



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES *Schinus
lentiscifolius*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* e *Schinus polygamus*
(Anacardiaceae) DO RS**

Ilaine Teresinha Seibel Gehrke

Santa Maria, RS, Brasil

2012

ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES

Schinus lentiscifolius, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* e *Schinus polygamus*

(Anacardiaceae) DO RS

por

Ilaine Teresinha Seibel Gehrke

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do
Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de Santa Maria

(UFSM,RS), como requisito parcial para obtenção de grau de

Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Farias Morel

Santa Maria, RS, Brasil

2012

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

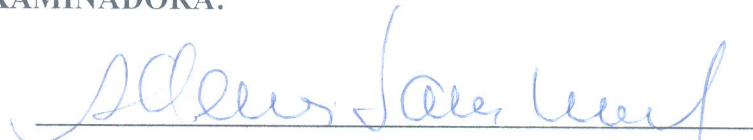
**ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES *Schinus lentiscifolius*,
Schinus terebinhtifolius, *Schinus molle*, *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) DO RS**


Elaborada por

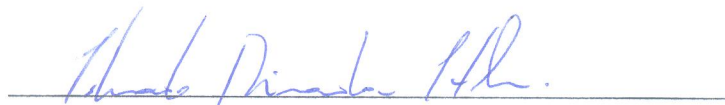
Ilaine Teresinha Seibel Gehrke

Como requisito parcial para obtenção de grau de **Doutora em Química**

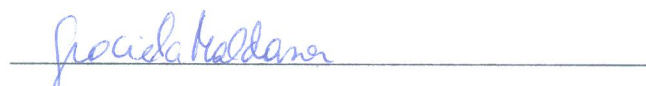
COMISSÃO EXAMINADORA:


Doutor Ademir Farias Morel (Presidente/Orientador)


Doutor Marco Aurélio Mostardeiro (UFS)


Doutor Eduardo Miranda Ethur (Univates)


Doutora Melânia Palermo Manfron (UFSM)


Doutora Graciela Maldaner (URCAMP)

Santa Maria, 16 de janeiro de 2012.

OFEREÇO

Ao meu esposo Laerde, pelo amor, paciência, exemplo de luta e de valiosos conselhos durante esta importante etapa da minha vida.

Às filhas Camila e Bruna, orgulho, razão do meu ser, fonte de toda minha inspiração.

Às minhas irmãs Adelaide e Lenir, e aos meus sobrinhos, Leonardo e Letícia, pelo apoio e pelas alegrias compartilhadas.

Ao professor Dr. Ademir Farias Morel, pela oportunidade que me proporcionou de fazer parte deste grupo de pesquisa, pela sua orientação, paciência, e estímulo prestados no decorrer deste trabalho. Mesmo em momentos de dificuldade, sempre estive disposto a me dar estímulo e apoio para desenvolver o trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos professores membros da Banca Examinadora: Dr. Marco Aurélio Mostardeiro (UFS); Dr. Eduardo Miranda Ethur (Univates); Dr^a Melânia Palermo Manfron (UFSM); Dr^a Graciela Maldaner (URCAMP), pelo auxílio na melhoria deste trabalho.

À professora Dr^a Ionara Irion Dacol e Dr. Ubiratan Flores da Silva, que participaram do meu exame de qualificação, contribuindo com sugestões.

À professora Dr^a Graciela Maldaner, que muito me ajudou, principalmente na etapa final deste trabalho.

Ao colega Vinícius Ilha (Vini) e meu amigo Alessandro Hermann (Ale), pelos momentos de angústia divididos, pelas trocas de idéias que contribuíram para realização deste trabalho.

À Caroline e ao Alexandre, pelas análises da atividade antimicrobiana, à Carolina, pelas análises da atividade antioxidante.

Aos colegas do laboratório de NPPN, que sempre se mostraram muito queridos e prestativos: Juliano, Anderson, Gilvan, Marcelo, Patrícia, Graciane, Tanise e Denise.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Química da UFSM, que proporcionou a realização deste curso.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Química, Ademir e Valéria, que sempre que necessário se colocaram a disposição para que a realização deste trabalho se concretizasse.

À Unijuí, pelo espaço concedido para realização do trabalho; aos colegas do DBQ; e ao ex-colega Marco Aurelio Mostardeiro, pela força e contribuições no decorrer do trabalho de doutorado.

A todos os colegas, amigos e familiares, que de maneira direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho. Tenham certeza de que aprendi muito com vocês.

É melhor tentar e falhar do que ver a vida passar sem preocupar-se. É melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final.

M.Luther King

RESUMO

ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DAS ESPÉCIES *Schinus lentiscifolius*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* e *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) DO RS

Autora: Ilaine Teresinha Seibel Gehrke

Orientador: Ademir Farias Morel

O estudo fitoquímico e biológico das espécies *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus* conhecidas como “aroeiras” (Anacardiaceae), distribuídas no Rio Grande do Sul, foi realizado visando o estabelecimento da composição química de óleos voláteis obtidos por hidrodestilação das partes aéreas (folhas, flores e frutos) coletadas em diferentes estações do ano. Além disso, folhas e frutos foram analisados e comparados para determinar as variações sazonais na constituição dos óleos. A composição química dos óleos foi determinada através de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). Os rendimentos dos óleos essenciais das partes aéreas das espécies estudadas variaram de 0,14-2,13%, dependendo do estágio de desenvolvimento e da parte coletada. Aproximadamente cento e trinta e cinco compostos foram identificados a partir dos óleos essenciais, representando aproximadamente 90% dos óleos das folhas, flores e frutos, coletados entre a primavera e o verão no período 2005 a 2011. Os óleos voláteis das espécies analisadas apresentaram um padrão qualitativo constante dos compostos: α -pineno, β -pineno, δ -2-careno, limoneno como monoterpênicos majoritários; germacreno-D, biciclogermacreno, δ -cadineno, espatulenol, óxido de cariofileno τ -cadinol com os esquiterpenos majoritários no óleo das folhas; α -pineno, mirceno *epi*-cubenol, cubenol, espatulenol como sesquiterpenos majoritários no óleo das flores; α -pineno, β -pineno mirceno como monoterpenos e *epi*-cubenol, cubenol, espatulenol, óxido de cariofileno e τ -cadinol como sesquiterpenos majoritários no óleo dos frutos. As variações quantitativas entre os diferentes constituintes

nos óleos das diferentes espécies foram marcantes. Adicionalmente, considerando-se o potencial terapêutico e os compostos descritos para o gênero, foi realizado o estudo fitoquímico e avaliadas as atividades antimicrobianas e antioxidantes dos óleos, dos extratos brutos, dos aquosos, dos compostos isolados e dos derivados. Os extratos aquosos obtidos do processo de hidrodestilação, parte foi seco por liofilização parte foi submetido à partição líquido-líquido com os solventes hexano, acetato de etila e n-butanol. Além desses, foi preparado o extrato bruto das folhas de *S. lentiscifolius*. O fracionamento cromatográfico do extrato bruto de acetato de etila de *S. lentiscifolius* levou ao isolamento do álcool graxo (119), ácido morônico (120). Também foram obtidos dois derivados do ácido morônico (120), por reação de redução empregando NaBH₄, os quais foram caracterizados como ácido morólico (121) e ácido 3-*epi*-morólico (122). A análise do extrato aquoso de acetato de etila de *S. lentiscifolius* levou ao isolamento do composto FLA-1 (115) e do ácido gálico (116), do qual foi obtido o derivado galato de metila (118). Do extrato aquoso n-butanólico de *S. molle* foi isolado o flavonóide quercetina (90) e rutina (117). As substâncias foram identificadas por dados físicos e técnicas espectroscópicas (RMN de ¹H, ¹³C, COSY, HMQC e HMBC) espectrometria de massas e raios-X. A análise dos extratos aquosos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) levou à caracterização do ácido gálico (116), quercetina (90) e rutina (117) por comparação com padrões existentes no laboratório. Todos os extratos apresentaram ácido gálico (116), exceto nos extratos de *S. molle*. A atividade antimicrobiana dos óleos das espécies *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus* foram avaliadas pelo método de microdiluição frente uma coleção de microorganismos patogênicos, compostos por bactérias e fungos. Os resultados demonstraram que os óleos obtidos das diferentes plantas foram ativos frente à maioria dos microorganismos testados. Os melhores resultados foram encontrados para os óleos dos frutos de *S. terebinthifolius*. Os extratos brutos e frações de *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius* e *S. molle* foram testados também quanto à sua atividade antibacteriana e antifúngica. Os melhores resultados foram encontrados para o extrato de *S. lentiscifolius* com uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) 31,2-12,5µg/mL. Além disso, os extratos e os compostos isolados foram avaliados quanto à atividade antioxidante, utilizando-se 2,2-difenil-picrilhidrazil (DPPH). Todos os extratos e compostos testados apresentaram resultados de inibição ao radical livre DPPH.

Palavras chave: *Schinus*, investigação fitoquímica, atividade biológica.

ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL STUDIES OF SPECIES *Schinus lentiscifolius*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle* and *Schinus polygamus* (Anacardiaceae) IN RS.

Author: Ilaine Teresinha Seibel Gehrke

Academic Advisor: Ademir Farias Morel

The phytochemical and biological study of the species *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* and *S. polygamus* known as “aroeiras” (Anacardeaceae) distributed in Rio Grande do Sul, was carried out to establish the chemical composition of volatile oils obtained by hydrodistillation of aerial parts of leaves, flowers and fruits collected in different seasons. In addition, leaves and fruits were analyzed and compared to determine seasonal variations in the oils constitution. The oils chemical composition was determined by Gas Chromatography coupled with a Mass Spectrometry (GC-MS). The yields of the studied species oils essential aerial parts ranged from 0.14-2-13%, depending on the stage of development and part collected. One hundred and thirty-five compounds were identified from the oils essential, representing approximately 90% of the oils from leaves, flowers and fruits collected between spring and summer in 2005 to 2011. The volatile oils of the analyzed species showed a constant qualitative standard in the compounds: α -pinene, β -pinene, δ -2-carene, limonene for majority monoterpenes; germacrene-D, bicylogermacrene, δ -cadinene, spatulenol, caryophyllene oxide and τ -cadinol for majority sesquiterpenes in the leaves oil; α -pinene, mircene epi-cubenol, cubenol and spatulenol for majority sesquiterpenes in the flowers oil; α -pinene, β -pinene mircene, epi-cubenol, cubenol, spatulenol, caryophyllene oxide and τ -cadinol for majority sesquiterpenes in the oil fruits. The quantitative variations among the different constituents in oils of different species were quite relevant. Additionally, considering the therapeutic potential and the compounds described, the phytochemical study and antioxidant and antimicrobial activity were evaluated in the oils, crude extracts, aqueousextracts, isolated and derivative compounds. The aqueous extracts obtained by

hydrodistillation, in part were dried by lyophilization and in part were subjected to a liquid-liquid partition using hexane solvent, ethyl acetate and n-butanol. Besides these, the crude extract was prepared from the leaves of *S. lentiscifolius*. The chromatographic fraction of crude extract and ethyl acetate led to the isolation and identification of nonadecanol (1) and moronic acid (2). From moronic acid (2) by employing NaBH₄ reduction reaction were obtained the derivatives morolic acid (3) and 3-*epi*-morolic acid (4). The analysis of *S. lentiscifolius* ethyl acetate aqueous extract led to the isolation of the compound FLA-1 (5) and gallic acid (6), from this was obtained the derivative methyl gallate (7). The *S. molle* n-butanol aqueous extract led to the isolation of the flavonoid quercetin (8) and rutin (9). The substances were identified by physical data and spectroscopic techniques (¹H NMR, ¹³C, COSY, HMQC, HMBC), mass spectrometry and X-rays. The aqueous extracts analysis by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) led to the characterization of gallic acid (6), quercetin (8) and rutin (9) comparing to the existing laboratory standards. All extracts present gallic acid (6), except to *S. molle*. The oils antimicrobial activity of the species *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* and *S. polygamus* were evaluated by microdilution method using a collection of pathogenic microorganisms composed of bacteria and fungi. The results showed that the obtained oils from different plants were active using the most of the microorganisms tested. Best results were found in the fruits oils of *S. terebinthifolius*. The extracts and fractions of *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius* and *S. molle* have also been tested as antibacterial and antifungal activity. Best results were found for the extract of *S. lentiscifolius* with a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) from 31.2 to 12.5 mg/mL. In addition, isolated compounds extracts were evaluated as antioxidant activity using 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH). All extracts and compounds tested showed inhibition results for free radical DPPH.

Keywords: *Schinus*, phytochemical evaluation, biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura de compostos fenólicos: A. $R_1=R_2=OH$	23
Figura 2. Estruturas representativas dos biflavonóides do gênero <i>Rhus</i>	25
Figura 3. Representantes terpenóides e esteróides de espécies de Anacardiaceae.	27
Figura 4. Representantes de flavonóides de espécies pertencentes à Anacardiaceae.	28
Figura 5. Biossíntese de isoprenóides e o papel das prenil-transferases em plantas superiores. IPP- isopentenil difosfato; DMAPP- dimetilalil difosfato; GPP- geranyl difosfato; FPP- farnesil difosfato e GGPP- geranyl geranyl difosfato.....	31
Figura 6. Estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos: GPP, pirofosfato de geranila.	32
Figura 7. Estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos: GPP, pirofosfato de geranila.	33
Figura 8. Aspectos morfológicos de aroeira-vermelha (<i>Schinus terebinthifolius</i>) A: exemplar cultivado em vaso para ornamentação de interiores; B: detalhe das folhas e frutos; C: detalhe da inflorescência e das folhas.	35
Figura 9. Representantes monoterpênicos e sesquiterpênicos isolado do óleo dos frutos de <i>S. terebinthifolius</i>	42
Figura 10. Compostos isolados de <i>S. terebinthifolius</i>	43
Figura 11. Árvore, folhas e frutos de <i>Schinus molle</i> . ¹⁵⁷	48
Figura 12. Substâncias representativas da espécie em estudo e que foram isoladas da espécie <i>S. molle</i>	55
Figura 13. Árvore, folhas e cacho com os frutos verdes da <i>S. polygamus</i>	55
Figura 14. Estruturas representativas dos flavonóides isolados de <i>S. molle</i>	57
Figura 15. Árvore, folhas e cacho com os frutos da <i>Schinus lentiscifolius</i> . ²¹⁰	59
Figura 16. Fluxograma dos procedimentos experimentais adotados na execução do trabalho.	67
Figura 17. Fluxograma dos procedimentos experimentais realizados na execução do trabalho.	68
Figura 18. Aparelho de Clevenger modificado, utilizado na extração dos óleos essenciais. ...	69
Figura 19. Reação de esterificação do ácido gálico	71
Figura 20. Reação do ácido morônico (120) produto ácido morólico (121) e ácido 3-epi-morólico (122).	75
Figura 21. Representação gráfica dos principais constituintes do óleo das folhas de <i>S. lentiscifolius</i>	90
Figura 22. Representação gráfica dos percentuais das classes de mono e sesquiterpenos	91
Figura 23. Perfil cromatográfico do óleo das folhas de <i>S. lentiscifolius</i> coletadas em Ijuí A=13 abr.05 e Santa do Livramento B= 22 mar.05; C= 20 set.05 . A coluna utilizada é a DB-5 (30m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 μ m). Programa de análise: $T_{inicial}= 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{final}= 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, rampa de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$	92
Figura 24. Representação gráfica da variação sazonal das principais classes de terpenos	100
Figura 25. Constituintes majoritários do óleo das folhas das diferentes amostras analisadas	102
Figura 26. Representação gráfica da variação sazonal das principais classes de terpenos	108
Figura 27. Representação gráfica dos principais constituintes do óleo dados frutos de <i>S. lentiscifolius</i>	109
Figura 28. Representação gráfica percentual das classes de compostos terpênicos do óleo..	110

Figura 29. Perfil cromatográfico do óleo das folhas e flores de <i>S. lentiscifolius</i> coletadas em Ijuí D - folhas E- flores . A coluna utilizada é a DB-5 (30m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 µm). Programa de análise: T _{inicial} = 60 °C, T _{final} = 250 °C, rampa de 3°C min ⁻¹	114
Figura 30. Representação gráfica percentual das classes de compostos terpênicos do óleo das folhas das quatro espécies coletadas no inverno (Ijuí, 2011).	122
Figura 31. Perfil cromatográfico do óleo das folhas das quatro espécies coletadas no inverno em Ijuí F -SL FL ago.11; G - ST FL ago.11; H- SM FL ago.11 e I - SP FL ago.11 . A coluna utilizada é a DB-5 (30m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 µm). Programa de análise: T _{inicial} = 60 °C, T _{final} = 250 °C, rampa de 3°C min ⁻¹	124
Figura 32. Perfil cromatográfico do óleo dos frutos maduros (J) e verdes (K) de <i>S. terebinthifolius</i> coletados em Ijuí.	139
Figura 33. Espectro de Massas do FLA-1 (115).....	141
Figura 34. Espectro expandido na região δ 6,4-8,0 ppm de RMN de ¹ H de FLA-1 (115) em MeOD, a 400,13 MHz.....	141
Figura 35. Espectro de RMN de ¹³ C de FLA-1(115) em MeOD, a 100,62 MHz.	142
Figura 36. Espectro de RMN de ¹ H de ácido gálico (116), em (CD ₃) ₂ CO, a 400,13 MHz. ..	143
Figura 37. Espectro de RMN de ¹³ C de Ácido gálico (116), em (CD ₃) ₂ CO, a 100,62 MHz.	144
Figura 38. Espectro de RMN de ¹ H de galato de metila (118), em CD ₃ COCD ₃ a 400,13 MHz.	145
Figura 39. Espectro de RMN de ¹³ C de galato de metila (118), em CD ₃ COCD ₃ , a 100,62 MHz.	145
Figura 40. Perfil cromatográfico por CLAE dos padrões A- ácido gálico, B- ácido clorogênico, C- ácido caféico, e os flavonóides D- rutina, E- quercetrina, F- quercetina, e G- kampferol.	147
Figura 41. Perfil cromatográfico do extrato aquoso de <i>S. lentiscifolius</i>	147
Figura 42. Perfil cromatográfico do extrato aquoso de acetato de etila de <i>S. lentiscifolius</i> – caracterização do composto FLA-1(115).	148
Figura 43. Perfil cromatográfico do extrato acetato de etila das folhas de <i>S. lentiscifolius</i>	148
Figura 44. Perfil cromatográfico do extrato n-butanólico das folhas de <i>S. lentiscifolius</i>	148
Figura 45. Perfil cromatográfico do extrato aquoso das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	148
Figura 46. Perfil cromatográfico do extrato acetato de etila das folhas de <i>S. terebinthifolius</i>	149
Figura 47. Perfil cromatográfico do extrato butanólico das de <i>S. terebinthifolius</i>	149
Figura 48. Perfil cromatográfico do extrato aquoso butanólico das folhas de <i>S. molle</i>	149
Figura 49. Perfil cromatográfico do extrato aquoso de <i>S. polygamus</i>	150
Figura 50. Espectro de RMN de ¹ H da quercetina em MeOD, a 400,13 MHz.	151
Figura 51. Espectro de RMN de ¹³ C da quercetina em MeOD, a 100,62 MHz.	152
Figura 52. Espectro de RMN de ¹ H da rutina em MeOD, a 400,13 MHz.	153
Figura 53. Espectro de RMN de ¹³ C da rutina em MeOD, a 100,62 MHz.	153
Figura 54. Espectro de Massas do álcool graxo (119).	155
Figura 55. Espectro de RMN de ¹ H d álcool graxo (119), em CDCl ₃ , a 400,13 MHz.	156
Figura 56. Espectro de RMN de ¹³ C do álcool graxo (119), em CDCl ₃ , a 100,62 MHz.	156
Figura 57. Espectro de RMN de DEPT 135° álcool graxo (119), em CDCl ₃ , a 100,62 MHz.	157
Figura 58. Espectro de RMN de ¹ H de ácido morônico (120), em CDCl ₃ , a 400,13 MHz... ..	158
Figura 59. Espectro de RMN de ¹³ C de Ácido morônico (120), em CDCl ₃ , a 100,62 MHz.	159
Figura 60. Espectro expandido de RMN de ¹³ C de ácido morônico (120), região δ 26,00-37,00 ppm, em CDCl ₃ , a 100,62 MHz.	160
Figura 61. Espectro DEPT 135° de ácido morônico (120), em CDCl ₃ , a 100,62 MHz.....	160
Figura 62. Espectro 2D, heteronuclear 1JH-C, HMQC de Ácido morônico (120), em CDCl ₃ , a 400 MHz.....	161

Figura 63. Estrutura do ácido morônico por difração de Raios-X.....	162
Figura 64. Espectro de RMN de ^1H do ácido morólico (121), em CDCl_3 , a 400,13MHz.	163
Figura 65. Espectro de RMN de ^1H do ácido-3-epi- morólico (122), em CDCl_3 , a 100.62MHz.	164
Figura 66. Espectro de RMN de ^{13}C do ácido morólico (121), em CDCl_3 , a 100.62MHz. ...	164
Figura 67. Cromatograma do óleo essencial dos frutos TFruT-óleo total, TFruB1 e TFruB2 - frações de <i>S. terebinthifolius</i> coletado 28.01.10.	175
Figura 68. Redução do DPPH.....	179
Figura 69. Resultados da avaliação antioxidante dos extratos de <i>S. lentiscifolius</i> (% inibição do radical DPPH).	180
Figura 70. Resultados da avaliação antioxidante dos extratos, e substância isolados (% inibição do radical DPPH).....	181

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frações da cromatografia do extrato aquoso acetato de etila folhas <i>S. lentiscifolius</i>	71
Tabela 2. Frações da cromatografia em coluna do extrato bruto de acetato de etila das folhas <i>S. lentiscifolius</i> March.	74
Tabela 3. Microrganismos padrão ATCC utilizados nos testes.....	79
Tabela 4. Meios de cultura dos microorganismos	79
Tabela 5. Rendimento médio dos óleos voláteis obtidos por hidrodestilação de folhas, frutos e flores de <i>Schinus lentiscifolius</i> coletados em vários períodos no município de Ijuí e Santana do Livramento (RS)	84
Tabela 6. Compostos identificados e composição química (%) dos óleos essenciais das folhas de <i>S.lentiscifolius</i> Ijuí – S. Livramento (RS).....	86
Tabela 7. Compostos identificados e composição química (%) dos óleos essenciais das folhas <i>S.lentiscifolius</i> coletadas em Ijuí (RS).	94
Tabela 8. Composição química (%) dos óleos voláteis dos frutos de <i>S. lentiscifolius</i> de diferentes períodos (Ijuí, 2005-2010)	103
Tabela 9. Composição química (%) das folhas e flores dos óleos voláteis de <i>S. lentiscifolius</i> (Ijuí, 2010).....	111
Tabela 10. Compostos identificados e composição química (%) dos óleos essenciais das folhas das quatro espécies analisadas (Ijuí, 2011).	117
Tabela 11. Comparação da composição química (%) dos óleos voláteis de folhas de <i>S.</i> <i>polygamus</i> coletados em Ijuí, Porto Alegre (Brasil), com a composição de um óleo chileno e argentino.....	127
Tabela 12. Compostos identificados e (%) nos óleos essenciais dos frutos de <i>S.</i> <i>terebinthifolius</i> (Ijuí, 2009-2010)	133
Tabela 13. Compostos identificados e composição química (%) nos óleos essenciais dos frutos verdes (StFV) e maduros (StFM) de <i>S. terebinthifolius</i> (Ijuí).....	137
Tabela 14. Rendimento dos extratos aquosos obtidos das hidrodestilações das folhas e da partição com os solventes orgânicos (hexano, acetato de etila e n-butanol) das espécies estudadas.	146
Tabela 15. Comparação dos dados de RMN de ¹³ C obtidos para o composto isolado com os dados da literatura ¹⁸⁶ para o ácido morônico.....	161
Tabela 16. Resultados da Concentração Inibitória Mínima dos óleos de folhas e frutos <i>S.</i> <i>lentiscifolius</i>	168
Tabela 17. Resultados de Concentração Inibitória Mínima das frações do óleo dos frutos <i>S.</i> <i>lentiscifolius</i>	169
Tabela 18. Resultados de Concentração Inibitória Mínima do óleo das folhas e frações coleta 21.01.08 de <i>S.lentiscifolius</i>	170
Tabela 19. Resultados de Concentração Inibitória Mínima dos extratos hexânico e acetato de etila resultante do fracionamento chá (resíduo aquoso) e do extrato bruto de <i>S. lentiscifolius</i>	171
Tabela 20. Atividade antimicrobiana (em µg) dos metabólitos: ácido morônico, ácido morólico, ácido 3- <i>epi</i> -morólico, ácido gálico e do produto esterificado de <i>S. lentiscifolius</i> . 173	
Tabela 21. Resultados de Concentração Inibitória Mínima do óleo dos frutos coleta outono e verão <i>S. terebinthifolius</i>	174

Tabela 22. Resultados de CIM e CLM para extratos hexânico e acetato de etila do chá de folhas e extrato acetato de etila frutos <i>S. terebithifolius</i>	176
Tabela 23. Resultados concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Letal Mínima (CLM) – extrato hexânico e acetao etila de folhas <i>S. molle</i>	177
Tabela 24. Resultados Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Letal Mínima (CLM) óleo de <i>S. Polygamus</i>	177

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American type culture collection</i>
BHA	Ter-butil-hidroxi-anisol
BHT	2,6-di-terc-butil-4-hidroxitolueno
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CG	Cromatografia Gasosa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
d	Dubleto
DAD	Detector de Arranjo de Diodo
dd	Duplo dubleto
DEPT	Espectro de RMN ¹³ C utilizando transferência de polarização
DIC	Detector de Ionização de Chama
DMAPP	Dimetilalil difosfato
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EM	Espectrometria de Massas
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
FLA-1	Composto não identificado
FPP	Pirofosfato de farnesila
GPP	Geranil difosfato
GGPP	Geranil geranil difosfato
IC ₅₀	Concentração Inibitória 50 %
IE	Impacto de electrons
IK	Índice de Kovats
IPP	Isopentenil difosfato
J	Constante de Acoplamento
m	Multiplete
m/z	Relação massa/carga
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
NP	Natural Products
NPPN	Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais
PEG	Poli(et)ilenoglicol
PF	Ponto de fusão
Rf	Fator de Retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
ST	Standard Padrão
s	Singleto
t	Triplete
TTC	Cloreto de trifenil tetrazólio
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Objetivos específicos	21
1.2 Justificativa	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Caracterização botânica para a Família Anacardiaceae	23
2.2 Gênero <i>Schinus</i>	29
2.2.1 Espécie <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	34
2.2.1.1 Considerações botânicas	34
2.2.1.2 Usos populares: importância	36
2.2.1.3 Composição química e propriedades biológicas	38
2.2.2 Espécie <i>Schinus molle</i> Lineu	47
2.2.2.1 Considerações botânicas	47
2.2.2.2 Composição química e propriedades biológicas	48
2.2.3 Espécie <i>Schinus polygamus</i> Cabrera	55
2.2.3.1 Considerações botânicas	55
2.2.3.2 Composição química e propriedades biológicas	56
2.2.4 Espécie <i>Schinus lentiscifolius</i> Marchand, 1869	58
2.2.4.1 Considerações botânicas	58
2.2.4.2 Composição química e propriedades biológicas	59
3 PARTE EXPERIMENTAL	61
3.1 Materiais e Métodos	61
3.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	61
3.1.2 Técnicas Cromatográficas	61
3.1.2.1 Análise por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas	61
3.1.2.2 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE	63
3.1.2.3 Cromatografia em Camada Delgada	63
3.1.2.4 Cromatografia em Coluna	64
3.1.3 Solventes e reagentes purificados	64
3.2 Coleta e preparação do material vegetal	65
3.3 Extração do óleo essencial	68
3.4 Preparação dos extratos vegetais, fracionamento e cromatografia	69
3.4.1 Fracionamento líquido-líquido dos extratos aquosos das quatro espécies estudadas	69
3.4.2 Fracionamento dos extratos aquosos das folhas de espécies <i>Schinus</i>	70
3.4.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato acetato de etila (AcOEt) obtido de <i>S. lentiscifolius</i>	70
3.4.2.2 Obtenção do derivado esterificado do ácido gálico	71
3.4.2.3 Fracionamento cromatográfico do extrato aquoso butanólico de <i>S. molle</i>	72
3.4.3 Preparação e fracionamento do extrato orgânico das folhas de <i>S. lentiscifolius</i>	73

3.4.3.1 Modificação estrutural e obtenção de derivados do ácido morônico: redução da função cetona do ácido morônico	74
3.5 Dados físicos e espectroscópicos dos metabólitos isolados	75
3.6 Atividade antimicrobiana <i>in vitro</i>	78
3.6.1 Microrganismos empregados nos ensaios	78
3.6.2 Meios de cultura.....	79
3.6.3 Preparo das suspensões dos microrganismos (inóculo)	80
3.6.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima pelo método de microdiluição	80
3.7 Determinação da atividade antioxidante.....	81
3.7.1. Método do radical livre – ensaio qualitativo	81
3.7.2 Método do radical livre – ensaio quantitativo	82
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
4.1 Análise química dos componentes voláteis dos óleos essenciais obtidos das espécies selecionadas	83
4.1.1 Estudo do óleo volátil de folhas, frutos e flores de <i>S. lentiscifolius</i>	84
4.1.1.1 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de amostras das folhas de <i>S. lentiscifolius</i> de Ijuí e Santana do Livramento (RS).....	85
4.1.1.2 Análise comparativa da composição química de óleos voláteis das folhas coletadas em períodos diferentes (Ijuí, 2005-2010)	93
4.1.1.3 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de frutos (Ijuí, 2005-2010)	102
4.1.1.4 Análise comparativa da composição dos óleos voláteis de folhas e flores coletadas em Ijuí (2010).....	110
4.1.1.5 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis das folhas das espécies coletadas em Ijuí (2011): <i>S. lentiscifolius</i> , <i>S. terebinthifolius</i> , <i>S. molle</i> e <i>S. polygamus</i>	115
4.1.1.6 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de frutos de <i>S. terebinthifolius</i> coletados em Ijuí	132
4.1.1.7 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de frutos maduros (StFM) e verdes (StFV) de <i>S. terebinthifolius</i> coletados em Ijuí	136
4.2 Análise dos extratos aquosos e identificação dos metabólitos isolados.....	140
4.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato acetato de etila obtido do extrato aquoso <i>S. lentiscifolius</i>	140
4.2.2 Isolamento e caracterização do ácido gálico.....	142
4.2.3 Galato de metila	144
4.2.4 Análise dos extratos aquosos através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE–DAD) das espécies estudadas	146
4.2.5 Fracionamento cromatográfico do extrato aquoso butanólico de <i>S. molle</i>	150
4.3 Análise do extrato bruto da espécie <i>S. lentiscifolius</i>, isolamento e identificação de seus constituintes, derivatizações.....	154
4.4.1 Atividade antimicrobiana	165
4.4.1.1 Atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas, frutos e frações de <i>Schinus lentiscifolius</i>	167
4.4.1.2 Atividade antimicrobiana dos extratos de <i>S. lentiscifolius</i>	170
4.4.1.3 Atividade antimicrobiana das substâncias isoladas, ácido morônico e ácido gálico e derivados das folhas de <i>S. lentiscifolius</i>	171
4.4.1.4 Determinação da atividade antimicrobiana do óleo das folhas, dos frutos e das frações de <i>S. terebinthifolius</i>	174
4.4.1.5 Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de <i>Schinus terebinthifolius</i> ..	176
4.4.1.6 Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de <i>Schinus molle</i>	176
4.4.1.7 Determinação da atividade antimicrobiana do óleo dos frutos <i>Schinus Polygamus</i> ..	177

4.4.2 Atividade antioxidante.....	178
4.4.2.1 Atividade antioxidante pelo método do radical livre DPPH.....	178
CONCLUSÃO	182

1 INTRODUÇÃO

O reino vegetal, com sua diversidade e sua variabilidade de espécies, tem sido a melhor fonte de remédios para a cura de uma infinidade de doenças. Produtos do metabolismo secundário ainda são os principais componentes de quimioterápicos utilizados para uma série de enfermidades, como câncer, infecções causadas por microorganismos, doenças do coração, doenças denominadas de negligenciáveis, como malária etc. Neste arsenal químico podem-se citar metabólitos da classe dos alcalóides, isoprenóides (terpenos, esteróides, saponinas), lignanas, cumarinas, flavonóides, antibióticos, entre outras. Os óleos essenciais, compostos por isoprenóides, como os monoterpenos e sesquiterpenos, têm sido utilizados para muitos propósitos: como alternativa terapêutica na medicina popular, como aromatizantes de alimentos e bebidas, como aditivos de aroma de cosméticos e produtos de uso doméstico e, mais recentemente, de interesse da indústria farmacêutica pelo seu potencial antimicrobiano, antiinflamatório e antioxidante.^{1,2} A atividade antimicrobiana apresentada pelos óleos essenciais, tem ampliado seu uso em vários produtos farmacêuticos, bem como na medicina alternativa e em terapias naturais.^{3,4} Os óleos essenciais ampliaram a sua utilização como conservante natural para prolongar a vida útil dos produtos alimentares. Neste sentido as plantas medicinais têm desempenhado um papel fundamental na manutenção da saúde da população em todo o mundo. Porém, estudos são necessários, a fim de garantir à população uma melhor qualidade de vida e evitar alguns problemas como a utilização errada de espécies vegetais.

A importância e a ampla utilização de espécies vegetais aromáticas na medicina popular têm levado um grande número de plantas a participarem de Farmacopéias. No entanto, considerando-se, o grande número de espécies presentes, principalmente em florestas tropicais e subtropicais do planeta, pouco se sabe acerca dos constituintes químicos destes vegetais e do seu potencial terapêutico.

¹BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **Int. J. Food Microbiol.**, 2004, v. 94. p. 223-253.

²BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food Chem. Toxicol.**, 2008, v. 46. p. 446-475.

³DORMAN, H. J.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal Applied Microbiology**, 2000, v. 88, p. 308-316.

⁴BRUNI, R.; MEDICI, A.; ANDREOTTI, E.; FANTIN, C.; MUZZOLI, M.; DEHESA, M.; ROMAGNOLI, C.; SACCHETTI, G. Composição química e atividade biológica de Ishpingo óleo essencial, uma especiaria tradicional equatoriana de quixos *Ocotea* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) cálices de flores. **Food Chem.**, 2004, v. 85. p. 415-421.

O estudo de constituintes químicos fixos e voláteis de espécies de interesse medicinal, principalmente da flora do Rio Grande do Sul, vem sendo desenvolvido de forma sistemática em nossos laboratórios. Dentre as plantas estudadas, pode-se citar *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae), *Helietta longifoliata* (Rutaceae), *Scutia buxifolia* Reiss e *Discaria americana* Gill & Hook, *Condalia buxifolia* (Rhamnaceae), *Waltheria douradinha* (Malvaceae), *Blefarocalix salicifolium* (Myrtaceae), entre outras.^{5,6,7,8,9} A investigação química destas plantas tem possibilitado o isolamento e a determinação estrutural de um significativo número de substâncias pertencentes a diferentes classes de compostos, como flavonóides, alcalóides, cumarinas, e terpenos (triterpenos, esteróides etc.). A estrutura e as técnicas analíticas existente no laboratório de microbiologia do Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais (NPPN) tornou possível a realização de *screenings* farmacológicos de extratos brutos e de substâncias puras, possibilitando a descoberta de novos produtos naturais com potenciais farmacológicos.^{10,11}

O Estado do RS, principalmente a região Noroeste, em função de ser uma região eminentemente agrícola possui sua flora reduzida, entretanto, ainda apresenta um número surpreendente de espécies vegetais, principalmente em nichos de florestas primárias do Bioma Pampa, que não foram ainda avaliadas quanto ao seu potencial químico-biológico. É importante, portanto, a realização de estudos que caracterizem o potencial da flora do Estado, os quais poderão ter reflexos diretos em propostas concretas que assegurem o desenvolvimento sustentável da região, uma vez que a mesma vem sofrendo uma rápida e progressiva degradação decorrente de interesses agro-industriais. Na intenção de pesquisar plantas dos dois biomas do Rio Grande do Sul - o Bioma do Pampa, totalmente gaúcho, e, um nicho do Bioma da Mata Atlântica, que se estende até a cidade de Santa Maria, o NPPN selecionou espécies de plantas nativas ou adaptadas nestes dois biomas.

⁵MOURA, N. F. et al. Quinoline Alkaloids, Cumarin and Volatile Consituents of *Helietta longifoliata*. **Planta Médica**, 2002, v. 68. p. 631-634.

⁶MOREL, A. F.; DESSOY, E. C.; AZEVEDO, C. A.; SILVA, U. F.; HOELZEL, S. M.; ZACHIA, R.; BASTOS, N. R. **Phytochemistry**, 2002, v. 9. p. 721.

⁷MOREL, A. F.; GIACOMELLI, S. R.; MALDANER, G.; GONZAGA, W. A.; GARCIA, C. M.; SILVA, U. F.; DALCOL, I. I. **Phytochemistry**, 2004, v. 65. p. 933.

⁸MOREL, A. F.; GEHRKE, I. T. S.; MOSTARDEIRO, M. A.; ETHUR, E. M.; ZANATTA, N.; MACHADO, E. C. M.; **Phytochemistry**, 1999 51, 47

⁹WEBER, A. D.; GIACOMELLI, S. R.; SIMIONATTO, E.; DALCOL, I. I.; DESSOY, E. C.; MOREL, A. F. **Planta Médica**, 2003, v. 69. p. 773.

¹⁰MOURA, N. F.; SIMIONATTO, E.; PORTO, C.; HOENZEL, S. C. S.; DESSOY, E. C. S.; ZANATTA, N.; MOREL, A. F. **Planta Médica**, 2002, v. 68. p. 631-634.

¹¹GONZAGA, W. A.; WEBER, A. D.; GIACOMELLI, S. R.; DALCOL, I. I.; HOENZEL, S. C. S.; MOREL, A. F. **Planta Médica**, 2003, v. 69. p. 371.

As espécies de plantas pertencem à família Anacardiaceae são nativas do Estado do RS e distribuídas em diferentes regiões.^{12,13} Com o propósito de realizar um estudo fitoquímico e, principalmente, considerando a perspectiva de aplicação das espécies vegetais sob o ponto de vista social, econômico e terapêutico, selecionou-se as seguintes plantas do gênero *Schinus*: *Schinus terebinthifolius*, *S. molle*, *S. polygamus* e *S. lentiscifolius*.

Das espécies selecionadas, *S. molle* L., *S. terebinthifolius* Raddi e *S. polygamus* Cabrera são as mais estudadas quanto à composição química e atividades biológicas. A *S. lentiscifolius* foi a que despertou maior interesse para desenvolver este estudo, por ser uma espécie muito utilizada na medicina popular e, muitas vezes, ser confundida com *S. molle*. Além disso, existem poucos estudos que comprovem o seu potencial medicinal e seu conteúdo de metabólitos. A espécie *S. lentiscifolius*, muito comum no Rio Grande do Sul, é pouco citada na literatura.

Considerando a escassez de estudos destas espécies, este trabalho tem por objetivo avaliar a composição química e o potencial biológico. O estudo dos óleos essenciais das espécies selecionadas tem a finalidade não só de verificar suas composições químicas e possíveis atividades, mas também estudar diferentes quimiotipos, além de comparar com espécies estudadas de outras regiões do Brasil e do mundo.

1.1 Objetivos específicos

A fim de atender aos objetivos deste estudo foram selecionadas: folhas, frutos e flores. Pretende-se, portanto:

- extrair os componentes voláteis dos óleos essenciais destas espécies;
- identificar e quantificar por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) os compostos presentes nas frações voláteis de todas as espécies estudadas;
- preparar extratos das espécies selecionadas;
- fracionar os extratos brutos e os obtidos após hidrodestilação dos óleos essenciais;

¹²LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, v. 1. p. 49-59

¹³ KATO, E.T.M.; AKISUE, G. Estudo farmacognóstico de cascas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. ALL. **Revista. Lecta**, 2002, v. 20, p. 69-76.

