (pág. 62)], neofitadieno [figura 14.5 (pág. 63)], octadecadienoato de metila [figura 16.1 (pág. 78)], ácido

octadecanoico [figura 14.8 (pág. 65)], γ -tocoferol [figura 14.11 (pág. 66)], α -tocoferol [figura 14.12 (pág. 67)] e β -friedelanol [figura 14.16 (pág. 69)].

Todas as substâncias identificadas na fração 88 já foram detectadas em amostras anteriores.

Tabela 8 - Substâncias identificadas na fração 88 e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM).

| Substância | I. S (%) | T_R (min.) | Área (%) | P. B (m/z) | F. M | M. M |
|----------------------------|----------|--------------|----------|------------|-------------------|------|
| Nerolidol | 95 | 15,516 | 0,14 | 69 | $C_{15}H_{26}O$ | 222 |
| Zerumbona | 93 | 17,679 | 0,54 | 107 | $C_{15}H_{22}O$ | 218 |
| ácido tetradecanoico | 97 | 17,775 | 0,65 | 73 | $C_{14}H_{28}O_2$ | 228 |
| neofitadieno | 96 | 18,658 | 0,45 | 68 | $C_{20}H_{38}$ | 278 |
| octadecadienoato de metila | 95 | 21,219 | 0,19 | 67 | $C_{19}H_{34}O_2$ | 294 |
| ácido octadecanoico | 93 | 21,820 | 0,23 | 73 | $C_{18}H_{36}O_2$ | 484 |
| γ -tocoferol | 93 | 29,916 | 10,44 | 151 | $C_{29}H_{48}O_2$ | 416 |
| α -tocoferol | 96 | 31,047 | 3,50 | 165 | $C_{29}H_{50}O_2$ | 430 |
| β -friedelanol | 96 | 39,794 | 10,02 | 95 | $C_{30}H_{52}O$ | 428 |

5.5.7 Precipitados 1 e 2

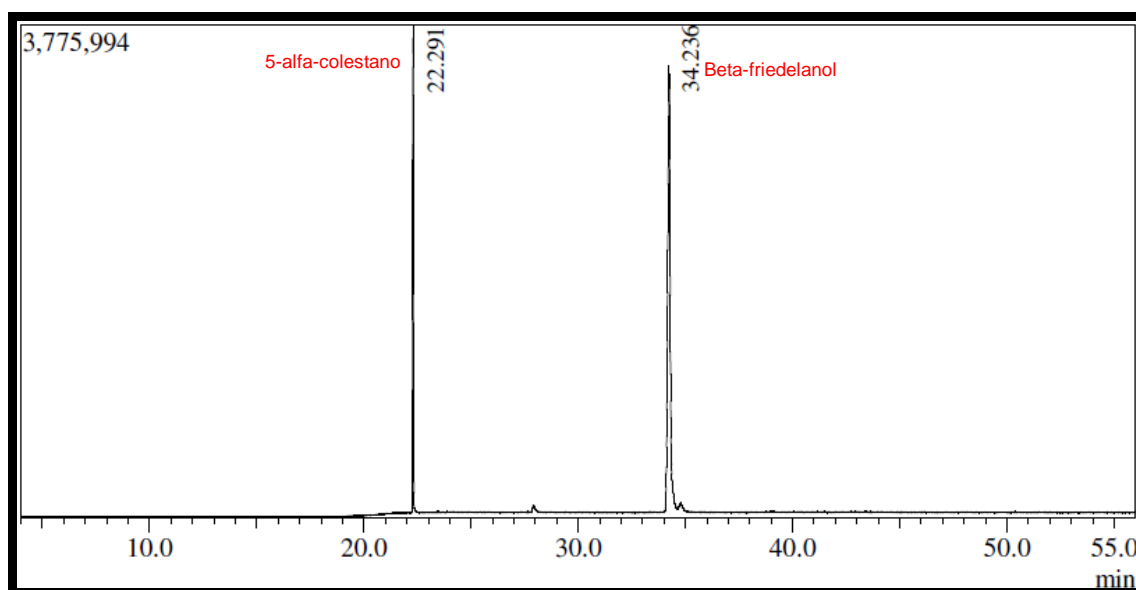


Figura 20 - Perfil Cromatográfico dos precipitados 1 e 2.

Verificou-se que os dois precipitados eram a mesma substância, o β -friedelanol [figura 20 (pág. 84)]. Este triterpeno está presente em elevada concentração em EHF e já foi identificado em dois estudos químicos com *Eschweilera rabeliana* Mori e *Eschweilera longipes* Miers (CARVALHO et al., 1995; 1998; COSTA et al., 2003), respectivamente; e em outras espécies de Lecythidaceae (SOUZA et al., 2001; ALMEIDA et al., 2011).

A tabela 9 apresenta todas as substâncias identificadas nos hexânicos das folhas e suas frações e frações reunidas, distribuídas em suas respectivas classes químicas.

Tabela 9 - Substâncias identificadas em EHF e suas frações/frações reunidas distribuídas por classe química.

| Classes | Substâncias |
|--------------------------|--|
| Hidrocarbonetos lineares | n-tetradecano |
| Ácidos graxos | ácido dodecanoico ácido tetradecanoico ácido hexadecanoico ácido octadecanoico |
| Ésteres | tetradecanoato de etila hexadecanoato de etila hexadecanoato de metila octadecanoato de etila eicosanoato de etila |
| Cetona | 6,10,14-trimetil-2-pentadecanona 4,4,7 α -tetrametil-5,6,7,7 α -tetraidro-2(4H)-benzofuranona |
| Sesquiterpenos | óxido de cariofileno epóxido de humuleno II nerolidol zerumbona |
| Diterpenos | neofitadieno |

| | |
|-----------------|--|
| | fitona |
| | manool |
| Triterpenos | β -amirina β -friedelanol Friedelina |
| Esteroides | estigmasterol β -sitosterol |
| Tocoferóis | α -tocoferol γ -tocoferol |
| Fenilpropanoide | eugenol |
| Lactona | 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo |

5.6 Análise do extrato hexânico dos galhos (EHGA) de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. por CG-EM

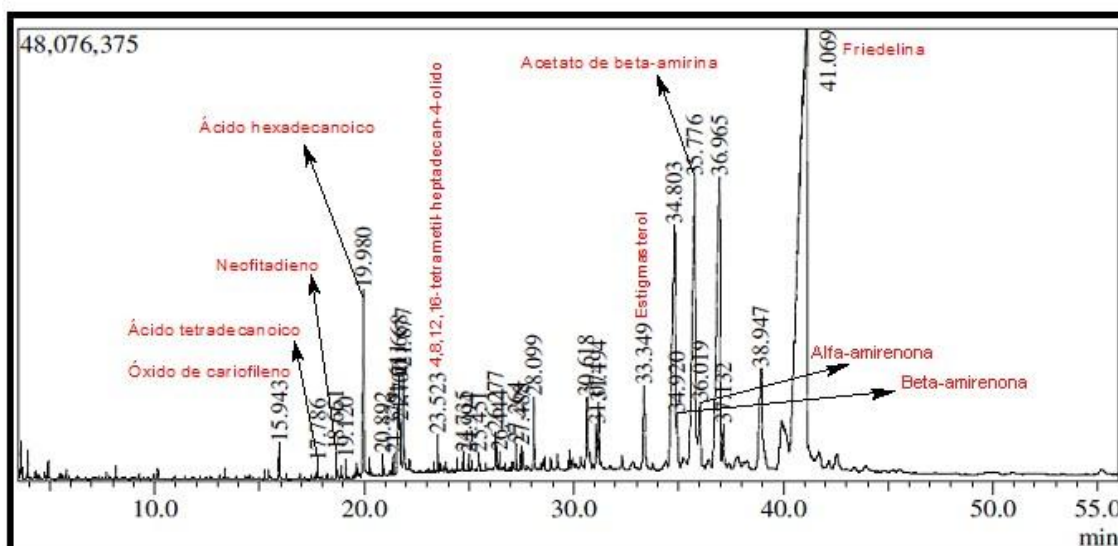


Figura 21 - Perfil Cromatográfico dos constituintes presentes no extrato hexânico dos galhos (EHGA).

Em EHGA identificou-se: óxido de cariofileno [15.1 (pág. 72)], ácido tetradecanoico [14.4 (pág. 62)], neofitadieno [14.5 (pág. 63)], ácido hexadecanoico [14.6 (pág. 64)], ácido octadecadienoico, ácido-13-octadecenoico, pentatriacontano, esqualeno, α -tocoferol [14.12 (pág. 67)],

estigmasterol [14.13 (pág. 67)], β -amirenona, acetato de β -amirina, α -amirenona, friedelina e 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo [14.10 (pág. 66)].

Friedelina e acetato de β -amirina se destacam como os constituintes majoritários.

Esta amostra possui muitas substâncias que foram encontradas em EHF ou em suas frações, porém constituintes como o ácido octadecadienoico, ácido-13-octadecenoico, pentatriacontano, esqualeno, β -amirenona, acetato de β -amirina e α -amirenona não foram encontrados nas amostras analisadas anteriormente. Entre estes se destaca o esqualeno (triterpeno linear) precursor de triterpenos pentacíclicos e esteroides. Além disso, os triterpenos com núcleo oleanano se apresentam mais funcionalizados nesta amostra.