- isolar os componentes ativos por meio de um estudo bioguiado;
- derivatizar os metabólitos isolados com a finalidade de incrementar a atividade encontrada ou com a finalidade de diminuir a toxicidade;
- identificar estruturalmente os compostos isolados por meio de métodos comparativos e da aplicação de métodos físicos, tais como espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear;
- avaliar o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais, dos extratos e frações e dos metabólitos isolados puros;
- avaliar o potencial antioxidante dos extratos e frações e dos metabólitos isolados puros;
- caracterizar os metabólitos secundários dos extratos das folhas das espécies estudadas através da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

1.2 Justificativa

As espécies utilizadas para este estudo fazem parte do que ainda resta de mata nativa do recentemente criado Bioma Pampa. Com os resultados desta pesquisa pretende-se não apenas estudar os metabólitos destas espécies, mas comprovar o seu uso popular e, a partir dos resultados incentivar junto a autoridades competentes, a preservação das mesmas.

Neste contexto, este trabalho de tese de doutoramento apresenta os resultados obtidos da composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das espécies analisadas dos extratos (orgânico e aquoso), e frações obtidas destes extratos bem como dos metabólitos isolados e dos compostos obtidos por derivatizações.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Caracterização botânica para a Família Anacardiaceae

A família botânica Anacardiaceae é constituída por 80 gêneros e aproximadamente 600 espécies, muitas das quais de importância alimentar, como manga (*Mangifera indica* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), seriguela (*Spondias mombin* L.) e pistache (*Pistacia vera* L.). Essas são caracterizadas por plantas floríferas, que englobam árvores e arbustos, de ocorrência nos países tropicais e temperados.¹²

As plantas apresentam condutos resiníferos, cujo conteúdo lhes confere um aroma peculiar, sendo conhecidas pela denominação comum de “aroeira”.¹⁴ Aproximadamente 25% das plantas dos gêneros dessa família são caracterizadas como tóxicas e causadoras de dermatite de contato.¹⁵ Entretanto, apenas em algumas plantas estão presentes os compostos fenólicos (1) e catecólicos (2), Figura 1, ou a mistura dessas substâncias, denominadas lipídios fenólicos secretados na resina, metabólitos com potenciais propriedades alergênicas, sendo maior a ocorrência em plantas do gênero *Rhus*.^{16,17,18} Estas substâncias podem estar presentes em diferentes partes do material vegetal.

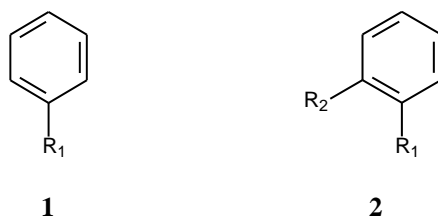


Figura 1. Estrutura de compostos fenólicos: A. R₁=R₂=OH

¹⁴KATO, E.T.M.; AKISUE, G. Estudo farmacognóstico de cascas de *Myracrodruon urundeuva*. **Revista Lecta**, 2002, v. 20, p. 69-76.

¹⁵JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer, 1999. p. 339-340.

¹⁶EVANS, F. J.; SCHMIDT, R. J. Plants and plant products that induce contact dermatitis. **Planta Med.**, 1980, v. 38, n. 289.

¹⁷TYMAN, J. H. P. Non-isoprenoid Long Chain Phenols. **Chem. Soc. Rev.**, 1979, v. 8, p. 499.

¹⁸Alé, SI; Ferreira, F.; González; Epstein, W. Dermatite de contato alérgica causada pela *Lithraea molleoides* e *Lithraea brasiliensis* : identificação e caracterização dos alérgenos responsáveis. **Am. J. contato. Dermat.**, 1997, 8, 144-149.

Embora possuam propriedades tóxicas e irritantes, as substâncias (1) fenol e (2) catecol apresentam várias aplicações e usos populares. Essas são empregadas tradicionalmente como cicatrizantes, estomáquicos e anti-diarréicos pela presença de taninos e óleo-resinas, a exemplo de caju-do-cerrado (*Anacardium humile* A. St.-Hil.), arendiúva (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) e pimenteiro (*Schinus molle* L.). Associada às vantagens já citadas, a madeira é considerada de boa qualidade, da qual várias substâncias são extraídas, sendo úteis para a indústria e a medicina.¹²

Os gêneros mais investigados desta família são *Mangifera*, *Rhus* (*Toxicodendron*), *Anacardium*, *Spondias*, *Lanea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea*. *Mangifera*, *Rhus* e *Anacardium*, os quais se destacam pela quantidade de pesquisas relacionadas ao estudo fitoquímico e pela atividade biológica apresentada pelos seus extratos.¹⁹ As espécies da família Anacardiaceae têm se mostrado promissoras como substância bioativas. Isso levou a investigação, e ao conseqüente isolamento de metabólitos secundários com diferentes estruturas químicas como: os lipídios fenólicos e derivados, incluindo os flavonóides, esteróides, xantonas, compostos terpênicos, como os de esqueleto triterpênico, bem como óleos essenciais de diferentes espécies pertencentes a esta classe. No entanto, do ponto de vista geral, menos de 7% das espécies conhecidas da família tiveram estudos cientificamente comprovados químico-farmacológicos.¹⁹

Estudos com espécies do gênero *Rhus* permitiram evidenciar a ocorrência de flavonóides. Entre os compostos isolados destacam-se os biflavonóides, hinokiflavona (3), amentoflavona (4), agathisflavona (5), robustaflavona (6), rhusflavanona (7), succedaneafavanona (8) e rhusflavona (9) Figura 2.^{20,21,22} As substâncias (3), (5) e (6) demonstraram atuar na replicação do vírus HIV pela inibição transcriptase reversa (HIV-1-RT).²³

¹⁹CORREIA, S. de J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Quim. Nova**, 2006, v. 29, n. 6.

²⁰LIN, Y. M.; CHEN, F. C. Agathisflavone do drues de *Rhus succedanea*. **Phytochemistry**, 1974, v. 13, p. 657-658.

²¹LIN, Y. M.; CHEN, F. C.; LEE, K. H. Hinokiflavone, a Cytotoxic Principle from *Rhus succedanea* and the Cytotoxicity of the Related Biflavonoids. **Planta Med.**, 1989; 55(2): 166-168.

²²LIN, Y. M.; CHEN, F. C. Robustaflavone from the seed. **Phytochemistry**, 1974, v. 13, p. 1617.

²³LIN, Y. M.; ANDERSON, H.; FLAVIN, M. T.; PAI, Y. H. S. In Vitro Anti-HIV Activity of Biflavonoids Isolated from *Rhus succedanea* and *Garcinia multiflora*. **J. Nat. Prod.**, 1997, v. 60, p. 884-888.

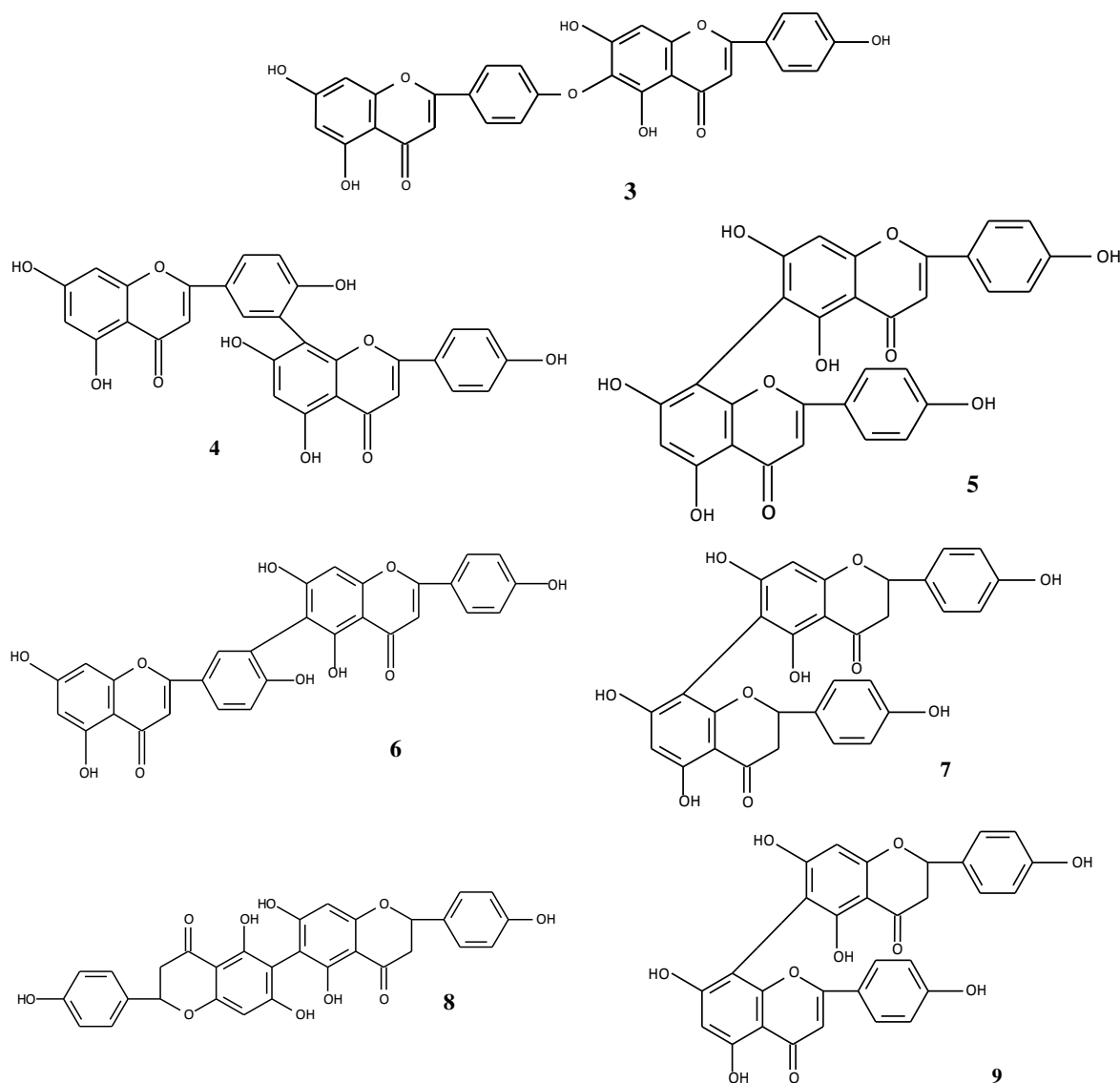


Figura 2. Estruturas representativas dos biflavonóides do gênero *Rhus*.

A hinokiflavona (**3**), quando comparada com os demais flavonóides investigados,¹⁹ mostrou-se a mais ativa na inibição da atividade pró-coagulante de monócitos humanos aderentes, estimulado por endotoxinas e interleucina-1 β .²⁴

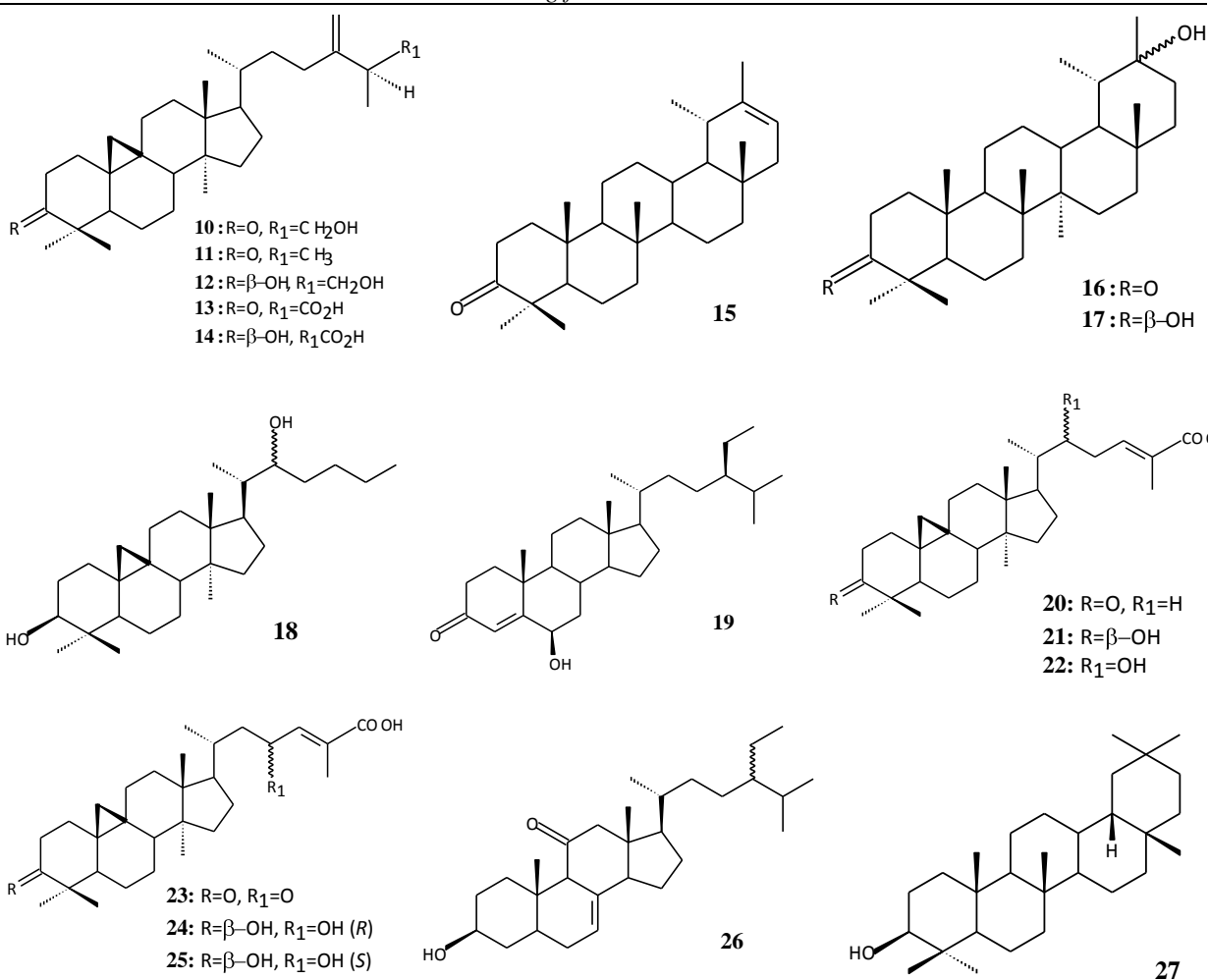
As espécies do gênero *Mangifera*, dentre as várias outras espécies da família Anacardiaceae, são ricas em substâncias terpênicas e esteroidais, principalmente os triterpenos^{25,26,27,28,29,30,31} e flavonóides.^{25,26,32,25} São ilustrados na Figura 3 e na Figura 4, alguns dos representantes isolados de espécies da família Anacardiaceae.

²⁴MESESANE, I. B.; YEBOAH, S. O.; LIEBSCHER, J.; MÜGGE, C.; ABEGAZ, B. M. A bichalcone from the twigs of *Rhus pyroides*. **Phytochemistry**, 2000, v. 53, p. 1005-1008.

²⁵BANDYOPADHYAY, C.; GHOLAP, A.S.; MAMDAPUR, V.R. Caracterização de látex alkenylresorcinol em manga (*Mangifera indica* L.) **J. Agric. Food Chem.**, 1985, v. 33, p. 377-379.

²⁶SHARMA, S. K.; ALI, M. Chemical constituents of stem bark of *Mangifera indica* cultivar Deshi, **J. Indian Chem. Soc.**, 1995, v. 72, p. 339-342.

*Mangifera indica*²⁵



*Pistacia terebinthus*³¹

²⁷ KHAN, M. N. I.; NIZAMI, S. S.; KHAN, M. A. *J. Nat. Prod.*, 1993, v. 56, p. 767.

²⁸ KHAN, M. A.; NIZAMI, S. S.; KHAN, M. N. I.; AZEEM, S. W.; AHAMED, Z. New triterpenes from *Mangifera indica*. *J. Nat. Prod.*, 1994, v. 57, p. 988–991.

²⁹ ANJANEYULU, V.; RADICA, P. *Indian J. Chem. Sect B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.*, 2000, v. 39, p. 883.

³⁰ CAPUTO, R.; MANGONI, L.; MONACO, P.; PALUMBO, G.; AYNEHCHI, Y.; BAGHERI, M. Kaurenic derivados do ácido de *Adenostemma caffru*. *Phytochemistry*, 1978, v. 17, p. 814-815.

³¹ MONACO, P.; CAPUTO, R.; PALUMBO, G.; MANGONI, L. Neutral triterpenes from the galls of *Pistacia terebinthus*. *Phytochemistry*, 1973, v. 12, p. 939-942.

³² PARVEEN, M.; KHAN, N. U. *Curr. Sci.*, 1987, v. 56, p. 1171.

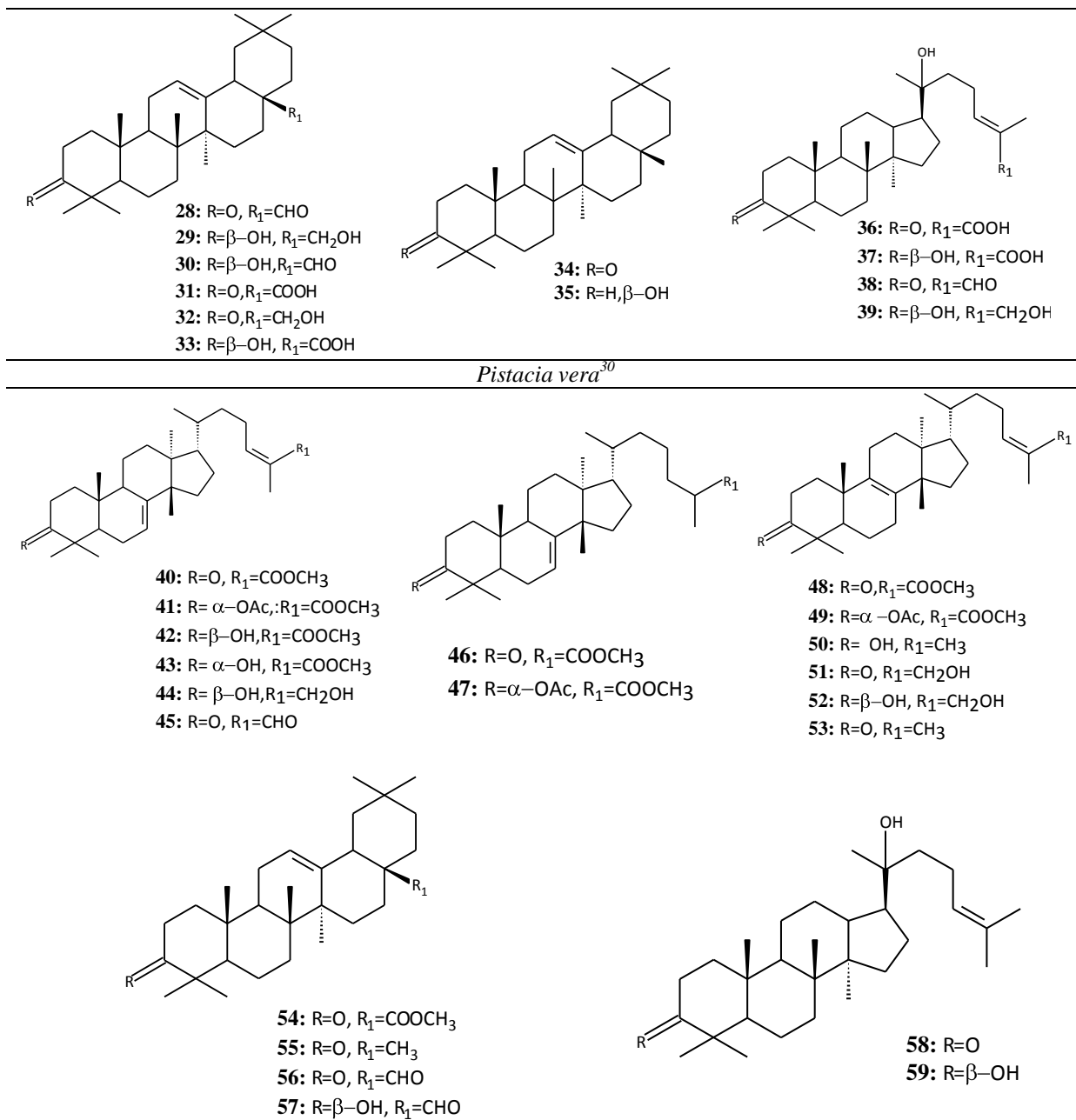


Figura 3. Representantes terpenóides e esteróides de espécies de Anacardiaceae.

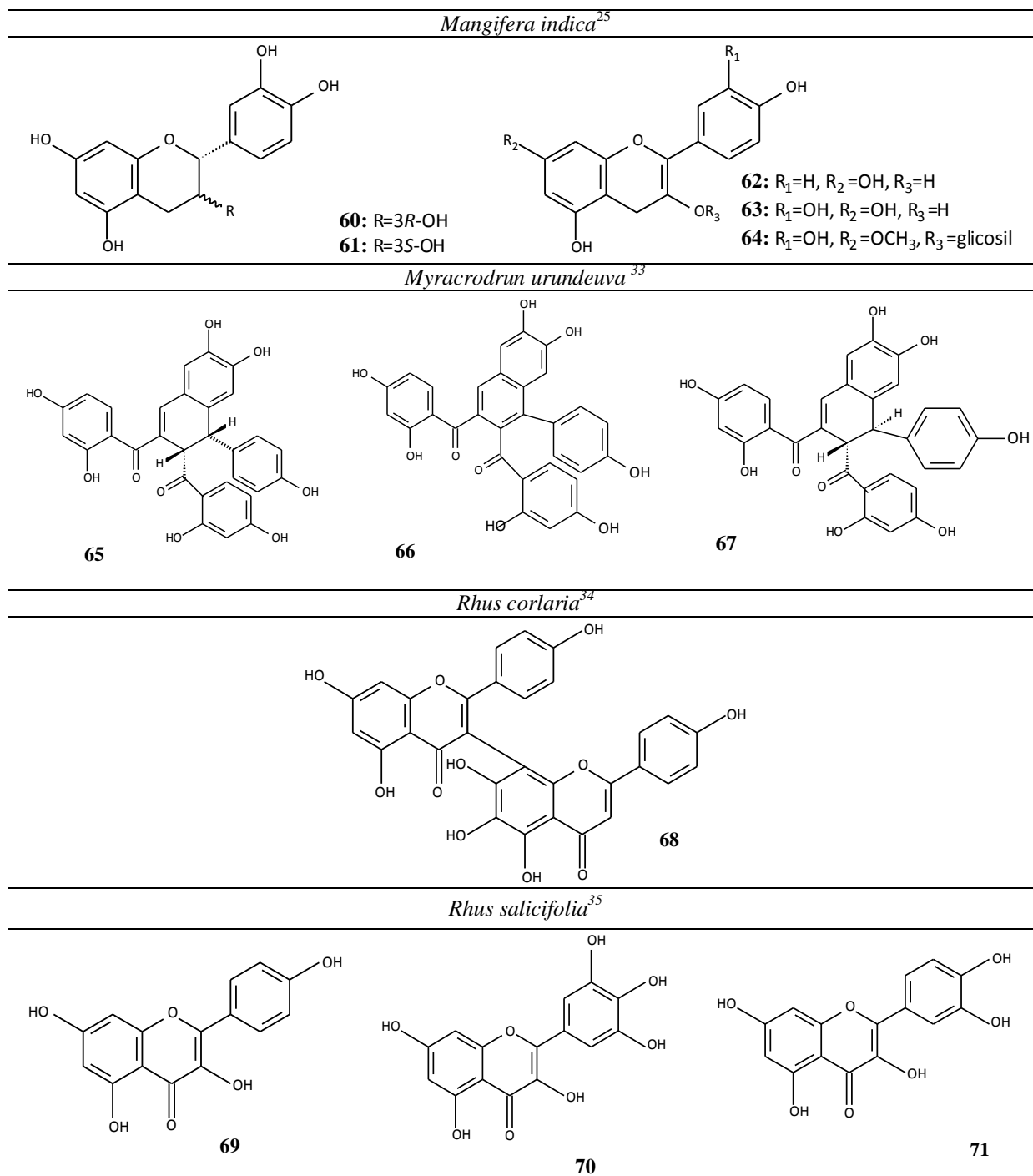


Figura 4. Representantes de flavonóides de espécies pertencentes à Anacardiaceae.

³³VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. **Phytomedicine**, 2003, v. 10, p. 189.

³⁴KUO, S.C.; TENG, C.M.; LEE, L.G.; CHIU, T.H.; WU, T.S.; HUANG, S.C.; WU, J.B.; SCHICH, T.Y.; CHANG, R.J.; CHOU, T.C. 6-Pentadecylsalicylic ácido: um componente antitrombina isolado do caule de *Rhus semialata* var. *roxburghii*. **Planta Med.**, 1991, p. 247.

³⁵YURUKER, A.; ORJAKA, J.; STICHER, O.; RALI, T. Triterpenes from *Rhus taitensis*, **Phytochemistry**, 1998, v. 48, p. 863-866.

2.2 Gênero *Schinus*

São conhecidas aproximadamente 600 espécies típicas de regiões tropicais e subtropicais, sendo encontradas como árvores e arbustos, com cerca de 30 espécies nativas da América Central e do Sul.³⁶

A “aroeira” ou “arrueira” é o nome popular de várias espécies de plantas da família Anacardiaceae. Dentre elas pode-se citar a aroeira salsa (*Schinus molle* L.), a aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), a aroeira do campo (*Schinus lentiscifolius* March) e a aroeira de espinhos (*Schinus polygamus* Cav.).³⁷

A grande dispersão dessas espécies, entre vários fatores, deve-se a facilidade de aclimação a diferentes áreas geográficas, bem como a utilização como planta ornamental, a importância na medicina tradicional, a utilização dos frutos como aromatizantes e flavorizantes de alimentos.³⁸ Pelo poder bactericida, muitos metabólitos produzidos por estas plantas são utilizados em diferentes segmentos da indústria e agroindústria na fabricação de perfumes, aromas, cosméticos, produtos farmacêuticos e em formulações veterinárias.

O metabolismo secundário se caracteriza pela elevada capacidade biossintética, como também, em relação ao número de substâncias produzidas quanto à sua diversidade estrutural em uma mesma espécie. A observação de que plantas diferentes originadas em solos idênticos continham produtos diferente resultou na consideração da composição química como um caráter taxonômico, enquanto que plantas análogas nascidas em solos completamente diferentes formavam produtos análogos.³⁹ Os metabólitos secundários contribuem na reestruturação de sistemas de classificação taxonômica.

Vários terpenóides têm atraído interesse comercial para fins farmacêuticos. Assim, o Paclitaxel[®] (Taxol), um diterpeno, é consumido como o maior agente citostático no mercado. O licopeno tem seu registro como preventivo contra câncer.⁴⁰

³⁶ FAMÍLIA ANACARDIACEAE. Disponível em: <<http://www.arbolesornamentales.com/familias.htm>>. Acesso em: 15 nov. 2009.

³⁷ ERAZO, S.; DELPORTE, C.; NEGRETE, R.; GARCÍA, R.; ZALDÍVAR, M.; ITURRA, G.; CABALLERO, E.; LÓPEZ, J. L.; BACKHOUSE, N. Constituents and biological activities of *Schinus polygamus*. **J. Ethnopharmacol**, 2006, v. 107, p. 395-400.

³⁸ DELLACASSA, Eduardo (Org.). Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana: proyecto CYTED IV.20 Dados eletrônicos. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2010. 334 p.

³⁹ POSER, G. L. V.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003, cap. 4. p. 75-89.

⁴⁰ EISENREICH, W.; ROHDICH, F.; BACHER, A. Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. **Trends in Plant Science**, 2001, v. 6, n. 2. p. 78-84.

As substâncias que resultam do metabolismo secundário podem ser classificadas de acordo com a origem biossintética. Como exemplo, os terpenóides, fenilpropanóides e policetídeos, os quais derivam da rota biossintética do isopreno.⁴¹ Os terpenóides são biossintetizados a partir de dois precursores: isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP), Figura 5.^{40,41} Os terpenos regulares, a maioria, são formados pela adição sequencial tipo “cabeça-cauda” do DMAPP e do IPP e os irregulares, a minoria, pela associação não “cabeça-cauda” de unidades construtoras ou pelo rearranjo de estruturas regulares. A adição sequencial “cabeça-cauda” de unidades de IPP e DMAPP gera inicialmente geranyl difosfato (GPP, C10), farnesil difosfato (FPP, C15) e geranyl geranyl difosfato (GGPP, C20) os quais são precursores lineares da maioria das classes dos terpênicos.^{40,42,43}

⁴¹DEWICK, P. M. **Medicinal natural products** – A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons, 2002.

⁴²BICK, J.A.; LANGE, B.M. Metabolic cross talk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis: unidirectional transport of intermediates across the chloroplast envelope membrane. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 2003, v. 415. p. 146-154.

⁴³WANKE, M.; TUDEK-S.K.; SWIEZEWSKA, E. Isoprenoid biosynthesis *via* 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (DOXP/MEP) pathway. **Acta Biochimica Polonica**, 2001, v. 48, n. 3. p. 663-671.

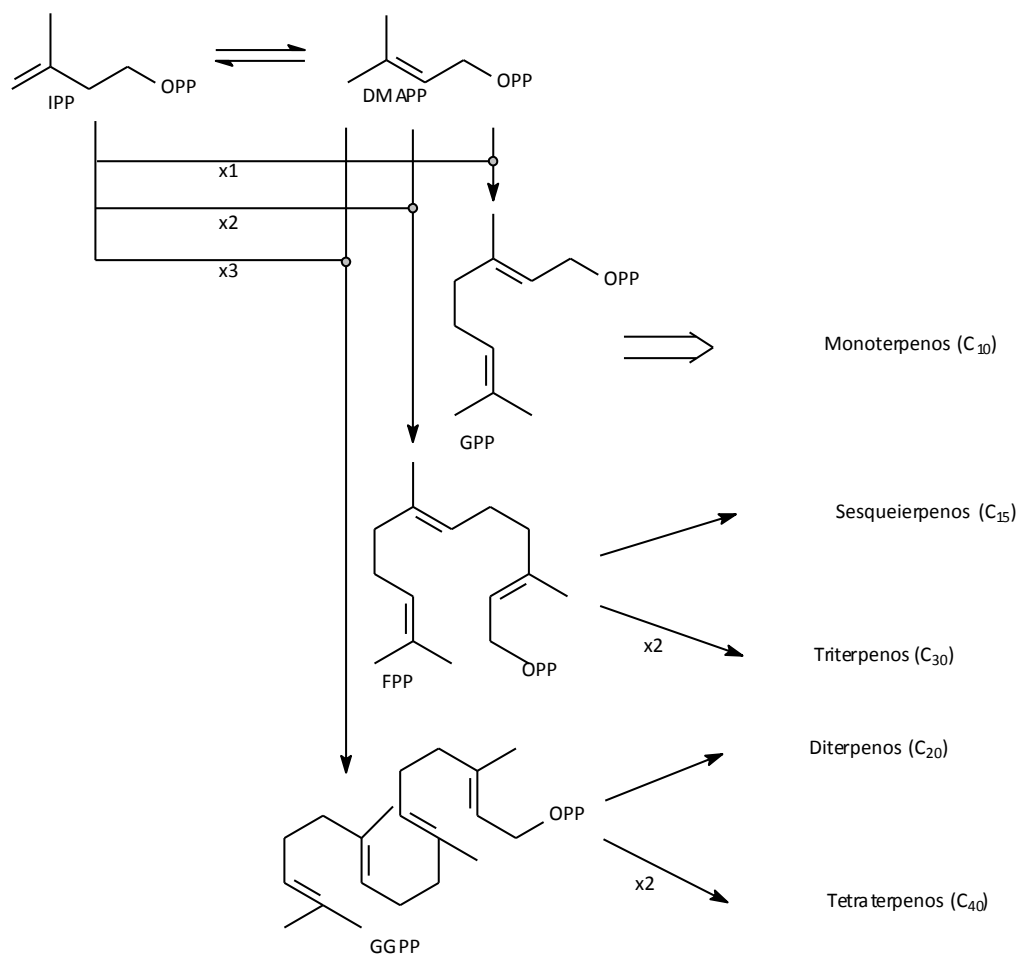


Figura 5. Biossíntese de isoprenóides e o papel das prenil-transferases em plantas superiores. IPP- isopentenil difosfato; DMAPP- dimetilalil difosfato; GPP- geranyl difosfato; FPP- farnesil difosfato e GGPP- geranyl geranyl difosfato.⁴⁴

Os monoterpenos regulares são exclusivamente derivados do pirofosfato de geranila (GPP), o qual é geralmente ciclizado para produção do esqueleto principal de várias subfamílias de monoterpenos; relativamente poucos monoterpenos, como linalol, geraniol e ocimeno, são acíclicos. Os monoterpenos *p*-mentano, característicos nas mentas, são ciclohexanóides. Entretanto, todos os outros grupos maiores, como borano, canfeno, fenchano, careno e tujeno, têm esqueletos carbônicos bicíclicos. Muitos monoterpenos, Figura 6, são produzidos por modificação de um composto inicial derivado do GPP.

⁴⁴MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R.B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. **Trends in Plant Science**, 2002, v.8 p.1360-1385.

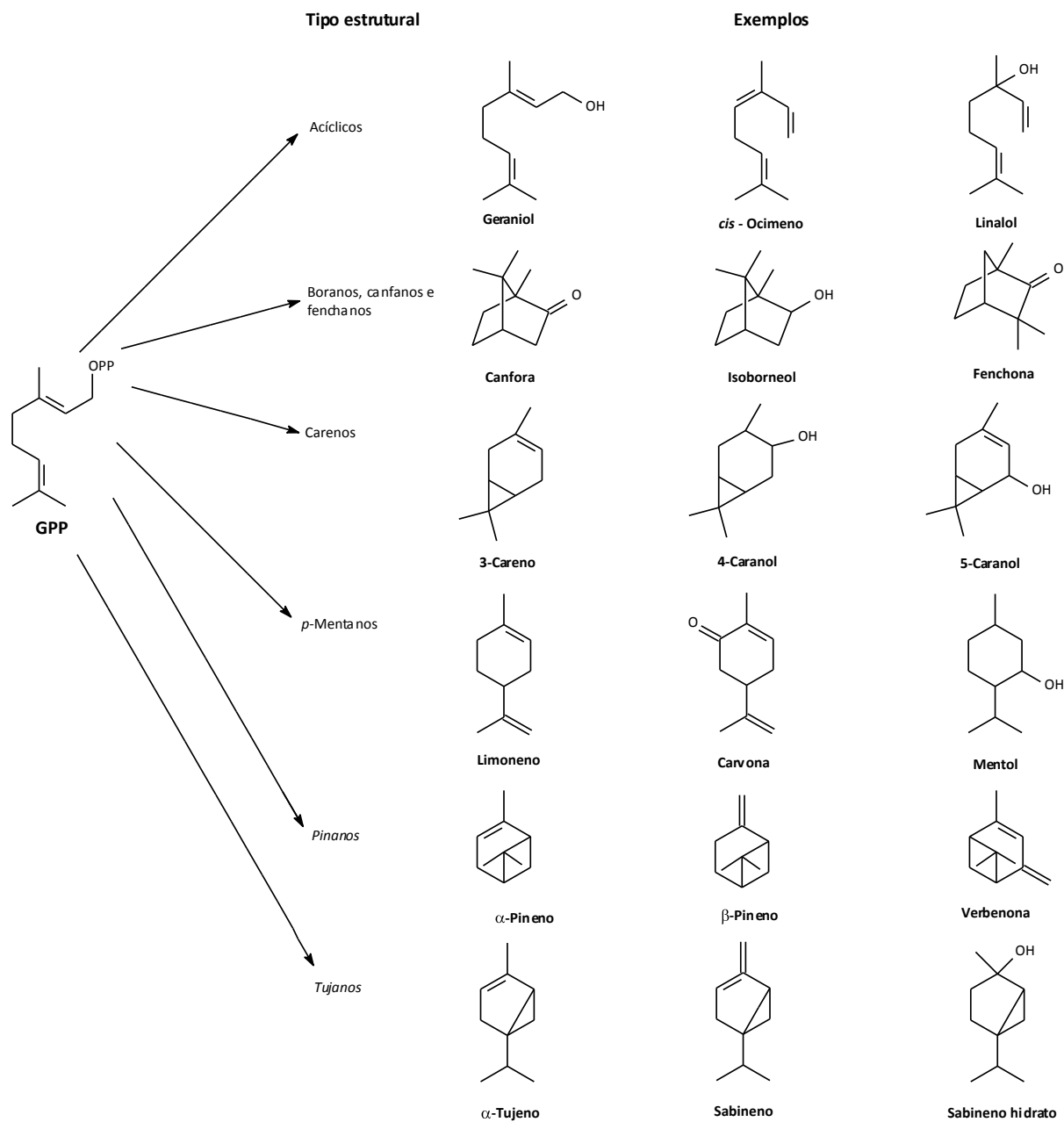


Figura 6. Estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos: GPP, pirofosfato de geranila.⁴⁴

Os sesquiterpenos são formalmente derivados do pirofosfato de farnesila (FPP), formados pela adição enzimaticamente catalisada de uma unidade IPP ao GPP. O FPP pode originar os compostos com núcleos de seis átomos de carbono como bisabolano, carotano, germacrano ou humulano, representados no esquema da Figura 7. Esses compostos após adição de duplas ligações, migração de hidrogênio, ou rearranjos resultam em uma grande variedade de estruturas, dentre os quais o δ -cadineno, δ -selineno, germancreno D, β -cariofileno e β -selineno, entre outros.

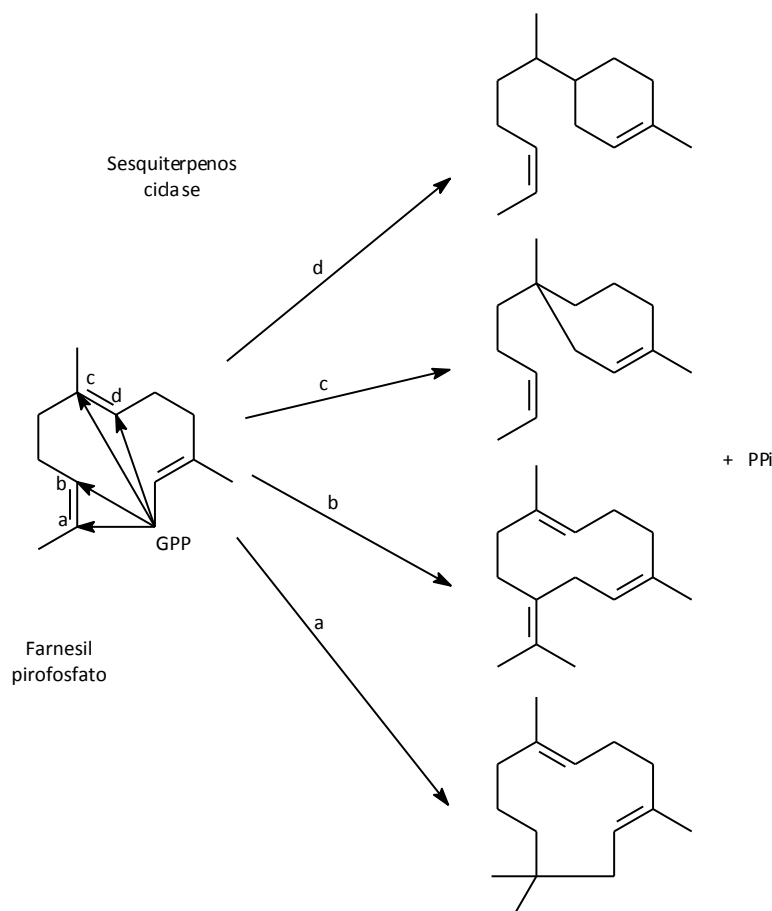


Figura 7. Estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos: GPP, pirofosfato de geranila.⁴⁴

A composição dos óleos essenciais de espécies de *Schinus terebinthifolius*, *S. molle*, da família Anacardiaceae já foi previamente estudada.^{45,46,47}

Existe uma predominância de sesquiterpenos em relação aos monoterpenos. Dentre os monoterpenos, destaca-se o esqueleto pinano, como é o caso dos compostos α -pineno e β -pineno. Entretanto, compostos cíclicos também são encontrados, como o limoneno. Compostos sesquiterpênicos com esqueleto cadinano, como γ -cadineno, cariofilano, como o β -cariofileno, humulano, como o α -cariofileno e germacrano, como o germacreno A são bastante comuns em óleos essenciais de espécies do gênero *Schinus*.^{46,48,49,50}

⁴⁵VERNIN, G.; PARKANYI, C. GC/MS analyses of the volatile constituents of *Schinus terebinthifolius* from Reunion Island. Abstract of papers. **225th ACS National Meeting**. Washington D.C., USA: Ed. American Chemical Society, 2003.