Em seguida serão apresentados apenas os espectros das substâncias identificadas nesta amostra [21.1 a 21.5 (pág. 88 a 91)]. Em cada um deles a figura “a” mostra o espectro de massas da amostra e a figura “b” mostra o espectro de massas da biblioteca, com o qual apresenta índice de similaridade acima de 90%.

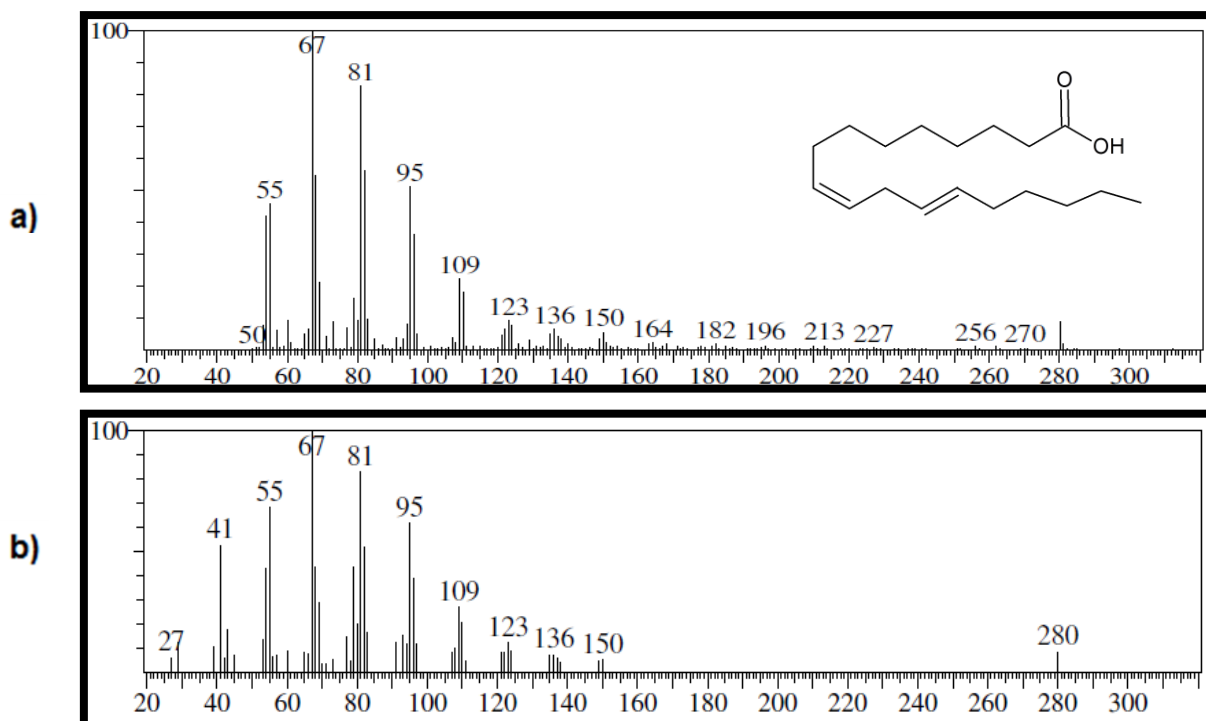


Figura 21.1 - Espectro de massas da substância identificada como ácido octadecadienoico (ácido linoleico).

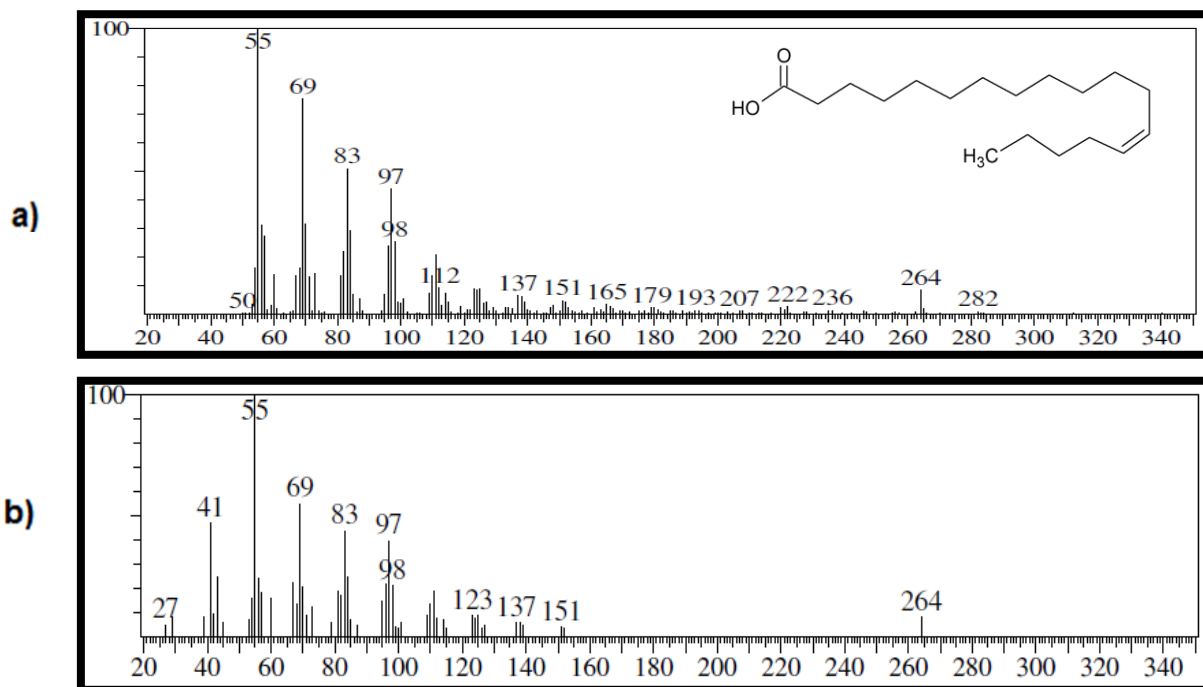


Figura 21.2 - Espectro de massas da substância identificada como ácido octadec-13-enoico.

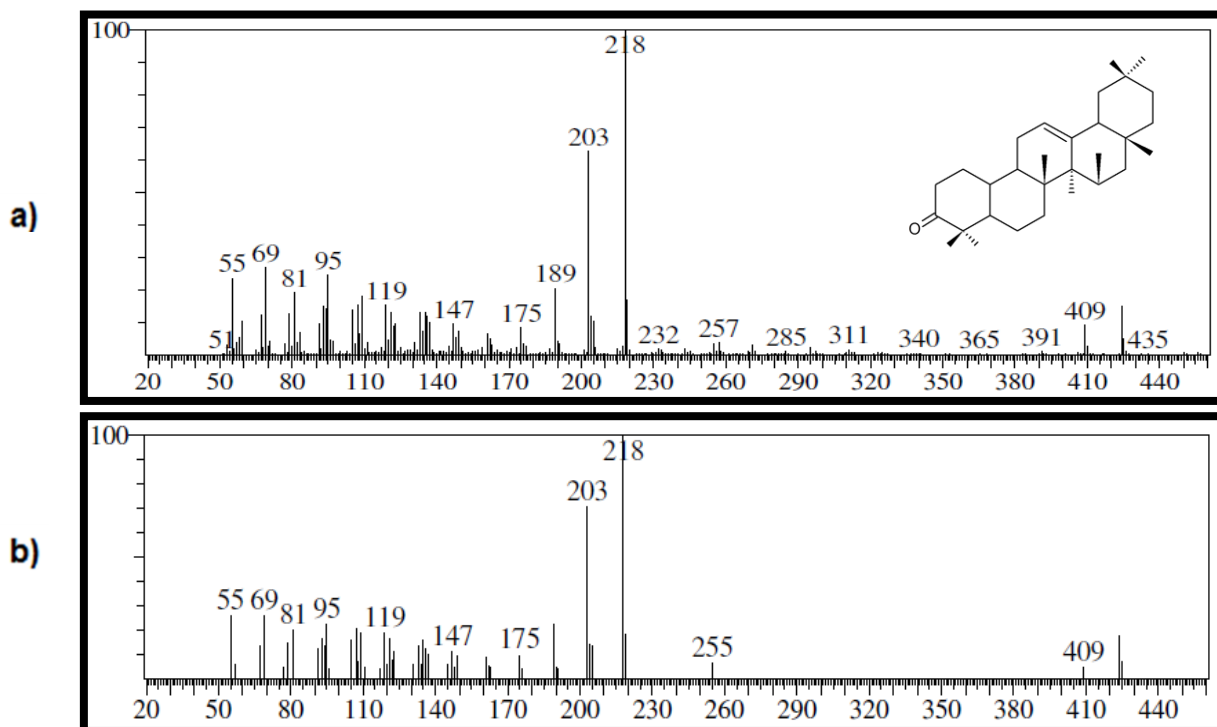


Figura 21.3 - Espectro de massas da substância identificada como β -amirone.