⁴⁶CHOWDHURY, A. R.; TRIPANI, S. Essential oil from leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ind. Perfumer**, 2001, v. 45. p. 257-259.

⁴⁷IBRAHIM, M.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi oils. **Bull Fac Pharm.**, 2004, v. 42. p. 289-296.

⁴⁸SINGH, A. K.; SILVA, J.; GUPTA, K. C; BROPHY, J. J. Singh, A.K.; Singh, J.; Gupta, K.C.; Brophy, J.J. Essential oil of leaves and inflorescence of *Schinus terebinthifolius*: an exotic plant of India. **J. Essent. Oil Res.**, 1998, v. 10, 697-699.

⁴⁹JAMAL, Y.; AGUSTA, A. Chemical composition of essential oil *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves. **Majalah Farmasi Indonesia.**, 2001, v. 12, n. 3, p. 135 - 139.

Os óleos essenciais provenientes de espécies do gênero *Schinus* apresentam considerável potencial antimicrobiano, ampliando sua utilização em diversos segmentos como, produtos de limpeza, cosméticos, farmacêuticos, na medicina alternativa, em terapias naturais e como conservantes naturais em alimentos.⁵¹ Vários dos seus componentes voláteis individuais provenientes das mais diferentes espécies apresentam atividade antibacteriana contra patógenos de origem alimentar *in vitro* e, em menor grau, em alimentos como flavorizantes.¹

Na União Européia, grande parte dos óleos essenciais é de uso em alimentos (como aromatizantes), perfumes e loções pós-barba (fragrâncias), e farmacêutica (para as mais variadas funções).^{52, 53} Essas características são suficientes e justificam o estudo de espécies pertencentes à família Anacardiaceae, dada a diversidade de metabólitos já relatada em publicações anteriores.

Dentre as mais de 600 espécies de Anacardiaceae conhecidas, as que se destacam pela sua importância para os objetivos deste trabalho são: *Schinus terebinthifolius*; *Schinus molle*; *Schinus polygamus*; *Schinus lentiscifolius*.

2.2.1 Espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi

2.2.1.1 Considerações botânicas

A espécie *Schinus terebinthifolius* pertence à família Anacardiaceae, a qual é representada por 70 gêneros e cerca de 600 espécies de árvores e arbustos, conhecidos por seus frutos. Foi descrita em 1820 pelo italiano Giuseppe Raddi (1770-1829). Floresce principalmente durante os meses de setembro-janeiro e frutifica predominantemente no

⁵⁰SANTOS, A.C.; ROSSATO, M. F.; AGOSTINI, L.A.; SANTOS, P.L.D.; MOLON, R.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Chemical Composition of the Essential Oils from Leaves and Fruits of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, 2009, v. 12. p. 16-25.

⁵¹MAFFEI, M.; CHIALVA, F. Essential oil from *Schinus molle* L berries and leaves. **J. Flav.Fragr.**, 1990, v. 5. p. 49-52.

⁵²VAN DE BRAAK, S.A.A.J.; LEIJTEN, G.C.J. **J. Essential oils and oleoresins: a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union.** Rotterdam: CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, 1999. 116 p.

⁵³BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. **Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses.** New York: Wiley-VCH, 2001. 293 p.

período de janeiro-julho.^{12,54}. É popularmente conhecida por “aroeira-vermelha”, “aroeira-pimenteira”, e também por “aroeira-mansa” por não causar irritação à pele. Nos Estados Unidos da América é denominada de pimenta do Brasil, Natal-berry e pimenta-rosa; em Cuba de Copal; em Porto Rico de Pimienta de Brasil; na Argentina de Chichita; e na França de *poivre rose*, um tipo de pimenta doce. Também é conhecida como: aroeira-brasileira, aroeira-branca, aroeira-negra, aroeira-da-praia, aroeira-do-brejo, aroeira-do-iguapé, aroeira-do-campo, aroeira-do-paraná, aroeira-do-sertão, aroeira-mansa, aroeira-pimenteira, aroeira-precoce, aguará-yba, aguaráiba, bálsamo, cabuí, cambuí, corneíba, fruto-do-sabiá e pimenta-rosa.^{54,55}

A aroeira^{56,57}, Figura 8, é descrita como árvore de até 15 metros de altura. Fuste de secção irregular, tortuoso, inclinado, base normal, casca externa de cor marrom, descamação em escamas grossas mais ou menos retangulares, casca interna róseo-amarelada, textura fibrosa, estrutura laminada, odor picante, copa baixa densifoliada, umbeliforme e irregular, folhas compostas imparipinadas, espiraladas, com abundante frutificação, frutos globosos, pequenos vermelhos, germinação fácil, regeneração abundante.



Figura 8. Aspectos morfológicos de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*) A: exemplar cultivado em vaso para ornamentação de interiores; B: detalhe das folhas e frutos; C: detalhe da inflorescência e das folhas.⁵⁸

A espécie *Schinus terebinthifolius* adapta-se bem na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo, com distribuição na América do Sul, América Central, Antilhas,

⁵⁴LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2002. p. 49-59.

⁵⁵DI STASI, L. C.; LIMA, C. A. H. et al. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. rev. e ampl. São Paulo: Ed.UNESP, 2002.

⁵⁶VITORINO, M. D. Aspectos biológicos e de especificidade de *Tectococcus ovatus* HEMPEL, 1900 (Homoptera, Eriococcidae) para controle biológico do araçazeiro, *Psidium cattleianum* SABINE, 1821 (Myrtaceae). Curitiba, UFPR, 1995 (Dissertação de Mestrado).

⁵⁷VITORINO, M. D. Aspectos biológicos e testes de especificidade e de reprodução com *Heteroperreyia hubrichi* Malaise, 1955 (Hymenoptera: Pergidae) para o controle biológico da aroeira *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) no Estado da Flórida – EUA. Curitiba, UFPR, 2001 (Tese de Doutorado).

⁵⁸Disponível em: <<http://www.arbolesornamentales.com/Schinusterebinthifolius.htm>>. Acesso em: 28 set. 2010

Bermudas, Flórida, Califórnia, Sul do Arizona, Havaí, Sul da Europa, Norte da África, África do Sul, Sul da Ásia e Austrália. É considerada uma planta indesejável por ser extremamente invasiva nos Estados Unidos da América, Havaí, Bermudas, Bahamas e mais recentemente na Austrália.⁵⁴ A Flórida é um dos estados americanos mais afetados pela aroeira por apresentar densas touceiras em pastagens, terras agrícolas abandonadas às margens de canais e plantios de pinus, bem como sua rápida dispersão ameaça de destruição parte do ecossistema natural do Parque Nacional Everglades.⁵⁵

Seu fruto destaca-se dentre as muitas especiarias existentes, sendo utilizado essencialmente para acrescentar sabor e refinamento aos pratos da culinária universal. O sabor suave e levemente apimentado do fruto da aroeira-vermelha permite o seu emprego em diversas preparações, podendo ser utilizados na forma de grãos inteiros ou moídos. No entanto, a aroeira é especialmente apropriada para a confecção de molhos que acompanham as carnes brancas de aves e peixes, por não abafar o seu gosto sutil, e ainda é utilizada para conferir sabores exóticos a bebidas e doces, como coquetéis e chocolate. Na cozinha européia, é conhecida com o nome de *poivre rose* (pimenta-rosa). O fruto da aroeira-vermelha acrescentou um sabor tropical à culinária.⁵⁹

A árvore é muito ornamental durante o longo período em que os frutos persistem na planta. Pelo pequeno porte é indicada para arborização de ruas estreitas e sob fios elétricos, podendo causar alergia a pessoas sensíveis que entram em contato com as folhas. As flores são melíferas. A árvore também é útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas ou preservação permanente. A madeira é utilizada para moirões, esteios, lenha e carvão.⁵⁴

2.2.1.2 Usos populares: importância

Na medicina popular são descritas diversas aplicações de uso das partes do vegetal, das folhas, dos frutos e das cascas do caule de *S. terebinthifolius*, como adstringente, anti-diarréica, anti-inflamatória, depurativa, diurética e febrífuga. São preparadas usualmente na

⁵⁹USP. Biblioteca virtual do estudante brasileiro: aroeira. 2002. Disponível em: <<http://www.bibvirt.futuro.usp.br/acervo/paradidat/frutas/aroeira/aroeira.html>>. Acesso em: 24 jan. 2010.

forma de decocto para fins expectorante, antisséptico, antidiarréico e cicatrizante. A casca da aroeira tem ação contra febre, hemoptises e afecções uterinas em geral.^{54,60,61,62.}

Da casca se extrai um óleo empregado contra tumores e doenças da córnea,⁶³ enquanto que compressas intravaginais com o extrato aquoso desta planta são usadas para tratar cervicite e cervicovaginites.⁶⁴ Extratos aquosos das cascas de uma variedade selecionada resultaram em formulação farmacêutica.⁶⁵

A resina é indicada para o tratamento de reumatismo e ínguas, além de servir como cicatrizante, analgésico, purgativo e combater doenças respiratórias. O preparado dos frutos de *S. terebinthifolius* é utilizado para azia e gastrite. O fruto apresentou ação adstringente, antioxidante e antimicrobiana.⁶⁶ O suco do macerado de raízes é utilizado para o tratamento de tumores ganglionares.⁶⁷

A planta inteira, externamente, é utilizada como antisséptico no caso de fraturas e feridas expostas. Na homeopatia, a planta é utilizada para o tratamento da debilidade, intumescimento linfático, inércia sexual e moléstias de pele.⁵⁵

Os óleos essenciais, por conterem alta concentração de monoterpenos voláteis, são usados no tratamento de distúrbios respiratórios. Apesar dos efeitos benéficos relacionados à aroeira, principalmente quando sob uso prolongado, ela apresenta efeitos tóxicos, o que exige cautela em sua utilização como fitoterápico.^{55,67}

Além do uso na medicina popular nos últimos anos, devido á grande demanda de seus frutos (pimenta-rosa), essa espécie se projetou no mercado nacional e internacional, como condimento alimentar. A exploração de seus frutos se restringe à coleta manual em populações naturais, presentes principalmente em áreas de restinga do litoral brasileiro.⁶⁷

⁶⁰CARVALHO, M.H.B.; BITTAR, R.E.; MAGANHA, P.P.A.S.; PEREIRA, S.V.; ZUGAIB, M. Associação da vaginose bacteriana com o parto prematuro espontâneo. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, 2001, v. 23. p. 529-533.

⁶¹CARVALHO, M. C. de. Avaliação da atividade mutagênica nos extratos da casca do caule da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Environ. Mol. Mutagênico**, 2003, v. 42. p. 185-191.

⁶²LIMA, M.R.F. et al. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira Farmacognosia**, 2006b, v. 16. p. 300-306. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16n3/a04v16n3.pdf>>. Acesso em: 06 fev. 2011. DOI: 10.1590/S0102-695X2006000300004.

⁶³DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PARDO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciênc. Agrotec.**, 2005, v. 29, n.3, p. 617-622.

⁶⁴MARTINEZ, M.J.; BETANCOURT, J.; ALONSO-GONZALEZ, N.; JAUREGUI, A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol**, 1996, v. 52. p. 171-174.

⁶⁵WANICK, M. C.; BANDEIRA, J.A. Revista do Instituto de antibióticos, anti-inflamatória e cicatrizante da *B. sartorum* Mart em pacientes portadores de cervicite e cervico vaginites. Recife, 1974, v. 12 (1/2). p. 105-107.

⁶⁶SANTOS, A.C. et al. Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Brasileira de Biociências**, 2007, v. 5, n. 2. p. 1011-1013.

⁶⁷BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A. J.; CLEMENTE, A. D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, 2007, v. 30, n. 8. p. 1959-1965.

2.2.1.3 Composição química e propriedades biológicas

Estudos fitoquímicos e biológicos^{68,69} realizados com a espécie *S. terebinthifolius* evidenciaram a presença de metabólitos secundários como fenóis, flavonóides, esteróides, triterpenos, antraquinonas, saponinas, ácidos graxos e substâncias terpênicas.^{50,46,70,71} Várias investigações vêm sendo realizadas em diferentes locais com o propósito de caracterizar os componentes químicos presentes nos respectivos óleos.

Dumont determinou a composição química do óleo volátil de *S. terebinthifolius* por hidrodestilação, tendo observado variações entre 1 e 5% quanto ao rendimento para folhas e frutos.⁷²

Já Gundidza *et al.*, ao estudar o óleo essencial das folhas cultivadas no Zimbábwe, obtiveram um rendimento de 0,65%, sendo constituído majoritariamente pelo sabineno, α -pineno, α -felandreno, β -pineno, terpineno-4-ol, trans-ocimeno e mirceno, contrariando os estudos realizados com a planta cultivada no Egito, os quais evidenciaram como constituintes principais o cis- β -terpineol (17,87%), (*E*)-cariofileno (17,56%), β -cedrene (9,76%), e citronelal (7,03%).⁷³

Murray *et al.*, ao avaliar a composição química do óleo essencial de aroeira, identificaram como principais compostos o limoneno, α -felandreno, sabineno e canfeno. Neste mesmo trabalho verificaram alta biotoxicidade dos seus constituintes. Os mesmos autores, ao analisar o óleo essencial das frutas da espécie, identificaram na fração sesquiterpênic a presença majoritária de β -eudesmol e elemol, os quais evidenciaram potencial terapêutico contra amnésia induzida por doenças como o Alzheimer.⁷⁴

⁶⁸MELO JÚNIOR, E. J.; RAPOSO, M. J.; LISBOA, N. J. A.; DINIZ, M. F. A.; MARCELINO, C. A. C.; SANTANA, A.E.G. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**, 2002, v. 9, p. 1109 - 1116.

⁶⁹MASSRY, E.L.; KHALED, F.; GHORAB, H. el; HAMDY, A.; SHIBAMOTO, T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **J. Agric. Food Chem.**, 2009, v. 57, p. 5265–5270. DOI:10.1021/jf900638c.

⁷⁰SINGH, A.K; SILVA, J.; GUPTA, K.C; BROPHY, J.J. **J. Essent. Oil Res.**, 1998, v. 10, n. 697.

⁷¹JAMAL, Y.; AGUSTA, A. **Majalah Indonésia Farmasi.**, 2001, v.12, n. 135.

⁷²DUMONT, A. C. Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi). 2006. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa.

⁷³GUNDIDZA, M.; GWERU, N.; MAGWA, M. L.; MMBENGWA, V.; SAMIE, A. The chemical composition and biological activities of essential oil from the fresh leaves of *Schinus terebinthifolius* from Zimbabwe. **African Journal of Biotechnology**, 2009, v. 8, n. 24, p. 7164-7169.

⁷⁴MURRAY, A. P.; FRONTERA, M.A.; TOMAS, M.A.; MULET, M.C. Gas chromatography-mass spectrometry study of the essential oils of *Schinus longifolia* (Lindl.) Speg., *Schinus fasciculata* (Griseb.) I. M. Johnston and *Schinus areira*. **Zeitschrift für Naturforschung**, 2005, v. 60, p. 25-29.

Estudos realizados com diferentes espécies de plantas da família Anacardiaceae mostraram que a composição química dos óleos essenciais foi bastante sensível a variações fenológicas da planta, como: fatores geográficos (localização), ecológicos (habitat), variabilidade genética (expressa através dos quimiotipos), entre outros, devido às diferenças geográficas e dos fatores ambientais e de cultivo.^{75,76,77}

De acordo com os dados apresentados por Murakami,⁷⁸ as diferenças encontradas no óleo de *Chromolaena laevigata* de duas populações avaliadas, uma proveniente do Cerrado e outra da Mata Atlântica, não puderam ser diretamente relacionadas com as variáveis ambientais medidas. Isso sugere que outros fatores não só ambientais podem estar envolvidos, como o fator genético não avaliado de cada população.

Jorge e Markmann investigaram os constituintes químicos presentes nas folhas e nas cascas de *S. terebinthifolius*, ambas apresentaram grande quantidade de taninos, contudo as saponinas foram restritas às cascas. Neste mesmo trabalho foi verificado que a composição fenólica das cascas é diferente da composição fenólica das folhas.⁷⁹

Em 1974 Marsaioli investigou o extrato benzênico da casca e das folhas de *S. terebinthifolius*, tendo isolado os compostos, ácido masticadienônico, schinol, baueren-28-carboxi-3-ona, β -sitosterol, α -amirina, bauerenona, simiarinol, n-triacotano e outros compostos de cadeia longa. Ainda foi sugerida a presença de bauerenol e de α -amirinona.⁸⁰

Johann *et al.*,⁸¹ por bioprospecção, utilizando a metodologia descrita por Wagner,⁸² evidenciaram no extrato da folha de *S. terebinthifolius* a presença de saponinas, flavonóides, triterpenos, esteróides e taninos.

⁷⁵FLAMINI, G.; CIONI, P. L. Seasonal variation on the chemical constituents of the essential oil of *Santolina etrusca* from Italy. **Chemistry and Biodiversity**, 2007, v. 4. p. 1008-1019.

⁷⁶SOUZA, A. Variabilidade de óleos voláteis de espécie de Myrtaceae nativa da Mata Atlântica. 2009. p.351. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo, SP,2009.

⁷⁷CASTRO, A.H.F.; ALVARENGA, A. A.; SOARES, A.M.; YOUNG, M.C.; PURCINO, A. A. C. Avaliação sazonal da atividade fenilalanina amônia-liase e dos teores de fenóis e taninos totais em *Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex. A.Juss. Uma espécie medicinal do cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2005, v.7, n.3. p. 45-55.

⁷⁸MURAKAMI, Cynthia. Estudo da composição química e atividades biológicas de óleos voláteis de *Chromolaena laevigata* (Lam.) King & Rob em diferentes fases fenológicas. Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo, 2009.

⁷⁹JORGE, L.I.; MARKMANN, B.E.O. Exame químico e microscópico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira). **Rev. Ciênc. Farm.** São Paulo, 1996, v.17. p. 139-145.

⁸⁰MARSAIOLI, A.J. Estudo fitoquímico do *Schinus terebinthifolius* Raddi. Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal de Campinas. Dissertação de Mestrado, 1974.

⁸¹JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M. G.; DONNIC, C. L.; RESENDE, M.A. Antifungal activity of extracts of some plants used in the Brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2007, v. 38. p. 632-637. ISSN 1517-8382

⁸²WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis**. A Thin Layer Chromatography Atlas. Ed.2. München: Springer, 1984.

Loyd *et al.*⁸³ relataram a presença de sesquiterpenos e triterpenos. O triterpeno tetracíclico schinol foi isolado pela primeira vez por Kaistha e Kier.⁸⁴

Estudos relacionados à pesquisa de substâncias ativas em *S. terebinthifolius* têm levado ao isolamento e identificação de compostos fenólicos como a flavona, apigenina, o ácido elágico, a flavanona, naringina, a miricetrina, a miricetina, a quercitrina, a isoquercitrina, a rutina o galato de etila, e o galato de metila.^{85,86,87}

Queires *et al.*, ao realizarem um estudo quantitativo de substâncias fenólicas nos diferentes órgãos da planta de *S. terebinthifolius* constataram a presença de maior concentração de compostos nas folhas, confirmando a distribuição irregular dos metabólitos nas diferentes partes do vegetal, bem como a influência da atividade biológica destes compostos.⁸⁶

Em 2010, Richter *et al.* isolaram três novos hidrocarbonetos sesquiterpênicos com um esqueleto de carbono exibindo compostos, Figura 9, spiro (ciclopropano) 9-spiro(ciclopropano)-4,4,8-trimetil-2-metilenbicyclo [4.3.0] non-1(6)-ene (terebanene) (**85**), 9-spiro(ciclopropano)-2,4,4,8-tetrametilbicyclo [4.3.0] nona-1,5-diene (teredenene) (**86**), e (6R*,8R*)-9-spiro(ciclopropano)-2,4,4,8-tetrametilbicyclo [4.3.0] non-1-ene (terebinthene) (**87**), além dos já conhecidos compostos terpênicos do óleo dos frutos de *S. terebinthifolius*. O óleo foi caracterizado por 85% de monoterpenos hidrocarbonetos tendo apresentado elevada quantidade de α -pineno (**72**), α -felandreno (**73**), β -felandreno (**74**), e limoneno (**75**) (16,9%,21,1%, 10,8%, 23,7%) respectivamente, e foi constituído por pequenas quantidades de hidrocarbonetos sesquiterpênicos como (-)- β -elemeno (**76**), (-)- α -gurjuneno (**77**), (-)-(E) - β -cariofileno (**78**), e o racêmico (\pm) germacreno-D (**79**) juntamente com quantidades traço de germacreno B (**80**), α -humuleno (**81**), α -bergamoteno (**82**), *allo*-aromadendreno (**83**), e δ -cadineno (**84**), Figura 9.⁸⁸

⁸³LOYD, H. A.; TAYSIR, M. J.; EVANS, L.; MORTON, J. F. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, 1977, v. 16. p. 1301-1302.

⁸⁴KAISTHA, F.K.; KIER, L.E. Structural Studies on the triterpenes of *Schinus terebinthifolius*. **J Pharm Sci.**, 1962, v. 51. p. 1136.

⁸⁵DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PARDO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciênc.Agrotec.**, 2005, v. 29, n. 3, p. 617-622.

⁸⁶QUEIRES, L.C.; FAUVEL-LAFETVE, F.; TERRY, S.; TAILLE, A.; KOUYOUMDJIAN, J. C.; CHOPIN, D.K.; VACHEROT, F.; RODRIGUES, L.E.; CREPIN, M. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, 2006, v. 26, n. 1A. p. 379-387.

⁸⁷CERUKS, M. et al. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, 2007, v. 30, n. 3. p. 507-599.

⁸⁸RICHTER, R.; REUß, S. H. von; WIEFRIED, A. K. Spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Phytochemistry**, 2010, v. 71. p. 1371-1374.

No trabalho conduzido por Johann *et al.*,⁸⁹ com diferentes extratos das folhas de *S. terebinthifolius*, foram isolados o composto schinol (**88**), um composto bifênica, ou seja, 4'-etil-4-metil-2, 2', 6,6'-tetra [1,1'-bifenil] -4,4' - dicarboxilato (**89**), quercetina (**90**), e kaempferol (**91**), Figura 10. A atividade antifúngica dos compostos isolados foi avaliada frente a diferentes cepas de *P. brasiliensis*, sendo que os compostos (**88**) e (**89**) apresentaram resultados consideráveis contra vários isolados clínicos de *P. brasiliensis*. Schinol apresentou efeito sinérgico quando combinado com itraconazol. Os compostos isolados de *S. terebinthifolius* não foram capazes de inibir a síntese da parede celular ou montagem utilizando o ensaio de sorbitol.

Ceruks *et al.* avaliaram o extrato acetato de etila obtido do fracionamento do extrato etanólico das folhas de *S. terebinthifolius*, as quais exibiram potencial atividade antiradicalar.⁸⁷ Dos extratos foram isolados os compostos galato de etila, mircetrina, quercitrina, galato de metila e miricetina.

⁸⁹JOHANN et al. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 2010, às 9:30. DOI 10.1186/1476-0711-9-30.

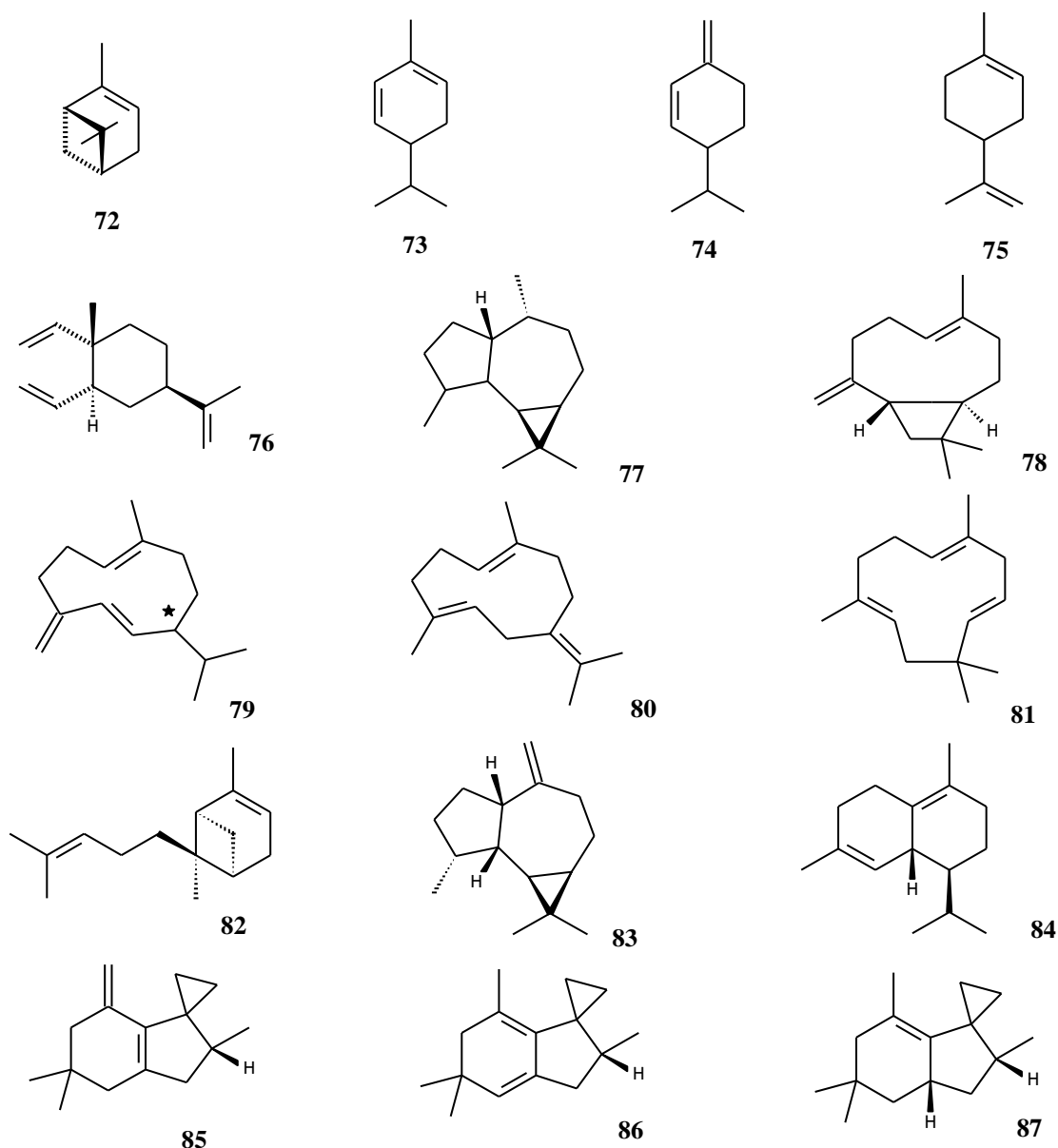


Figura 9. Representantes monoterpênicos e sesquiterpênicos isolado do óleo dos frutos de *S.terebinthifolius*.

Os óleos essenciais têm sido largamente empregados por suas propriedades antioxidantes,⁹⁰ antifúngicas,⁹¹ antibacterianas e inseticidas^{92,93} no nosso cotidiano. A triagem preliminar de extratos, óleos essenciais e de substâncias isoladas têm sido feitas para verificar

⁹⁰WEI, A.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. **J. Agric. Food Chem.**, 2007, v. 55, p. 1737-1742.

⁹¹SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R.R.; ALVIANO, C.S.; COSTA, S.S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **J. Ethnopharmacol.**, 2005, v. 96, p. 563-568.

⁹²HIGHT, S.D.; HORIUCHI, I.; VITORINO, M.D.; WINKLER, C.; PEDROSA-MACEDO, J.H. Biology, host specificity tests, and risk assessment of the sawfly *Heteroperreyia hubrichi*, a potential biological control agent of *Schinus terebinthifolius* in Hawaii. **BioControl.**, 2003, v. 48, p. 461-476.

⁹³MANRIQUE, V.; CUDA, J.P.; OVERHOLT, W.A.; EWE, S.M.L. Synergistic effect of insect herbivory and plant parasitism on the performance of the invasive tree *Schinus terebinthifolius*. **Entomol. Exp. Appl.**, 2009, v. 132, p. 118-125.

sua eficácia frente aos microorganismos. A pesquisa por espécies que apresentam propriedades biológicas vem sendo investigado mais atentamente nos últimos anos. O grande interesse em pesquisas envolvendo espécies como *S. terebinthifolius* tem se mostrado promissor pela elevada atividade antioxidante⁹⁴ apresentada pelos seus extratos.

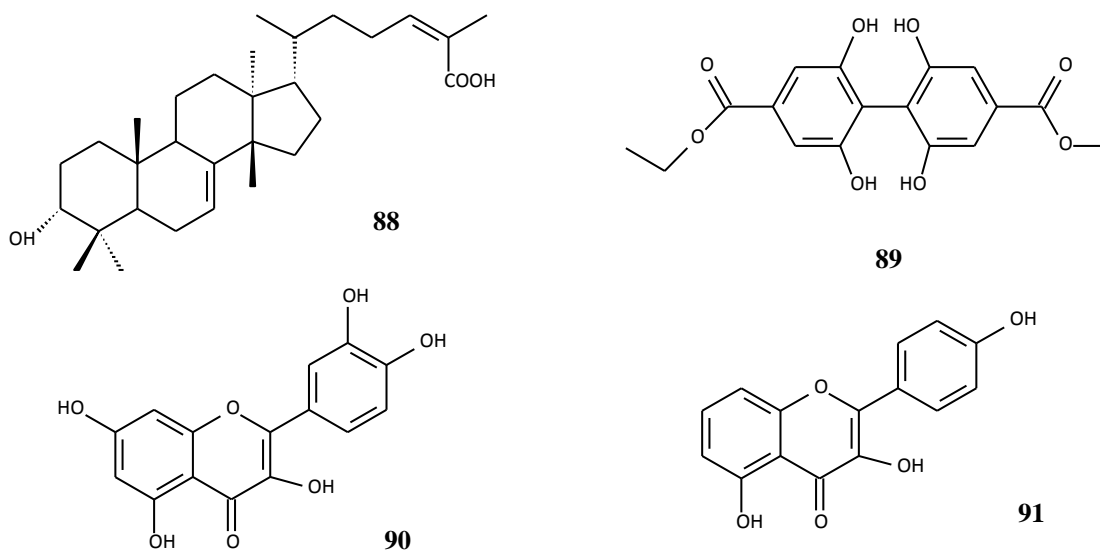


Figura 10. Compostos isolados de *S. terebinthifolius*.

Vários estudos envolvendo atividade biológica com o óleo essencial, extratos e compostos isolados de *S. terebinthifolius* foram realizados com a finalidade de verificar a

⁹⁴LIMA, M. R. F. et al. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira Farmacognosia**, 2006b, v. 16. p. 300-306. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16n3/a04v16n3.pdf>>. Acesso em: 06 mar. 2011. DOI: 10.1590/S0102-695X2006000300004.

ação antimicrobiana,^{62,92,95,96,97,98} antifúngica, antioxidante,^{97,99,100} cicatrizante,^{86,97,101} antitumoral,¹⁰² e anti-inflamatória.¹⁰³

Fenner *et al.* realizaram um levantamento bibliográfico etnobotânico das 409 espécies de plantas investigadas para infecções fúngicas na medicina popular, e dentre as selecionadas destacou-se a espécie *S. terebinthifolius*.¹⁰⁴

No estudo conduzido por Gurovic *et al.* foi avaliada a atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante do óleo essencial de *S. terebinthifolius*. Os resultados foram positivos frente à *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Bacillus subtilis*, com pelo menos 58% de inibição em relação ao controle positivo. O óleo essencial avaliado demonstrou atividade frente *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, e *Aspergillus niger*. Também apresentou forte atividade antibacteriana frente *Y. enterocolitica* e *Pseudomonas aeruginosa*, bem como moderada atividade antifúngicos.¹⁰⁵

Degáspari *et al.* investigaram amostras de extratos aquoso e alcoólico dos frutos de *Schinus terebinthifolius* e verificaram que a atividade antimicrobiana estava correlacionada à presença de compostos fenólicos.⁸⁵ Os resultados colaboraram com as evidências experimentais, relativas as propriedades antioxidantes dos fenóis, que esses atuam como

⁹⁵MARTINEZ, M.J. et al. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. **Journal Ethnopharmacol.**, 1996, v.52. p. 171-174.

⁹⁶MELO JÚNIOR, E. J. M. et al. Estudo de plantas medicinais com atividade antimicrobiana sobre microrganismos presentes na alveolite. **Revista ABO Nacional**, 2000, v.8, n. 4. p. 220-226.

⁹⁷VELÁSQUEZ, E.; TOURNIER, H.A.; BUSCHIAZZO, P. M.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G.R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. **Fitoterapia**, 2003, v. 74. p. 91-97.

⁹⁸NUNES, J. et al. Avaliação da hidro-alcoólico *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) no processo de cicatrização da linha alba em ratos. **Acta Cir. Bras.**, 2006, v. 21, Suppl 3. p.8-15.

⁹⁹SALAZAR-A. R.; PÉ REZ-LO, L. A.; ARROYO PEZ-, JOEL LO´ALANÍS.;B. A., TORRES DE N.W. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Plants from Northeast of Mexico. Antimicrobial and Antioxidant Mexican Plants. E CAM 2009; Page 1 of 6 doi:10.1093/ecam/nep127

¹⁰⁰EL-MASSRY, K.;EL-GHORAB, A.H.;SHAABAN, H.A.A.; SHIBAMOTO T. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **J. Agric. Food Chem.**, 2009, v. 57. p. 5265-5270.

¹⁰¹COUTINHO, I. et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi e sua influência no processo de cicatrização de anastomose colônica: estudo experimental em ratos. **Acta Cir. Bras.**, 2006, v. 21, Suppl 3. p. 49-54.

¹⁰²CARVALHO, M.C. de. Avaliação da atividade mutagênica nos extratos da casca do caule da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Environ. Mol. Mutagênico**, 2003, v. 42, n. 3. p. 185-191.

¹⁰³GAZZANEO, L.R.S. et al. Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in a region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). **Journal Ethnobiol Ethnomedicine**, 2005, v. 1, p. 9.

¹⁰⁴FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, 2006, v. 42, n. 3. p. 369-394.

¹⁰⁵GUROVIC, M.S.V.; MARRAY, A.P.; FERRERO, A. A. Essential oil from fruits and leaves of *Schinus aroeira* L. with acetylcholinesterase inhibitory activity. **Planta Med.**, 2007, v. 73.

oxirredutores, permitindo agirem como agentes redutores, doadores de hidrogênio e eliminadores de oxigênio singlete.¹⁰⁶

Johann *et al.* avaliaram o extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* e observaram um potencial de atividade antifúngica frente *Candida glabrata* e *Sporothrix schenckii*. O mesmo grupo avaliou o extrato alcoólico demonstrando efeito inibitório sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. O extrato apresentou quantidade significativa da substância flavona apigenina, além de ácido elágico. O extrato aquoso com a presença da flavanona naringina, porém, não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento dos microrganismos testados.¹⁰⁷

Lima *et al.* avaliaram a atividade antibacteriana e antifúngica do extrato aquoso de *S. terebinthifolius* frente *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *T. rubrum*, *M. canis*, *E. floccosum* e *C. albicans*. Os resultados foram positivos, indicando que a atividade pode estar relacionada à presença de compostos, particularmente os taninos, e outros compostos presentes em menor quantidade, como os alcalóides, esteróides, chalconas e urundeuvinas, os quais provavelmente agem de forma sinérgica.^{108,109}

As propriedades antimicrobianas foram avaliadas utilizando os extratos etanólicos da planta *S. terebinthifolius* em diferentes concentrações, um deles de 30% por Martínez¹¹⁰ e outro utilizando uma concentração de 80%, realizado por Guerra *et al.*¹¹¹ Ambos os autores relatam atividade inibitória frente bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*). Além desses, outros ensaios também relacionados à atividade contra *B. cereus* (Gram-positivo) diferem em relação aos dois estudos realizados anteriormente quanto à resposta antifúngica, testada com *C. albicans*, a qual foi efetiva com o extrato etanólico a 80%, possivelmente por permitir maior concentração dos compostos com atividade farmacológica no extrato.

¹⁰⁶GUERRA, E.J.I. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. **An. Med. Interna.**, 2001, v. 18, n. 6. p. 326-335.

¹⁰⁷JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M.G.; DONNICI, C.L.; RESENDE, M.A. Antifungal properties of plants used in Brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2007, v. 38, n.4. p. 632-637.

¹⁰⁸LIMA, E.O.; PEREIRA, F.O.; LIMA, I.O.; TRAJANO, V.N.; SOUZA, E.L. *Schinus terebinthifolius* Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. **Infarma.**, 2004, v. 16, n. 7. p. 83-85.

¹⁰⁹LIMA, M.R.F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnoph.**, 2006.

¹¹⁰MARTÍNES, M.J.; ALONSO, N.G.; BETANCOURT, J.B. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Rev. Cubana Plantas Med.**, 1996, v.1, n. 3. p. 37-39.

¹¹¹GUERRA, M.J.M.; BARREIRO, M.L.; RODRIGUEZ, Z.M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Rev. Cubana Plantas Med.**, 2000, v.5, n.1. p.23-25.

A literatura apresenta inúmeras pesquisas mostrando a atividade antimicrobiana dos extratos obtidos de *S. terebinthifolius*. Cabe ressaltar, no entanto, que ainda existem contradições de informações sobre a ação antimicrobiana. Este fato reflete a importância de estudos recorrentes com os extratos quando há pretensão de utilização da planta em diferentes processos para controle antimicrobiano, o que pode contribuir ou até mesmo explicar a não concordância entre alguns estudos.

Várias evidências experimentais sugerem que os radicais livres e espécies reativas de oxigênio podem estar relacionadas com um amplo espectro de doenças. Por essa razão, terapias antioxidantes e dietas enriquecidas com antioxidantes parecem prevenir ou pelo menos amenizar a deterioração orgânica provocada por um excessivo estresse oxidativo.¹⁰⁶

Velázquez *et al.* observaram que o extrato metanólico de *Schinus terebinthifolius*, entre outras plantas, protege a peroxidação lipídica enzimática e não-enzimática em membranas microssomais de ratos, sendo que esta planta mostrou uma das maiores atividades de inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e superóxido.⁹⁷

Nunes *et al.* avaliaram o extrato hidroalcoólico no processo de cicatrização e não observaram resultados positivos, ou seja, macroscopicamente a cicatrização não foi alterada comparando-se com o grupo-controle que recebeu o tratamento.¹¹²

Os estudos conduzidos por Santos *et al.*¹¹³ e Branco Neto *et al.*¹¹⁴ confirmam que os extratos hidroalcoólicos de aroeira não foram efetivos no processo de cicatrização. O primeiro deles observou o aparecimento de feridas no estômago de ratos após a avaliação macroscópica, tensiométrica e microscópica.