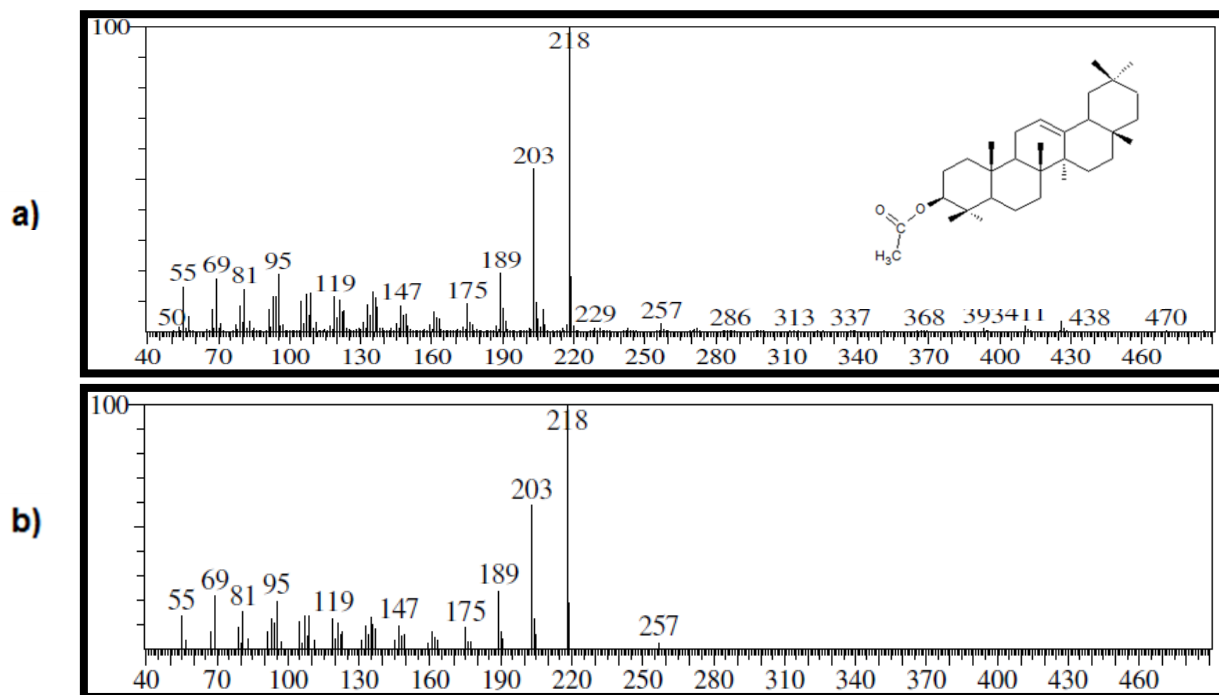


Figura 21.4 - Espectro de massas da substância identificada como acetato de β -amirina.

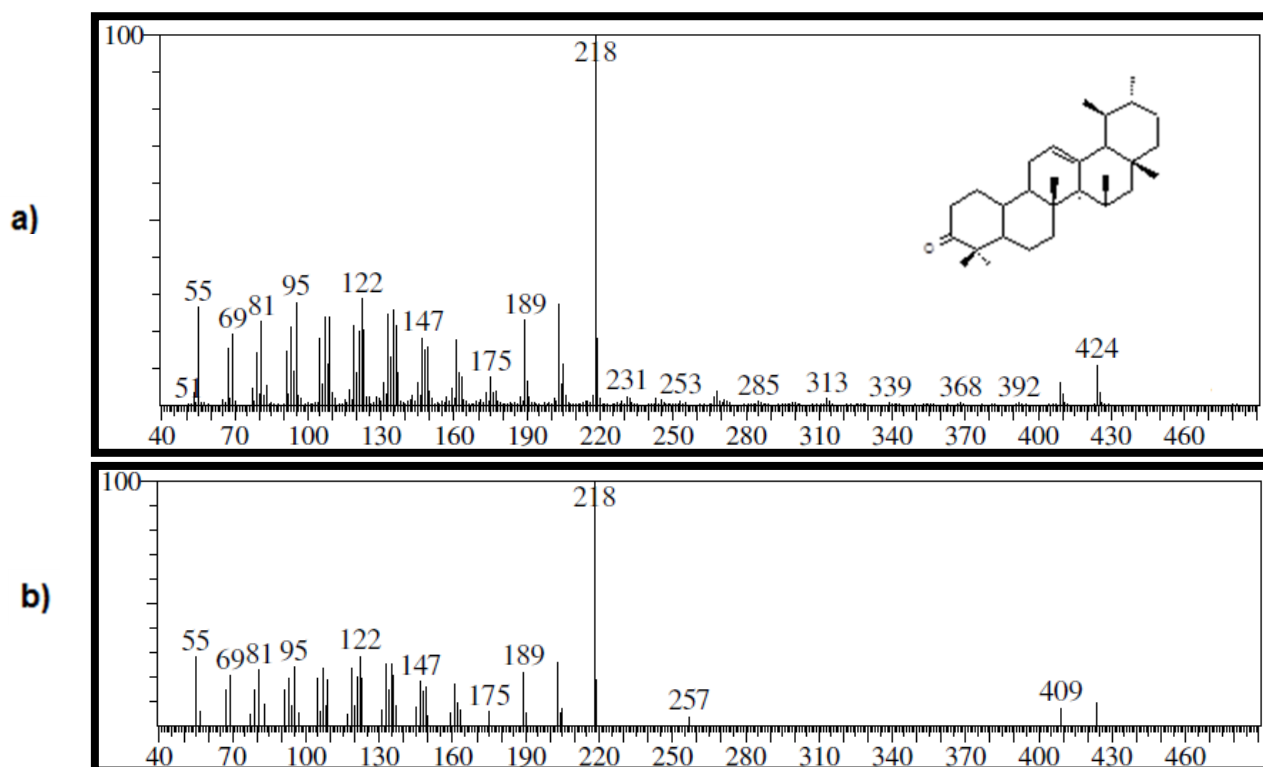


Figura 21.5 - Espectro de massas da substância identificada como α -amirone.

Tabela 10 - Substâncias identificadas em EHGA e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM).

| Substância | IS (%) | T_R (min.) | Área (%) | PB (m/z) | FM | MM |
|--|--------|--------------|----------|--------------|-------------------|-----|
| óxido de cariofileno | 95 | 15,943 | 0,23 | 79 | $C_{15}H_{24}O$ | 220 |
| ácido tetradecanoico | 97 | 17,786 | 0,12 | 68 | $C_{14}H_{28}O_2$ | 228 |
| neofitadieno | 97 | 18,661 | 0,15 | 73 | $C_{20}H_{38}$ | 278 |
| ácido hexadecanoico | 96 | 19,980 | 2,69 | 71 | $C_{16}H_{32}O_2$ | 256 |
| ácido octadecadienoico | 91 | 21,611 | 0,99 | 67 | $C_{18}H_{32}O_2$ | 280 |
| ácido-13-octadecenoico | 94 | 21,700 | 0,36 | 55 | $C_{18}H_{34}O_2$ | 282 |
| 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo | 94 | 23,523 | 0,23 | 99 | $C_{21}H_{40}O_2$ | 324 |
| pentatriacontano | 97 | 26,777 | 0,29 | 57 | $C_{35}H_{72}$ | 493 |
| esqualeno | 97 | 27,264 | 0,21 | 69 | $C_{30}H_{50}$ | 410 |
| α -tocoferol | 96 | 31,074 | 0,61 | 165 | $C_{29}H_{50}O_2$ | 430 |

| | | | | | | |
|----------------------|----|--------|------|-----|--|-----|
| estigmasterol | 94 | 33,349 | 1,35 | 55 | C ₂₉ H ₄₈ O | 412 |
| β-amirenona | 92 | 34,920 | 1,17 | 218 | C ₃₀ H ₄₈ O | 424 |
| acetato de β-amirina | 96 | 35,776 | 0,83 | 218 | C ₃₂ H ₅₂ O ₂ | 468 |
| α-amirenona | 97 | 36,019 | 0,89 | 218 | C ₃₀ H ₄₈ O | 424 |
| Friedelina | 96 | 38,947 | 3,10 | 69 | C ₃₀ H ₅₀ O | 426 |

Tabela 11 - Substâncias identificadas em EHGA distribuídas por classe química.

| Classes | Substâncias |
|-----------------|---|
| Hidrocarbonetos | Pentatriacontano |
| Ácidos graxos | ácido tetradecanoico ácido hexadecanoico ácido-13-octadecenoico ácido octadecadienoico |
| Sesquiterpenos | óxido de cariofileno |
| Diterpenos | Neofitadieno |
| Esteroides | estigmasterol |
| Triterpenos | Esqualeno α -amirenona β -amirenona acetato de β -amirina Friedelina |
| Tocoferol | α -tocoferol |
| Lactona | 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo |

5.7 Análise do extrato hexânico dos frutos (EHFr) de *Eschweilera ovalifolia* (DC) Nied. por CG-EM

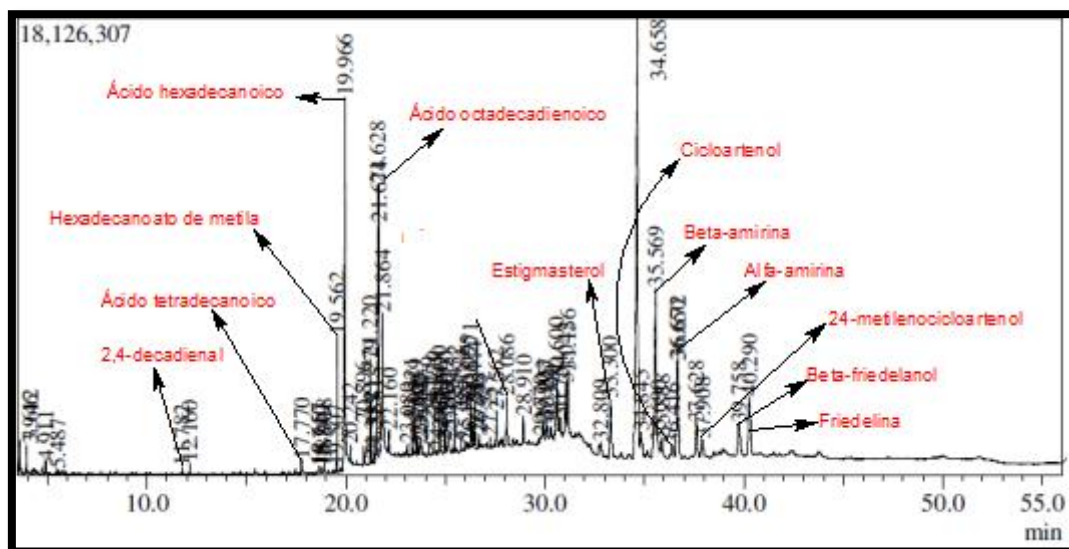


Figura 22 - Perfil Cromatográfico dos constituintes presentes no extrato hexânico dos frutos (EHFr).

Na amostra EHFr foram identificados: deca-2,4-dienal (11,782 min.), ácido tetradecanoico (17,770 min), neofitadieno, ácido pentadecanoico, hexadecanoato de metila (19,562 min), hexadecanoato de etila, ácido hexadecanoico, octadecadienoato de metila, ácido octadecanoico, ácido octadecadienoico (21,628 min.), tetracosanoato de metila, esqualeno, estigmasterol (33,300 min.), β -amirina (35,569 min.), α -amirenona, cicloartenol, α -amirina (36,672 min.), 24-metilenocicloartenol (37,908 min.), β -friedelanol (39,758 min.), friedelina (40,290 min.) e 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo.

As substâncias identificadas apenas em EHFr são: deca-2,4-dienal, ácido pentadecanoico, tetracosanoato de metila, cicloartenol, α -amirina e 24-metilenocicloartenol. Entre estas se destaca o cicloartenol que é precursor dos esteroides e triterpenos modificados, assim como um de seus derivados o 24-metilenocicloartenol.

Dentre os picos que não foram identificados está a substância majoritária. Como esta não foi identificada por nenhuma das bibliotecas utilizadas, talvez possa ser uma substância desconhecida.

Em seguida serão apresentados apenas os espectros das substâncias identificadas nesta amostra [22.1 a 22.5 (pág. 95 a 97)]. Em cada um deles a

figura “a” mostra o espectro de massas da amostra e a figura “b” mostra o espectro de massas da biblioteca, com o qual apresenta índice de similaridade acima de 90%.

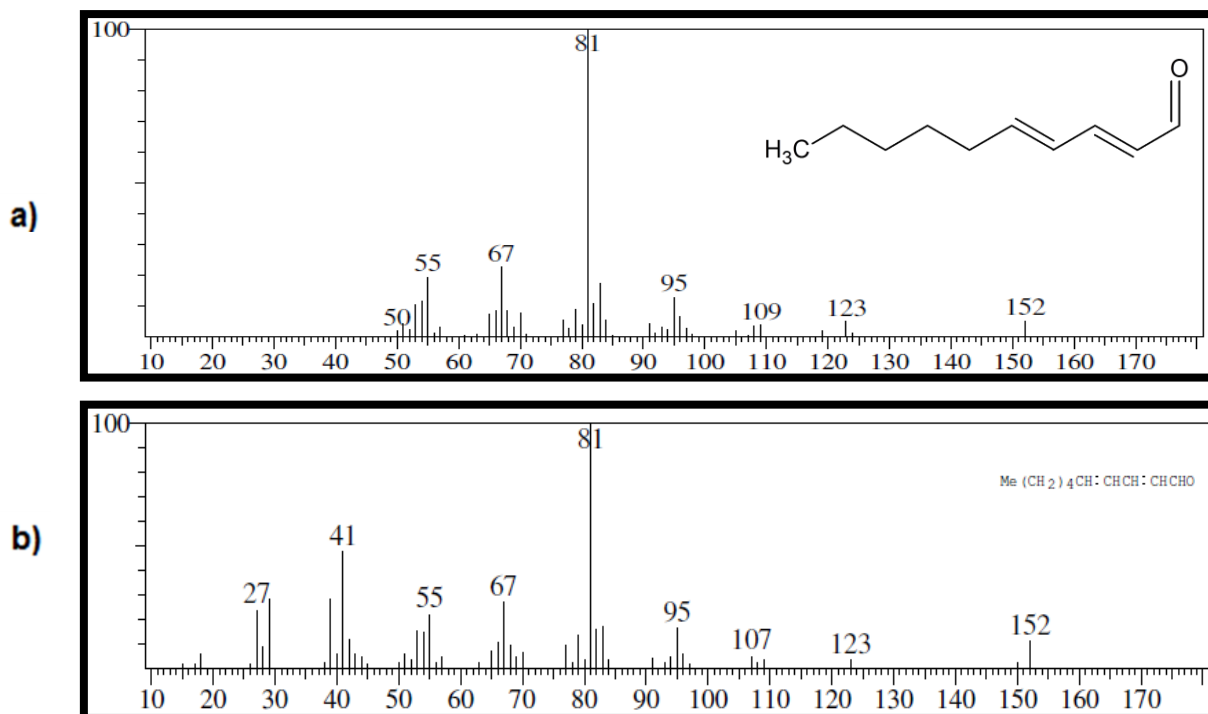


Figura 22.1 - Espectro de massas da substância identificada como deca-2,4-dienal.

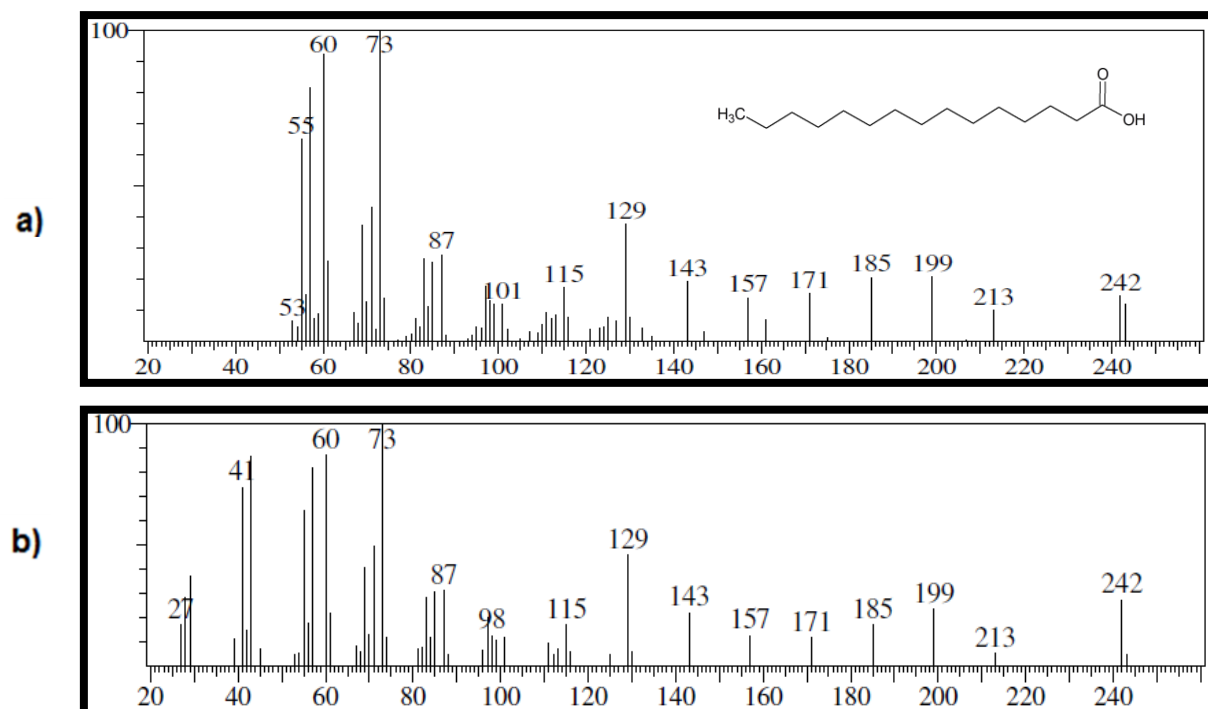


Figura 22.2 - Espectro de massas da substância identificada como ácido pentadecanoico.