Queires *et al.* avaliaram a fração resultante da purificação do extrato das folhas de *S. terebinthifolius* na qual foi caracterizada a presença de polifenóis. Foi constatada atividade antiproliferativa e antitumoral sobre células prostáticas cancerosas, provavelmente por estes compostos atuarem em enzimas lisossômicas destas células e, conseqüentemente, induzirem a apoptose.⁸⁶

Através de ensaio *in vitro* foi avaliada a toxicidade aguda de *S. terebinthifolius* e *Piper nigrum*, que são muito utilizadas na culinária brasileira. Os resultados obtidos

¹¹²NUNES, J. R. et al. Evaluation of the hydro-alcoholic *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) extract in the healing process of the alba linea in rats. **Acta Cir. Bras.**, 2008, v. 21, n. 3. p. 8-15.

¹¹³SANTOS, O.J. et al. Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos. **Acta Cir. Bras.**, 2006, v.21, n.2. p. 39-45.

¹¹⁴BRANCO NETO, M.L.C.; RIBAS FILHO, J.M.; MALAFAIA, O.; OLIVEIRA FILHO, M.A.; CZECHKO, N.G.; AOKI, S.; CUNHA, R.; FONSECA, V.R.; TEIXEIRA, H.M.; AGUIAR, L.R.F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cir. Bras.** (Suppl.), 2006, v.2.p.15-20.

demonstraram que ambas as espécies possuem baixa toxicidade oral quando administradas aos camundongos em doses 2.500 vezes maiores que a dose normal consumida diariamente pelos humanos.¹¹⁵

2.2.2 Espécie *Schinus molle* Lineu

2.2.2.1 Considerações botânicas

A espécie *Schinus molle* L. é originária do Peru e se encontra como nativa no Brasil, Uruguai, Argentina e outros países da região Andina. Hoje é amplamente distribuída no Rio Grande do Sul.¹¹⁶ É popularmente conhecida como “anacauíta”, “aroeira Periquita” e também como “aroeira mansa” e “aroeira vermelha”, Figura 11.¹¹⁷

É uma espécie heliófita com características xerofíticas. Árvore de folhas perenes, podendo atingir uma altura entre 4 a 10 m de altura em condições favoráveis, com um tronco de até 35 cm de diâmetro, casca espessa e copa densa. A casca é áspera, com protuberâncias redondas e rachaduras de cerca de 2 a 3 mm, com uma tendência de se desfazerem placas rígidas. As folhas são compostas por 3 a 10 pares de folíolos, bem finos, de bordas serradas. Os folhetos são imparipinantes, alternados, sésseis, lanceoladas, verde-cinza e verde-claro em ambas as faces, 3-6 cm de comprimento e 4-8 mm de largura. Quando esmagados emitem odor característico. A espécie é dióica, as flores são pequenas, numerosas, branco-amareladas, dispostas em panículas cônicas que geralmente medem entre 8 e 15 cm de comprimento. As sementes são redondas, enrugadas quando secas, havendo uma semente por fruto, com um diâmetro de 2-4 mm. Os frutos são arredondados, globulosos, epicarpo de cor coral, as drupas

¹¹⁵PIRES, O. C.; TAQUEMASA, A. V. C.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F.; ARAÚJO, C. E. P. Preliminary comparative analysis of the acute toxicity and median lethal dose (LD) of the fruit of the Brazilian black pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and black pepper (*Piper nigrum* L.). **Acta Farm. Bonaerense**. La Plata, 2004, v. 23, n. 2. p. 176-182.

¹¹⁶BACKES, P.; NARDINO, M. Árvores, arbustos e algumas lianas nativas no Rio Grande do Sul. São Leopoldo, RS: Ed. Unisinos, 2002. p.202.

¹¹⁷PIVA, M.G. **O caminho das plantas medicinais** – estudo etnobotânico. Rio de Janeiro: Mondrian, 2002.

quando maduras são brilhantes, de coloração vermelho-púrpura, medindo de 2 a 5 mm; a polpa é mucilaginosa e doce, de líquido oleoso muito aromático.¹¹⁸

A floração ocorre de setembro a janeiro, as flores são pequenas, aromáticas, decoloração amarelo-clara e atraem abelhas. Os frutos podem ser colhidos de janeiro a julho e a casca do tronco a qualquer época do ano. A secagem da casca do tronco deve ser feita ao sol e armazenada em sacos de pano fechados, em local seco e bem ventilado. Os frutos podem ser consumidos na forma desidratada e devem ser armazenados em local bem ventilado.¹¹⁹



Figura 11. Árvore, folhas e frutos de *Schinus molle*.¹⁵⁷

Devido a estas características é usualmente empregada em paisagismo ou arborização das ruas. É uma planta silvestre ornamental pouco cultivada. Com sua resina os jesuítas preparavam um líquido que se tornou conhecidos como “bálsamo das missões”. Em muitos lugares acredita-se que o óleo essencial contido na planta tenha propriedades venenosas. Na verdade ocorre que existem várias espécies da planta, e algumas delas, podem causar uma reação alérgica em indivíduos sensíveis, embora não cause grandes danos.¹²⁰

2.2.2.2 Composição química e propriedades biológicas

As partes aéreas da planta *S. molle* são utilizadas popularmente para diferentes finalidades terapêuticas como: anti-hemorrágica, antisséptico, laxativo leve, adstringente,

¹¹⁸LORENZI, Harri; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil** - nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

¹¹⁹BORNHAUSEN, R. **Ervas do sítio**. Disponível em: <<http://www.ervasdositio.com.br/enciclopedia/enciclopedia.asp>>. Acesso em: 24/jan./2002.

¹²⁰UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP). Biblioteca virtual do estudante brasileiro – Aroeira. Disponível em:<<http://www.bibvirt.futuro.usp.br/acervo/paradidat/frutas/aroeira/aroeira.html>>. Acesso em: 24 jan. 2011.

cardiotônico, estimulante digestivo, distúrbio menstrual, diurético, tônico e antidepressivo.^{121,74}

Uma grande atenção tem sido dada nestes últimos anos aos óleos voláteis provenientes de diferentes partes da planta de *S. molle*, pelo elevado teor em óleo essencial e pela diversidade estrutural que lhes conferem propriedades medicinais.¹²²

Vários estudos com as espécies do gênero estão sendo realizados em diferentes locais do mundo com o propósito de caracterizar os componentes químicos presentes nestes óleos.^{123,124,125,126}

Bernhard *et al.*, ao analisarem amostras do óleo dos frutos, identificaram a presença majoritária do γ -cadineno(17,41%) na fração de hidrocarbonetos sesquiterpenos.¹²⁷ Na fração dos sesquiterpenos oxigenadoso cadinol (17,39%) foi o principal representante. Os autores não detectaram a presença de compostos descritos por Terhune *et al.*¹²⁸

O óleo essencial de frutos de *S. molle* cultivado na Tunísia foi analisado por Bendaoud *et al.*, sendo caracterizado pelo elevado conteúdo de hidrocarbonetos monoterpenos (79,69%).¹²⁹ Foram identificados como constituintes principais o α -felandreno (46,52%), β -felandreno (20,81%), α -terpineol (8,38%), α -pineno (4,34%), β -pineno (4,96%) e *p*-cimeno (2,49%). O óleo essencial de *S. molle*, investigado por Hayouni *et al.*, mostrou diferenças significativas na sua composição quando comparado com óleo essencial de uma mesma espécie, obtida em Túnis, no Norte da Tunísia. A maior fração do óleo foi constituída por hidrocarbonetos monoterpenos (92,99%), sendo a menor fração a dos monoterpenos

¹²¹TAYLOR, L. The healing power of rainforest herbs. Square One Publishers. A Guide to understanding and using herbal medicinal. New York, 2005.

¹²²MARONGIU, B.; PORCEDDA, A.P.S.; CASU, R.; PIERUCCI, P. Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L. **Flavour and Fragrance Journal**, 2004, v. 19. p. 554-558.

¹²³DIKSHIT, A.; NAQVI, A.A.; HUSAIN, A. *Schinus molle*: a new source of natural fungitoxicant. **Appl. Environ. Microbiol.**, 1986, v. 51, n. 5. p. 1085-1088.

¹²⁴MAFFEI, M.; CHIALVA, F. Essential oil from *Schinus molle* L berries and leaves. **Flav Fragr J.**, 1990, v. 5. p. 49-52.

¹²⁵EL HAYOUNI, A.; CHRAIEF, I.; ABEDRABBA, M.; BOUIX, M.; LEVEAU, J.Y.; HAMMAMI, M.; HAMDI, M. *Tunisian Salvia officinalis* L and *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. **Int. J. Food Microbiology**, 2008, v. 125. p. 242-251.

¹²⁶ZAHED, N.; HOSNI, K.; BRAHIM, N.; SEBEI, H. A composição do óleo essencial de *Schinus molle* L. frutos: uma espécie ornamental usada como condimento. **J. Biochem Alimentar**, 2010. DOI 10.1111/j.1745-4514.2010.00391.x.

¹²⁷BERNHARD, R. A.; SHIBAMOTO, T.; YAMAGUCHI, K.; WHITE, E. The volatile constituents of *Schinus molle* L. **J. Agric. Food Chem.**, 1983, v. 31, n. 2. p. 46.

¹²⁸TERHUNE, S. J.; HOGG, J.W.; LAWRENCE, B.M. β -spathulene: a new sesquiterpene in *Schinus molle* oil. **Phytochemistry**, 1974, v. 13. p. 865-866.

¹²⁹BENDAOU, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, J. P.; CAZAUX, S.; BOUJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant Activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. **Journal of Food Science.**, 2010, v. 75, n. 6.

oxigenados (2,68%) e sesquiterpenos (1,92%). Os constituintes majoritários foram: α -felandreno (35,86%), β -felandreno (29,30%), β -pineno (15,68%), e p-cimeno (5,43%) e o α -pineno (5,22%).¹²⁵

No óleo essencial da planta de *S. molle* cultivada na Ligúria (Itália) foram identificados α - e β -felandreno (55,4% e 15,4%) e limoneno (14,3%) como substâncias majoritárias.¹²⁴ Porém, no óleo essencial analisado na Argélia,¹³⁰ o teor de α -e β -felandreno (26,5% e 12,4%) foi menor, tendo evidenciado também a presença do elemol (10,8%) e α -eudesmol (6,1%). Outro estudo mais recente evidenciou a presença do β -pineno e α -pineno como os principais constituintes do óleo essencial de *S. molle* cultivado na Costa Rica.¹³¹

Em 2010, Zahed *et al.* realizaram um estudo com óleos essenciais dos frutos da *S. molle* produzidos em quatro localidades do Noroeste da Tunísia. Seus óleos foram caracterizados com elevado teor de hidrocarbonetos, monoterpeneo limoneno, β -felandreno (30,8-61,8%), α -felandreno (21-41,1%), mirceno (8,4-12,8%) e α -pineno (1,9-6,5%) foram os principais constituintes. Diferenças qualitativas e quantitativas foram observadas, o que levou a avaliação das condições da origem de plantio, idade, fisiologia, condições ecológicas, bem como extração e métodos analíticos utilizados,¹²⁶ características importantes quando a finalidade é a produção e a consequente comercialização de seus componentes aromáticos. Verificaram que para uma avaliação completa e sistemática das diferenças na composição são necessárias que as condições citadas sejam controladas.

O óleo essencial de *Schinus molle* cultivado na Argélia, foi avaliado, apresentou como principais componentes, α -felandreno (26,5%), limoneno (8,6%), β -felandreno (12,4%), elemol (10,8%) e α -eudesmol (6,1%). O óleo essencial foi avaliado quanto a sua atividade antibacteriana pela utilização do método de microdiluição em caldo frente duas bactérias Gram (+): bactérias *S. aureus* e *S. pyogenes* e duas Gram (-) bactérias *E. coli* e *V. vulnificus*, apresentando resultado positivo.¹³⁰

O óleo essencial extraído das partes aéreas de *Salvia officinalis* L. e dos frutos de *Schinus molle* L. cultivados na Tunísia foram avaliados. Foram identificados 67-68 componentes químicos, respectivamente. Os principais constituintes do óleo de *S. officinalis* foram 1,8-cineol (33,27%), β -tujona (18,40%), α -tujona (13,45%), borneol (7,39%), sendo que no óleo de *S. molle* o α -felandreno (35,86%), β -felandreno (29,3%), β -pineno (15,68%),

¹³⁰BELHAMEL, K.; ABDERRAHIM, A.; LUDWIG, R. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus Molle* L. growth in Algeria. **Acta Hort (ISHS)**, 2009, v. 826. p. 201-204.

¹³¹DIAZ, C.; QUESADA, S.; BRENES, O.; AGUILAR, G.; CICCIO, J. Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines. **Nat. Prod. Res.**, 2008, v. 22. p. 1521-1534.

p-cimeno (5,43%) e α -pineno (5,22%) se apresentaram como majoritários. A atividade antimicrobiana do óleo de *S. officinalis* e *S.molle* foi avaliada *in vitro*, mediante determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) pelo método de microdiluição. Os resultados das CIMs foram positivos. Os autores acreditam que estes dados possam estar relacionados a um quimiotipo particular de cada óleo e que possa estar contribuindo no comportamento antimicrobiano específico. Esta correlação entre estrutura e atividade se configura em um interessante ingrediente como conservante natural em alimentos e/ou indústria farmacêutica.¹²⁵

Deveci *et al.* analisaram a atividade antimicrobiana e repelente dos óleos essenciais e dos extratos hexânicos obtidos das folhas e frutos de *S.molle*. Ambos os resultados indicaram potencial atividade antimicrobiana e repelente. O extrato hexânico das folhas, porém, apresentou maior atividade antimicrobiana frente *E. coli*, indicando que o extrato pode ser usado como conservante natural, ou aditivo alimentar, ou até mesmo como um desinfetante brando em vários produtos comerciais.¹³²

Bendaoud *et al.* avaliaram a ação antioxidante e antirradical pelo método de DPPH e 2,2'-azino-bis (-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) *in vitro*. O óleo essencial extraído de *S. molle* apresentou resultados que expressaram atividade antioxidante no ensaio ABTS. O mesmo óleo também foi avaliado quanto sua atividade carcinogênica frente células cancerosas da mama humana. As propriedades apresentadas de *S. molle* foram eficazes frente as linhagens celulares testadas.¹²⁹

Vários relatos mostram que a planta exerce efeitos biológicos, tais como: ação analgésica e depressora do sistema nervoso,¹³³ hipotensora, antiespasmódica,¹³⁴ antitumoral,¹³⁵ anti-inflamatórios,¹³⁶ antidepressivo do extrato e do composto isolado rutina

¹³²DEVECI,O.; SUKAN, A.; TUZUN,N.; KOCABAS, E. E. H. Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. **Journal of Medicinal Plants Research.**, 2010, v. 4, n. 21. p. 2211-2216.

¹³³BARRACHINA, M.D.; BELLO, R.; MARTÍNEZ-CUESTA, M.A.; PRIMYOYÚFERA, E.; ESPLUGES, J. Analgesic and central depressor effects of the dichloromethanol extract from *Schinus molle* L. **Phytother. Res.**, 1997, v. 11. p. 317-319.

¹³⁴BELLO, R.; BELTRÁN, B.; MORENO, L.; CALATAYUD, S.; PRIMYOYÚFERA, E.; ESPLUGES, J. In vitro pharmacological evaluation of the dichloromethanol extract from *Schinus molle* L. **Phytother. Res.**, 1998, v. 12, p. 523-525.

¹³⁵RUFFA, M. J.; FERRARO, G.; WAGNER, M. L.; CALCAGNO, M. L.; CAMPOS, R.H.; CAVALLARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. **J. Ethnopharmacol.**, 2002, v. 79, p. 335-339.

¹³⁶YUEQIN, Z.; RECIO, M.C.; MANEZ, S.; GINER, R.M.; CERDANICOLAS, M.; RIOS, J. Isolation of two triterpenoids and a biflavanone with anti-inflammatory activity from *Schinus molle* fruits. **Planta Med.**, 2003,v. 69, p. 893-898.

das folhas de *Schinus molle* testados em camundongos^{137,138} e antifúngicos.^{139,140,141} Esses resultados parecem reforçar a utilização de extratos e compostos isolados na medicina popular. A maioria das consultas é consistente como uso de extrato para diferentes atividades farmacológicas, os quais abrangem um amplo espectro de descrições terapêutico.¹²¹

Díaz *et al.* testaram a ação antioxidante e a citotoxicidade do óleo essencial de *S. molle* em diferentes tipos celulares por um mecanismo relacionado à apoptose. Os resultados indicaram fraca atividade antioxidante e citotoxicidade em várias linhagens de células, sendo mais eficaz no carcinoma de mama e de linhagens de células leucêmicas. Adicionalmente, sugerem pesquisas que venham a elucidar qual dos componentes do óleo possa estar relacionado ao efeito observado acima, alertando para uma possível aplicação de substâncias ou combinações dessas na atividade em células antiproliferativas e antitumoral.¹⁴²

O estudo fitoquímico com plantas da espécie *S. molle* tem levado ao isolamento de uma série de mono, sesqui, triterpenos, flavonóides, ácidos graxos e galotaninos.^{128,143,144,145}

A fração ácida da oleoresina da casca de *S. molle* resultou no isolamento dos compostos denominados de ácidos isomasticadienonico, isomasticadienonálico, masticadienonico, 3-*epi*-isomasticadienolico, além do ácido 3-*epi*-isomasticadienolálico, identificado pela primeira vez na planta.¹²⁸

Em outro trabalho, desenvolvido por Yueqin *et al.* com os frutos de *S. molle*, foram isolados dois triterpenos, o ácido-3-*epi*-isomasticadienolálico e o ácido isomasticadienonálico

¹³⁷MACHADO, D.G.; KASTER, M.P.; BINFARE, R.W.; DIAS, M.; SANTOS, A.R.S.; PIZZOLATTI, M.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; RODRIGUES, A.L.S. Antidepressantlike effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Prog.Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 2007, v. 31, p. 421-428.

¹³⁸MACHADO, D.G.; BETTIO, L.E.B.; CUNHA, M.P.; SANTOS, A.R.S.; PIZZOLATTI, M.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; RODRIGUES, A.L.S. Antidepressantlike effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *Eur. J. Pharmacol.*, 2008, v.587, p. 163-168.

¹³⁹QUIROGA, E.N.; SAMPIETRO, A.R.; VATTUONE, M.A. Screening antifungal activities of selected medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2001, v. 74, n. 1. p. 89-96.

¹⁴⁰QUIROGA, E.N.; SAMPIETRO, A.R.; VATTUONE, M.A. In vitro fungitoxic activity of *Larrea divaricata* Cav extracts. *Lett Appl Microbiol.*, 2004, v. 39, n. 1. p. 7-12.

¹⁴¹SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R.R.; ALVIANO, C.S. et al. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J Ethnopharmacol.*, 2005, v. 96, n. 3. p. 563-568.

¹⁴²DÍAZ, C.; QUESADA, S.; BRENES, O.; AGUILAR, G.; CICCI, O. J. F. Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines. *Nat. Prod. Res.*, 2008, v. 22. p. 1521-1534.

¹⁴³HÄNSEL, R.; KILLER, K.; RIMPLER, H.; SCHNEIDER, G. *Hagers handbuch der pharmazeutischen praxis*. Auflage 5, Band 6, Drogen P-Z (ed.). Berlin: Springer-Verlag, 1994. p. 627-640.

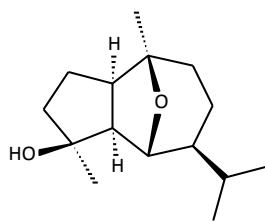
¹⁴⁴HAYASHI, T.; NAGAYAMA, K.; ARISAWA, M.; SHIMIZU, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M. Pentagalloyl-glucose, a xanthine oxidase inhibitor from a Paraguayan crude drug, 'Molle-1' (*Schinus terebinthifolius*). *J. Nat. Prod.*, 1989, v. 52. p. 210-211.

¹⁴⁵DOMINGUEZ, X. et al. A chemical survey of seventeen medicinal Mexican plants. *Planta Med.*, 1970, v. 18. p.51.

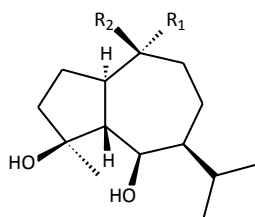
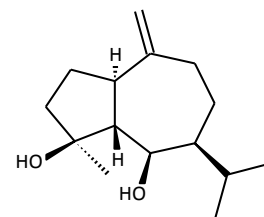
e, também, a biflavonona chamaejasmino. Os três compostos testados apresentaram atividade anti-inflamatória.¹³⁶

Pesquisadores japoneses investigaram o extrato metanólico dos frutos de *S. molle*, e isolaram doze sesquiterpenóides, seis tirucallane tipo triterpenóides e quatro flavonóides. Suas estruturas químicas foram determinadas com base em dados espectroscópicos e análise de raios-X. Na Figura 12, podemos encontrar alguns compostos representativos da espécie que foram isolados, alguns já identificados em trabalhos anteriores.^{65,117,172,181,188,191}. Três dos flavonóides isolados apresentaram atividade antioxidante comparada ao α -tocoferol pelo método do tiocianato férrico. Adicionalmente, um dos flavonóides apresentou maior poder sequestrador de radical DPPH do que o α -tocoferol.¹⁴⁶

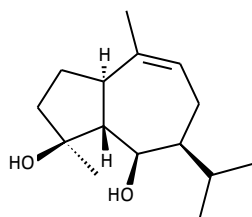
¹⁴⁶ONO, M.; YAMASHITA, M.; MORI, K.; MASUOKA, C.; ETO, M.; KINJO, J.; IKEDA, T.; YOSHIMITSU, H.; NOHARA, T. **Food Sci. Technol. Res.**, 2008, v. 14, n. 5. p. 499-508.



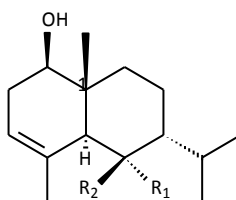
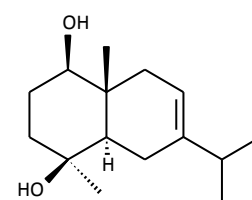
92

93: $R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{CH}_3$ 94: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{CH}_3$ 95: $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{OH}$ 

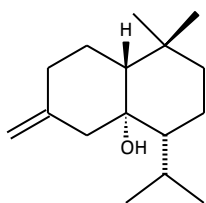
96



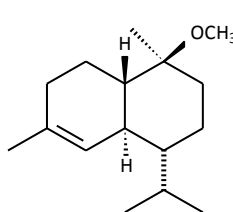
97

98: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$ 99: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OH}$ 

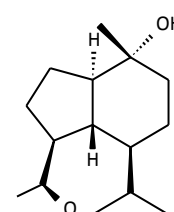
100



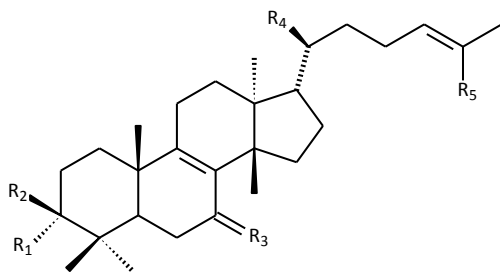
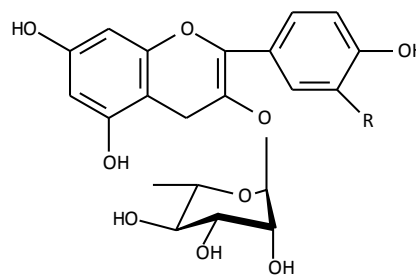
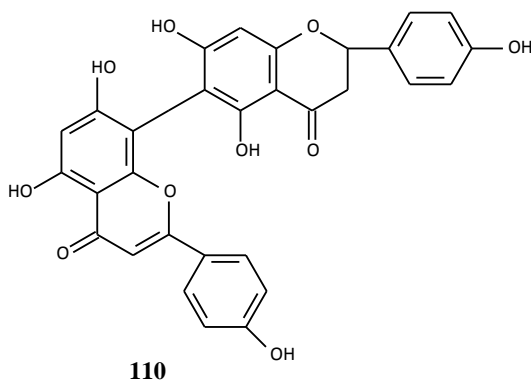
101



102



103

104: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{H}_2$, $R_4 = \text{CH}_3$, $R_5 = \text{COOH}$ 105: $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{OH}$, $R_3 = \text{H}_2$, $R_4 = \text{COOH}$, $R_5 = \text{CH}_3$ 106: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{O}$, $R_4 = \text{CH}_3$, $R_5 = \text{COOH}$ 107: $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{H}_2$, $R_4 = \text{CH}_3$, $R_5 = \text{COOH}$ 108: $R = \text{H}$ 109: $R = \text{OH}$ 

110

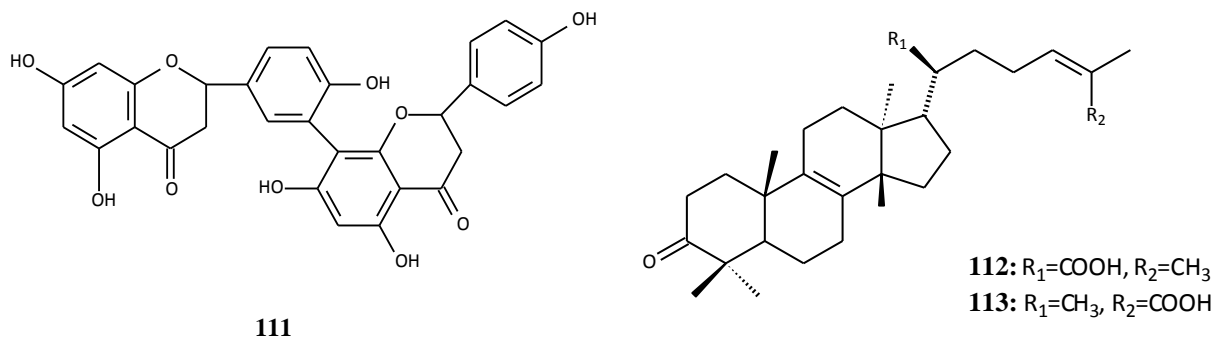


Figura 12. Substâncias representativas da espécie em estudo e que foram isoladas da espécie *S. molle*.

2.2.3 Espécie *Schinus polygamus* Cabrera

2.2.3.1 Considerações botânicas

A *S. polygamus* é uma árvore conhecida como: “assobiadeira”, “aroeira”, “aroeira-assobiadeira”, “árvore-de-assobio”, “assobieira”, “assobio”, “catinga-de-porco”, “coquinho”, “incenso”, “molhe”, “molho”, “pau-de-espinho”, Figura 13. A espécie possui galhas lenhosas, encontradas geralmente nos ramos, que são ocas e popularmente utilizadas como apito. Devido a essas características muitos nomes populares são atribuídos à espécie.¹²



Figura 13. Árvore, folhas e cacho com os frutos verdes da *S. polygamus*.

A *S. polygamus* é uma planta nativa, não endêmica do Brasil, distribui-se geograficamente no Sudeste (Minas Gerais, São Paulo), Sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul).¹⁴⁷ Trata-se de uma espécie seletiva higrófila, esciófila, indiferente às

¹⁴⁷SILVA-LUZ, C.L.; PIRANI, J.R. Anacardiaceae. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

condições do solo. Ocorre geralmente em capões e sub-bosques da Mata Atlântica e Pampa.¹⁴⁸ A floração ocorre de julho a setembro, frutificando de outubro a maio.¹⁴⁹

Os frutos podem ser utilizados como condimento, sendo que *in natura* o sabor é suavemente picante, da mesma forma que o observado para a *S. molle* e *S. terebinthifolius*. Com os frutos também podem ser feitas bebidas vinosas e aguardente. Podem ser utilizados para adensamento em reflorestamentos mistos.¹⁴⁹

Em alguns países, como o Chile, serve como combustível sendo plantada como cerca.¹⁵⁰

Do ponto de vista etnobotânico, todas as partes da planta possuem aplicações na medicina popular, sendo a infusão das folhas utilizada para a limpeza de feridas. A decocção da casca produz uma essência balsâmica utilizada para tratar artrite e dores nos pés. O látex, que é secretado da casca, é usado como um gesso para fraturas, dores nos tendões e músculos, luxações e irritação da pele. A resina é recomendada para bronquite crônica.¹⁵¹ Além das propriedades citadas, a parte aérea também é utilizada no tratamento da infertilidade.¹⁵²

Isso contrapõe o legado do senso comum de que “aroeiras” são causadoras de dermatites quando em contato. Embora existam vários relatos que descrevem a utilização da espécie na medicina popular, existem algumas que apresentam propriedades tóxicas.⁶⁷

2.2.3.2 Composição química e propriedades biológicas

Para esta espécie poucos registros fitoquímicos e de atividade biológica foram relatados, apenas três menções foram encontradas sobre a composição química do óleo essencial desta planta.

¹⁴⁸SOBRAL, Marcos; JARENKOW, João André (Orgs.). **Flora arbórea e arborecente do Rio Grande do Sul, Brasil**. São Carlos, SP:Novo Ambiente, 2006. p. 349.

¹⁴⁹ LOPES, S. B.; GONÇALVES, L. **Elementos para aplicação prática das árvores nativas do Sul do Brasil na conservação da biodiversidade**. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, 2006. p. 18.

¹⁵⁰BURCKHARDT, D.; BASSET, Y. The jumping plantlice (Hemiptera, Psylloidea) associated with *Schinus* (Anacardiaceae): systematics, biogeography and host plant relationships. **Journal of Natural History**, 2000, v. 34. p. 57-155.

¹⁵¹MUÑOZ, M.; BARRERA, E.; MEZA, I. **El uso medicinal y alimenticio de plantas nativas y naturalizadas de Chile**. Edición ocasional, n. 33. Santiago, Chile: Museo Nacional de Historia Natural, 1981. p.17.

¹⁵²MONTES, M.; WILKOMIRSKY, T. **Medicina tradicional chilena**. Santiago, Chile: Editorial de La Universidad de Concepción, 1987. p. 50.

Em 1984, Mandich *et al.* descreveram a presença dos flavonóides em *Schinus polygamus*, dentre os quais: kaempferol (91), quercetina (90) e quercetina-3-O galactoside (114), Figura 14.¹⁵³

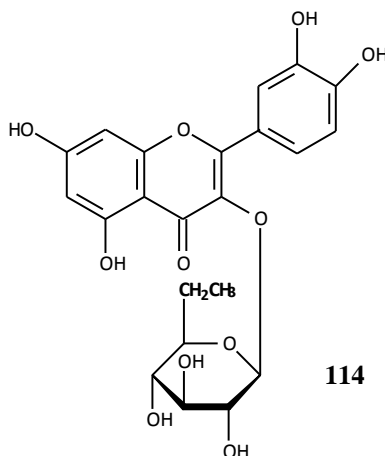


Figura 14. Estruturas representativas dos flavonóides isolados de *S. molle*.

Em 2004, González *et al.* investigaram pela primeira vez a composição química do óleo essencial de *S. polygamus* e avaliaram seu potencial antimicrobiano. Os óleos essenciais foram constituídos predominantemente por monoterpenos (58,3 %), sendo o α -felandreno (12,9%) e limoneno (22,6%) os principais componentes. Os sesquiterpenos α -cadinol (7,1%) e cubenol (5,6%) representaram 20,4% dos sesquiterpenos oxigenados dentre os 30 compostos identificados do total (96,3%) do óleo essencial. O óleo mostrou atividade antimicrobiana frente ao *Bacillus cereus*.¹⁵⁴

Erazo *et al.* realizaram estudos farmacológicos com os extratos hexânicos e metanólico obtidos das partes aéreas de *S. polygamus*.³⁷ Além disso, o óleo essencial das folhas e dos frutos da planta foi analisado e comparado com o óleo volátil obtido da espécie cultivada na Argentina. Os óleos diferiram na composição e na atividade antibacteriana, sendo que a espécie chilena exibiu amplo espectro de atividade contra Gram (+) e bactérias Gram (-), e o composto mais abundante encontrado nas folhas e frutos foram o β -pineno. Entretanto, a espécie argentina mostrou alta atividade frente *Bacillus cereus*, os principais componentes evidenciados foram α -felandreno e limoneno. As diferenças, quanto à composição química dos óleos estudados na Argentina e no Chile, foram justificadas

¹⁵³MANDICH, L., BITTNER, M., SILVA, M., BARROS, C. Phytochemical screening of medical plants. Studies of flavonoids. **Revista Latinoamericana de Química**, 1984, v. 15. p. 80-82.

¹⁵⁴GONZÁLEZ, S.; GUERRA, P.; BOTTARO, H.; MOLARES, S.; DEMO, M.S.; OLIVA, M.M.; ZUNINO, M.P.; ZYGADLO, J.A. Aromatic plants from Patagonia Part I. Antimicrobial activity and chemical composition of *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera essential oil. **Flavour and Fragrance Journal**, 2004, v. 19. p. 36-39.

considerando-se as alterações que possam ter ocorridas no metabolismo em função da localização geográfica no que tange ao genótipo, à composição do solo e ao clima onde a espécie é cultivada.^{155,156} Os extratos provenientes das partes aéreas da planta apresentaram atividades farmacológicas. Dos extratos mais ativos foram isolados diferentes metabólitos dos quais: β -sitosterol, ácido chiquímico, juntamente com a quercetina (**90**) o que levou os autores a compreender o efeito antipirético, anti-inflamatório, analgésico e a atividade antimicrobiana observado nos extratos analisados.

Damasceno *et al.* avaliaram a eficiência da Headspace-Microextração em fase sólida (HS-SPME), juntamente com CG-EM, técnicas capazes de detectar alterações no perfil de óleo essencial de *S. polygamus* e *Baccharis spicata* cultivadas no RS-Brasil. Os resultados da análise dos óleos essenciais extraídos das folhas sadias e das galhas de *S. polygamus* pela utilização de diferentes técnicas, demonstraram apresentar grande quantidade de n-heptano (>38,2%) e n-nonano (>24,4%). Estes compostos não foram identificados no óleo obtido por hidrodestilação de folhas da mesma amostra. O constituinte majoritário nas galhas foi o α -pineno (17,6%). Também foi detectada a presença de mono e sesquiterpenos não evidenciados nas folhas sadias. Observaram-se diferenças qualitativas entre o óleo das folhas sadias e o perfil dos constituintes dos compostos voláteis do Headspace. A utilização do HS-SPME permitiu obter compostos próximos aos da planta *in vivo*.¹⁵⁷

2.2.4 Espécie *Schinus lentiscifolius* Marchand, 1869

2.2.4.1 Considerações botânicas

¹⁵⁵ OLIVEIRA, A.B.; CARAZZA, F.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S. The essential oil of *Eupatorium laevigatum*. **Journal of Essential Oil Research**, 1990, v. 2. p. 49-50.

¹⁵⁶ MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; SILVA, J.D. Essential oils composition of *Eupatorium* species growing wild in the Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**, 2002, v. 30. p. 1071-1077.

¹⁵⁷ DAMASCENO, F. C.; PRIMIERI, N, K.; GONCALVES, S. G. L.; ALCARAZ, Z, C. Analysis of Volatile Compounds of Leaves and Galls of *Schinus polygamus* and *Baccharis spicata* by Headspace Solid- Phase Microextraction. **Analytical Letters**, 2008, v. 41, n. 9. p. 1658-1673.

A *S. lentiscifolius*, Figura 15, espécie arbórea nativa da América do Sul, possui características do sul do Brasil, Paraguai, Missões, Argentina e Uruguai. No Brasil é conhecida popularmente como “aroeira-cinzenta”, sendo considerada uma espécie bastante rústica, distribuída em áreas temperadas, mas tolera algum frio. Habita as florestas de montanha da maioria do país, aparecendo muitas vezes em suas margens ou de maneira isolada. É uma árvore sempre verde, com 4 a 6 metros de altura. Apresenta flores pequenas, esbranquiçadas, femininas e masculinas. O fruto é esférico e de coloração violeta, medindo 0,3 a 0,4 cm de diâmetro. É multiplicada por sementes.¹⁵⁸



Figura 15. Árvore, folhas e cacho com os frutos da *Schinus lentiscifolius*.²¹⁰

A planta é utilizada na medicina popular sul-americana. A infusão de suas folhas é utilizada para limpeza de ferimentos, a decocção da casca da árvore produz uma essência balsâmica, que é utilizada para tratamento artrítico e dores nos pés. O látex, que é exsudado da casca da árvore, é usado para dores musculares e dores de tendões, deslocções, fraturas e irritação da pele. A resina é recomendada em bronquites crônicas. A parte aérea é utilizada para tratamento antipirético.¹²

2.2.4.2 Composição química e propriedades biológicas

¹⁵⁸REITZ, R. Clorantaceas. Itajai: Herbario Barbosa Rodrigues, 1965. 10p. Flora Ilustrada Catarinense **Biblioteca(s):** CNPF (LV 583.925-R379c ADC)

Dentre as várias espécies de “aroeiras”, nome popular atribuído também à *S. lentiscifolius*, não foram encontrados registros de estudos na literatura quanto a sua atividade biológica, somente uma citação referente à composição química do seu óleo. Os óleos voláteis de folhas nativas do Uruguai de *S. molle* e *S. lentiscifolius* foram analisados, sendo identificados dezesseis compostos em ambas as espécies, sendo que o óleo apresentou predominância de hidrocarbonetos sesquiterpenos, cujos compostos majoritários são δ -cadineno (16,79%) e biciclogermacreno (29,20%). Não foi evidenciada a presença de nenhum composto monoterpeneo oxigenado na *S. lentiscifolius*.¹⁵⁹

A atividade fitotóxica do óleo de *S. lentiscifolius* foi avaliada sobre a germinação da alfaca e do trevo vermelho. Os mesmos autores sugerem que esse óleo desempenha importantes interações com as plantas associadas da biota, apresentando efeitos alelopáticos.¹⁶⁰

¹⁵⁹ROSSINI, C.; MENENDEZ, P.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Essential oils from leaves of *Schinus molle* and *S. lentiscifolius* of Uruguayan origin. **J. Essent. Oil. Res.**, 1996, v. 8, n. 1. p. 71-73.

¹⁶⁰PAWLOWSKI et.al. Potencial alelopático dos óleos voláteis de *S. lentiscifolius* March. Porto Alegre: URGS, 2009.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e Métodos

3.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C foram obtidos de um espectrômetro Bruker DPX 400, no Departamento de Química, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), operando-se a 400,13 MHz para ^1H e 100,62 MHz para ^{13}C . Para a preparação das amostras, utilizou-se entre 5 e 15 mg de amostras em 0,5 mL de solvente deuterado em tubos de 5 mm. Os solventes utilizados para a análise das amostras foram: clorofórmio (CDCl_3) e acetona (CD_3COCD_3) deuterados. Os deslocamentos químicos foram registrados em ppm (partes por milhão) e as constantes de acoplamento (J) foram calculadas em Hertz (Hz). Para a calibração dos espectros utilizou-se como referência interna, o tetrametilsilano TMS (δ 0,00) para os espectros de hidrogênio e para a calibração dos espectros de ^{13}C utilizou-se CDCl_3 (δ 77,00) e $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$. Os espectros de 1D e 2D foram processados com o *software* TOPSPIN-NMR 1.0.