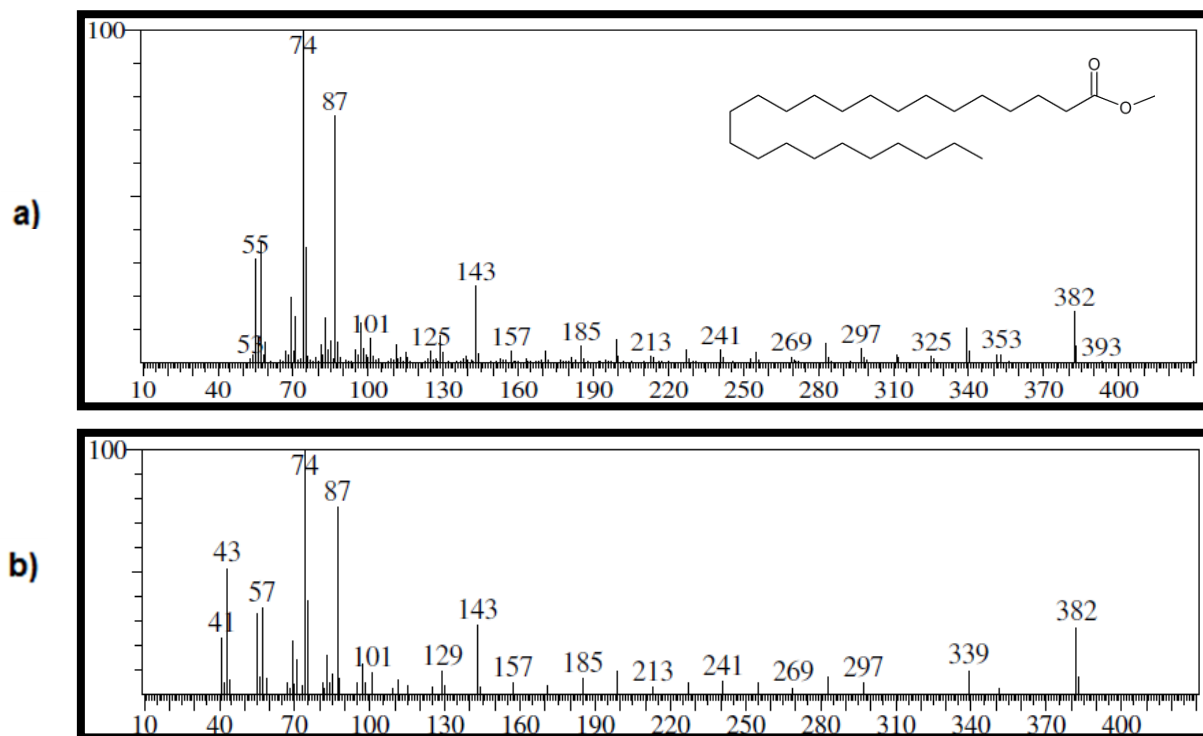


Figura 22.3 - Espectro de massas da substância identificada como tetracosanoato de metila.

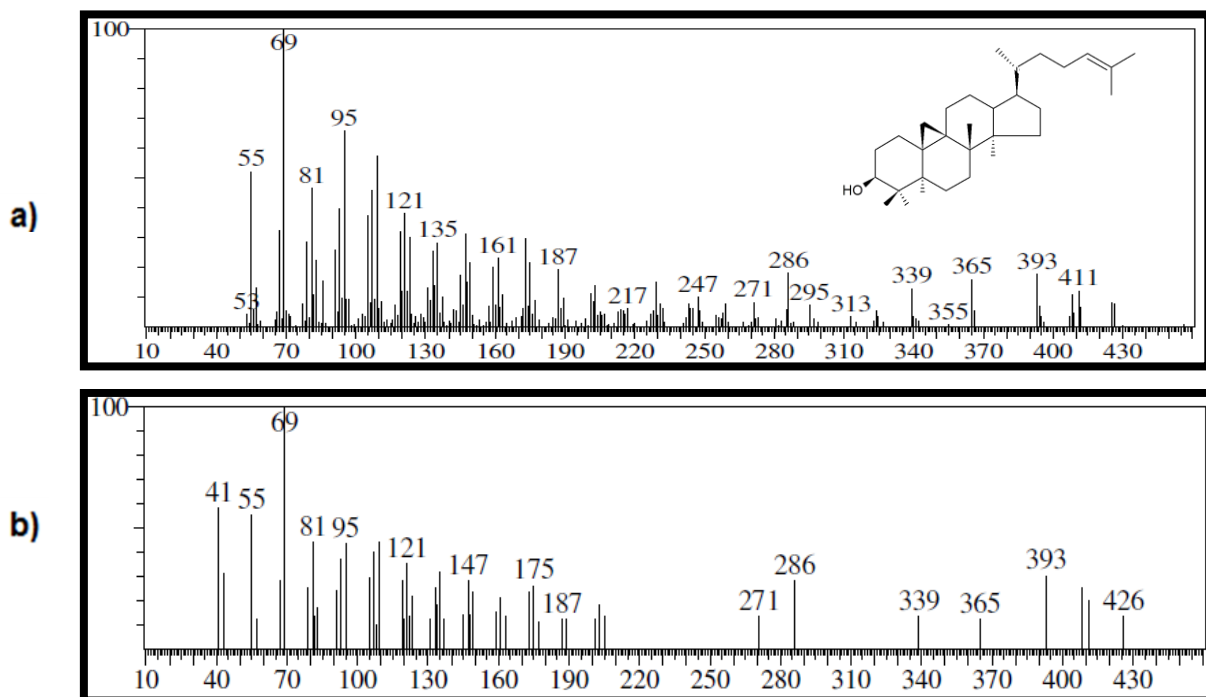


Figura 22.4 - Espectro de massas da substância identificada como cicloartenol.

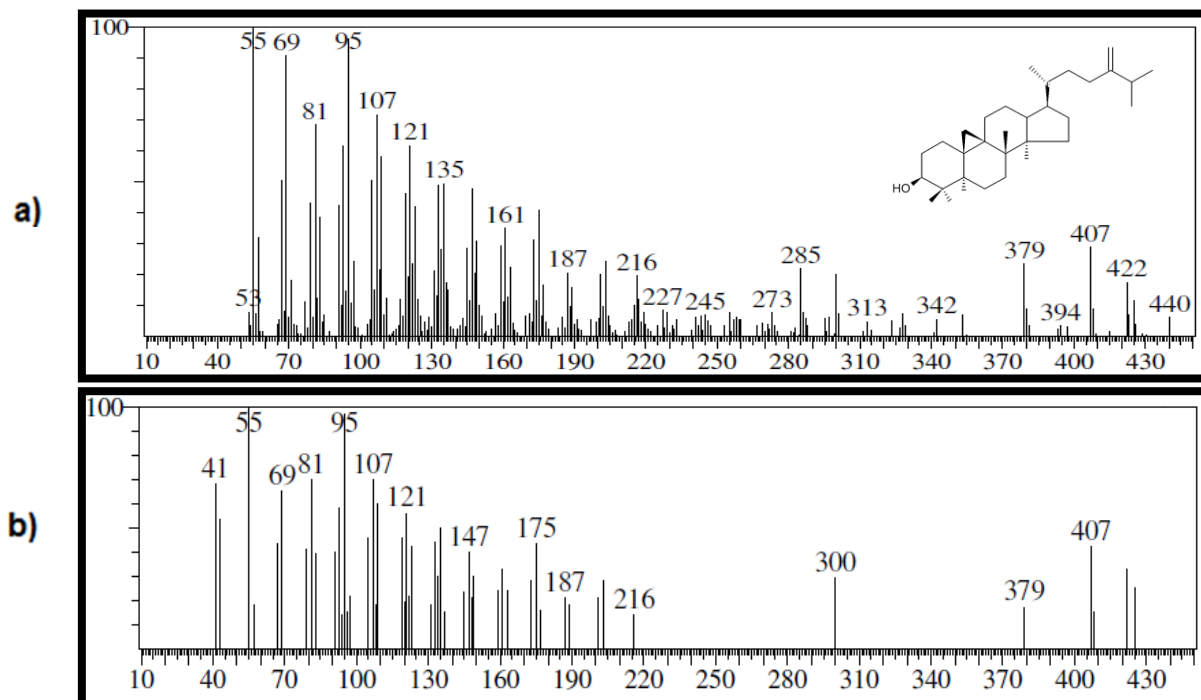


Figura 22.5 - Espectro de massas da substância identificada como 24-metilenocicloartenol.

Algumas substâncias se mantiveram presente em todos os extratos analisados, ora em concentração discreta, ora em concentração elevada, um exemplo disso é o triterpeno friedelina que se apresentou em concentração elevada em EHGA, baixa em EHF e EHFr. Além desse triterpeno os ácidos graxos tetradecanoico e hexadecanoico, o diterpeno neofitadieno, a lactona e o estigmasterol permearam todos os extratos.

Em relação aos triterpenos friedelina e β -friedelanol, ocorre uma relação inversa entre a presença deles nos extratos estudados, pois quando um se apresenta em concentrações maiores o outro está em concentração baixa, isto é tão evidente que em EHGA a friedelina está como constituinte majoritário e não há detecção de β -friedelanol.

Tabela 12 - Substâncias identificadas em EHFr e seus respectivos índices de similaridades (IS), tempo de retenção (T_R), área relativa do pico (área), pico base (PB), fórmula molecular (FM) e massa molecular (MM).

| Substância | I. S (%) | T. _R (min.) | Área (%) | P.B (<i>m/z</i>) | F. M | MM |
|--|-------------|---------------------------|-------------|-----------------------|--|-----|
| 2,4-decadienal | 94 | 11,782 | 0,08 | 81 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 |
| ácido tetradecanoico | 97 | 17,770 | 0,21 | 73 | C ₁₄ H ₂₈ O ₂ | 228 |
| ácido pentadecanoico | 94 | 18,849 | 0,08 | 73 | C ₁₅ H ₃₀ O ₂ | 242 |
| hexadecanoato de metila | 97 | 19,562 | 1,57 | 74 | C ₁₇ H ₃₄ O ₂ | 270 |
| ácido hexadecanoico | 96 | 19,966 | 10,28 | 73 | C ₁₆ H ₃₂ O ₂ | 256 |
| hexadecanoato de etila | 96 | 20,242 | 0,19 | 88 | C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 284 |
| octadecadienoato de metila | 97 | 21,220 | 1,24 | 67 | C ₁₉ H ₃₄ O ₂ | 294 |
| ácido octadecanoico | 95 | 21,515 | 0,38 | 74 | C ₁₉ H ₃₈ O ₂ | 298 |
| ácido octadecadienoico | 94 | 21,628 | 7,93 | 67 | C ₁₈ H ₃₂ O ₂ | 280 |
| 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo | 93 | 23,519 | 0,40 | 74 | C ₂₁ H ₄₀ O ₂ | 324 |
| tetracosanoato de metila | 95 | 26,511 | 0,23 | 74 | C ₃₀ H ₅₀ O ₂ | 382 |
| esqualeno | 94 | 27,257 | 0,16 | 69 | C ₃₀ H ₅₀ | 410 |
| estigmasterol | 95 | 33,300 | 2,47 | 55 | C ₃₉ H ₄₈ O | 412 |
| β-amirina | 96 | 35,569 | 9,10 | 218 | C ₃₀ H ₅₀ O | 426 |
| α-amirenona | 96 | 35,888 | 0,57 | 218 | C ₃₀ H ₄₈ O | 424 |
| cicloartenol | 91 | 36,416 | 0,40 | 69 | C ₃₀ H ₅₀ O | 426 |
| α-amirina | 93 | 36,672 | 2,21 | 218 | C ₃₀ H ₅₀ O | 426 |
| 24-metilenocicloartenol | 94 | 37,908 | 0,73 | 55 | C ₃₁ H ₅₂ O | 440 |
| β-friedelanol | 95 | 39,908 | 1,74 | 95 | C ₃₀ H ₅₀ O | 428 |
| friedelina | 96 | 40,290 | 3,03 | 69 | C ₃₀ H ₅₀ O | 426 |

Tabela 13 - Substâncias identificadas em EHF_r distribuídas por classe química.

| Classes | Substâncias |
|---------------|--|
| Ácidos graxos | ácido tetradecanoico |
| | ácido pentadecanoico |
| | ácido hexadecanoico |
| | ácido octadecanoico |
| | ácido octadecadienoico |
| Ésteres | tetracosanoato de metila |
| | hexadecanoato de etila |
| | hexadecanoato de metila |
| | octadecadienoato de metila |
| Aldeído | 2,4-decadienol |
| Diterpenos | neofitadieno |
| Triterpenos | esqualeno |
| | β -amirina |
| | α -amirenona |
| | α -amirina |
| | Friedelina |
| | cicloartenol |
| | 24-metilenocicloartenol |
| Lactona | 4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo |

6 CONCLUSÕES

Foram identificados ácidos graxos, álcool, cetonas, diterpenos, ésteres graxos, fenilpropanoide, hidrocarbonetos lineares, lactona, sesquiterpenos, tocoferóis e triterpenos nos extratos apolares de folhas, galhos e frutos.

Quanto à presença de triterpenos, esteroide e tocoferóis o estudo realizado está de acordo com aqueles realizados para o gênero *Eschweilera* e a família Lecyhtidaceae.

Como o β -friedelanol se apresentou como o constituinte majoritário em EHF e foi obtido por precipitação em concentração razoável e ser de fácil identificação, pode-se pensar em dar continuidade aos estudos com esta espécie visando acompanhar a biossíntese deste metabólito em relação a sua variação conforme as mudanças nos fatores ambientais ou mesmo para realizar modificações em sua estrutura.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, A.; HASSANI, A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Marrubium vulgare* from Eastern Algeria. **International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy**, v.10, n.1, p.61-69, 2013.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. 4.ed. Carol Stream, Illinois: Allured, 2007.

ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L.; PAREDES-GUZMAN, P.; PARK, Y. K. Chemical composition *Baccharis dracunculifolia*, the botanical source of propolis from the states of São Paulo and Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 909-915, 2005.

ALMEIDA, M. F. O.; MELO, A. C. R.; PINHEIRO, M. L. B.; ANDRADE SILVA, J. R. A.; SOUZA, A. D. L. Constituintes químicos e atividade leishmanicida de *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 34, n.7, p. 1182-1187, 2011.

ALVES, P. B.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A. Comparação entre os produtos de pirólise de ácido oleico e esteárico. **Química Nova**, v. 11, n. 2, p. 199-203, 1988.

AVATO, P.; FORTUNATO, I. M.; RUTA, C.; D'ELIA, R. Glandular hair and essential oils in micropopagated plants of *Salvia officinalis* L. **Plant Science**, v. 169, n. 1, p. 29-36, 2005.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. E. IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, n. 46, p. 446-475, 2008.

BARUA, A. K.; CHAKRABARTI, P. 1965. The constitution of barringtonenol c - a new triterpenoid sapogenin from *Barringtonia acutangula* Gaertn. **Tetrahedron**. v. 21, p. 381 – 387, 1965.

BARUA, A. K.; CHAKRABARTI, P.; DUTTA GUPTA, A. S.; PAL, S. K.; BASAK, A.; BANERJEE, S. K.; BASIJ, K. Structure and stereochemistry of barrigenic acid, a new triterpene acid sapogenin from *Barringtonia acutangula*. **Phytochemistry**. v. 15, n. 11, p. 1780-1781, 1976.

BERTHELOT, K., ESTEVEZ, Y., DEFFIEUX, A. E PERUCH, F. Isopentenyl diphosphate isomerase: A checkpoint to isoprenoid biosynthesis. **Biochimie**, v. 98, n. 8, p. 1621-1634, 2012.

BIANCHI, A.; BIANCHI, G. Surface lipid composition of C3 and C4 plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 18, n. 7-8, p. 533-537, 1990.

BILLET, D.; HEITZ, S. Triterpenes et acides des amandes de *Barringtonia butonica*. **Phytochemistry**, v. 15, n. 6, p. 1015, 1974.

BÖCKER, J.; LITKE, R.; HARTKOPF-FRÖDER, C.; JASPER, K.; SCHWARZBAUER, J. Organic geochemistry of Duckmantian (Pennsylvanian) coals from the Ruhr Basin, western Germany. **International Journal of Coal Geology**. v. 107, p. 112–126, 2013.

BORSE et al. Fingerprint of black teas from India: identification of the region-specific characteristics. **Food Chemistry**, v. 79, n. 4, p. 419–424, 2002.

BRANCO, A.; PIZZOLATTI, M. G. CGAR E CGAR-EM na análise dos constituintes químicos isolados do extrato hexânico de *Sebastiania argutidens* (EUPHORBIACEAE). **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 15-19, 2002.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL-FILHO, V. (Org.). Ciências Farmacêuticas: **Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos**. Itajaí: UNIVALI, 2003.

CAMARGO et al. Variabilidade genética para caracteres morfométricos de matrizes de castanha-do-brasil da Amazônia Mato-grossense. **Acta Amazônica**. v. 40, n. 4, p. 705 – 710, 2010.

CAMPOS et al. Trypanocidal activity of extracts and fractions of *Bertholletia excelsa*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 1, p. 26–29, 2005.

CARVALHO M. G; ALMEIDA M. E. L; HAUPTLI M. B.; MELEIRO L. A. C. Triterpenos isolados de *Eschweilera rabeliana* Mori (Lecythidaceae). **Revista Universidade Rural-Série Ciências Exatas e da Terra**. v. 17, n. 1-2, p. 33-36, 1995.