3.1.2 Técnicas Cromatográficas

3.1.2.1 Análise por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas

As amostras dos óleos foram analisadas em um Cromatógrafo Gasoso com Detector de Ionização em Chama (CG-DIC) e em um Cromatógrafo Gasoso Acoplado a um Espectrômetro de Massas (CG-EM). Ambos permitiram quantificar e qualificar os compostos voláteis através da análise e comparação com padrões, e com bibliotecas comerciais, como a NIST[®] (1998).

As análises cromatográficas foram realizadas no aparelho Varian, modelo 3400, composto por: amostrador automático CX 8200, injetor 1078; coluna capilar: DB-5 (30 m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 μm): temperatura do injetor 220°C, modo de injeção *split splitless*, operando no modo split rampa de aquecimento do forno com temperatura inicial 60°C, aumentando 3°C min^{-1} até 250°C, gás de arraste (N_2) 1,5 mL min^{-1} ; DIC com temperatura de 260°C; vazão dos gases: hidrogênio 30 mL min^{-1} , ar sintético de 300 mL min^{-1} e nitrogênio, 23 mL min^{-1} (*make-up*).

Para a análise de EM, foi utilizado aparelho Varian Saturno 2110 D, com a mesma programação de eluição dos óleos usados na CG e coluna DB-5 (30m X0, 25 mm e 0,25 μm), como gás de arraste Hélio (1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$); volume injetado de 1 μL ; o detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons de 70 eV.

Os óleos essenciais foram injetados com um volume de 1 μL de cada solução preparada a partir de 10 mg de óleo essencial, diluídos em 1,0 mL de hexano (Hex) para as análises qualitativas e quantitativas. A identificação dos constituintes químicos presentes no óleo essencial foi realizada por comparação dos índices relativos de retenção, calculados em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcenos ($\text{C}_7\text{-C}_{23}$), com os dados de literatura¹⁶¹ e com os espectros de massas obtidos experimentalmente (amostras), a partir do banco espectral de dados da biblioteca (NIST 98).

Os índices de retenção dos compostos do óleo hidrodestilado foram obtidos utilizando-se uma solução 1% em hexano volume/volume (v/v) de padrões de alcanos lineares ($\text{C}_7\text{-C}_{23}$) e uma solução hexânica de mesma concentração de óleo essencial.

Os tempos de retenção dos hidrocarbonetos e do componente do óleo essencial foram empregados para calcular o índice de Kovats de cada constituinte do óleo, utilizando-se a equação:¹⁶²

$$I_r_i = 100 n + 100 \Delta n \frac{tr_i - tr_n}{tr_m - tr_n}$$

em condições de variação linear de temperatura, onde:

I_r_i = índice de retenção de **i** compostodesconhecido;

n = número de carbonos do alcano que elui antes de **i**;

m = número de carbonos do alcano que elui depois de **i**;

¹⁶¹ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. **Illinois: Allured Publishing Corporation**, p. 456, 2001.

Δn = número de carbonos do alceno que elui depois de **i** menos número de carbonos do alceno que elui antes de **i**;

tr_i = tempo de retenção de **i**;

tr_n = tempo de retenção do alceno que elui antes de **i**;

tr_m = tempo de retenção do alceno que elui depois de **i**.

Os percentuais de cada composto na mistura dos óleos analisados foram obtidos pelas integrações das áreas geradas, sendo os resultados expressos em percentual proporcional de área (método de normalização).^{162,163}

3.1.2.2 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE

A análise dos extratos vegetais foi realizada em CLAE no aparelho de marca Agilent, Modelo 1260; composto por injetor automático termostaticado; temperatura do forno: 25°C (+ ou - 1°C); Detector Arranjo de Diodos (DAD); coluna marca ZORBAX Eclipse XDB C-8 (4,6 X 150 mm, 3,5µm); pré-coluna marca ZORBAX Eclipse XDBC-8 (4,6 X 12,5mm, 5 µm).

As condições cromatográficas utilizadas na análise dos padrões e dos extratos foram:

- modo gradiente:
 - ✓ Solvente A: H₂O 14,9%: MeOH 85%, 0,1% CH₃CO₂H;
 - ✓ Solvente B: H₂O 84,9%:MeOH 15%, 0,1% CH₃CO₂H,
- fluxo da coluna: 1mL.min⁻¹;
- volume injetado de 20 µL;
- tempo de análise 50 min.

3.1.2.3 Cromatografia em Camada Delgada

¹⁶² COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. Introdução a Métodos Cromatográficos, Editora da Unicamp, 1997.

¹⁶³LANÇAS, F.M. Cromatografia em fase gasosa, São Carlos, 1993.

As Cromatografias em Camada Delgada (CCD) foram efetuadas em cromatofolhas de alumínio como suporte e sílica gel 60 F₂₅₄ como adsorvente. As fases móveis correspondem as mais variadas misturas de solventes, descritas na literatura, para a adequação de cada situação específica. As cromatoplasmas foram reveladas através de lâmpadas ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm Spectroline). Em seguida, as cromatoplasmas foram borrifadas com solução de ácido sulfúrico/álcool etílico (10/90, v/v), solução cloreto de ferro III 1% álcool etílico, o reagente anisaldeído sulfúrico para detecção de terpenóides, propilpropanóides, esteróides e o reagente produto natural/polietilenoglicol (NP-PEG), específico para flavonóides seguido de tratamento térmico.

3.1.2.4 Cromatografia em Coluna

Nas Cromatografias em Coluna (CC), utilizou-se sílica-gel tipo 60 da Merck, com 70-230 e 230-400 mesh, como adsorvente.

Para a purificação dos compostos utilizou-se a cromatografia em placa preparativa, usando-se sílica gel 60 GF 254 (Sorbent).

Como sistema eluente utilizou-se gradientes de hexano e acetato de etila ou gradiente hexano e acetona. As frações foram coletadas em frascos de vidro com capacidade de 30,0 mL. Para a purificação dos compostos, utilizaram-se processos de lavagem e cristalizações em solventes adequados.

3.1.3 Solventes e reagentes purificados

Os solventes e reagentes utilizados no desenvolvimento das atividades relativas às extrações, partição líquido-líquido, cromatografia em camada delgada e cromatografia em coluna, foram reagentes analiticamente puros Vetec, Nuclear e Tedia, também utilizados para modificação estrutural. Em alguns casos, foram aplicadas técnicas específicas de purificação

de solventes, obtendo-se assim, maior grau de pureza de acordo com procedimentos descritos na literatura.¹⁶⁴

Os principais solventes utilizados neste trabalho foram os seguintes: hexano, acetato de etila, éter etílico, acetona, diclorometano. Os de nível técnico que receberam tratamento para melhorar suas condições tanto de umidade como de possíveis contaminantes foram:

- hexano: refluxado e destilado sobre óxido de cálcio;
- acetato de etila: refluxado sobre CaCl₂ e destilado;
- diclorometano refluxado sobre CaCl₂ e destilado;
- éter etílico: refluxado sobre NaOH e destilado;
- metanol: refluxado sobre óxido de cálcio e destilado.

Os solventes utilizados na preparação de amostras para cromatografia gasosa foram de grau cromatográfico. Os padrões de alcanos lineares de C₇-C₂₃ com grau de pureza foram adquiridos da Aldrich.

3.2 Coleta e preparação do material vegetal

A coleta do material vegetal foi realizada em dois locais diferentes, sendo a maioria das coletas realizadas no campus da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí, no município de Ijuí, localizado na Região Noroeste-RS e no interior do município de Santana do Livramento na Região Sul-RS entre o período 2005-2011.

As espécies estudadas, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus molle*, *Schinus polygamus*, *Schinus lentiscifolius* foram identificadas pela botânica Dr. Mara Lisiane Tissot Squalli, do Departamento de Biologia e Química (DBQ/Unijuí). Material testemunha encontra-se depositado no herbário Rogério Bueno do Departamento de Biologia. *Schinus terebinthifolius* (registro 5.810), *Schinus lentiscifolius* (registro 6.376), *Schinus polygamus* (registro 6375), e *Schinus molle* (registro 6379).

Destas espécies, foram coletadas amostras de folhas, frutos e flores frescas de *S. lentiscifolius*, folhas e frutos de *S. terebinthifolius* e *S. polygamus* e apenas folhas de *S. molle*, com massas variando entre 100 e 420 g. As coletas foram de forma aleatória em toda a copa

¹⁶⁴ PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. **Purification of Laboratory Chemicals**, 2ª Ed. Pergamon Press, 1980.

da árvore, em diversas épocas do ano, priorizando-se o período da manhã. O material fresco foi encaminhado para extração do óleo essencial. O resumo dos procedimentos experimentais adotados para realização do trabalho está representado na Figura 16 para as espécies estudadas e na Figura 17 para espécie *S. lentiscifolius* extrato bruto.

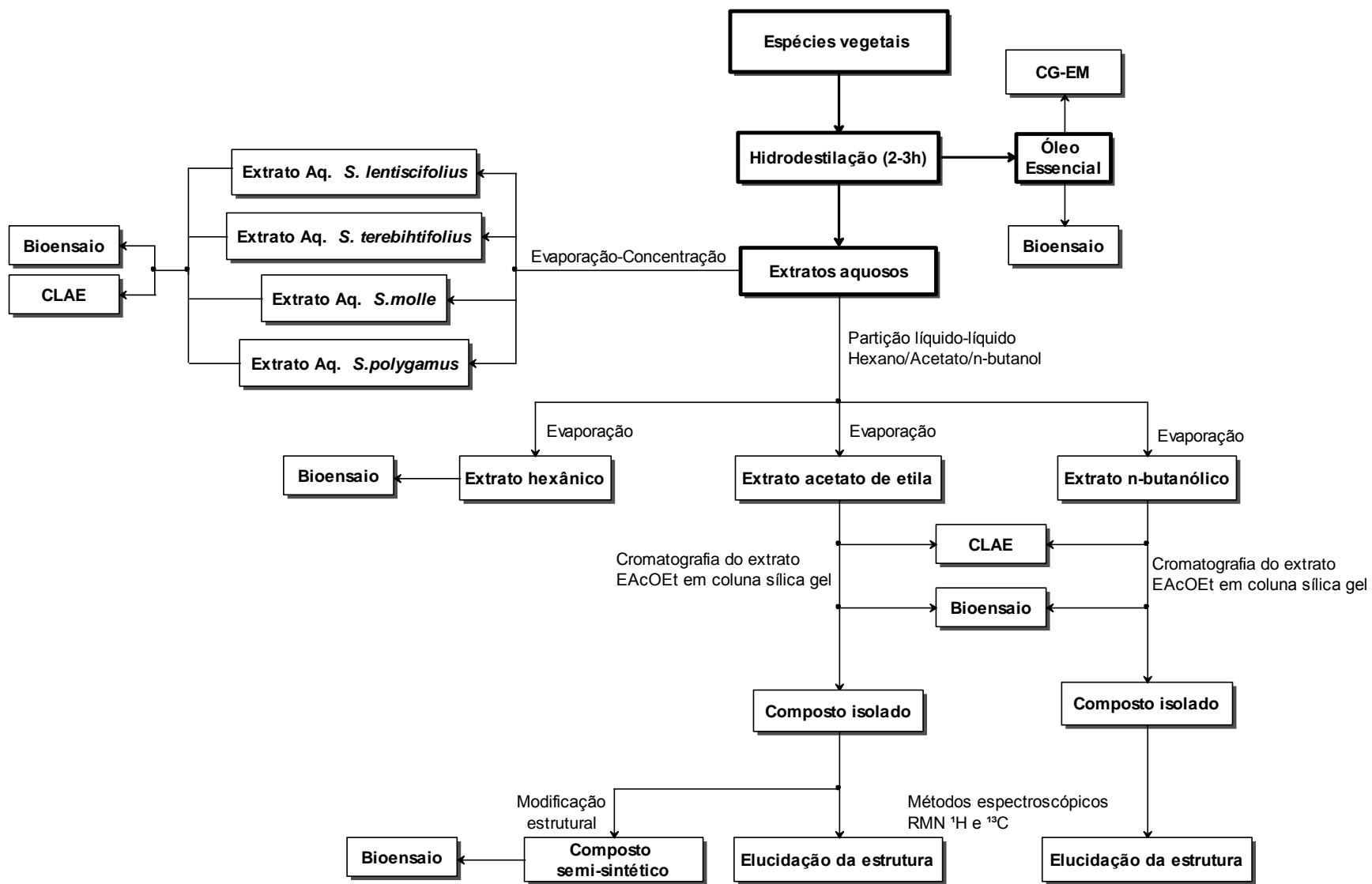


Figura 16. Fluxograma dos procedimentos experimentais adotados na execução do trabalho.

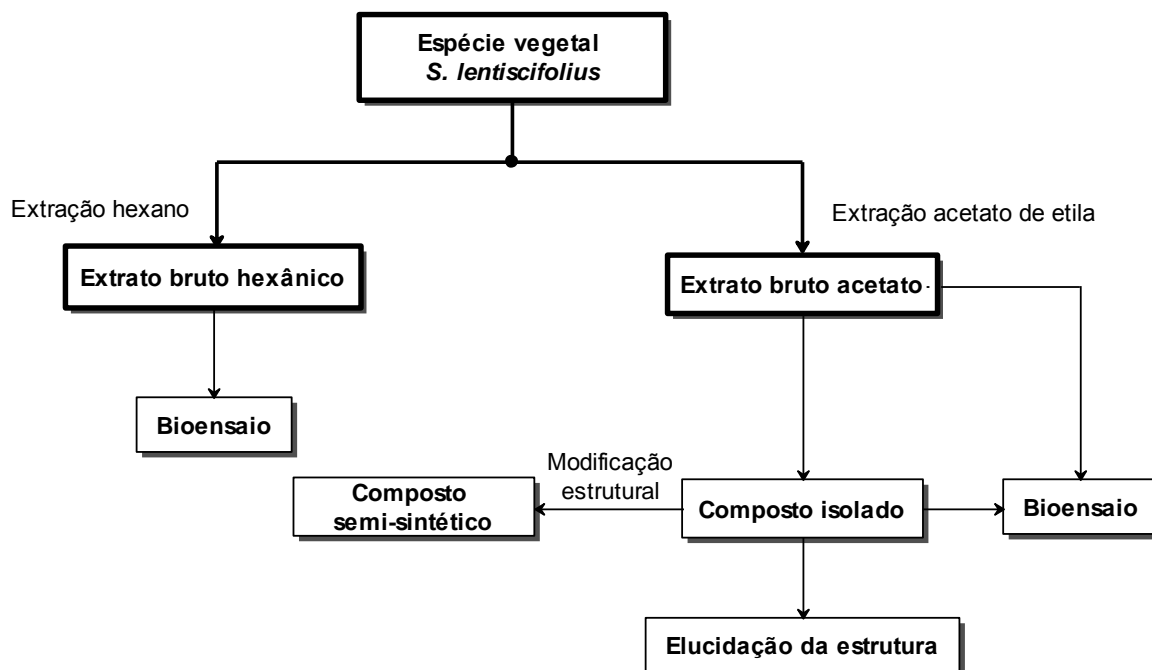


Figura 17. Fluxograma dos procedimentos experimentais realizados na execução do trabalho.

3.3 Extração do óleo essencial

As amostras de folhas, frutos e flores das quatro espécies estudadas, foram devidamente pesadas e submetidas à hidrodestilação utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado Figura 18 por um período 2-3 horas consecutivas, conforme as normas adaptadas da Farmacopéia Brasileira.¹⁶⁵ Os óleos foram coletados em frasco contendo éter etílico, a fase orgânica foi extraída. O óleo volátil foi seco com Na₂SO₄ anidro, filtrado para eliminar resíduos sólidos, e o solvente orgânico eliminado através de fluxo de nitrogênio até massa constante. As amostras de óleo das folhas e frutos de *S. lentiscifolius* e *S. terebinthifolius* foram coletadas em tempos diferentes, a cada 40 minutos, durante a extração para posterior análise biológica. Os óleos foram acondicionados em frascos apropriados com tampa de silicone, abrigados da luz e guardados em geladeira sob temperatura média de 4°C. Os rendimentos foram calculados com base na massa dos óleos extraídos, em função das massas do material fresco (m/m).

¹⁶⁵FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu. pt.2, p.16.1,1996.



Figura 18. Aparelho de Clevenger modificado, utilizado na extração dos óleos essenciais.

3.4 Preparação dos extratos vegetais, fracionamento e cromatografia

3.4.1 Fracionamento líquido-líquido dos extratos aquosos das quatro espécies estudadas

Após o processo de hidrodestilação para obtenção do material volátil, o resíduo aquoso foi filtrado e parte dos extratos aquosos (1/3) evaporados até a secura, obtendo-se os respectivos extratos aquosos. A outra parte (2/3) do extrato aquoso resultante da hidrodestilação das folhas (100 mL) foi submetida a uma partição com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade (hexano, acetato de etila e n-butanol). Para cada uma das extrações foram utilizados (3 x100 mL) de cada solvente. As fases orgânicas foram reunidas e os solventes evaporados em evaporador rotatório sob pressão reduzida, em banho-maria com temperatura controlada de 60° C durante todo o procedimento, originando os extratos hexânico, extrato acetato de etila (AcOEt), n-butanólico (n-BuOH) e aquosa. Os extratos foram armazenados sob refrigeração para avaliação biológica e comparados através de CLAE. Os extratos hexânico, parte foi usado para atividade biológica, e o restante foi desprezado por ser constituído de uma pequena quantidade de material graxo.

3.4.2 Fracionamento dos extratos aquosos das folhas de espécies *Schinus*

3.4.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato acetato de etila (AcOEt) obtido aquoso de *S.lentiscifolius*

O extrato aquoso de AcOEt de *S. lentiscifolius*, (2,0g) foi cromatografado em coluna, utilizou-se 150 g de sílica gel 60 (70-30 mesh), como fase estacionária, e como sistema eluente iniciou-se com Hex puro passando para a mistura Hex:AcOEt, com aumento crescente de polaridade, até AcOEt puro. As frações coletadas em frascos de 30,0 mL foram analisadas em CCD e reunidas, resultando em sete frações, após avaliação de suas características frente à exposição à radiação ultravioleta (UV) e coloração após pulverização com reveladores, como anisaldeído sulfúrico, cloreto férrico em EtOH 5%, conforme a Tabela 1. Detectou-se neste fracionamento, que as frações eluídas em Hex:AcOEt (80:20) continham um composto que apresentou teste positivo com cloreto férrico. A evaporação das frações resultou em 941 mg de um sólido de coloração escura fração II. Esta fração foi novamente fracionada em uma coluna cromatográfica utilizando-se sílica gel e hexano-acetato como sistema eluente. Desta coluna, foram obtidas doze frações, sendo que a fração IV, eluída com Hex:AcOEt (30:70), originou um produto que apresentou teste positivo com o reagente FeCl₃. A fração foi evaporada (60 mg), e como o componente principal não estava puro, foi submetido a uma separação por cromatografia em placa preparativa. Parte deste sólido (60 mg) foi submetido a uma cromatografia em camada delgada preparativa, utilizando-se como solvente uma mistura de AcOEt:MeOH (95:05), duas eluições, obtendo-se um sólido amarelo (20 mg), que apresentou teste positivo com cloreto férrico. Este composto, denominado de FLA-1(**115**), foi submetido às análises de RMN de ¹H e de ¹³C, e de massas.

As frações mais polares, eluídas com Hex:AcOEt (30:70-20:80) e analisadas em CCD com um componente principal que reagia positivamente com cloreto férrico, foram reunidas e o solvente evaporado. As frações reunidas resultaram em um resíduo claro ao qual foi adicionada uma mistura de éter de petróleo-clorofórmio-acetona. Formou-se um precipitado incolor depois de seguidas lavagens com esta mistura de solvente. Após a filtração, obteve-se um sólido amorfo. A substância obtida foi comparada através de CCD e CLAE com padrões, e a estrutura foi confirmada por RMN de ¹H e ¹³C como sendo o ácido gálico (**120**).

Tabela 1. Frações da cromatografia do extrato aquoso acetato de etila folhas *S. lentiscifolius*.

Fração	Sistema de solvente	Aspecto frações	Massa (g)
I	Hex	Material oleoso	0,230
II	Hex:AcOEt (80:20)	Mistura N.I+FLA-1	0,941
III	Hex:AcOEt (50:50,40:60)	Mistura N.I	2,000
IV	Hex:AcOEt (30:70,20:80)	Mistura + sólido branco	1,670
V	Hex:AcOEt (10:90)	Mistura amarelo/esverdeado	2,080
VI	AcOEt:MeOH (95:05)	Resíduo marron	2,430
VII	AcOEt:MeOH (90:10)	Resíduo escuro	2,030

3.4.2.2 Obtenção do derivado esterificado do ácido gálico

Para comprovar sua estrutura e tornar o sólido mais solúvel nos solventes orgânicos mais usuais, o componente ácido foi submetido a uma reação de esterificação, utilizando metanol em meio ácido ou diazometano.

Protocolo 1. Reação de esterificação, Figura 19, em um balão de fundo redondo com capacidade para 50 mL, adicionou-se 1,9 mL de metanol anidro e 612 mg de ácido gálico (3,6 mmol). Esta solução foi homogeneizada sendo adicionado lentamente 0,1mL de H₂SO₄. A mistura foi mantida sob agitação em refluxo sob aquecimento durante quatro horas e acompanhada por CCD, utilizando-se como eluente, Hex:AcOEt (80:20). Após reação completa a mistura foi resfriada em banho de gelo transferida, para funil de extração e extraída com diclorometano por três vezes (3 x 15,0 mL). As frações orgânicas depois de reunidas foram lavadas com água destilada (3 x 15,0 mL). A mistura foi lavada com solução de bicarbonato de sódio NaHCO₃ a 5% (3 x 15,0 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro Na₂SO_{4(s)}, filtrada e evaporada pela passagem de nitrogênio, obtendo-se um sólido claro que rendeu 473 mg (2,57 mmol), 70% do produto da reação. A estrutura foi confirmada por RMN de ¹H e ¹³C como sendo o éster metílico do ácido gálico (**118**).

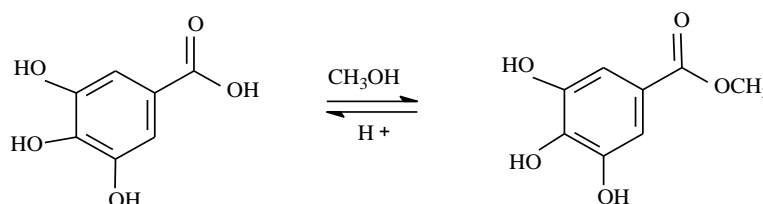


Figura 19. Reação de esterificação do ácido gálico

Protocolo 2. Em um balão de 25 mL, com agitador magnético, colocou-se 20 mg de ácido gálico e, a frio (banho de gelo), adicionou-se um excesso de diazometano (15 mL) em éter etílico. Deixou-se a reação sob agitação por duas horas (controle CCD). Após a reação completa, o solvente foi eliminado e o produto da reação cristalizado em acetato-hexano. Obteve-se 18 mg do éster correspondente (83,14%).

3.4.2.3 Fracionamento cromatográfico do extrato aquoso butanólico de *S. molle*

Uma vez constatada, através da análise por CLAE, a presença de substâncias fenólicas e flavonóides no extrato aquoso butanólico, procedeu-se a separação cromatográfica. O extrato aquoso butanólico de *S. molle* (1,0g) foi submetido a um fracionamento em coluna cromatográfica utilizando-se sílica gel, como fase estacionária, e AcOEt:MeOH, gradiente, como sistema eluente. Obtiveram-se doze frações desta coluna, sendo que a fração sete, eluída com AcOEt:MeOH (93:07) era composta principalmente por um composto, que reagiu positivamente com FeCl₃, indicando ser um flavonóide. Evaporação desta fração e após adição de metanol formou um sólido de cor amarela pouco solúvel a frio. Este precipitado foi filtrado e seco sob vácuo. Análise de seus dados físicos e espectroscópicos, bem como a determinação do ponto de fusão identificou como sendo o flavonóide quercetina (**90**). A fração dez e onze, eluídas com AcOEt:MeOH (80:20) originou uma fração (50 mg) constituída por um componente principal e outros minoritários. O componente principal reagiu positivamente com reagente FeCl₃. Como se tratava do componente de maior polaridade da mistura optou-se por utilizar coluna recheada com fase reversa (C-18) para sua separação. Como solvente, utilizou-se um gradiente de MeOH:H₂O (70:30) até MeOH 100%. Obtiveram-se seis frações, sendo o componente principal encontrado nas frações dois e três. Evaporou-se a fração sob alto vácuo, obtendo-se 24 mg de um sólido amarelado de PF:192-194 °C, cuja análise de RMN de ¹H e de ¹³C, sugere a estrutura do flavonóide rutina (**117**).

3.4.3 Preparação e fracionamento do extrato orgânico das folhas de *S. lentiscifolius*

As folhas (420g) de *S. lentiscifolius*, coletadas no campus da Unijuí, Ijuí, foram inicialmente extraídas com Hex para eliminar gorduras, seguido da extração com AcOEt, obtendo-se o extrato bruto. O solvente foi evaporado a pressão reduzida, obtendo-se 16,07 g de um resíduo escuro, denominado de extrato bruto acetato de etila das folhas. Deste extrato, 15,57 g foram fracionadas em coluna cromatográfica utilizando-se 310 g de sílica gel 60 H (70-30 mesh) como suporte sólido e gradientes da mistura de Hex:AcOEt como sistema eluente. Desta coluna foram coletadas frações de 30,0 mL em frascos de vidro, agrupadas conforme suas semelhanças através da análise em cromatografia em camada delgada. Utilizou-se vários sistemas de solventes e as CCDs foram reveladas com lâmpada UV_{254nm} e UV_{365nm}, depois de borrifados os reagentes, cloreto férrico e anisaldeído sulfúrico, seguido de aquecimento a 50°C. Esta análise resultou em doze frações, conforme a Tabela 2. Todas as frações reunidas apresentaram impurezas. A fração II (316 mg), composta por uma série de metabólitos minoritários e um majoritário, foi submetido a uma separação por CC, utilizando-se de sílica gel como fase sólida e um gradiente de hexano-acetona como sistema eluente. A fração ao ser eluída com Hex:Acetona (95:05) forneceu o componente majoritário puro (CCD, H₂SO₄-EtOH). Este composto foi submetido à análise para a determinação de sua estrutura e foi identificado como sendo um álcool de cadeia longa (**119**).

A fração IV (868mg) da coluna inicial era constituída de um resíduo verde e de um componente sólido branco. Tentativas de se obter este componente através de cristalizações resultaram, em sucesso, pela utilização de uma mistura de acetona-éter etílico. Desta forma precipitou o componente branco e o resíduo verde ficou solúvel no solvente. Repetiu-se o procedimento com a água mãe até a purificação de todo componente sólido de interesse. Esta substância foi analisada através do ponto de fusão, e, submetidas às análises espectroscópicas. Este componente foi identificado como sendo o triterpeno conhecido como ácido morônico (**120**).

Tabela 2. Frações da cromatografia em coluna do extrato bruto de acetato de etila das folhas *S. lentiscifolius* March.

Frações	Sist. Solvente	Aspecto das frações	Massa (g)
I	Hex:AcOEt (95:5)	Mistura amarela	0,565
II	Hex:AcOEt (92:8)	Mistura	0,316
III	Hex:AcOEt (92:8)	Mistura	0,230
IV	Hex:AcOEt (90:10-90:20)	Mistura + sólido incolor	0,868
V	Hex:AcOEt (80:20-70:30)	Mistura	0,941
VI	Hex:AcOEt (60:40-50:50)	Mistura escura	0,968
VII	Hex:AcOEt (40:60-30:70)	Mistura	0,730
VIII	Hex:AcOEt (20:80)	Mistura	4,183
IX	Hex:AcOEt (10:90)	Resíduo sólido	0,122
X	AcOEt (100)	Resíduo escuro	0,283
XI	AcOEt: MeOH (80:20)	Resíduo escuro	0,194
XII	MeOH (100)	Resíduo escuro	0,634

3.4.3.1 Modificação estrutural e obtenção de derivados do ácido morônico: redução da função cetona do ácido morônico

O triterpeno ácido morônico foi utilizado como material de partida para modificações estruturais. Em um balão de fundo redondo de 10,0 mL foram colocados ácido morônico (20 mg), etanol absoluto (5 mL) e NaBH₄ em excesso. Deixou-se agitando a temperatura ambiente durante 3 horas (controle por CCD). Após o consumo do substrato, observou-se em CCD a formação de dois produtos, de R_fs muito próximos, abaixo do substrato. A reação foi finalizada pela adição de água (5,0 mL), evaporação do etanol em rotaevaporador e, em ampola de separação, o produto da reação foi extraído com acetato de etila (3 x 5 mL). Após, o solvente orgânico foi lavado com uma solução de HCl 2N, água, e o solvente seco em sulfato de sódio. O resíduo foi filtrado e o solvente evaporado. O resíduo (21 mg) foi submetido a um fracionamento cromatográfico utilizando-se sílica-gel (2 g) e hexano 100% e hexano-acetona gradiente como sistema eluente. Obteve-se 10 frações, e os dois álcoois resultantes foram separados puros nas frações III-V, com o mesmo sistema de solvente Hex:Acetona (90:10). As frações foram evaporadas, obtendo-se o componente majoritário, ácido morólico (**121**) (14 mg) e o minoritário ácido 3-*epi*-morólico (**122**) (4,0 mg), numa relação próxima 1:3. A reação descrita pode ser representada pela Figura 20.

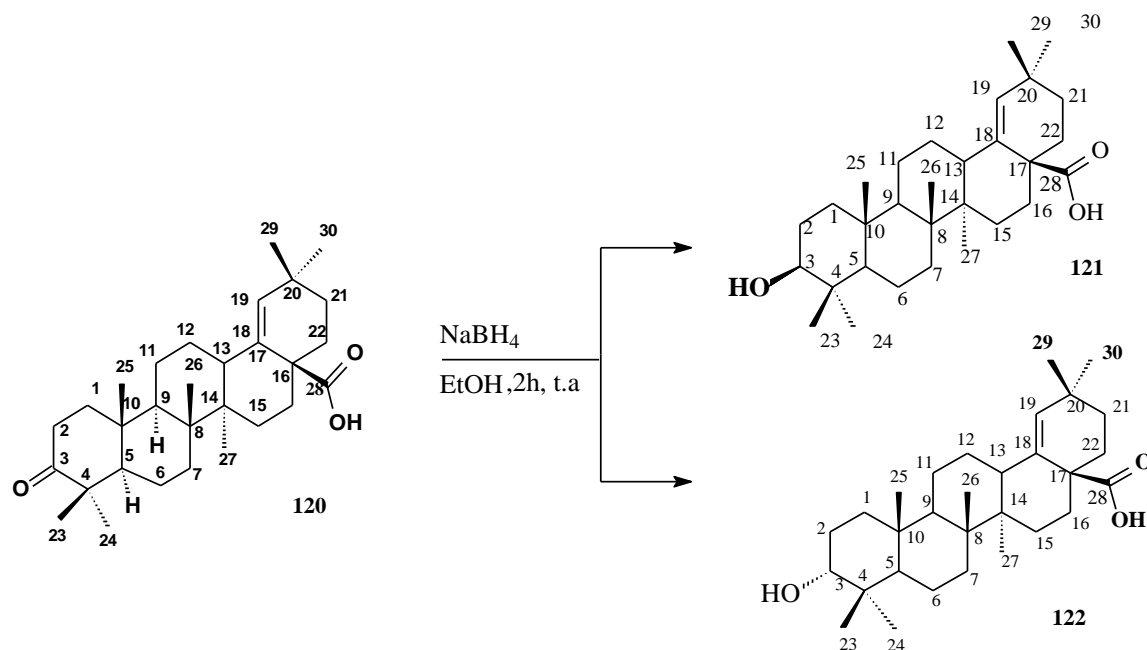
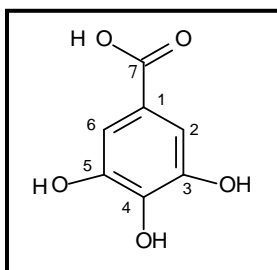


Figura 20. Reação do ácido morônico (**120**) produto ácido morólico (**121**) e ácido 3-*epi*-morólico (**122**).

3.5 Dados físicos e espectroscópicos dos metabólitos isolados

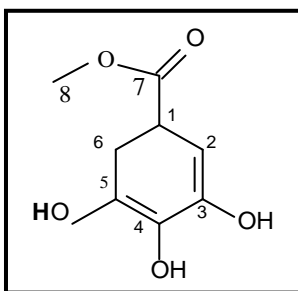
FLA-1 (115): sólido amarelo; PF: 290-293 °C com decomposição. MS (ESI⁺): m/z 539,2 [M+H] para C₃₀H₁₉O₁₀; RMN ¹H a 400,13 MHz, MeOD: 7,87 (2H, d, J=8,4Hz), 7,52 (2H, d, J=8,8 Hz), 6,95 (2H, d, J= 8,8 Hz), 6,74 (2H, d, J=8,4 Hz), 6,69 (1H, s), 6,63 (1H, s), 6,58 (1H, s), 6,39 (1H, s).RMN de ¹³C a 100,62 MHz, MeOD: 183,3, 183,9, 184,3, 183,9, 166,3, 166,1, 164,3, 164,0, 162,6, 162,3, 161,4, 159,1, 157,0, 129,4 (CH), 129,2 (CH), 123,6, 123,4, 117,14, 116,9, 105,7, 105,4, 104,8, 104,1 (CH), 103,6 (CH), 100,3, 100,1, 94,8.

Ácido Gálico (116): sólido branco; PF: 250 °C; (Lit. 250-252 °C)¹⁶⁶ Rf: 0,63 em acetato de etila; ácido fórmico: água (95:5:5); RMN ¹H a 400,13 MHz, (CD₃)₂CO: δ 7,152 (2H, s, H-2 e H-6); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, (CD₃)₂CO: δ 111,07 (C-2 e C-6), 122,94 (C-1), 139,61 (C-4), 146,91(C-5 e C-3), 169,07 (C-7).¹⁶⁶



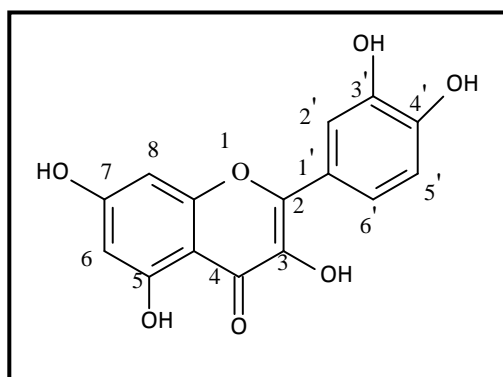
¹⁶⁶BACKHEET, E.Y. Gallotannin and flavonoid glycosides from the stem bark of *Acer negundo* (L.). **Bulletin of Pharmaceutical Sciences**, 2003, v. 26, n.1, p. 77-82.

Galato de metila (118): sólido branco amorfo; PF: 202 °C; (Lit. 201-203 °C),¹⁶⁷ RMN ¹H a



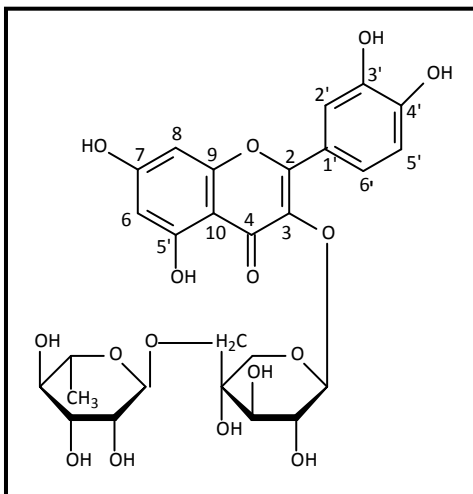
400,13 MHz, (CD₃)₂CO: δ 7,15 (2H, s, H-2 e H-6), 3,78 (3H, s, H-8); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, (CD₃)₂CO: δ 110,71 (C-2 e C-6), 122,78 (C-1), 139,74 (C-4), 147,08 (C-5 e C-3), 168,20 (C-7).¹⁶⁷

Quercetina (90): pó amarelo; PF: 310-316 °C; (Lit. 310-312 °C),¹⁶⁸ RMN ¹H a 400,13 MHz,



MeOD: δ 7,71 (1H, d, J= 2Hz), 7,60 (1H, dd, J=2,0; 8,4 Hz), 6,88 (1H, d, J= 8,4Hz), 6,37 (1H, d, J= 2,0Hz), 6,17 (1H, d, J= 2,0Hz). RMN de ¹³C a 100, 62 MHz, MeOD: δ 177 (CO), 165,5, 151,4, 158,2, 148,7, 147,9, 146,2, 137,2, 124,1, 121,7, 116,2, 116,0, 104,5, 99,2, 94,4.

Rutina (117): sólido amarelo; PF: 192-194°C. RMN ¹H a 400,13 MHz, MeOD: δ 7,67 (1H, d,



J= 2Hz), 7,63 (1H, dd, J=2,0; 8,4 Hz), 6,88 (1H, d, J= 8,4Hz), 6,40 (1H, d, J= 2,0Hz), 6,22 (1H, d, J= 2,0Hz), 5,10 (1H anom, d, J=7,6 Hz), 3,82 (1H, dd, J=1,2 e 10Hz), 3,64 (1H, m), 3,64-3,33 (9 hidrogênios), 1,16 (3H, d, J= 6,4Hz, Me). RMN de ¹³C a 100, 62 MHz, MeOD: 179,5 (C=O), 165,6, 162,6, 156,3, 158,5, 149,7, 145,8, 135,7, 123,6, 123,3, 117,8, 116,1, 105,8, 104,7, 102,4, 100,0, 94,9, 78,3, 77,3, 75,8, 74,0, 72,4, 72,1, 71,5, 69,7, 68,6, 17,8.

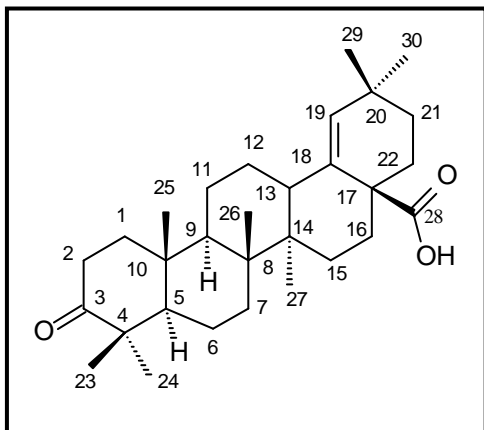
Álcool graxo (119): sólido branco, PF: 77-78°C. MS (ESI-) m/z 284,74 para C₁₉H₄₀O. RMN ¹H a 400,13 MHz: RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: 63,12 (CH₂OH), 33,78 (CH₂), 32,90

¹⁶⁷ NAWWAR, M.A.M.; BRDDRUS, J.; BAUER, H.H. Dimeric phenolic constituents from the roots of *Tamarix nilotica*. **Phytochemistry**, 1982, v. 21, p. 1755-1758.

¹⁶⁸ KORUL'KINA, L. M.; SHUL'TS, E. E.; ZHUSUPOVA, G.E.; ABILOV, Z.A.; ERZHANOV, K.B.; CHAUDRI, M.I. Biologically active compounds from *Limonium gmelinii*. **Chemistry of natural products**, 2004, v. 40, n. 5, p. 465-471.

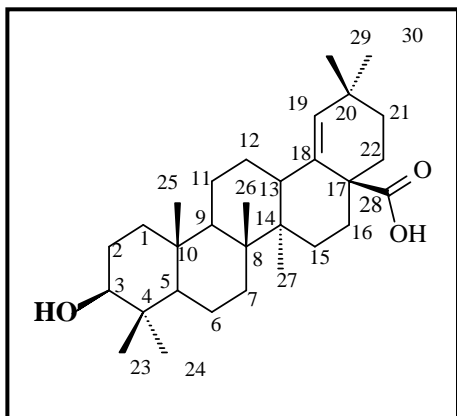
(CH₂), 31,95 (CH₂), 29,71-29,14 (11 CH₂), 25,81 (CH₂), 24,81 (CH₂), 22,67 (CH₂), 14,01 (CH₃).