CARVALHO M. G; VELANDIA J. R; OLIVEIRA L. F ANDBEZERRA F. B. Triterpenes isolated from *Eschweilera longipes* Miers (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 740-743, 1998.

CESPEDES, C.L.; CALDERON, J.S.; LINA, L., ARANDA, E. Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of Some Limonoids Isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 5, p. 1903-1908, 2000.

CHOI, S. Characterization of Ion Fragmentations of Fatty Acids. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 573-578, 1997.

CHUNHIENG, T.; HAFIDI, A.; PIOCH, D.; BROCHIER, J.; MONTET, D. Detailed Study of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) Oil Micro-Compounds: Phospholipids, Tocopherols and Sterols. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1374-1380, 2008.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. e BONATO, P. S. *Introdução a métodos cromatográficos*. 5ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. 2006. *Fundamentos de cromatografia*. Campinas: Editora da UNICAMP, p. 452, 2006.

COLOMBO. Utilizando adequadamente as plantas medicinais. Colombo: Herbarium, p. 63, 2008.

CONNOLLY, J. D; HILL, R .A. 2008. Triterpenoids. **Natural Products Reports**, v. 25, n. 4, p. 794-830, 2008.

CORNEJO, X., MORI, S. A. . The Brazil nut Family in Ecuador. Pages (<http://sweetgum.nybg.org/lp/ecuador.php>). **The New York Botanical Garden**, Bronx, New York, 1 January 2012 onward.

CORNEJO, X., MORI, S. A. *Eschweilera awaensis* and *Grias subbullata* (Lecythidaceae), two new species from northwestern Ecuador. **Brittonia**, v. 63, n. 4, p. 469–477, 2011.

COSTA, P. M.; CARVALHO, M. G. New triterpene isolated from *Eschweilera longipes* (Lecythidaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 1, p. 21-25, 2003.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; YANG, S. S. Natural product extracts of plants and marine origin having antileukemia potential the NCI experience. **Journal of natural product**, v. 69, n. 3, p. 488-498, 2006.

CROUTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural Products, In: Biochemistry and molecular biology of plants. Eds.: Buchanan, B.; Gruissen, W.; Jones, R. **American Society of Plant Physiologists**, 2000.

CRUBLET, M-L.; LONGB, C.; SÉVENETC, T.; HADI, H.A.; LAVAUD, C. Acylated flavonol glycosides from leaves of *Planchonia grandis*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 2, p. 589–594, 2003.

CRUBLET, M-L.; POUNY, I.; DELAUDE, C.; LAVAUD, C. Acylated Triterpenoid Saponins from the Stem Bark of *Foetidia Africana*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 11, p. 1560-1567, 2002.

DAS, M. C.; MAHATO, S. B. Triterpenoid sapogenols from the leaves of *Careya arborea*: structure of careyagenolide. **Phytochemistry**, v. 21, n. 8, p. 2069-2073, 1982.

DEWICK, P. M. 2009. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 3rd Edition, John Wiley & Sons. West Sussex. UK, 2009.

DOUGLAS, A. G. & EGLINTON, G. The distribution of alkanes. In: Swain, T. (ed.). Comparative Phistochemistry. Academic Press, London, 1996.

EL-SEEDI, H. R.; ZAYED, M. F.; MORONO, F. G.; TROSSELL, K. B. G. 1999. Triterpenes of *Gustavia longifolia*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 27, n. 2, p. 56-57, 1999.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; ARDALLA SCABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 19-23, 2005.

FERREIRA et al. Composição química da cera epicuticular e caracterização da superfície foliar em genótipos de cana-de-açúcar. **Planta Daninha, Viçosa-MG**, v. 23, n. 4, p. 611-619, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-38, 2007.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. Químico-biologia quantitativa: um novo paradigma? **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2105-2114, 2012.

GRACE, M. H et al. Phytochemical changes in phenolics, anthocyanins, ascorbic acid, and carotenoids associated with sweetpotato storage and impacts on bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 145, p. 717–724, 2014.

GUEDES DE PINTO et al. Volatile composition of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 3, p. 674-685, 2009.

HEMMERLIN, A., HARWOOD, J. L. E BACH, T. J. A raison d'etre for two distinct pathways in the early steps of plant isoprenoid biosynthesis? **Progress in lipid research**, v. 51, n. 2, p. 95-148, 2012.

HOPKINS, M. J. G. Lecythidaceae, p. 273-288. *In*: RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPIKINS, M.J.G.; VICENTE, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C.; (Eds). Flora da Reserve Duck: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, 1999.

HUANG et al. Comparative analysis of the volatile components in cut tobacco from different locations with gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) and combined chemometric methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 575, n. 2, p. 236-245, 2006.

JAVIDNIA, K. ; MIRI, R.; SOLTANI, M. ; VARAMINI, P. Volatile Constituents of Two Species of *Haplophyllum* A. Juss. from Iran [*H. lissonotum* C. Town. and *H. buxbaumii* (Poir.) G. Don. subsp. *mesopotamicum* (Boiss.) C. Town.]. **Journal of Essential Oil Research**. v. 21, n. 1, p. 48-51, 2009.

JETTER, R.; SODHI, R. Chemical composition and microstructure of waxy plant surfaces: triterpenoids and fatty acid derivatives on leaves of *Kalanchoe daigremontiana*. **Surface and Interface Analysis**, v. 43, n. 1-2, p. 326–330, 2011.

JHAM, G. N.; DA SILVA, A. A.; LIMA, E. R.; VIANA, P. A. Identification of acetates in *Elasmopalpus lignosellus* pheromone glands using a newly created mass spectral database and Kovats retention indices. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 916-919, 2007.

JOHN, J. A.; SHAHID, F. Phenolic compound and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal Functional Food**, v. 2 n. 3, p.196-209, 2010.

KIRANA, C.; MCINTOSH, G.H.; IAN R. RECORD, I. R.; P. JONES, G. P. Antitumor Activity of Extract of *Zingiber aromaticum* and Its Bioactive Sesquiterpenoid Zerumbone. **Nutrition and Cancer**, v. 45, n. 2, p. 218–225, 2003.

KUTCHAN, T. M. Ecological Arsenal and Developmental Dispatcher. The Paradigm of Secondary Metabolism. **Plant Physiology**, v. 125, n. 1, p. 58-60, 2001.

MAHATO, S. B.; DUTTA, N. L. Sterols from *Careya arborea*. **Phytochemistry**, v.11, n. 6, p. 2116 – 2117, 1972.

MAHATO, S. B.; SARKAR, S. K.; PODDAR, G. Triterpenoids saponins. **Phytochemistry**, v. 27, n. 10, p. 3037-3067, 1988.

MARÇO, P.H.; POPPI, R.J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MASSIOT, G.;CHEN, X. F.; LAVAUD, C.; LE MEN-OLIVIER, L.; DELAUDE, C.; VIARI, A.; VIGNY, P.; DUVAL, J. Saponins from stem bark of *Petersianthus macrocarpus*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 10, p. 3571–3576, 1992.

MATTA, L. B. V.; SCUDELLER, V. V. Lecythidaceae Poit. in the Tupé Sustainable Development Reserve, Manaus, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 2, p.195-217, 2012.

MCRAE, J. M.; YANG, Q.; CRAWFORD, R. J.; PALOMBO, E. A. Acylated flavonoid tetraglycoside from *Planchonia careya* leaves. **Phytochemistry Letters**, v. 1, n. 2, p. 99–102, 2008.

MILSS, C.; CARROL, A. R.; QUINN, R. J. Acutangulosides A-F, monodesmosidic Saponins from the Bark of *Barringtonia Acutangula*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 3, p. 311-318, 2005.

MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise fitoquímica. *Tribuna Farmacêutica*, Curitiba, v. 47, nº 1, p. 1-19, 1979.

MORI, S. A. Diversificação e conservação das Lecythidaceae neotropicais. **Acta Botânica Brasileira**, v. 4, n. 1, p. 45-68, 1990.

MORI, S. A., SMITH, N. P.; PRANCE, G. T. The Lecythidaceae Pages (<http://sweetgum.nybg.org/lp/index.php>). The New York Botanical Garden, Bronx, New York, 2010.

MORI, S.A. Lecythidaceae. *In* Manual de plantas de Costa Rica. Dicotiledóneas (Haloragaceae-Phytolaccaceae)(BE Hammel, MH Grayum, C Herrera, M Zamora,eds.). **Missouri Botanical Garden Press, St. Louis**, v. 6, p.173-186, 2007.

MORI, S.A. Lecythidaceae. *In*: Flowering plants of the Neotropics (N Smith, SA Mori, A Henderson, DWS tevenson, SV Heald, Eds.). New York Botanical Garden Press, New York, p.207-209, 2004.

MORI, S.A.; PRANCE, G.T. A. Aguide to collecting Lecythidaceae. **Annual Report – Missouri Botanical Garden**, v. 74, p. 321-330, 1987.

MORI, S.A.; PRANCE, G.T. Taxonomy, ecology and economic botany of the Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, Humb and Bonpl: Lecythidaceae). **Advances in Economic Botany**, v. 8, p. 130-150, 1990.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. Manual de soluções, reagentes e solventes: Padronização, preparação e purificação, Editora Edgard Blucher: São Paulo, p. 629, 1972.

MOSSI et al. Extraction and characterization of volatile compounds in *Maytenus ilicifolia*, using high-pressure CO₂. **Fitoterapia**, v. 75, n. 2, p. 168–178, 2004.

NASCIMENTO et al. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, n. 2, p. 498-502, 2008.

NIERO, R. et al. Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos. *In*: BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. (Org.). **Ciências Farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos**. Itajaí: UNIVALI, p.11- 53, 2003.

NUNES-JUNIOR, V. Poliacetilenos do gênero *Pterocaulon*. Tese de Mestrado. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas, 1988.

OLIVEIRA et al. Chemical constituents from red Algae *Bostrychia radicans* (Rhodomelaceae): new amides and phenolic compounds. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2186-2188, 2012.

OLIVEIRA et al. Insecticidal activity of *Vitex cymosa* (Lamiaceae) and *Eschweilera pedicellata* (Lecythidaceae) extracts against *Sitophilus zeamais* adults (Curculionidae). **Emirates journal food and agriculture**, v. 24, n. 1, p. 49-56, 2012.

OLIVEIRA, G. et al. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1227-1234, 2013.

OLIVEIRA, J. P. C.; FERREIRA, E. L. F.; CHAVES, M H.; MILITÃO, G. C. G.; JÚNIOR, G. M. V.; COSTA, A. M.; PESSOA, C. Ó.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. Chemical constituents of *Lecythis pisonis* and cytotoxic activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 5, p. 1140-1144, 2012.

ORDAZ et al. Composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Helicteres guazumifolia* (Sterculiaceae), *Piper tuberculatum* (Piperaceae), *Scoparia dulcis* (Arecaceae) y *Solanum subinerme* (Solanaceae), recolectadas en Sucre, Venezuela. **Revista de Biología Tropical**, v. 59, n. 2, p. 585-595, 2011.

PACHECO, A. M., SCUSSEL, V. M. Castanha-do-Brasil: da Floresta tropical ao consumidor. 1. ed. Florianópolis, SC: Editograf, v. 1, p. 176, 2006.

PAIVA, F. V.; SOUZA, N. C.; HAANDEL, A. C. Identificação de compostos orgânicos e farmacêuticos em esgoto hospitalar utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 16, n. 1, p. 37-44, 2011.

PAL, B. C.; CHAUDHURI, T.; YOSHIKAWA, K.; ARIHARA, S. Saponins from *Barringtonia acutangula*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 5, p. 1315-1318, 1994.

PATHAMANATHAN, M. K., UTHAYARASA, K., JEYADEVAN, J. P. E JEYASSELAN, E. C. In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of some selected medicinal plants. **International Journal of Pharmaceutical Biological Archives**, v. 1, n. 3, p. 291-299, 2010.

PATITUCCI, M. L.; VEIGA Jr, V. F.; PINTO, A. C. Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais. **Química Nova**, v. 18, n. 3, p. 262-266, 1995.

PATITUCCI, M. L.; VEIGA Jr., V. F.; PINTO, A. C.; ZOGHBI, M. G. B.; SILVA, J.; PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PETTIT, G.R.; ZHANG, Q.; PINILLA, V.; HERALD, D.L.; DOUBEK, D.L.; DUKE, J. A. Isolation and Structure of Gustastatin from the Brazilian Nut Tree *Gustavia Hexapetala*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 6, p. 983-985, 2004.

PRAKASA SASTRY, C. S.; RAMACHANDRA ROW, L. The constitution of tanginol, a new hexahydroxy triterpene. **Tetrahedron**, v. 23, p. 3837-3846, 1967.

PRANCE, G. T.; BALEE, W.; BOOM, B. M.; CARNEIRO, R. Quantitative ethnobotany and the case for conservation in Amazonia. **Conservation Biology**, v. 1, n. 4, p. 296-310, 1987.

QUINTÃO et al. Hydroalcoholic extracts of *Vellozia squamata*: study of its nanoemulsions for pharmaceutical or cosmetic applications. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 101-107, 2013.

RIBEIRO, C. M. R.; SOUZA, N. A. Esquema geral para elucidação de substâncias orgânicas usando métodos espectroscópico e espectrométrico. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 1026-1031, 2007.

RODRIGUES, A. M. C.; DARNET, S.; SILVA, L. H. M. Fatty Acid Profiles and Tocopherol Contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) Fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 2000-2004, 2010.

ROVIRA et al. Antimicrobial activity of neotropical wood and bark extracts. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 3, p. 208-215, 1999.

SAKAN, T.; ISOE, S.; HYEON, S. B. The structure of actinidiolide, dibydroactinidiolide and actinidol. **Tetrahedron Letters**, n. 17, p. 1623-1627, 1967.

SAKTHIVEL, K.; PALANI, S.; KALASH, R. S.; DEVI, K.; KUMAR, B. S. Phytoconstituents analysis by GC-MS, cardioprotective and antioxidant activity of *Buchanania axillaris* against doxorubicin-induced cardio toxicity in albino rats. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research**, v. 1, n. 1, p. 34-48, 2010.

SILVA, I. D. D.; ARAGÃO, C. F. S. Avaliação de parâmetros de extração da *Cinchona* Vahl por métodos farmacopeicos e não farmacopeicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 776-780, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER F. X.; KIEMLE D. J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7. ed. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos S.A. p. 490, 2007.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2004.

SIQUEIRA et al. Determinação de compostos de massa molecular alta em folhas de plantas da Amazônia. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 633-640, 2003.

SOUZA, A. D. L.; ROCHA, A. F. I.; PINHEIRO, M. L. B.; ANDRADE, C. H. S.; GALOTTA, A. L. A. Q.; SANTOS, M. P. S. S. Constituintes químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 439-442, 2001.

STEEGE, H.; PITMAN, N. C. A.; PHILLIPS, O. L.; CHAVE, J.; SABATIER, D.; DUQUE, A.; MOLINO, J.; PRÉVOST, M.; SPICHIGER, R.; CASTELLANOS, H.; HIDELBRANDO, P.; VÁSQUES, R. 2006. Continental-scale patterns of canopy tree composition and functions across Amazonia. **Nature**, London, v. 443, p. 444-447, 2006.

STEIN, A. C. Análise química de espécies de *Pterocaulon* (Asteraceae) e determinação da atividade antifúngica. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3 ed. São Paulo: Artmed, p. 792, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Tradução Eliane Romanato Santarém et al. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TAVARES, E. S.; JULIÃO, L. S.; LOPES, D.; BIZZO, H. R.; LAGE, C. L. S.; LEITÃO, S. G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia*

alba (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 15, n. 1, 1-5, 2005.

TORSSELL, K. B. G. Natural Product Chemistry: A mechanistic, biosynthetic and ecological approach (2nd ed.), **Apotekarsocieteten-Swedish, Pharmaceutical Society: Stockholm**, 1997.

TUNG, Y.; CHUA, M.; WANG, S.; CHANG A, S. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3908–3913, 2008.

URIOSTE, D.; CASTRO, M. B. A.; BIAGGIO, F. C.; CASTRO, H. F. Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo de babaçu. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 407-412, 2008.

VÁGI, E.; SIMÁNDI, B.; SUHAJDA, A.; HÉTHELVI, É. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L., extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. **Food Research International**, v. 38, n. 1, p. 51-57, 2005.

VALDUGA et al. Head Space Solid Phase Micro-Extraction (HS - SPME) of volatile organic compounds produced by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 987-992, 2010.

VALIVITTAN et al. Antibacterial, antioxidant and antiproliferative activities of solvent extracts of *Tiliacora acuminata*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 9, p. 398-403, 2014.

VEIGA-JUNIOR et al. Constituintes das sementes de *Copaifera officinalis* L. **Acta Amazonica**. v. 37, n. 1, p. 123-126, 2007.

VOGTS, A.; MOOSSEN, H.; ROMMERSKIRCHEN, F.; RULLKÖTTER, J. Distribution patterns and stable carbon isotopic composition of alkanes and alkan-1-ols from plant waxes of African rain forest and savanna C3 species. **Organic Geochemistry**, v. 40, n. 10, p. 1037–1054, 2009.

WAGNER, H., BLADT, S. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas 2. Ed. Berlin: Springer, p. 384, 1996.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin Layer Chromatography in Phitochemistry. V. 99. **Chromatographic Science Series**, 2008.

WEIHRAUCH, J. L.; GARDNER, J. M. Sterol content of foods of plant origin. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 73, n. 1, p. 39-47, 1978.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Production - A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, n. 21, p. 8093–8105, 2005.

XIONG, L.; PENG, C.; ZHOU, Q.; WAN, F.; XIE, X.; GUO, L.; LI, X.; HE, C.; DAI, O. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from Different Parts of *Leonurus japonicus* Houtt. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 963-973, 2013.

YANG et al. Three New Ellagic Acid Derivatives from the Bark of *Eschweilera coriacea* from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 7, p. 901-906, 1998.