Ácido morônico (120): sólido cristalino inolor; PF: 210-211 °C; (Lit. 210-212 °C);¹⁶⁹ Rf: 0,2



em Hex-AcOEt (90:10); RMN ¹H a 400,13 MHz, CDCl₃: δ 2,47 (2H, m, H-2), 5,16 (1H, s, H-19), 1,08, 1,02, 0,95, 1,01, 0,79, 0,99, 0,97 (3H, CH₃-23, -24, -25, -26, -27, -29, -30), 1,14-2,27 (m, demais hidrogênios); RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 39,78 (C-1), 33,97 (C-2), 218,24 (C-3), 47,21 (C-4), 54,85 (C-5), 19,58 (C-6), 33,48 (C-7), 40,51 (C-8), 50,40 (C-9), 36,87 (C-10), 21,44 (C-11), 25,95 (C-12), 41,37 (C-13), 42,54 (C-14), 25,31 (C-15), 33,74 (C-16), 47,89 (C-17), 136,53 (C-18), 133,11 (C-19), 31,99 (C-20), 33,41 (C-21), 33,26 (C-22), 26,80 (C-23), 20,87 (C-24), 16,42 (C-25), 15,78 (C-26), 14,76 (C-27), 182,43 (C-28), 30,28 (C-29), 29,03 (C-30).¹⁶⁹

Ácido morólico (121): sólido branco; PF: 200-201 °C; (Lit. 197-199 °C) RMN ¹H a 400,13

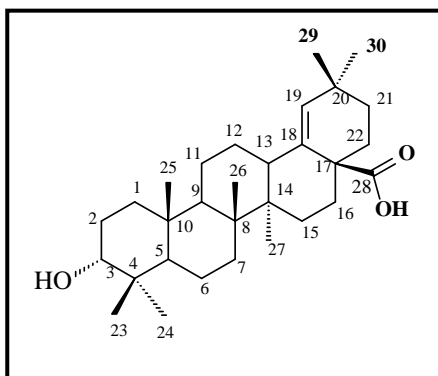


MHz, CDCl₃: 5,16 (1H, s, H-19), 3,20 (1H, dd, J = 5,2; 11,2), H-3), 0,99, 0,98, 0,97, 0,96, 0,85, 0,77, 0,76 (7 CH₃, -23, -24, -25, -26, -27, -29, -30), 1,14-2,20 (demais hidrogênios), RMN de ¹³C a 100,62 MHz, CDCl₃: δ 40,71 (C-1), 33,97 (C-2), 79,02 (C-3), 47,98 (C-4), 55,55 (C-5), 20,94 (C-6), 33,54 (C-7), 42,61 (C-8), 51,20 (C-9), 37,26 (C-10), 21,44 (C-11), 26,01 (C-12), 41,38 (C-13), 42,61 (C-14), 25,31 (C-15), 33,49 (C-16),

47,98 (C-17), 136,84 (C-18), 133,19 (C-19), 23,05 (C-20), 33,49 (C-21), 33,40 (C-22), 27,4 (C-23), 20,94 (C-24), 16,64 (C-25), 16,02 (C-26), 15,38 (C-27), 181,04 (C-28), 30,33 (C-29), 29,40 (C-30).¹⁶⁹

¹⁶⁹RIOS, M. Y.; SALINAS D.; VILLARREAL, M. L. Cytotoxic Activity of Moronic Acid and Identification of the New Triterpene 3, 4-seco-Olean-18-ene-3,28-dioic Acid from *Phoradendron reichenbachian*. **Planta Med.**, 2002, 67,443±446.

Ácido 3-*epi*-morólico (122): sólido branco amorfo. PF: 243-245 °C. RMN ¹H a 400,13 MHz,



CDCl₃: 5,20 (1H, s, H-19), 3,40 (1H, s), 1,02, 0,99, 0,98, 0,93, 0,87, 0,82, 0,79(7 CH₃, -23, -24, -25, -26, -27, -29, -30), 1,10-2,50 (demais hidrogênios).

3.6 Atividade antimicrobiana *in vitro*

3.6.1 Microrganismos empregados nos ensaios

A atividade antimicrobiana dos óleos, suas frações e dos extratos das espécies estudadas e de metabólitos puros foi realizada utilizando cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC), constituídas de microrganismos Gram (+), Gram (-) e fungos conforme Tabela 3.

As substâncias utilizadas como referências foram: Cloranfenicol, para bactérias, potência (978.9 UI/mg); Nistatina, para fungos, potência (2464.38 UI /mg), padrões primários da Universidade de São Paulo (USP), preparados conforme *Food and Drug Administration* (FDA).¹⁷⁰

¹⁷⁰ Food and Drugs Administration: Code of Federal Regulations, 1991, cap. 21, p. 300.

Tabela 3. Microrganismos padrão ATCC utilizados nos testes.

BACTÉRIAS GRAM POSITIVAS:	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538p
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	ATCC 15305
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS:	
<i>Salmonella setubal</i>	ATCC 19796
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25792
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 10031
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
FUNGOS (LEVEDURAS):	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	ATCC 2601
<i>Cryptococcus neoformas</i>	ATCC 28952

3.6.2 Meios de cultura

Os meios de cultura, Tabela 4, usados foram pesados, dissolvidos em água destilada, fervidos e esterilizados em autoclave a 121 °C por vinte minutos. Após a esterilização, os tubos foram mantidos inclinados até a sua solidificação.

Tabela 4. Meios de cultura dos microorganismos

Ágar Simples	
Caldo Nutriente	8,0 g
Ágar-ágar	15,0 g
Água destilada	1000,0 mL
Ágar Sabouraud	
Peptona	10,0 g
Dextrose	40,0 g
Ágar-ágar	15,0 g
Água destilada	1000,0 mL

3.6.3 Preparo das suspensões dos microrganismos (inóculo)

Com o auxílio de uma alça de platina esterilizada foram transferidas culturas recentes dos microrganismos indicadores para tubos de ensaio contendo 5,0 mL de solução salina a 0,8 %. O inóculo foi padronizado pela comparação desses com o do tubo padronizado 0,5 da escala nefelométrica de McFarland que corresponde aproximadamente a $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colônia por mL).

3.6.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima pelo método de microdiluição

Os ensaios antimicrobianos foram realizados no Laboratório de Microbiologia do NPPN, do Departamento de Química da UFSM. A técnica empregada para a realização dos ensaios foi descrita pela *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*¹⁷¹ com algumas modificações^{1,172}. Os testes foram realizados em microplacas de poliestireno, com uma série de diluições das amostras em meio ao caldo caseína de soja e Sabouraud, contendo 2% do surfactante Tween 80, iniciando-se com a concentração de 20 mg/mL de amostra. Os poços foram incubados com a suspensão microbiana com intensa homogeneização e as placas incubadas por um período de 24 horas a 35-37°C para bactérias e, por 48 horas a 25-27°C para fungos. Após o período de incubação, observou-se o crescimento microbiano, indicado pelo aparecimento de turvação. Através deste método qualitativo, determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM), ou seja, a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano.

Para a revelação das placas, adicionou-se 10 µL de TTC 0,5% em cada poço e obteve-se coloração avermelhada onde havia crescimento bacteriano.

Culturas de microrganismos que não apresentaram crescimento nos poços foram novamente inoculadas em placas de Petri com ágar determinada a concentração bactericida

¹⁷¹NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

¹⁷²HAMMER, K.A., CARSSON, C.F., RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, v. 86, p. 985-990.

(CBM) ou fungicida mínima (CFM) ou menor concentração sem qualquer crescimento microbiano na placa.

Os testes foram realizados em triplicatas e sempre efetuados a análise do padrão cloranfenicol ou nistatina, simultaneamente. As placas também tinham controle de branco (CB) e de crescimento microbiano (controle de inóculo, CI).

3.7 Determinação da atividade antioxidante

Foram utilizados dois métodos para avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais e extratos. Em um ensaio qualitativo, aplicou-se o método do radical livre DPPH, descrito por Hostettmann e que é realizado por meio de um “screening” das amostras testadas. Outro método empregado foi o quantitativo, realizado pela medida da leitura da absorbância das amostras contra uma amostra em branco e um padrão o di-terc-butil metil fenol (BHT)¹⁷³.

3.7.1. Método do radical livre – ensaio qualitativo

Para a execução deste ensaio, as amostras a serem testadas foram solubilizadas em metanol, aplicadas pontualmente em cromatoplasmas na concentração de 30 µg/mL e eluídas em solventes adequados conforme suas polaridades. O DPPH (solução metanólica de 0,2%) é aplicado por borrifação sobre as cromatoplasmas que adquirem a coloração violeta do DPPH. Então, estas são mantidas em repouso de 30 minutos a 1 hora. As amostras testadas, quando ativas, descolorem o DPPH formando manchas claras sobre a placa violeta, que são avaliadas como atividade antioxidante positiva.

¹⁷³HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. A procura dos princípios ativos. In *Princípios ativos de plantas superiores*. São Carlos: UFSCAR, 2003, v. IV, 43-58, p.152.

3.7.2 Método do radical livre – ensaio quantitativo

Quando a capacidade antioxidante é avaliada como positiva pelo método qualitativo, é efetuado o teste quantitativo. Desta forma as amostras testadas e o padrão BHT foram preparados nas concentrações de 20 µg/mL em etanol solução estoque. Em seguida, 0,5 mL das amostras foram transferidas para tubos de ensaio em que se adicionou 1,0 mL de etanol, procedendo-se as diluições seriadas até obter as concentrações de 500,0 a 3,09 µg/mL. A cada diluição foram acrescentados 0,5 mL de solução de DPPH (0,004%). As amostras permaneceram à temperatura ambiente por 30 minutos sob proteção da luz. Após este tempo, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS (517 nm) para medir a redução do radical livre DPPH contra uma amostra em branco preparada para cada diluição. Empregou-se uma solução de etanol (1,0 mL) acrescentado de 0,25 mL de solução metanólica 0,004% de DPPH como controle (sendo 0% de inibição).

A porcentagem de inibição para avaliar a atividade de captura do radical pelas amostras testadas é calculada pela fórmula demonstrada na equação:

$$\% \text{ inibição} = [(A_c - A_a) / A_c] \times 100,$$

Onde **A_c** é a absorbância da solução controle e **A_a** é a absorbância da amostra testada no tempo de 30 minutos.

A IC₅₀ (concentração que causa 50% de inibição do radical livre DPPH) foi obtida, através de regressão linear a partir das médias das porcentagens. Os valores obtidos foram graficados na forma de porcentagem de decréscimo da absorbância de DPPH em função da concentração da solução teste, onde se determinou a concentração necessária para diminuir a concentração do DPPH em 50 % (IC₅₀) nas soluções testadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados do trabalho realizado com as espécies de plantas selecionadas.

Para melhor entendimento, dividiu-se o capítulo em subcapítulos, que serão apresentados na seguinte ordem:

- análise química dos componentes voláteis dos óleos essenciais obtidos das espécies selecionadas;
- análise dos extratos aquosos das quatro espécies selecionadas, isolamento e identificação de seus constituintes;
- análise do extrato bruto da espécie *S. lentiscifolius*, isolamento e identificação de seus constituintes, derivatizações;
- avaliação da atividade biológica das espécies de *Schinus* estudadas:
 - ✓ atividade antimicrobiana;
 - ✓ atividade antioxidante.

4.1 Análise química dos componentes voláteis dos óleos essenciais obtidos das espécies selecionadas

As espécies de plantas estudadas neste trabalho fazem parte de várias outras espécies de interesse do NPPN de Santa Maria, objetivando o estudo de seus constituintes voláteis e fixos. As espécies selecionadas fazem parte da flora do Rio Grande do Sul e são utilizadas popularmente como medicinais.

4.1.1 Estudo do óleo volátil de folhas, frutos e flores de *S. lentiscifolius*

Folhas, frutos e flores frescas dessa espécie foram coletados em diferentes épocas do ano no período compreendido entre 2005-2010, nos municípios de Ijuí e Santana do Livramento. Os óleos voláteis foram obtidos por hidrodestilação, utilizando-se um extrator tipo Clevenger modificado. O rendimento médio para os óleos voláteis extraídos das folhas frescas variou entre 0,14-0,43%, dos frutos entre 1,19-2,13% e das flores 0,16%. O teor de óleo foi diferenciado comparando-se as diferentes partes coletadas do vegetal. A comparação entre os óleos extraídos das folhas em diferentes épocas do ano mostrou pequenas mudanças, como pode ser observado na Tabela 5. Pode-se observar que houve variação no teor de óleo volátil para a mesma espécie quando obtido em diferentes locais de coleta, o mesmo foi observado entre as diferentes coletas em um único local.

Tabela 5. Rendimento médio dos óleos voláteis obtidos por hidrodestilação de folhas, frutos e flores de *Schinus lentiscifolius* coletados em vários períodos no município de Ijuí e Santana do Livramento (RS)

Data de coleta	Procedência	Parte planta (g)	Massa vegetal (g)	Rend. óleo (%)
14 abr. 2005	Ijuí	Folha	200	0,35
14 dez. 2006	Ijuí	Folha	150	0,43
17 set. 2007	Ijuí	Folha	250	0,25
17 out. 2007	Ijuí	Folha	290	0,21
14 nov. 2007	Ijuí	Folha	492	0,20
21 jan. 2008	Ijuí	Folha	351	0,17
31 ago. 2009	Ijuí	Folha	280	0,18
4 jan. 2010	Ijuí	Folha	180	0,14
17 nov. 2010	Ijuí	Folha	245	0,16
22 mar. 2005	S. Livramento	Folha	120	0,63
20 set. 2005	S. Livramento	Folha	250	0,34
17 nov. 2010	Ijuí	Flor	350	0,17
26 dez. 2005	Ijuí	Fruto	335	1,46
14 dez. 2006	Ijuí	Fruto	150	2,13
31 dez. 2008	Ijuí	Fruto	330	1,19
04 jan. 2010	Ijuí	Fruto	103	1,56

Fonte: dados da pesquisa (2010).

O rendimento de óleo em ambas as amostras das folhas 0,34-0,63%, coletadas em Santana do Livramento, foi maior quando comparado ao teor de óleo obtido nas amostras de Ijuí. Esta variação no rendimento pode estar relacionada às diferentes distribuições

geográficas da espécie analisada. Relatos de estudos^{174,175, 176} evidenciam que estas variações podem estar relacionadas a mudanças climáticas, época e região de coleta, além das condições do solo, adubação, entre outras.

A literatura apresenta somente um registro anterior¹⁵⁹ a este trabalho relativo à composição química dos óleos de folhas de *S. lentiscifolius* para fins comparativos, não sendo encontrados relatos de rendimento do óleo das folhas e frutos.

4.1.1.1 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de amostras das folhas de *S. lentiscifolius* de Ijuí e Santana do Livramento (RS)

As hidrodestilações das folhas de *S. lentiscifolius* procedentes de Santana do Livramento e Ijuí (RS) foram realizadas em diferentes épocas no ano de 2005 com o propósito de comparar o perfil químico dos óleos voláteis. Os resultados da análise obtidos por CG-EM possibilitaram identificar os constituintes químicos presentes nos óleos voláteis em mais de 90% da área total dos componentes, conforme descrito na Tabela 6.

¹⁷⁴FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO L.G. AND SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragr. J.**, 2008, v. 23. p. 213-226.

¹⁷⁵CELIK TAS, O.Y.; KOCABAS, E.E.H.; BEDIR, E.; SUKAN, F.V.; OZEK, T.; BASER, K.H.C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, 2007, v. 100. p. 553-559.

¹⁷⁶GOODNER, K.L.; MAHATTANATAWEEA, K.; PLOTTO, A.; SOTOMAYOR, J.A.; JORDÁN, M.J. Aromatic profiles of *Thymus hyemalis* and Spanish *T. vulgaris* essential oils by GC-MS/GC-O. **Industrial Crops and Products**, 2006, v. 24, n. 3. p. 264-268.

Tabela 6. Compostos identificados e composição química (%) dos óleos essenciais das folhas de *S.lentiscifolius* Ijuí – S. Livramento (RS)

(continua)

Pico	Compostos(a)	Ik(b)	Ik(c)	S. Livramento			Identi- ficação
				Ijuí 13/04/05	22/03/05	20/09/05	
1	α -pineno	932	939	1,08	1,87	6,72	IK,EM,ST
2	α -fencheno	946	953	--	--	0,96	IK, EM
3	canfeno	949	954	0,64	0,17	1,05	IK, EM
4	sabineno	967	975	--	0,59	0,45	IK, EM
5	β -pineno	978	979	1,43	1,77	1,41	IK, EM,ST
6	mirceno	989	991	0,24	0,62	--	IK, EM
7	δ -2-careno	995	1002	0,48	--	--	IK, EM,ST
8	ρ -cimeno	1025	1025	0,16	0,22	0,23	IK,EM
9	limoneno	1029	1029	1,72	5,51	7,43	IK,EM,ST
10	terpinen-4-ol	1174	1177	--	0,5	0,57	IK,EM
11	α -terpineol	1185	1189	--	0,26	--	IK,EM
12	α -cubebeno	1348	1351	--	0,4	1,52	IK,EM
13	N.I	1377		--	--	0,49	IK,EM
14	α -copaeno	1375	1377	0,49	1,7	5,16	IK,EM
15	β -cubebeno	1386	1388	--	0,6	1,15	IK,EM
16	β -bourboneno	1386	1388	0,35	0,4	--	IK,EM
17	iso-longifoleno	1389	1390	--	--	0,34	IK,EM
18	β -elemeno	1390	1391	0,93	--	--	IK,EM
19	α -gurjuneno	1405	1410	0,33	--	--	IK,EM
20	β -cariofileno	1417	1419	4,20	0,8	1,3	IK,EM
21	β -copaeno	1428	1432	--	--	0,56	IK,EM
22	β -gurjuneno	1427	1434	0,32	--	--	IK,EM
23	γ -elemeno	1433	1437	0,74	0,2	--	IK,EM
24	α -guaieno	1439	1440	0,14	--	0,47	IK,EM
25	aromadendreno	1437	1441	1,81	0,56	1,66	IK,EM
26	cis-muuro-la-3,5-dieno	1447	1450	8,55	--	--	IK,EM
27	α -himachaleno	1448	1451	0,35	--	--	IK,EM

(continuação)

28	trans-muuro-la-3,5-dieno	1452	1454	--	--	2,13	IK,EM
29	allo-aromadendreno	1459	1460	--	--	0,98	IK,EM
30	(E)-9- <i>epi</i> -cariofileno	1465	1466	--	--	0,39	IK,EM
31	trans-cadina-1(6),4-dieno	1474	1477	--	0,8	--	IK,EM
32	γ -gurjuneno	1475	1477	--	0,4	0,29	IK,EM
33	γ -muurolelo	1478	1480	0,39	0,8	3,26	IK,EM
34	germacreno-D	1483	1485	--	--	0,77	IK,EM
35	β -selineno	1488	1490	--	--	0,82	IK,EM
36	δ -selineno	1490	1493	--	1,17	--	IK,EM
37	<i>epi</i> -cubebol	1493	1494	--	0,7	--	IK,EM
38	viridifloreno	1495	1497	--	0,9	--	IK,EM
39	biciclogermacreno	1497	1500	12,00	--	--	IK,EM
40	α -muurolelo	1503	1500	2,96	1,08	2,44	IK,EM
41	trans- β -guaieo	1503	1503	1,57	--	--	IK,EM
42	γ -cadineno	1513	1514	4,45	--	2,39	IK,EM
43	δ -cadineno	1518	1523	9,36	10,08	16,88	IK,EM
44	trans-calameneno	1523	1529	0,41	1,13	2,73	IK,EM
45	trans-cadina-1(2),4-dieno	1532	1535	--	--	0,86	IK,EM
46	α -cadineno	1537	1539	0,82	0,37	--	IK,EM
47	cis-calameneno	1538	1540	--	--	1,83	IK,EM
48	α -calacoreno	1540	1546	0,19	1,5	--	IK,EM
49	selina-3,7(11)-dieno	1543	1547	0,25	0,73	--	IK,EM
50	cis-muuro-1-5-en-4- β -ol	1550	1552	--	--	0,65	IK,EM
51	β -calacoreno	1561	1566	--	0,5	--	IK,EM
52	germancreno-D-ol	1570	1576	--	0,25	--	IK,EM
53	espatulenol	1576	1578	4,55	7,8	3,66	IK,EM
54	óxido de cariofileno	1582	1583	3,59	4,97	2,59	IK,EM
55	N.I	1584		1,23	--	--	IK,EM
56	globulol	1585	1585	1,19	--	0,76	IK,EM
57	gleenol	1586	1587	0,65	1,44	--	IK,EM

(continuação)

58	N.I	1588		0,28	--	--	IK,EM
59	<i>epi</i> -globulol	1591	1588	--	0,27		IK,EM
60	β -copaen-4 α -ol	1591	1591	0,46	--	0,38	IK,EM
61	viridiflorol	1592	1593	--	1,05	1,81	IK,EM
62	N.I	1595		--	0,45		IK,EM
63	óxido de ledeno	1598	1600	--	0,94	--	IK,EM
64	guaiol	1600	1601	1,38	2,84	--	IK,EM
65	N.I	1608		0,28	--	3,17	IK,EM
66	epóxido iso-aromadendreno	1609	1612	--	0,57	--	IK,EM
67	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1618	1619	0,98	0,4	4,28	IK,EM
68	N.I	1619		--	0,37	--	IK,EM
69	10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	1620	1624	--	5,79	--	IK,EM
70	1- <i>epi</i> -cubenol	1629	1629	0,36	5,15	--	IK,EM
71	cis-cadin-4-em-7-ol	1634	1637	0,73	1,3	--	IK,EM
72	τ -cadinol	1639	1640	19,8	5,95	4,27	IK,EM
73	N.I	1638		0,31	--	--	IK,EM
74	epóxido alloaromadendreno	1639	1641	--	0,8	1,03	IK,EM
75	τ -muurolol	1642	1642	2,51	--	0,57	IK,EM
76	cubenol	1646	1647	--	3,59	--	IK,EM
77	β -eudesmol	1649	1651	--	0,89	--	IK,EM
78	α -cadinol	1656	1654	--	4,83	0,74	IK,EM
79	cis-calamenen-10-ol	1660	1661	--	0,6	--	IK,EM
80	(Z)-14-hidroxi-9- <i>epi</i> -cariofileno	1663	1665	--	0,64	--	IK,EM
91	(E)-14-hidroxi-9- <i>epi</i> -cariofileno	1667	1670	--	1,2	--	IK,EM
82	guai-1(10)-em-11-ol	1670	1672	--	0,89	--	IK,EM
83	guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1675	1678	0,63	0,67	--	IK,EM
84	ocidenol	1678	1678	--	0,62	--	IK,EM
85	8- β -cedran-9- α -ol	1684	1685	--	0,52	--	IK,EM
86	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1686	1688	0,68	--	--	IK,EM
87	eudesm-7(11)-en-4-ol	1698	1700	--	0,49	--	IK,EM

(conclusão)

88	10-nor-calamenen-10-ona	1708	1702	--	0,33	--	IK,EM
89	curcumenol	1728	1734	0,16	--	--	IK,EM
90	α -14-hidroxi-muuroleno	1769	1779	0,29	--	--	IK,EM
Classes de Compostos							
	Monoterpenos Hidrocarbonetos			5,75	10,75	18,25	
	Monoterpenos Oxigenados			0	0,76	0,57	
	Sesquiterpenos hidrocarbonetos			50,61	24,27	48,42	
	Sesquiterpenos Oxigenados			40,06	56,11	23,91	
	TOTAL			96,42	91,89	91,15	

Legenda:

^(a)Componentes listados em ordem de eluição na coluna DB-5;^(b)Índice de Kovats calculado;^(c)Índice de Kovats da literatura (ADAMS, 2001);

(N.I.) Não identificados.

Os resultados das análises do óleo de ambas as coletas realizadas em períodos e regiões diferentes mostram que existem diferenças quanto à composição química. Mudanças maiores foram observadas na constituição dos principais componentes voláteis das amostras procedentes de Santana do Livramento quando comparadas com as de Ijuí. Por exemplo, o τ -cadinol (19,8%) é o principal componente no óleo de Ijuí, já nas amostras de óleo de Santana do Livramento foi o δ -cadineno (10,08 e 16,88%). O segundo principal componente do óleo de Ijuí, o biciclogermacreno (12,00%) não foi encontrado no óleo de Santana do Livramento.

As folhas da coleta realizada no município de Santana do Livramento em diferentes épocas apresentaram óleo volátil com perfil bem diferenciado. O óleo coletado no início da primavera (setembro) apresenta maior concentração de δ -cadineno do que o óleo coletado no início de outono (março). Além disso, há uma inversão nas concentrações de α -pineno e limoneno. Já nas amostras coletadas na primavera evidenciou-se maior similaridade entre estes componentes, α -pineno e limoneno. Conforme pode ser observado na Figura 21, os principais constituintes encontrados foram τ -cadinol (19,8%), δ -cadineno (9,36%), biciclogermacreno (12,00%) e cis-muurola-3,5-dieno (8,55%) no óleo Ijuí. Os principais componentes identificados nas amostras de Santana do Livramento foram δ -cadineno (10,08-16,88%), limoneno (5,51-7,43%) e α -pineno (6,72%).

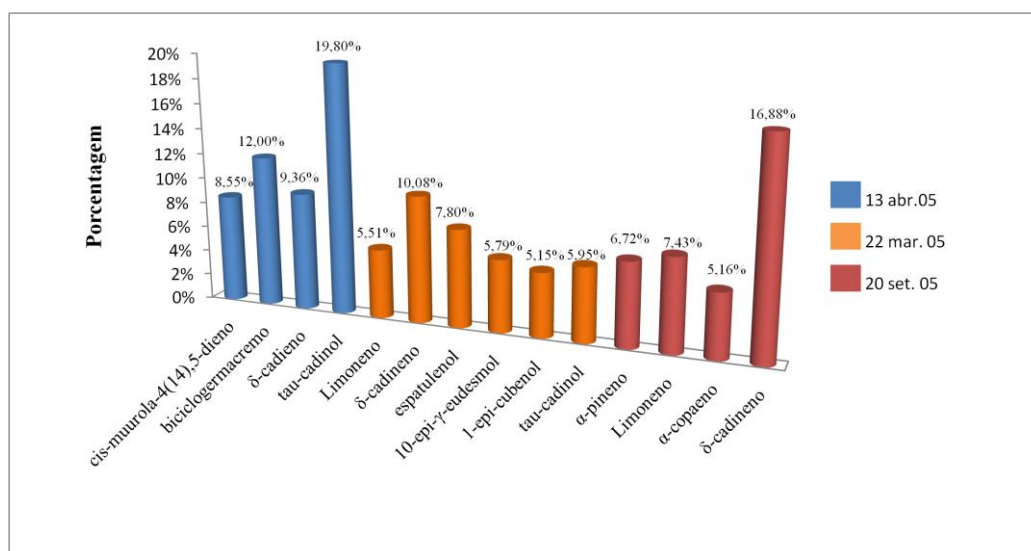


Figura 21. Representação gráfica dos principais constituintes do óleo das folhas de *S. lentiscifolius* Coleta Ijuí (13 abr. 05) e Santana do Livramento (22 mar.05-20 set.05).

A presença de maiores concentrações de δ -cadineno e a diferença de concentração de α -pineno na coleta de Santana do Livramento justificariam estudos com plantas deste local sob condições bem definidas e controladas. Essas diferenças poderiam ser devido às

condições edafoclimáticas sob as quais as plantas se desenvolveram. Tais condições incluem o solo, responsável pela nutrição, a umidade, a insolação, a pluviosidade e fatores decorrentes das variações climáticas que não foram controladas em nosso estudo. Dada a grande complexidade de fatores relacionados à produção de óleo e a composição química desses, seria necessário determinar com exatidão o tipo de solo do local de coleta, bem como medidas meteorológicas para correlacionar essas variáveis com as diferenças qualitativas e quantitativas observadas entre os diferentes resultados.

Entre os monoterpenos hidrocarbonados, destacou-se a presença do limoneno nas amostras de Santana do Livramento (5,51 e 7,43%) e α -pineno (6,72%), enquanto que na amostra do óleo de Ijuí, esses foram detectados em menores proporções. Já no óleo de Ijuí não foi detectada a presença de compostos monoterpênicos oxigenados. Pode-se observar também o predomínio dos constituintes sesquiterpênicos, hidrocarbonados e oxigenados nas amostras do óleo das folhas analisadas. Nas frações terpênicas dos óleos coletados em Santana do Livramento, percebe-se que os teores de sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados apresentam teores diferenciados entre uma classe e outra. A relação entre monoterpenos e sesquiterpenos pode ser observada na Figura 22.

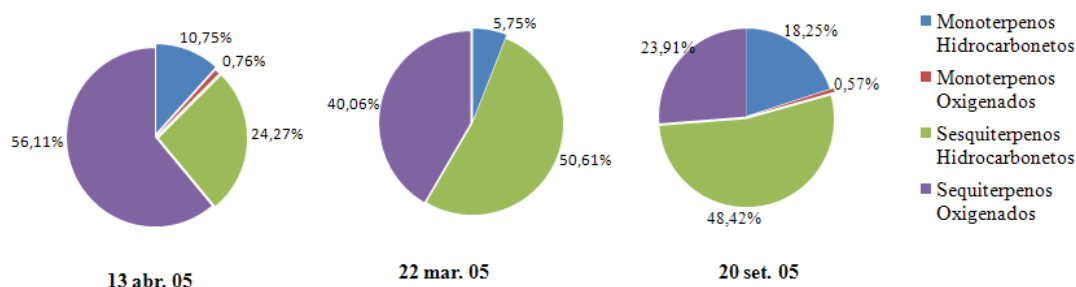


Figura 22. Representação gráfica dos percentuais das classes de mono e sesquiterpenos no óleo das folhas Ijuí (13 abr. 05) e Santana do Livramento (22 mar. 05-20 set. 05).

As diferenças encontradas nas amostras de óleo coletadas em Ijuí e Santana do Livramento foram verificadas através da análise dos perfis cromatográficos apresentados na Figura 23.

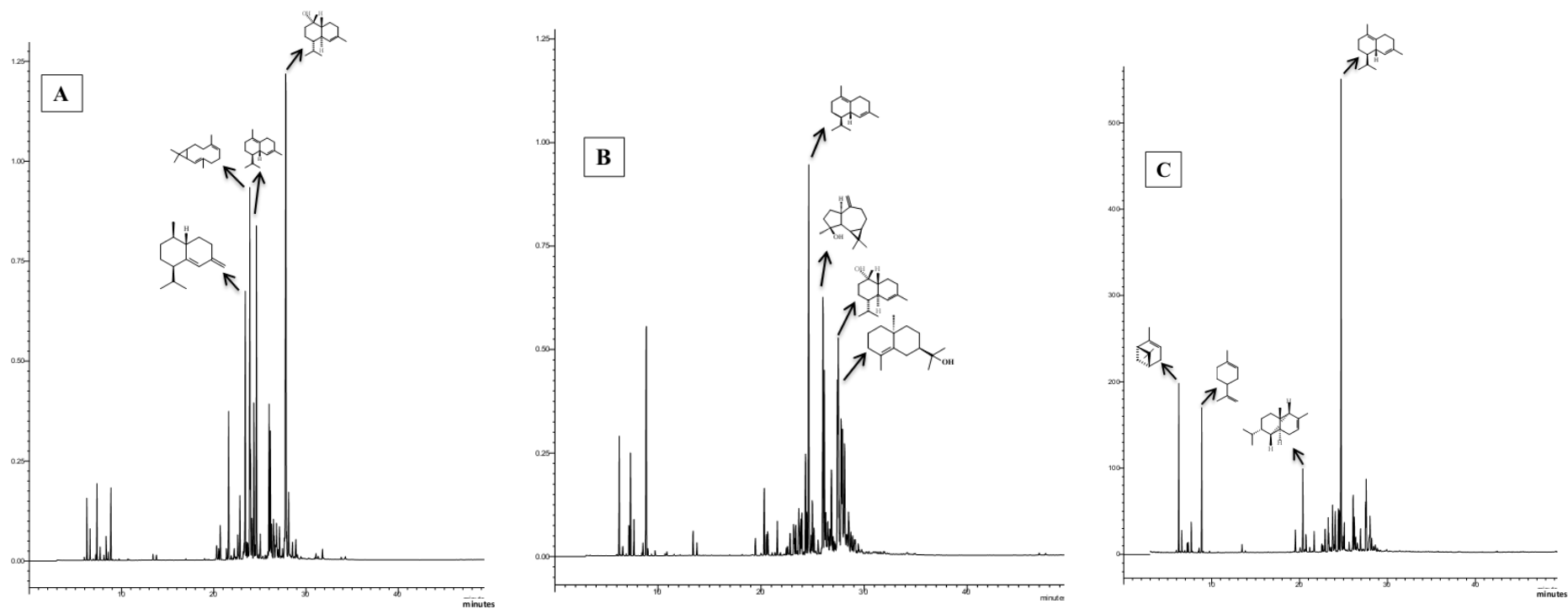


Figura 23. Perfil cromatográfico do óleo das folhas de *S. lentiscifolius* coletadas em Ijuí **A=13 abr.05** e Santa do Livramento **B= 22 mar.05**; **C= 20 set.05**. A coluna utilizada é a DB-5 (30m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 μm). Programa de análise: $T_{\text{inicial}}= 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{final}}= 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, rampa de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

4.1.1.2 Análise comparativa da composição química de óleos voláteis das folhas coletadas em períodos diferentes (Ijuí, 2005-2010)

Neste estudo foram realizadas sete coletas das folhas, nas fases vegetativa e reprodutiva (floração e frutificação) no mesmo local no município de Ijuí, no período 2005-2010, entre os meses de setembro a abril.

A análise dos perfis cromatográficos dos óleos voláteis das sete amostras estudadas possibilitou identificar entre 92,13% a 99,29% dos seus constituintes químicos. A análise sazonal das diferentes amostras mostrou uma composição química bastante complexa e diferenciada. A Tabela 7 apresenta os constituintes químicos determinados em cada uma das análises, em termos de concentração, a qual possibilita estabelecer uma comparação geral entre as diferentes coletas.

Tabela 7. Compostos identificados e composição química (%) dos óleos essenciais das folhas *S.lentiscifolius* coletadas em Ijuí (RS).

Pico	Composto (a)	Ik(b)	Ik(c)								Ident.
				13 abr. 2005	14 dez. 2006	17 set. 2007	17 out. 2007	31 dez. 2008	04 jan. 2010	17nov. 2010	
1	α -pineno	932	939	1,08	3,6	0,94	1,14	6,01	0,22	0,84	IK,EM,ST
3	canfeno	949	954	0,64	0,97	0,51	0,75	1,54	0,21	0,63	IK,EM
4	sabineno	972	975	--	0,65	--	1,32	0,5	--	--	IK,EM
5	β -pineno	978	979	1,43	5,4	0,97	1,39	8,16	0,51	1,4	IK,EM,ST
6	mirreno	989	991	0,24	--	0,99	--	--	0,16	1,88	IK,EM
7	δ -2-careno	995	1002	0,48	--	--	5,64	--	--	6,68	IK,EM,ST
8	α -felandreno	1007	1003	--	--	0,86	1,41	--	--	1,22	IK,EM
9	p-menta-1(7),8-dieno	1009	1004	--	--	3,8	0,19	--	--	--	IK,EM
10	p-cimeno	1025	1025	0,16	--	0,46	0,81	0,33	--	--	IK,EM
11	limoneno	1029	1029	1,72	0,82	2,88	3,33	0,59	1,88	3,81	IK,EM
12	γ -terpineno	1058	1060	--	--	--	0,22	--	--	--	IK,EM
13	terpinoleno	1085	1089	--	--	--	--	--	--	0,21	IK,EM
14	óxido pineno	1089	1099	--	0,37	--	--	--	--	0,21	IK,EM
15	canfenol	1112	1114	--	--	--	--	0,28	--	--	IK,EM
16	cis-óxido de limoneno	1134	1137	--	0,27	--	--	--	--	--	IK,EM
17	trans-pinocarveol	1136	1139	--	0,7	--	--	0,99	--	--	IK,EM
18	trans-sabinol	1139	1142	--	--	--	--	0,21	--	--	IK,EM
19	pinocarvone	1162	1165	--	0,4	--	--	--	--	--	IK,EM
20	terpinen-4-ol	1183	1177	--	0,35	--	--	0,33	0,29	0,24	IK,EM
21	tujenal	1184	1184	--	0,46	--	--	--	--	--	IK,EM
22	mirtenol	1191	1196	--	0,25	--	--	--	--	--	IK,EM
23	mirtenal	1193	1196	--	--	--	--	1,24	0,42	--	IK,EM
24	γ -terpineol	1195	1199	--	--	0,21	--	--	--	--	IK,EM
25	α -acetato de terpinila	1343	1351	--	--	--	0,25	--	--	--	IK,EM
26	α -copaeno	1375	1377	0,49	0,42	--	0,34	0,42	0,4	--	IK,EM
27	β -cubebeno	1386	1388	--	--	0,4	--	--	--	--	IK,EM
28	β -bourboneno	1386	1388	0,35	--	--	0,66	--	--	0,45	IK,EM
29	β -elemeno	1389	1391	0,93	1,07	9,64	0,35	0,83	--	5,7	IK,EM

(continua)

(continuação)

30	(Z)-cariofileno	1402	1409	--	--	--	--	0,69	--	--	IK,EM
31	α -gurjuneno	1405	1410	0,33	--	0,51	11,27	--	0,3	--	IK,EM
32	β -cariofileno	1417	1419	4,2	0,91	7,63	9,03	0,32	1,62	7,89	IK,EM
33	β -copaeno	1427	1432	--	--	--	--	1,41	0,19	--	IK,EM
34	β -gurjuneno	1428	1434	0,32	--	0,2	0,29	0,23	--	--	IK,EM
35	γ -elemeno	1433	1437	0,74	--	--	--	--	--	--	IK,EM
36	α -guaieno	1439	1440	0,14	--	--	--	0,77	--	--	IK,EM
37	aromadendreno	1437	1441	1,81	0,33	0,71	0,45	0,21	--	0,32	IK,EM
38	(Z)- β -farneseno	1442	1443	--	--	--	--	0,19	--	--	IK,EM
39	<i>epi</i> - β -santaleno	1453	1447	--	--	--	--	--	0,21	--	IK,EM
40	cis-muuro-la-3,5-dieno	1447	1450	8,55	--	--	--	--	--	--	IK,EM
41	α -himachaleno	1448	1451	0,35	--	--	--	0,25	--	--	IK,EM
42	trans-muuro-la-3,5-dieno	1452	1454	--	--	--	--	1,7	--	--	IK,EM
43	α -cariofileno	1453	1455	--	0,35	0,82	0,91	--	0,75	0,73	IK,EM
44	<i>allo</i> -aromadendreno	1459	1460	--	1,39	0,39	0,4	--	1,82	--	IK,EM
45	(E)-9- <i>epi</i> -cariofileno	1465	1466	--	--	--	--	--	0,44	--	IK,EM
46	cis-muuro-la-4(14),5-dieno	1465	1467	--	--	0,42	--	3,82	--	--	IK,EM
47	trans-cadina-1(6),4-dieno	1474	1477	--	--	--	--	--	0,26	--	IK,EM
48	γ -gurjuneno	1476	1477	--	--	1,43	1,93	--	--	--	IK,EM
49	β -chamigreno	1475	1478	--	--	--	--	--	--	0,85	IK,EM
50	γ -muuro-leno	1478	1480	0,39	0,44	7,34	7,08	--	0,36	0,49	IK,EM
51	germacreno-D	1483	1485	--	--	--	--	--	1,61	9,2	IK,EM
52	β -selineno	1488	1490	--	0,94	1,93	2,39	--	0,34	1,93	IK,EM
53	cis- β -guaieno	1491	1493	--	--	--	--	--	0,74	--	IK,EM
54	trans-muuro-la-4(14),5-dieno	1493	1494	--	--	0,39	0,39	--	--	--	IK,EM
55	Valenceno	1494	1496	--	--	--	0,22	--	4,1	--	IK,EM
56	α -selineno	1496	1498	--	--	7,53	6,26	--	--	--	IK,EM
57	biciclogermacreno	1497	1500	12	--	0,69	--	--	2,51	8,45	IK,EM
58	α -muuro-leno	1498	1500	2,96	1,95	--	2,49	0,22	0,35	0,43	IK,EM
59	N.I	1499	--	--	--	--	--	0,55	--	--	IK,EM
60	N.I	1500	--	--	--	--	--	0,28	--	--	IK,EM

(continuação)

61	trans- β -guaieno	1503	1503	1,57	--	--	1,36	--	--	0,21	IK,EM
62	germacreno A	1506	1509	--	--	--	--	--	4,16	--	IK,EM
63	δ -guaieno	1510	1510	--	--	1,02	--	--	--	5,69	IK,EM
64	γ -cadineno	1513	1514	4,45	--	--	0,69	--	--	--	IK,EM
65	7- <i>epi</i> - α -selineno	1514	1522	--	--	--	0,34	--	--	--	IK,EM
66	β -sesquifelandreno	1516	1523	--	--	--	--	--	--	0,29	IK,EM
67	δ -cadineno	1518	1523	9,36	4,27	--	2,78	--	6,42	1,95	IK,EM
68	N.I	1521		--	--	--	--	--	--	0,21	IK,EM
69	trans-calameneno	1522	1529	0,41	0,65	0,39	--	--	--	0,38	IK,EM
70	silphiperfol-5-en-3-ol	1533	1536	--	--	--	0,47	--	--	--	IK,EM
71	α -cadineno	1537	1539	0,82	0,35	2,38	0,31	--	0,5	--	IK,EM
72	α -calacoreno	1540	1546	0,19	--	--	--	--	--	--	IK,EM
73	selina-3,7(11)-dieno	1543	1547	0,25	--	--	--	--	--	--	IK,EM
74	elemol	1543	1550	--	0,41	--	0,21	--	0,69	--	IK,EM
75	silphiperfolenona	1547	1551	--	--	0,38	--	--	--	--	IK,EM
76	N.I	1548		--	0,37	--	--	--	--	--	IK,EM
77	cis-muurool-5-en-4- β -ol	1550	1552	--	--	0,23	0,32	--	--	--	IK,EM
78	eudesma-1-3-dien-11-ol	1551	1552	--	--	0,31	--	--	--	--	IK,EM
79	germancreno-D	1561	1561	--	--	0,23	0,24	--	--	--	IK,EM
80	longicampheylone	1558	1564	--	--	0,25	--	--	--	--	IK,EM
81	ledol	1565	1569	--	0,69	0,26	0,27	--	--	--	IK,EM
82	germancreno-D-ol	1574	1576	--	--	--	--	0,45	0,42	--	IK,EM
83	espatulenol	1576	1578	4,55	18,13	7,42	4,12	19,27	15,3	7,12	IK,EM
84	óxido de cariofileno	1582	1583	3,59	12,58	6,29	3,8	8,84	0,67	10,64	IK,EM
85	N.I	1584		1,23	--	--	--	--	--	--	IK,EM
86	globulol	1585	1585	1,19	0,6	2,24	1,43	4,3	4,72	--	IK,EM
87	gleenol	1586	1587	0,65	--	--	--	--	--	0,69	IK,EM
88	N.I	1588		0,28	--	--	--	--	--	--	IK,EM
89	<i>epi</i> -globulol	1583	1588	--	--	2,92	--	0,44	0,55	0,84	IK,EM
90	β -copaen-4 α -ol	1591	1591	0,46	--	0,23	--	1,22	--	--	IK,EM
91	dietil pftalato	1592	1591	--	--	0,43	--	--	--	--	IK,EM

(continuação)

92	N.I			--	--	0,95	--	--	--	--	IK,EM
93	viridiflorol	1594	1593	--	1,36	0,68	1,91	0,36	1,59	0,39	IK,EM
94	N.I	1595		--	--	--	--	--	--	0,28	IK,EM
95	longiborneol	1597	1599	--	--	0,71	--	--	--	--	IK,EM
96	óxido de ledeno	1598	1600	--	1,01	--	--	--	0,38	--	IK,EM
97	guaiol	1600	1601	1,38	--	0,55	0,59	--	0,51	--	IK,EM
98	trans- β -elemenona	1601	1601	--	--	--	--	--	2,21	--	IK,EM
99	N.I	1603		0,28	--	--	--	--	--	--	IK,EM
100	5- <i>epi</i> -7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1604	1608	--	--	--	0,63	--	--	--	IK,EM
101	β -oplopenone	1604	1608	--	1,92	--	--	--	--	--	IK,EM
102	N.I	1605		--	2,55	--	--	--	--	--	IK,EM
103	β -atlantol	1605	1608	--	0,33	--	0,35	--	--	--	IK,EM
104	epóxido de humeleno II	1607	1608	--	--	--	0,48	--	--	--	IK,EM
105	epóxido iso-aromadendreno	1609	1612	--	--	--	--	0,37	--	--	IK,EM
106	cis-longifolanona	1610	1613	--	--	0,5	--	--	0,6	--	IK,EM
107	isolongifolan-7- α -ol	1615	1619	--	1,1	--	--	--	--	0,36	IK,EM
108	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1618	1619	0,98	0,44	0,31	0,68	1,58	1,81	0,53	IK,EM
109	N.I	1619		--	0,34	--	--	--	--	--	IK,EM
110	10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	1620	1624	--	--	--	0,42	--	0,26	--	IK,EM
111	trans-isolongifolanona	1624	1626	--	--	--	0,49	--	--	--	IK,EM
112	1- <i>epi</i> -cubenol	1629	1629	0,36	--	--	0,34	0,38	0,56	--	IK,EM
113	eremoligenol	1631	1631	--	--	--	--	--	--	--	IK,EM
114	β -cedren-9-one	1631	1631	--	--	--	0,63	--	--	--	IK,EM
115	γ -eudesmol	1632	1632	--	--	--	--	--	0,52	--	IK,EM
116	cis-cadin-4-em-7-ol	1634	1637	0,73	--	--	--	--	--	--	IK,EM
117	τ -cadinol	1640	1640	19,8	19,04	--	1,83	17,42	32,39	--	IK,EM
118	N.I	1638		0,31	--	--	--	--	--	--	IK,EM
119	cariofila-4(14),8(15)-dien-5 β -ol	1639	1640	--	--	0,39	--	--	--	--	IK,EM
120	epóxido alloaromadendreno	1639	1641	--	--	0,58	1,08	--	--	--	IK,EM
121	τ -muurolol	1640	1642	2,51	--	1,82	--	1,57	--	0,93	IK,EM
122	selina-3,11-dien-6- α -ol	1641	1644	--	--	--	--	--	--	0,66	IK,EM

(continuação)

123	α -muurolol	1645	1646	--	0,32	0,94	0,82	--	0,21	--	IK,EM
124	β -eudesmol	1647	1651	--	--	--	4,02	--	--	--	IK,EM
125	α -cadinol	1656	1654	--	2,68	4,25	--	--	1,93	2,27	IK,EM
126	selin-11-en-4 α -ol	1658	1660	--	--	1,29	--	--	--	2,54	IK,EM
127	cis-calamenen-10-ol	1660	1661	--	0,34	--	--	0,31	--	--	IK,EM
128	7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1663	1664	--	--	--	0,4	--	0,38	0,45	IK,EM
129	(E)- 14-hidroxi-9- <i>epi</i> -cariofileno	1667	1670	--	0,34	0,4	0,72	0,56	0,59	0,79	IK,EM
130	guai-1(10)-em-11-ol	1670	1672	--	--	--	--	0,23	0,39	--	IK,EM
131	guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1675	1678	0,63	--	--	--	0,26	--	--	IK,EM
132	ocidenol	1678	1678	--	--	--	--	--	--	0,3	IK,EM
133	khusinol	1682	1680	--	0,28	0,92	0,21	0,44	0,27	1,08	IK,EM
134	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1686	1688	0,68	--	0,98	0,73	0,2	--	0,39	IK,EM
135	eudesm-7(11)-en-4-ol	1698	1700	--	0,52	--	--	0,27	0,28	0,8	IK,EM
136	N.I	1702		--	--	--	--	1,38	--	--	IK,EM
137	10-nor-calamenen-10-ona	1708	1702	--	0,26	--	--	--	--	--	IK,EM
138	14-hidroxi- α -humuleno	1711	1714	--	--	0,22	--	--	--	--	IK,EM
139	Curcumenol	1728	1734	0,16	--	--	--	--	--	--	IK,EM
140	khusimol	1736	1743	--	0,78	0,66	--	--	--	--	IK,EM
141	8- α -11-elemodiol	1740	1748	--	0,85	--	--	--	--	--	IK,EM
142	ciccolorenona	1753	1761	--	--	--	0,63	--	--	--	IK,EM
143	aristolona	1761	1763	--	0,35	--	--	--	0,19	--	IK,EM
144	β -acoradienol	1763	1764	--	0,34	--	--	--	--	--	IK,EM
145	α -14-hidroxi-muuroleno	1769	1779	0,29	--	--	--	--	0,6	--	IK,EM
146	14-hidroxi- α -muuroleno	1774	1780	--	0,29	0,33	--	--	0,49	--	IK,EM
147	β -acetato de eudesmol	1783	1792	--	--	--	--	0,21	--	--	IK,EM
148	14-hidroxi- δ -cadineno	1789	1793	--	0,3	0,44	--	--	--	--	IK,EM
149	acetato de khusinol	1791	1793	--	0,96	--	--	--	--	--	IK,EM
150	N.I			--	0,48	--	--	--	--	--	IK,EM
151	N.I			--	0,26	--	--	--	--	--	IK,EM
152	N.I			--	0,99	--	--	--	--	--	IK,EM

(conclusão)

Classes de Compostos							
Monoterpenos hidrocarbonetos	5,75	11,44	11,41	16,2	17,13	2,98	16,46
Monoterpenos Oxigenados	0	2,8	0,21	0,25	3,05	0,71	0,45
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos	50,61	12,72	43,82	50,41	11,89	26,54	45,17
Sesquiterpeno Oxigenado	40,06	71,56	38,11	27,35	60,06	68,51	31,06
TOTAL	96,42	98,52	93,76	94,21	92,13	99,29	93,14

Legenda:

^(a) Componentes listados em ordem de eluição na coluna DB-5;

^(b) Índice de Kovats da calculado;

^(c) Índice de Kovats da literatura Adams 2001;

(N.I.) Não identificados.

Em todas as amostras de óleos voláteis analisadas, a classe predominante de compostos foi a dos sesquiterpenos, sendo que os hidrocarbonetos sesquiterpênicos variam entre 11,89-50,61%, enquanto que a classe dos sesquiterpenos oxigenados foi maior, com uma variação entre 27,35-71,56%. No verão, os teores de hidrocarbonetos sesquiterpênicos variaram entre 11,89 a 26,57%, enquanto os teores de sesquiterpenos oxigenados foram ligeiramente mais elevados, variando de 60,06% a 71,56%. É ilustrado na Figura 24 o comportamento sazonal de cada classe terpênica das sete amostras analisadas.

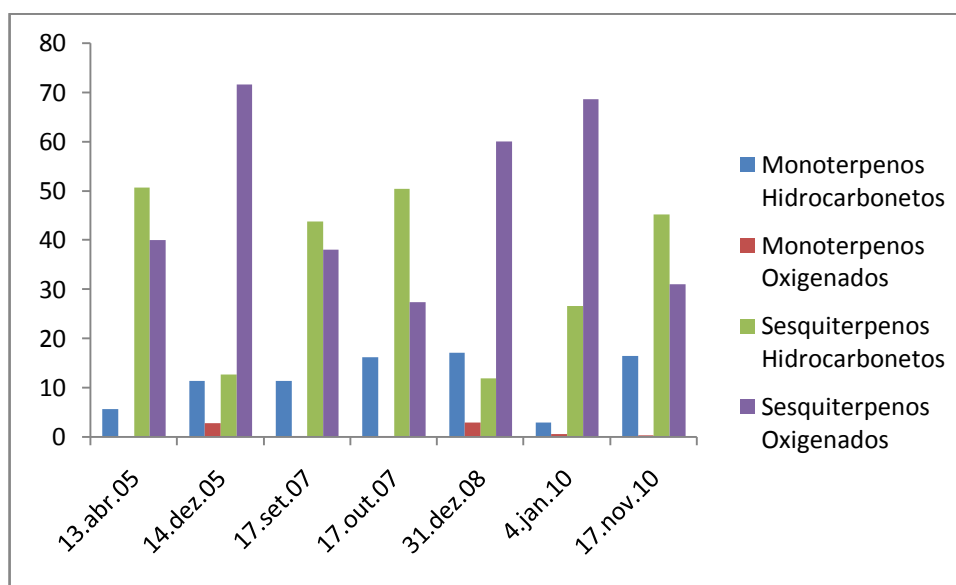


Figura 24. Representação gráfica da variação sazonal das principais classes de terpenos das folhas da coleta (Ijuí, 2005-2010).

Em relação aos sesquiterpenos, seis hidrocarbonetos (β -cariofileno, β -elemeno, aromadendreno, γ -muuroleno, α -muuroleno e o δ -cadineno) foram identificados na maioria das amostras de óleos analisadas ao longo do período de coleta, variando apenas o conteúdo de óleo nas diferentes fases fenológicas. O δ -cadineno não foi encontrado nos óleos de setembro de 2007 e dezembro de 2008. Outras substâncias a destacar, que apresentaram teores diferenciados em épocas diferentes de análise, foram: α -gurjuneno (0,3% a 11,27%), β -cariofileno (0,91% a 9,03%) e γ -muuroleno (0,36% a 7,34%). O componente cis-muurola-3,5-dieno (8,55%) só foi detectado na amostra de 13 de abril de 2005.

Já os sesquiterpenos oxigenados contribuíram com maior número de representantes, e dentre os compostos majoritários, destacam-se o espatulenol (4,12% a 19,27%), óxido de cariofileno (0,67% a 12,58%) e τ -cadinol (19,8%), identificados na coleta de 14 de dezembro de 2006, época de frutificação. Os conteúdos de sesquiterpenos oxigenados foram espatulenol (19,27%), óxido de cariofileno (8,84%) e τ -cadinol, um dos principais representantes no óleo

total (1,83 a 32,39%). Interessante perceber que este último componente, ausente no óleo de set. 2007, foi o destaque na coleta 04 de janeiro de 2010 (32,39%).

Os monoterpenos hidrocarbonetos foram mais representativos (32,39%) que os oxigenados, e de um modo geral, o α -pineno, β -pineno e o limoneno foram detectados em todas as amostras. O composto mais expressivo na fração monoterpênica hidrocarbonada foi o β -pineno, que atingiu (8,16%) na amostra de 31 de dezembro de 2008, durante o período de frutificação. Destaque para o composto hidrocarboneto monoterpênico δ -2-careno (5,64-6,68%) detectado somente na época de floração. Foi possível observar que os óleos voláteis de folhas nas fases de frutificação acumulam maior quantidade de compostos monoterpenos oxigenados (14 dez. 2006 - 31 dez. 2008).

Dos vários estudos realizados com óleos essenciais de plantas de espécies de “aroeira”, uma citação está relacionada à composição química da *S. lentiscifolius*. O trabalho foi realizado por Rossini *et al.*,¹⁵⁹ em 1996, na Argentina, os quais identificaram dezesseis compostos, sendo que na fração de monoterpenos hidrocarbonados foi evidenciado como majoritário o limoneno (10,36%). Na fração terpênica do óleo analisado os hidrocarbonetos sesquiterpênicos representaram 50,79% do total de constituintes identificados, tendo apresentado como principais constituintes o δ -cadineno (19,79%) e biciclogermacreno (29,20%). Pelos resultados, pode-se observar que a composição química, assim como as concentrações dos metabólitos nos óleos voláteis das folhas de *S. lentiscifolius*, demonstra ausência de um padrão de acumulação. Embora diversos estudos demonstrem o efeito da sazonalidade própria das estações do ano e sua influência na composição química dos óleos voláteis, como em *Ocimum basilicum*, o teor de monoterpenos oxigenados é maior no inverno e de sesquiterpenos hidrocarbonetos é maior no verão.¹⁷⁷ Como o Rio Grande do Sul é um estado onde o fator sazonalidade é expressivo, com variações na temperatura com épocas de mais ou menos frio e períodos de mais ou menos luz, esta variabilidade em rendimento e composição química é compreensível.

Os constituintes majoritários do óleo das folhas das diferentes amostras analisadas no período (2005-2010) podem ser visualizados na Figura 25.

¹⁷⁷HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S.T.H.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, 2008, v. 108. p. 986-995.

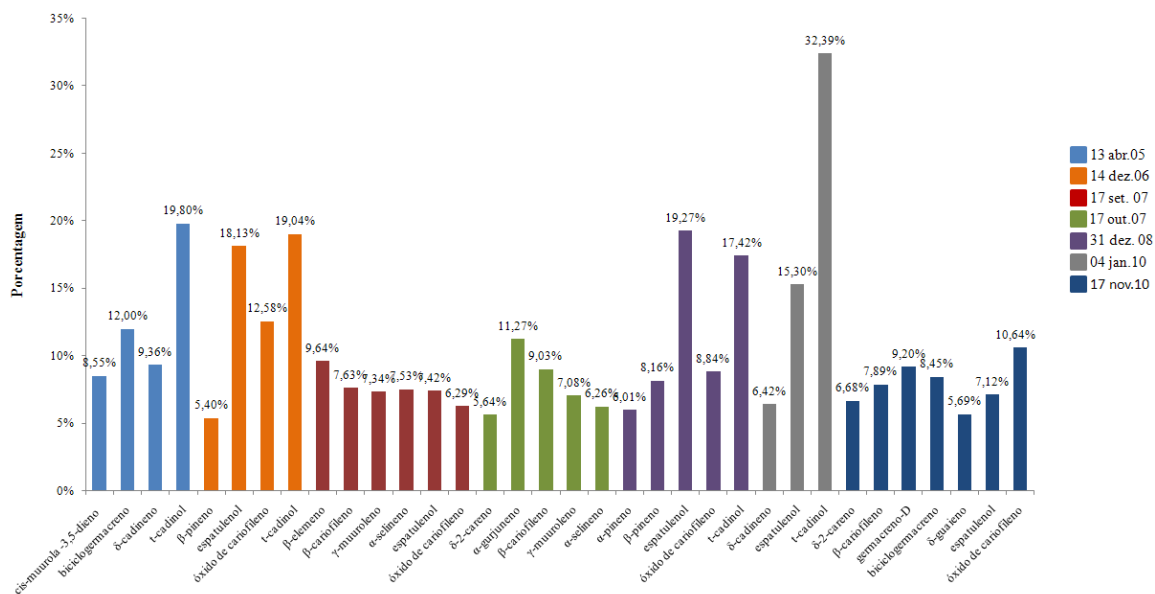


Figura 25. Constituintes majoritários do óleo das folhas das diferentes amostras analisadas no período (Ijuí, 2005-2010).

4.1.1.3 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de frutos (Ijuí, 2005-2010)

Neste estudo foram realizadas quatro coletas de frutos de *S. lentiscifolius* no mesmo local, em Ijuí, entre 2005-2010, exceto 2007 e 2009, períodos em que a planta não produziu frutos. O teor de óleo volátil entre as diferentes coletas variou de 1,19% a 2,13%, sendo maior aquele obtido da planta coletada em 14 de dezembro de 2005.

Todas as amostras de óleo após a análise cromatográfica mostraram algumas semelhanças na sua composição química qualitativa, mas diferem do ponto de vista quantitativo, mostrando variações nos seus principais constituintes. Os respectivos constituintes químicos, juntamente com as concentrações de cada componente, encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8. Composição química (%) dos óleos voláteis dos frutos de *S. lentiscifolius* de diferentes períodos (Ijuí, 2005-2010)

(continua)

Pico	Composto (a)	Ik (b)	Ik (c)	26 dez. 2005	14 dez. 2006	31 dez. 2008	04 jan. 2010	Ident.
1	α -pineno	932	939	0,98	10,57	0,25	5,65	IK,EM,ST
2	canfeno	949	954	--	0,38	--	0,31	IK,EM
4	β -pineno	978	979	1,16	14,8	--	3,71	IK,EM,ST
5	mirceno	989	991	--	7,42	--	5,89	IK,EM
6	β -cimeno	1020	1025	--	0,45	--	--	IK,EM
7	limoneno	1027	1029	0,21	1,36	--	0,55	IK,EM,ST
8	β -felandreno	1030	1030	--	--	--	0,54	IK,EM
9	δ -3-careno	1031	1031	--	0,22	--	--	IK,EM,ST
10	α -óxido pineno	1087	1099	--	0,5	--	--	IK,EM
11	perrileno	1096	1101	--	0,27	--	--	IK,EM
12	cis- <i>P</i> -mentha-2,8-dien-1-ol	1136	1138	--	0,23	--	--	IK,EM
13	trans-pinocarveol	1136	1139	0,59	--	--	--	IK,EM
14	trans-sabinol	1138	1142	--	0,28	--	--	IK,EM
15	trans-verbenol	1140	1145	--	0,72	--	--	IK,EM
16	pinocampeol	1141	1170	--	0,38	--	--	IK,EM
17	mentol	1170	1172	--	0,28	--	--	IK,EM
18	terpinen-4-ol	1174	1177	0,37	0,58	0,45	--	IK,EM
19	tujenal	1176	1184	0,22	--	--	--	IK,EM
20	cis-pinocarveol	1183	1184	--	0,43	--	--	IK,EM
21	α -terpineol	1186	1189	0,3	0,3	1,03	--	IK,EM
22	mirtenol	1192	1196	--	0,51	--	--	IK,EM
23	mirtenal	1195	1196	0,37	0,23	--	--	IK,EM
24	acetato de bornila	1286	1289	0,23	--	--	--	IK,EM
25	α -copaeno	1375	1377	0,54	0,3	0,23	0,27	IK,EM
26	β -bourboneno	1386	1388	0,61	--	--	--	IK,EM
27	β -elemeno	1389	1391	0,23	--	0,95	--	IK,EM

(continuação)

28	(Z)-cariofileno	1402	1409	--	--	2,35	--	IK,EM
29	α -gurjuneno	1405	1410	1,86	--	0,49	0,26	IK,EM
30	β -cariofileno	1417	1419	--	1,31	--	1,68	IK,EM
31	β -copaeno	1428	1432	--	--	0,88	--	IK,EM
32	β -gurjuneno	1430	1434	0,53	--	--	--	IK,EM
33	N.I .1	1432		0,26	--	--	--	IK,EM
34	α -guaieno	1439	1440	--		0,81	--	IK,EM
35	aromadendreno	1437	1441	--	0,39	0,22	0,25	IK,EM
36	α -himachaleno	1449	1451	--	--	0,21	--	IK,EM
37	trans-muuroala-3,5-dieno	1452	1454	--	--	1,14	--	IK,EM
38	α -cariofileno	1453	1456		0,26	--	0,60	IK,EM
39	allo-aromadendreno	1459	1460	0,21	0,92	2,20	1,04	IK,EM
40	cis-muuroala-4(14),5-dieno	1465	1467	--	--	0,25	0,23	IK,EM
41	trans-cadina-1(6),4-dieno	1474	1477	--	--	--	0,26	IK,EM
42	γ -gurjuneno	1475	1477	--	--	0,91	--	IK,EM
43	γ -muuroaleno	1478	1480	2,98	0,27	0,36	4,17	IK,EM
44	germacreno-D	1483	1485	10,84	0,23	0,35	--	IK,EM
45	trans- β -ionone	1486	1489	0,35	--	--	--	IK,EM
46	β -selineno	1488	1490	--	0,38	1,25	--	IK,EM
47	δ -selineno	1491	1493	--	0,25	--	--	IK,EM
48	trans-muuroala-4(14),5-dieno	1492	1494	--	--	--	0,52	IK,EM
49	epi-cubebol	1493	1494	--	--	--	9,18	IK,EM
50	cis-cadina-1,4-dieno	1495	1496	--	--	--	2,77	IK,EM
51	α -selineno	1496	1498	--	--	--	0,38	IK,EM
52	α -muuroaleno	1499	1500	0,39	1,23	--	--	IK,EM
53	γ -patchuleno	1501	1502	0,23	--	--	--	IK,EM
54	trans- β -guaieno	1503	1503	0,31	--	--	--	IK,EM
55	γ -cadineno	1513	1514	--	3,44	--	2,76	IK,EM
56	cubebol	1514	1515	--	--	--	6,52	IK,EM
57	δ -cadineno	1518	1523	--	0,22	--	0,46	IK,EM

(continuação)

58	α -cadineno	1537	1539	--	0,26	--	--	IK,EM
59	germancreno-D	1557	1561	--	0,31	--	--	IK,EM
60	espatulenol	1576	1578	8,97	12,6	17,53	7,20	IK,EM
61	óxido de cariofileno	1582	1583	4,44	3,19	6,14	0,18	IK,EM
62	globulol	1585	1585	1,04	0,85	5,13	1,56	IK,EM
63	epi-globulol	1591	1588	0,32	0,94	3,04	0,23	IK,EM
64	β -copaen-4 α -ol	1591	1591	0,4	--	0,95	--	IK,EM
65	vidiflorol	1597	1593	2,44	0,92	1,63	1,51	IK,EM
66	cedrol	1601	1601	--	--	0,41	--	IK,EM
67	guaiol	1600	1601	3,25	--	--	1,25	IK,EM
68	khusimona	1602	1604	0,27	--	1,04	0,35	IK,EM
69	epóxido iso-aromadendreno	1609	1612	0,26	--	--	--	IK,EM
70	cis-longifolanona	1610	1613	--	0,48	--	--	IK,EM
71	isolongifolan-7- α -ol	1594	1619	--	1,23	--	--	IK,EM
72	1,10-di-epi-cubenol	1618	1619	3	0,99	1,66	1,36	IK,EM
73	1-epi-cubenol	1625	1629	--	0,28	0,61	0,48	IK,EM
74	eremoligenol	1627	1631	--	--	0,20	0,74	IK,EM
75	τ -cadinol	1634	1640	25,44	11,8	24,30	--	IK,EM
76	τ -muurolol	1640	1642	2,56	0,8	--	3,07	IK,EM
77	selina-3,11-dien-6- α -ol	1642	1644	0,2	--	--	--	IK,EM
78	α -muurolol	1645	1646	--	--	0,23	0,45	IK,EM
79	cubenol	1646	1647	--	--	4,83	0,30	IK,EM
80	α -cadinol	1650	1654	--	2,3	0,61	--	IK,EM
81	selin-11-en-4 α -ol	1658	1660	--	--	0,49	--	IK,EM
82	cis-calamenen-10-ol	1660	1661	0,48	0,53	--	--	IK,EM
83	N.I 2	1662		0,35	--	--	--	IK,EM
84	trans-calamenen-10-ol	1665	1669	1,03	--	--	--	IK,EM
85	(E)- 14-hidroxi-9-epi-cariofileno	1667	1670	0,48	0,41	0,37	0,32	IK,EM
86	guai-1(10)-em-11-ol	1670	1672	0,25	--	--	--	IK,EM
87	guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1676	1678	--	--	--	0,36	IK,EM

(continuação)

88	khusinol	1680	1680	0,4	0,65	0,36	0,32	IK,EM
89	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1686	1688	0,33	0,45	0,79	0,52	IK,EM
90	8-cedren-13-ol	1687	1689	--		0,22	--	IK,EM
91	germacrona	1690	1694	0,26	0,52	0,28	--	IK,EM
92	eudesm-7(11)-en-4-ol	1697	1700	0,27	--	0,24	0,32	IK,EM
92	14-hidroxi- α -humuleno	1709	1714	0,2	--	--	1,48	IK,EM
94	khusimol	1736	1743	0,41	--	0,24	--	IK,EM
95	N.I 3	1737		0,49	--	--	--	IK,EM
96	óxido de aromadendreno(II)	1738	1749	0,44	--	--	--	IK,EM
97	ciclocolorenona	1753	1761	1,16	0,35	1,04	--	IK,EM
98	aristolone	1756	1763	--	--	0,51	--	IK,EM
99	14-oxi- α -muuroleno	1757	1769	--	--	0,32	--	IK,EM
100	14-hidroxi- α -muuroleno	1776	1780	0,65	0,3	0,31	0,56	IK,EM
101	γ -acetato de eudesmol	1778	1784	--	--	0,32		IK,EM
102	β -acetato de eudesmol	1787	1793	--	--	0,38	0,63	IK,EM
103	α -acetato de eudesmol	1789	1795	--	--	0,68	--	IK,EM
104	nootkatona	1799	1807	0,52	--	--	--	IK,EM
105	acetato de khusinol	1802	1824	1,13	--	1,00	--	IK,EM
106	N.I 4	1809		0,64	--	--	--	IK,EM
107	acetato de eudesm-7(11)-en-4-ol	1837	1841	0,19	--	0,36	--	IK,EM
108	N.I 5			0,19	--	--	--	IK,EM
109	N.I 6			0,19	--	--	--	IK,EM
110	N.I 7			0,63	--	--	--	IK,EM
111	acetato de oplopanonila	1878	1888	--	--	1,16	--	IK,EM
112	cedranediol	1886	1898	--	--	0,43	--	IK,EM
Classes de Compositos								
	Monoterpenos Hidrocarbonetos			2,35	35,2	0,25	16,65	
	Monoterpenos Oxigenados			2,08	4,71	1,48	0	
	Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			19,34	9,77	12,6	31,35	
	Sesquiterpenos Oxigenados			63,28	39,59	78,17	23,19	

(conclusão)

TOTAL	87,05	89,27	92,38	71,19
-------	-------	-------	-------	-------

Legenda:

^(a)Componentes listados em ordem de eluição na coluna DB-5;^(b)Índice de Kovats da calculado;^(c)Índice de Kovats da literatura Adams 2001;

(N.I.) Não identificados.

Os teores de hidrocarbonetos monoterpênicos dos frutos da coleta nos anos 2005 e 2008 variaram de 0,25% a 2,35%. Estes resultados podem estar relacionados à volatilização de compostos representativos de núcleos monoterpênicos da série acíclica do mirceno, de pinanos e tujanos, antecedendo a análise cromatográfica. Já as amostras 2006-2010 apresentaram variação entre 35,20-16,65%, com predominância do α -pineno (10,57%), β -pineno (14,8%) e mirceno (7,42%), representando 91,16% dos representantes do primeiro grupo. Na amostra relativa a 2006, o rendimento de monoterpênos oxigenados foi de 4,71%, sendo caracterizada por um maior número de compostos, entretanto, sem grandes diferenças nas concentrações.

A relação entre a quantidade de monoterpênos e sesquiterpênos hidrocarbonetos e os monoterpênos e sesquiterpênos oxigenados para as diferentes amostras de frutos é ilustrada na Figura 26.

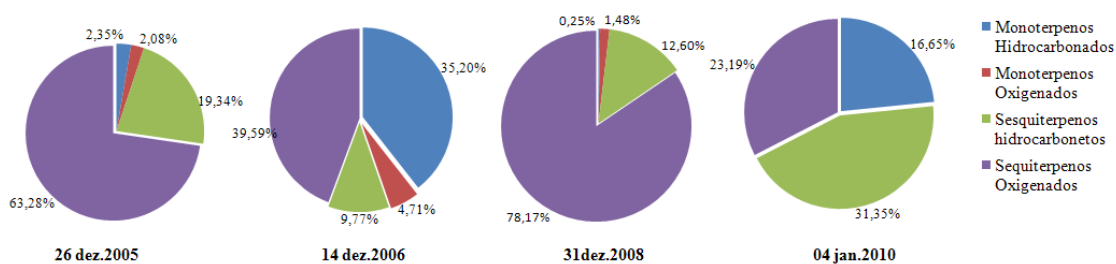


Figura 26. Representação gráfica da variação sazonal das principais classes de terpenos no óleo dos frutos (Ijuí, 2005-2010).

O perfil apresentado pelos compostos identificados como hidrocarbonetos sesquiterpênicos foi bastante variável em quantidade e em sua constituição química. Dentre os compostos identificados em 2005 destaca-se o germacreno-D (10,84%) como majoritário seguido do γ -muuroleno (2,98%), sendo que os demais constituintes não apresentaram muitas oscilações. Na amostra de 2010 foram identificados como principais constituintes do óleo o *epi*-cubebol (9,18%), o cubenol (6,52%) e o γ -muuroleno (4,17%), sendo esse detectado em todas as amostras analisadas. Da mesma forma como observado na análise dos óleos das folhas coletadas em Ijuí, a maior fração do óleo dos frutos consiste de sesquiterpênos oxigenados, dentre os quais se destacam o espatulenol, o óxido de cariofileno e o τ -cadinol como compostos majoritários. Esses compostos foram identificados em todas as amostras analisadas. O aumento de algum constituinte em determinada classe de compostos pode ser

consequência de reações de oxidação. Segundo Njoroje *et al.*,¹⁷⁸ a própria extração dos óleos à temperatura ambiente pode alterar a composição química, uma vez que promove o aparecimento de muitos artefatos, tais como produtos de oxidação, abertura de anel ou rearranjos. O germacreno D pode se converter em cadinenos, murolenos e elemenos, enquanto que o biciclogermacreno pode se converter em sesquiterpenos tricíclicos, como aromadendreno, *allo*-aromadendreno e viridifloreno. Esses podem também ser oxidados, levando aos compostos como o espatulenol, o globulol e os cadinóis. Esta hipótese que pode ter acontecido com as amostras 26 de dezembro de 2005 e 31 de dezembro de 2008, uma vez que as mesmas apresentaram uma elevada quantidade de compostos sesquiterpenos oxigenados.

Observou-se, também, um aumento significativo na concentração do viridiflorol, guaiol, τ -muurolol (2005), α -cubenol (2006), epi-globulol e cubenol e o *tau*-muurolol (2010). Os compostos presentes em todas as amostras analisadas foram: espatulenol, óxido de cariofileno, epi-globulol, viridiflorol, τ -cadinol, (*E*)-14-hidroxi-9-epi-cariofileno, khusinol e o eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol. Com relação aos demais constituintes identificados nesta classe terpênica não houve diferenças marcantes. Os principais constituintes das amostras analisadas podem ser visualizados na Figura 27.

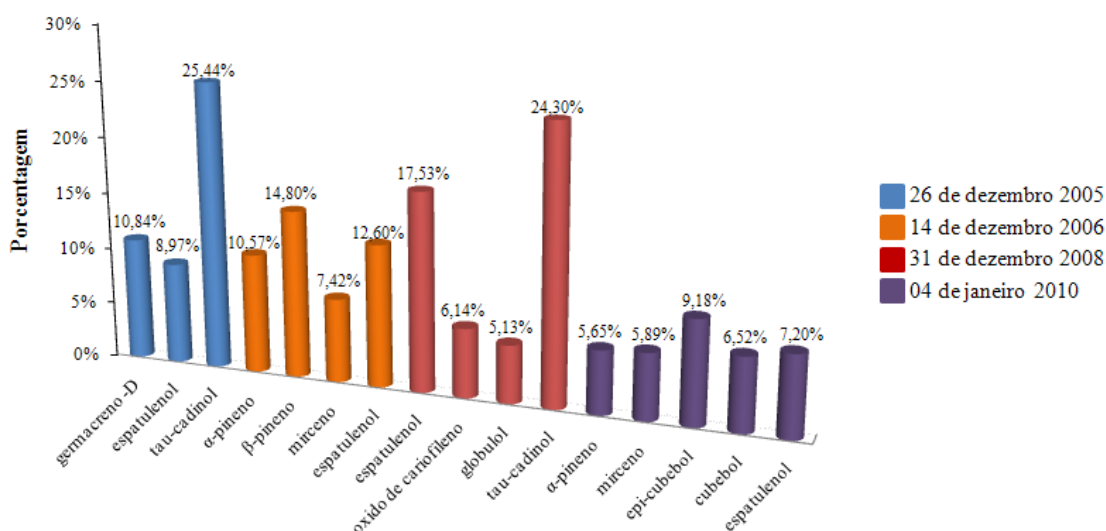


Figura 27. Representação gráfica dos principais constituintes do óleo dados frutos de *S. lentiscifolius*.

¹⁷⁸ NJOROGE, S.M.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Changes of the volatile profile and Artifact Formation in Daidai (Citrus aurantium) Cod-Pressed Peel Oil ou storage. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 2003, v. 51, n. 14, p. 4029-4035.

4.1.1.4 Análise comparativa da composição dos óleos voláteis de folhas e flores coletadas em Ijuí (2010)

O óleo essencial obtido das folhas e das flores coletadas em 17 de novembro de 2010, época de floração da planta em estudo, apresentou um rendimento de 0,16-0,17%. Foram identificados 45 compostos na amostra de folhas e 51 na amostra de flores, representando 99,82% a 99,17% do total dos constituintes.

São apresentados na Tabela 9, os resultados das análises cromatográficas do óleo com as respectivas concentrações e na figura 29 o perfil cromatográfico.

Quanto à composição química do óleo volátil das folhas e das flores, pode-se observar um comportamento diferenciado em relação aos constituintes monoterpênicos hidrocarbonetos com predominância desses nas amostras de flores, sendo majoritários o δ -2-careno (12,23%) e o limoneno (6,14%), ambos identificados como constituintes principais no óleo das folhas (6,68-3,81%). Já os compostos monoterpênicos oxigenados se apresentaram em menor proporção. A relação entre os sesquiterpenos, hidrocarbonados e oxigenados é ilustrada na Figura 28.

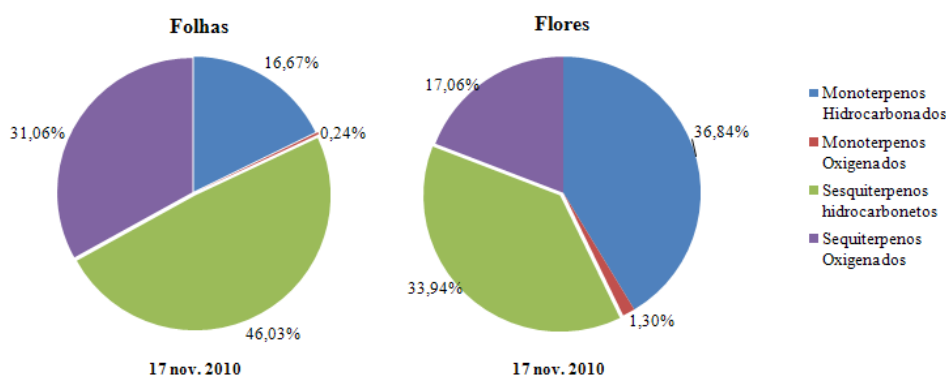


Figura 28. Representação gráfica percentual das classes de compostos terpênicos do óleo das folhas e das flores (Ijuí, 2010).

Na fração sesquiterpênica há um maior equilíbrio entre os compostos hidrocarbonetos. Foram identificados como constituintes majoritários em ambas as amostras de folhas e de flores, o β -elemeno (5,7-3,29%), o β -cariofileno (7,89-8,09%), o germacreno-D (9,9-5,97%) e o biciclogermacreno (8,45-5,36%). O componente δ -guaiano (5,69%) foi detectado somente no óleo das folhas.

Tabela 9. Composição química (%) das folhas e flores dos óleos voláteis de *S. lentiscifolius* (Ijuí, 2010)

(continua)

Pico	Compostos (a)	Ik (b)	Ik (c)	17 nov. 2010		Ident.
				Folhas	Flores	
1	α -pineno	932	939	0,84	2,68	IK,EM
2	canfeno	949	954	0,63	1,15	IK,EM
4	β -pineno	978	979	1,4	3,61	IK,EM,ST
5	mirceno	989	991	1,88	1,83	IK,EM
6	δ -2-careno	995	1002	6,68	12,23	IK,EM
7	α -felandreno	1007	1003	1,22	5,01	IK,EM
8	ρ -cimeno	1020	1025	--	0,88	IK,EM
9	limoneno	1029	1029	3,81	6,14	IK,EM
10	β -felandreno	1029	1030	--	1,96	IK,EM
11	(Z)- β -ocimeno	1035	1037	--	0,24	IK,EM
12	(E)- β -ocimeno	1046	1050	--	0,47	IK,EM
13	terpinoleno	1085	1089	0,21	0,64	IK,EM
14	terpinen-4-ol	1174	1177	0,24	0,36	
15	α -terpineol	1185	1189	--	0,77	IK,EM
16	p -cimen-9-ol	1197	1205	--	0,17	IK,EM
17	α -copaeno	1375	1388	--	0,23	IK,EM
18	β -bourboneno	1386	1388	0,45	--	IK,EM
19	β -elemeno	1389	1391	5,7	3,29	IK,EM
20	β -cariofileno	1421	1419	7,89	8,09	IK,EM
21	aromadendreno	1437	1441	0,32	0,48	IK,EM
22	α -cariofileno	1455	1455	0,73	0,68	IK,EM
23	β -chamigreno	1476	1478	0,85	0,42	IK,EM
24	γ -muuroleno	1478	1480	0,49	0,6	IK,EM
25	germacreno-D	1483	1485	9,2	5,97	IK,EM
26	β -selineno	1488	1490	1,93	1,11	IK,EM
27	viridifloreno	1495	1497	0,86	1,39	IK,EM

(continuação)

28	biciclogermacreno	1498	1500	8,45	5,36	IK,EM
29	α -muuroleno	1498	1500	0,43	0,88	IK,EM
30	trans- β -guaieno	1503	1503	0,21	0,41	IK,EM
31	germacreno A	1507	1509	--	1,72	IK,EM
32	δ -guaieno	1509	1510	5,69	--	IK,EM
33	β -sesquifelandreno	1516	1523	0,29	0,43	IK,EM
34	δ -cadineno	1518	1523	1,95	--	IK,EM
35	trans-calameneno	1522	1529	0,38	--	IK,EM
36	N.I	1525	--	0,21	--	IK,EM
37	(Z)-nerolidol	1529	1533	--	0,77	IK,EM
38	α -cadineno	1537	1539	--	2,11	IK,EM
39	ledol	1569	1569	--	0,48	
40	espatulenol	1574	1578	7,12	5,53	IK,EM
41	óxido de cariofileno	1581	1583	10,64	5,47	IK,EM
42	globulol	1585	1585	--	2,49	IK,EM
43	gleenol	1586	1587	0,69	--	IK,EM
44	epi-globulol	1593	1588	0,84	--	IK,EM
45	viridiflorol	1594	1593	0,39	1,38	IK,EM
46	N.I	1595	--	0,28	--	IK,EM
47	guaiol	1600	1601	--	0,64	IK,EM
48	5- <i>epi</i> -7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1604	1608	--	0,31	IK,EM
49	epóxido de humeleno II	1607	1608	--	0,35	IK,EM
50	cis-longifolanona	1610	1613	--	0,41	IK,EM
51	isolongifolan-7- α -ol	1614	1619	0,36	--	IK,EM
52	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1616	1619	0,53	--	IK,EM
53	trans-isolongifolanona	1624	1626	--	0,18	IK,EM
54	hinesol	1638	1642	--	0,34	IK,EM
55	τ -muurolol	1640	1642	0,93	0,51	
56	selina-3,11-dien-6- α -ol	1642	1644	0,66	--	
57	α -muurolol	1645	1646	--	1,17	IK,EM

(conclusão)

58	cubenol	1646	1647	--	0,67	IK,EM
59	α -cadinol	1650	1654	2,27	3,05	IK,EM
60	selin-11-en-4 α -ol	1658	1660	2,54	2,24	IK,EM
61	7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1663	1664	0,45	0,42	IK,EM
62	(E)- 14-hidroxi-9- <i>epi</i> -cariofileno	1667	1670	0,79	0,18	IK,EM
63	guaia-3,10(14)-dien-11-ol	1671	1678	--	0,59	IK,EM
64	ocidenol	1673	1678	0,3	--	IK,EM
65	khusinol	1680	1680	1,08	--	IK,EM
66	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1686	1688	0,39	--	IK,EM
67	eudesm-7(11)-en-4-ol	1697	1700	0,8	--	IK,EM
Classes de Compostos						
Monoterpenos Hidrocarbonetos				16,67	36,84	
Monoterpenos Oxigenados				0,24	1,3	
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos				46,03	33,94	
Sesquiterpenos Oxigenados				31,06	17,06	
TOTAL				94,00	89,14	

Legenda:

^(a)Componentes listados em ordem de eluição na coluna DB-5;^(b)Índice de Kovats da calculado;^(c)Índice de Kovats da literatura Adams 2001;

(N.I.) Não identificados.

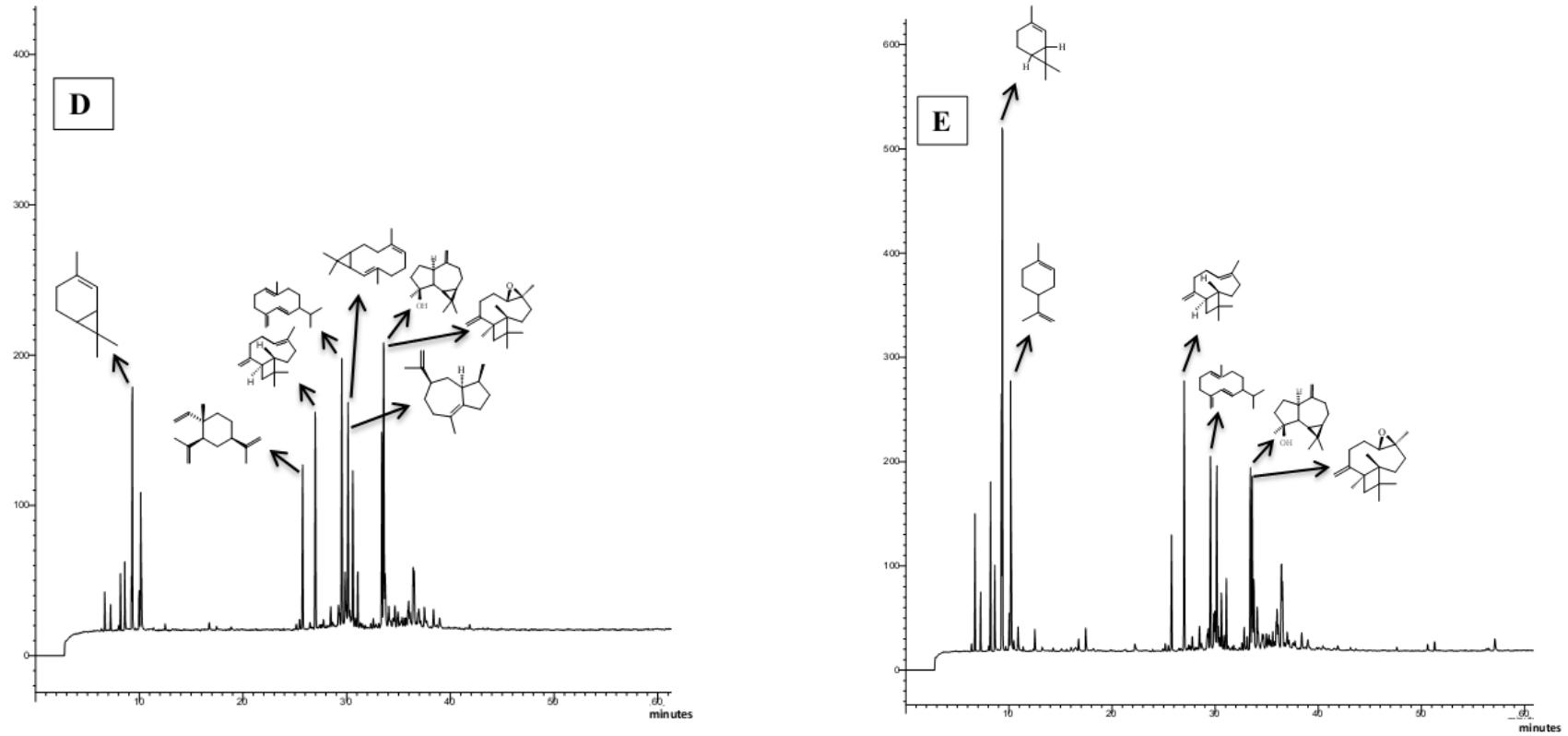


Figura 29. Perfil cromatográfico do óleo das folhas e flores de *S. lentiscifolius* coletadas em Ijuí **D** - folhas **E**- flores. A coluna utilizada é a DB-5 (30m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 μm). Programa de análise: T_{inicial}= 60 °C, T_{final}= 250 °C, rampa de 3°C min⁻¹

4.1.1.5 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis das folhas das espécies coletadas em Ijuí (2011): *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus*

A identificação dos componentes voláteis dos óleos das folhas das espécies, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus*, foi realizada com o objetivo de comparação com o óleo essencial de *S. lentiscifolius*, embora estas outras espécies apresentem resultados de coleta de outras partes do mundo, elas também pertencem ao nosso bioma, sendo importante verificar a sua composição química de forma comparativa. Foram analisados os óleos essenciais das folhas e dos frutos. Os constituintes químicos identificados para as quatro espécies podem ser observados na Tabela 10.

Para a análise comparativa dos óleos, todas as amostras foram coletadas no mesmo período (agosto de 2011). O rendimento de óleo volátil das folhas das quatro espécies coletadas variou entre 0,12-0,43%, sendo maior o rendimento observado para o óleo de *S. molle*.

Estes resultados são comparáveis aos dados publicados,^{72,67} tendo o óleo de *S. terebinthifolius* apresentado uma variação entre 0,11-0,44% para folhas e entre 2,98-4,65% para frutos. A análise comparativa entre os diferentes óleos mostrou uma grande variabilidade nos seus constituintes químicos, por exemplo, o óleo essencial de *S. polygamus* não apresentou monoterpenos hidrocarbonetos, Figura 30, já no óleo de *S. molle* não foram identificados monoterpenos oxigenados. Os óleos de *S. terebinthifolius* e *S. molle* foram ricos em sesquiterpenos hidrocarbonetos (80,98% e 70,29%, respectivamente), enquanto que *S. polygamus* apresentou maior percentual em sesquiterpenos oxigenados (69,17%). Mesmo entre os principais componentes em cada óleo, percebe-se grande diferença. Em *S. lentiscifolius*, o ρ -menta-1(7)-8-dieno, o β -elemeno, o β -cariofileno, o germacreno D, o biciclogermacreno e o óxido de cariofileno são os principais. Na espécie *S. terebinthifolius* se apresentaram como majoritários o α -copaeno, o β -cariofileno, o (*E*)-cariofileno, o γ -muuroleno e o biciclogermacreno. Na espécie *S. molle*, tem-se o γ -muuroleno, o biciclogermacreno e o δ -cadineno. Já na espécie *S. polygamus*, tem-se o espatulenol e o τ -muurolol. Destacaram-se, portanto, em cada espécie (coleta de agosto de 2011, inverno): o germacreno D (*S. lentiscifolius*), o (*E*)-cariofileno (*S. terebinthifolius*), o biciclogermacreno

(*S. molle*), e o τ -muurolol (*S. polygamus*). Os cromatogramas da Figura 31 mostram os perfis apresentados para cada uma das amostras analisadas.

Tabela 10. Compostos identificados e composição química (%) dos óleos essenciais das folhas das quatro espécies analisadas (Ijuí, 2011).

(continua)

Pico	Compostos (a)	Ik (b)	Ik (c)	SL FL	ST FL	SM FL	SP FL	Ident.
				08/11	08/11	08/11	08/11	
1	α -pineno	932	939	2,01	1,94	0,44	-	IK,EM
2	canfeno	949	954	1,35	-	-	-	IK,EM
3	β -pineno	978	979	2,29	1,38	0,16	-	IK,EM
4	mirreno	989	991	2,64	-	-	-	IK,EM
5	α -felandreno	1007	1003	2,22	-	-	-	IK,EM
6	ρ -menta-1(7),8-dieno	1009	1004	9,3	-	-	-	IK,EM
7	ρ -cimeno	1025	1025	0,93	-	-	-	IK,EM
8	limoneno	1029	1029	3,76	0,45	1,29	-	IK,EM
9	δ -3-careno	1031	1031	1,28	0,50	-	-	IK,EM
10	(Z)- β -ocimeno	1036	1037	-	0,21	-	-	IK,EM
11	(E)- β -ocimeno	1046	1050	0,25	0,53	-	-	IK,EM
12	γ -terpinoleno	1086	1089	0,25	-	-	-	IK,EM
13	terpinen-4-ol	1173	1177	-	0,3	-	-	IK,EM
14	cis-pinocarveol	1182	1184	0,24	-	-	-	IK,EM
15	α -terpineol	1186	1189	0,28	0,24	-	-	IK,EM
16	decanal	1209		-	-	-	0,19	IK,EM
17	geraniol	1256	1253	-	-	-	0,22	IK,EM
18	n-decanol	1277	1270	-	-	-	0,42	IK,EM
19	undecan-2-ona	1295	1294	-	-	-	0,6	IK,EM
20	undecanal	1306	1307	-	-	-	0,29	IK,EM
21	undecan-2-ona	1295	1294	-	-	-	0,60	IK,EM
22	undecanal	1306	1307	-	-	-	0,29	IK,EM
23	δ -elemeno	1334	1338	-	-	0,18	0,23	IK,EM
24	α -cubebeno	1346	1351	-	0,39	-	-	IK,EM
25	eugenol	1355	1359	-	-	0,56	-	IK,EM
26	α -copaeno	1375	1377	0,29	8,42	0,23	-	IK,EM

(continuação)

27	β -bourboneno	1382	1388	1,26	0,16	-	-	IK,EM
28	β -elemeno	1389	1391	6,86	2,35	0,76	-	IK,EM
29	N.I	1404		0,2	-	-	-	IK,EM
30	α -gurjuneno	1405	1410	-	0,25	1	1,81	IK,EM
31	(E)- cariofileno	1417	1419	7,54	23,54	3,85	-	IK,EM
32	β -gurjuneno	1427	1434	0,21	-	-	-	IK,EM
33	aromadendreno	1437	1441	-	0,23	-	-	IK,EM
34	cis-muuro-la-3,5-dieno	1448	1450	-	0,19	-	-	IK,EM
35	α -cariofileno	1454	1455	0,65	2,18	1,30	-	IK,EM
36	alloaromadendreno	1459	1460	-	1,62	0,63	-	IK,EM
37	(E)-9- <i>epi</i> -cariofileno	1471	1466	-	0,55	-	-	IK,EM
38	β -chamigreno	1471	1478	0,74	-	-	-	IK,EM
39	γ -gurjuneno	1474	1477	-	0,24	-	-	IK,EM
40	germancreno-D	1480	1485	8,71	-	-	-	IK,EM
41	γ -muurolelo	1480	1480	0,48	10,63	8,75	2,96	IK,EM
42	β -selineno	1488	1490	1,59	0,39	-	1,38	IK,EM
43	viridiflorene(ledeno)	1489	1497	0,71	-	-	-	IK,EM
44	δ -selineno	1490	1493	-	0,51	-	-	IK,EM
45	biciclogermacreno	1495	1500	7,10	19,06	34,11	-	IK,EM
46	α -muurolelo	1497	1500	0,21	-	-	0,73	IK,EM
47	β -guaieo	1503	1503	-	-	0,28	3,14	IK,EM
48	β -trans-guaieo	1506	1503	4,22	-	-	-	IK,EM
49	γ -guaieo	1506	1510	-	-	0,76	-	IK,EM
50	germacreno A	1506	1509	0,26	4,63	-	-	IK,EM
51	δ -guaieo	1510	1510	-	0,62	-	-	IK,EM
52	γ -cadineno	1513	1514	1,38	1,45	0,16	1,04	IK,EM
53	β -cadineno	1516	1514	-	-	2,93	-	IK,EM
54	N.I	1518		-	-	0,42	-	IK,EM
55	δ -cadineno	1518	1523	0,33	3,23	9,84	2,03	IK,EM
56	β -sesquifelandreno	1520	1523	-	-	0,41	-	IK,EM

(continuação)

57	trans-calameneno	1522	1529	-	0,17	-	-	IK,EM
58	dodecanato de metila	1526	1526	-	-	-	0,51	IK,EM
59	trans-cadina-1(2),4-dieno	1531	1535	-	0,16	3,14	-	IK,EM
60	silphiperfol-5-en-3-ol	1535	1536	-	-	0,78	-	IK,EM
61	α -cadineno	1536	1539	-	-	-	0,25	IK,EM
62	N.I	1539		-	-	0,23	-	IK,EM
63	epóxido γ -gurjuneno	1541	1542	-	-	-	0,43	IK,EM
64	N.I	1557		-	-	-	0,23	IK,EM
65	germacrene D	1561	1561	0,21	-	-	0,82	IK,EM
66	Ledol	1569	1569	-	0,17	-	0,38	IK,EM
67	(Z)-dihidro-apofarnesol	1573	1573	0,21	-	-	-	IK,EM
68	germacreno D-4-ol	1574	1576	-	-	-	2,77	IK,EM
69	espatulenol	1576	1578	3,69	1,88	-	6,66	IK,EM
70	óxido de cariofileno	1581	1583	6,16	0,39	-	2,08	IK,EM
71	globulol	1585	1585	1,75	0,84	-	2,82	IK,EM
72	epiglobulol	1593	1588	0,70	-	-	-	IK,EM
73	viridiflorol	1594	1593	-	-	-	1,74	IK,EM
74	N.I	1595		0,24	-	-	-	IK,EM
75	N.I	1603		0,25	-	-	-	IK,EM
76	epóxido isoaromadendreno	1604	1590	-	-	1,75	-	IK,EM
77	Guaiol	1605	1601	-	1,28	-	-	IK,EM
78	khusimone	1605	1604	-	-	-	1,22	IK,EM
79	N.I	1606		0,21	-	-	-	IK,EM
80	N.I	1608		0,35	-	-	-	IK,EM
81	N.I	1609		0,20	-	-	-	IK,EM
82	N.I	1610		-	-	-	0,58	IK,EM
82	N.I	1614		0,24	-	-	-	IK,EM
84	óxido de alloarodendreno	1615	1612	-	-	0,42	-	IK,EM
85	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1616	1619	0,17	0,21	-	1,42	IK,EM
86	isolongifolan-7 α -ol	1617	1619	0,54	-	-	-	IK,EM

(continuação)

87	10- <i>epi</i> - γ -eudesmol	1623	1624	0,23	-	0,52	-	IK,EM
88	N.I	1625		-	-	-	0,18	IK,EM
89	1- <i>epi</i> -cubenol	1629	1629	0,39	0,26	0,96	0,56	IK,EM
90	α -acorenol	1633	1633	-	-	-	2,08	IK,EM
91	γ -eudesmol	1633	1632	0,31	-	-	-	IK,EM
92	eremoligenol	1634	1631	-	0,23	-	-	IK,EM
93	cis-cadin-4-en-7-ol	1637	1637	0,37	-	-	-	IK,EM
94	τ -cadinol	1640	1640	0,46	4,37	0,89	-	IK,EM
95	τ -muurolol	1644	1642	0,75	-	0,31	27,47	IK,EM
96	α -muurolol	1645	1646	0,47	-	2,28	-	IK,EM
97	α -eudesmol	1648	1654	-	-	9,56	-	IK,EM
98	α -cadinol	1656	1654	2,03	1,49	3,34	3,50	IK,EM
99	eudesma-11-en-4-ol	1658	1660	1,98	-	-	-	IK,EM
100	7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1661	1664	0,38	-	-	1,28	IK,EM
103	(E)-14-hidroxi-9- <i>epi</i> -cariofileno	1670	1670	0,56	-	-	-	IK,EM
104	guaia-3-10(14)-dien-11-ol	1675	1678	0,19	-	-	0,4	IK,EM
105	ocidenol	1676	1678	-	-	-	0,54	IK,EM
106	khusinol	1681	1680	0,66	-	-	1,12	IK,EM
107	N.I	1688		-	-	-	1,83	IK,EM
108	eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1690	1688	0,18	-	-	0,58	IK,EM
109	eudesm-7(11)-en-4-ol	1694	1700	0,65	-	4,69	-	IK,EM
110	N.I	1719		-	-	-	2,14	IK,EM
111	N.I	1724		0,38	-	-	-	IK,EM
112	N.I	1737		-	-	-	0,39	IK,EM
113	N.I	1742		-	-	-	0,20	IK,EM
114	N.I	1757		-	-	-	0,21	IK,EM
115	N.I	1766		-	-	-	0,41	IK,EM
116	14-oxi- δ -muuroleno	1771	1769	-	-	-	1,13	IK,EM
117	N.I	1780		-	-	-	1,37	IK,EM
118	nootkatone	1797	1807	-	-	-	4,11	IK,EM

(conclusão)

Classes de Componentes				
Monoterpenos Hidrocarbonetos	26,28	5,01	1,89	0
Monoterpenos Oxigenados	0,94	0,54	0	1,72
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos	42,95	80,98	70,29	15,56
Sesquiterpeno Oxigenado	24,7	11,12	24,72	69,17
TOTAL	94,87	97,64	96,93	86,45

Legenda:

^(a)Componentes listados em ordem de eluição na coluna DB-5;

^(b)Índice de Kovats da calculado;

^(c)Índice de Kovats da literatura Adams 2001;

(N.I.) Não identificados.

Para a análise comparativa dos óleos, todas as amostras foram coletadas no mesmo período (agosto de 2011). O rendimento de óleo volátil das folhas das quatro espécies coletadas variou entre 0,12-0,43%, sendo maior o rendimento observado para o óleo de *S. molle*.

Estes resultados são comparáveis aos dados publicados,^{72,67} tendo o óleo de *S. terebinthifolius* apresentado uma variação entre 0,11-0,44% para folhas e entre 2,98-4,65% para frutos. A análise comparativa entre os diferentes óleos mostrou uma grande variabilidade nos seus constituintes químicos, por exemplo, o óleo essencial de *S. polygamus* não apresentou monoterpenos hidrocarbonetos, Figura 30, já no óleo de *S. molle* não foram identificados monoterpenos oxigenados. Os óleos de *S. terebinthifolius* e *S. molle* foram ricos em sesquiterpenos hidrocarbonetos (80,98% e 70,29%, respectivamente), enquanto que *S. polygamus* apresentou maior percentual em sesquiterpenos oxigenados (69,17%). Mesmo entre os principais componentes em cada óleo, percebe-se grande diferença. Em *S. lentiscifolius*, o ρ -menta-1(7)-8-dieno, o β -elemeno, o β -cariofileno, o germacreno D, o biciclogermacreno e o óxido de cariofileno são os principais. Na espécie *S. terebinthifolius* se apresentaram como majoritários o α -copaeno, o β -cariofileno, o (*E*)-cariofileno, o γ -muuroleno e o biciclogermacreno. Na espécie *S. molle*, tem-se o γ -muuroleno, o biciclogermacreno e o δ -cadineno. Já na espécie *S. polygamus*, tem-se o espatulenol e o τ -muurolol. Destacaram-se, portanto, em cada espécie (coleta de agosto de 2011, inverno): o germacreno D (*S. lentiscifolius*), o (*E*)-cariofileno (*S. terebinthifolius*), o biciclogermacreno (*S. molle*), e o τ -muurolol (*S. polygamus*). Os cromatogramas da Figura 31 mostram os perfis apresentados para cada uma das amostras analisadas.

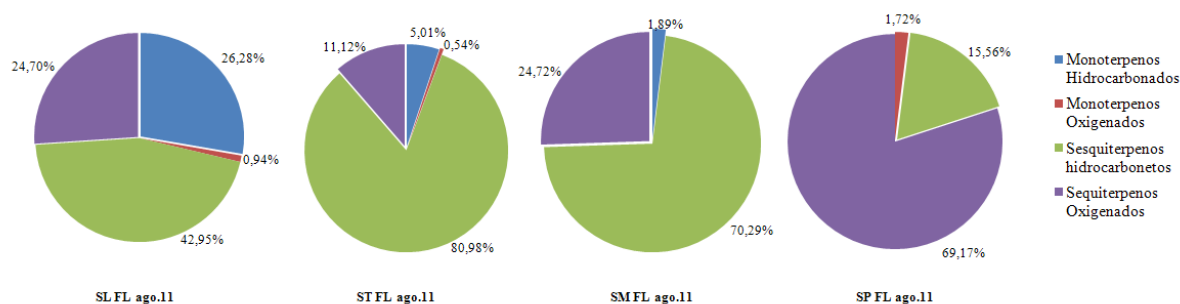
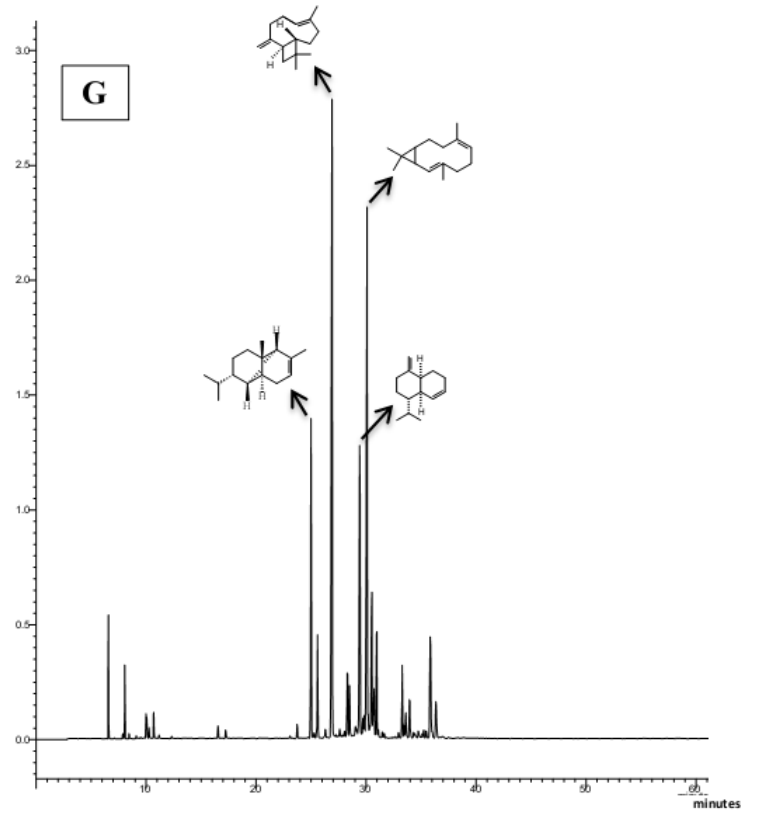
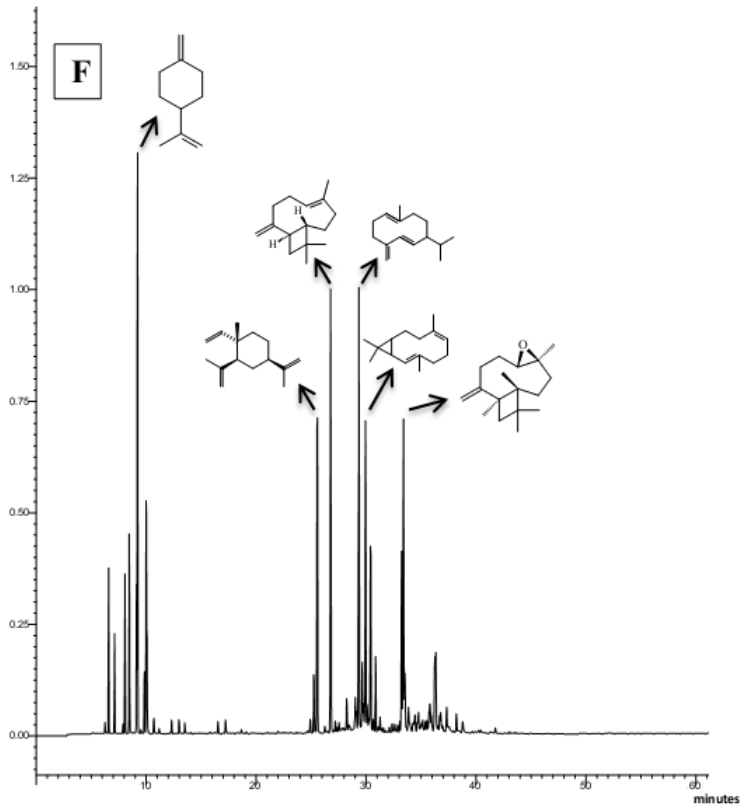


Figura 30. Representação gráfica percentual das classes de compostos terpênicos do óleo das folhas das quatro espécies coletadas no inverno (Ijuí, 2011).



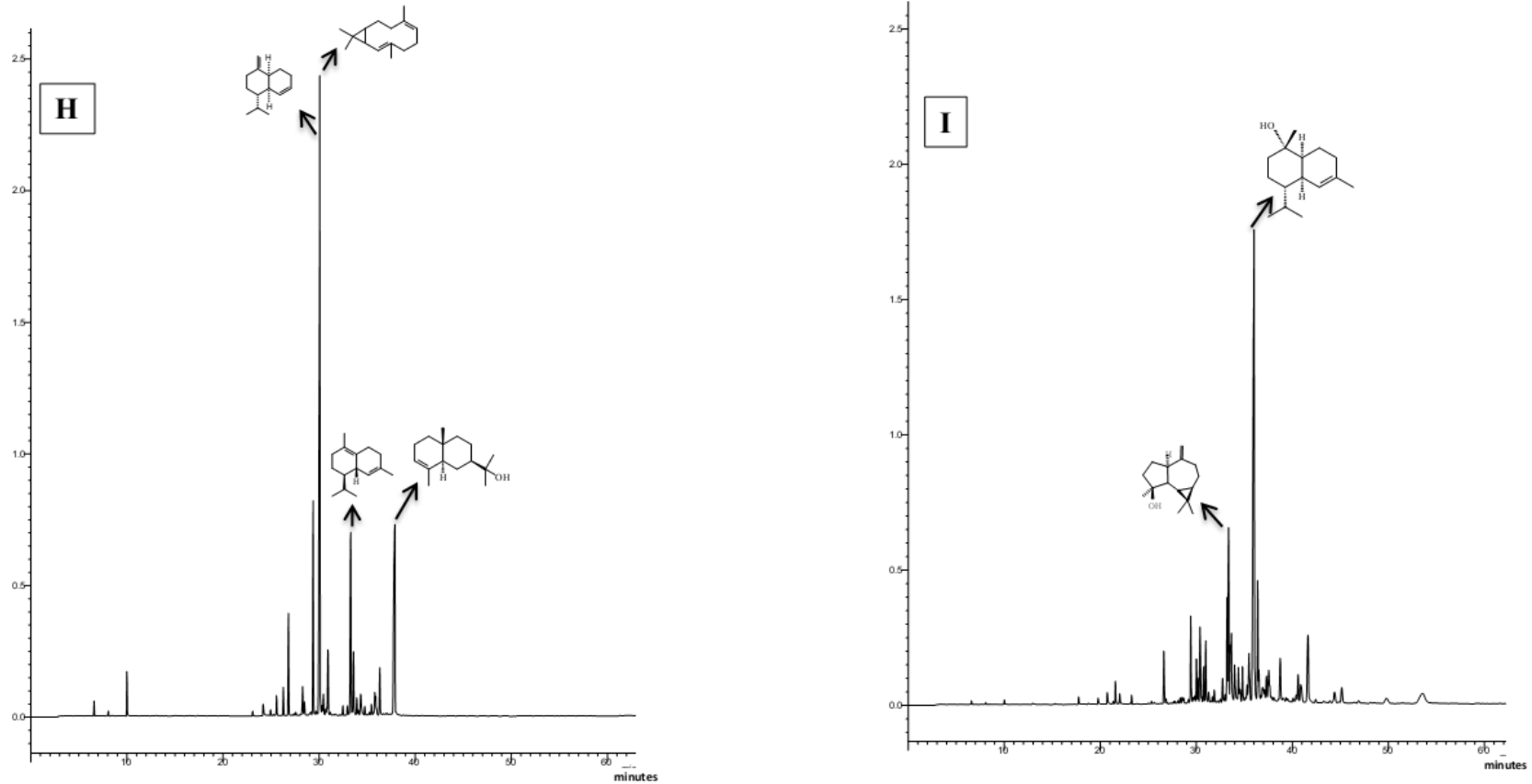


Figura 31. Perfil cromatográfico do óleo das folhas das quatro espécies coletadas no inverno em Ijuí **F -SL FL ago.11; G - ST FL ago.11; H- SM FL ago.11 e I - SP FL ago.11**. A coluna utilizada é a DB-5 (30m, i.d. 0,25mm, filme 0,25 μm). Programa de análise: $T_{\text{inicial}} = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{final}} = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, rampa de $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$

Os óleos essenciais de folhas de *S. terebinthifolius* obtidos no presente estudo apresentaram variações quando comparados com aqueles previamente descritos na literatura. Por exemplo, α -pineno (51,82%) em plantas indianas,⁴⁶ α -felandreno (24,2%) em plantas do Egito,¹⁷⁹ e limoneno (17,7%) e *p*-cimeno (15,7%), identificados como constituintes majoritários em plantas de Reunion Island.¹⁸⁰

O óleo essencial obtido de plantas (folhas) cultivadas no Egito¹⁸¹ foi caracterizado por monoterpenos hidrocarbonetos e oxigenados (4,97-34,37%) e sesquiterpenos hidrocarbonetos e oxigenados (56,96-3,32%). O *cis*- β , terpineol (17,87%), (*E*)-cariofileno (17,56%), β -cedrene (9,76%) e citronelal (7,03%) foram os compostos majoritários. Convém ressaltar que esse foi o primeiro relato encontrado da presença do citronelal na espécie.

Em um estudo conduzido por Santos *et al.*⁵⁰ os óleos essenciais das folhas de *S. molle* e *S. terebinthifolius* foram caracterizados por maior percentagem de monoterpeno (63,09-36,01%) e sesquiterpenos (31,018-38,52%) hidrocarbonetos. Sabineno (48,63% e 51,74%) e limoneno (10,20% e 16,98%) foram os principais componentes dos óleos obtidos das folhas e frutos de *S. molle*, sendo o biciclogermacreno (18,12%) destaque no óleo das folhas. Da mesma forma, limoneno (14,21% e 16,99%) e germacreno D (11,45% e 10,85%) foram os principais componentes dos óleos obtidos das folhas e frutos de *S. terebinthifolius*, mas a presença de δ -cadinene (9,21%) e mirceno (20,43%) caracterizou o óleo de folhas e frutos, respectivamente. Interessante destacar a presença do decanal em *S. molle*, enquanto α - β -cubebeno, *trans*- β -farneseno, *cis*-calemeneno e α -amorfeno foram evidenciados apenas em *S. terebinthifolius*.

Estudos anteriores com espécies de *S. polygamus* coletadas em diferente locais na região metropolitana de Porto Alegre mostraram diferenças marcantes na composição química do óleo, quando comparadas com o óleo de folhas analisado neste estudo, bem como os resultados encontrados para a espécie coletada na Argentina¹⁵⁴ e no Chile.³⁷ A Tabela 11 sumariza os resultados da análise dos constituintes dos óleos essenciais analisados em diferentes locais. Estes resultados mostram o perfil de compostos bastante diferenciados em relação aos óleos de Ijuí, como a ausência de monoterpenos hidrocarbonetos e a presença de

¹⁷⁹IBRAHIM, M.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinusterebinthifolius* oils. **Bull Fac Pharm.**, 2004, v. 42. p. 289-296.

¹⁸⁰VERNIN, G.; PARKANYI, C. GC/MS analyses of the volatile constituents of *Schinus terebinthifolius* from Reunion Island. Abstract of papers. **225th ACS National Meeting**. Washington D.C., USA: Ed. American Chemical Society, 2003.

¹⁸¹KHALED, F.; EL-MASSRY; AHMED, H.; EL-GHORAB; SHAABAN, H.A.; TAKAYUKI, S. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **J. Agric. Food Chem.**, 2009, v. 57. p. 5265-5270. DOI:10.1021/jf900638c.

grande quantidade de sesquiterpenos oxigenados. O óleo coletado em Porto Alegre se diferencia dos demais pela elevada quantidade do composto n-nonano, ausente nas demais amostras.¹⁸² Os compostos majoritários da planta nativa da Argentina foram o limoneno e o α -felandreno (22,6% e 12,9%), enquanto que no óleo chileno, os principais compostos foram o β -pineno, o n-decanol, o α -terpineol e o 4-terpineol (8,91, 8,56, 12,1 e 5,98%), respectivamente.

¹⁸² DAMASCENO, F. C.; PRIMIERI, N. K.; GONCALVES, S. G. L.; ALCARAZ, Z.C. Analysis of volatile compounds of leaves and galls of *Schinus polygamus* and *Baccharis spicata* by Headspace Solid – Phase Microextraction. **Analytical Letters**, 2008, v. 41, n. 9, p. 1658-1673.

Tabela 11. Comparação da composição química (%) dos óleos voláteis de folhas de *S. polygamus* coletados em Ijuí, Porto Alegre (Brasil), com a composição de um óleo chileno e argentino.

(continua)

Compostos (a)	Ik (b)	Brasileira		Chilena (b)	Argentina (a)
		Ijuí	Porto Alegre (c)		
n-nonano	900	-	77	-	-
álcool N.I		-	2	-	-
álcool N.I		-	0,6	-	-
álcool N.I		-	1,5	-	-
α -tujeno	930	-	-	0,62	-
α -pineno	939	-	0,5	4,06	-
N.I	-	-	0,5	-	-
N.I	-	-	0,3	-	-
N.I	-	-	0,5	-	-
sabineno	975	-	-	-	3,7
β -pineno	979	-	-	8,91	-
mirceno	991	-	-	0,26	3,3
n-octanal	999	-	0,3	-	-
α -felandreno	1003	-	-	-	12,9
(Z)-acetato de hexenila	1005	-	0,4	-	-
α -terpineno	1017	-	-	-	6,2
<i>p</i> -cimeno	1025	-	-	0,96	-
<i>o</i> -cimeno	1026	-	0,3	-	-
N.I	-	-	-	-	-
limoneno	1029	-	2,9	2,36	22,6
1,8-cineol	1031	-	0,5	-	-
(Z)- β -ocimeno	1037	-	-	-	3
2-acetato de heptila	1044	-	-	-	-
(E)- β -ocimeno	1050	-	1,2	-	1
n-octanol	1068	-	-	0,2	-
cetona		-	0,2	-	-

(continuação)

cetona		-	3,9	-	-
óxido de <i>cis</i> -linalol	1087	-	-	-	2
2-nonanona	1090	-	-	-	-
linalol	1097	-	-	1,37	-
n-undecano	1100	-	1,4	-	-
acetato de heptila	1102	-	-	-	-
N.I	-	-	0,4	-	-
endo-fenchol	1117	-	-	0,51	-
<i>cis</i> - <i>p</i> -2-meten-1-ol	1122	-	-	-	2
<i>trans</i> -pinocarveol	1139	-	-	0,93	-
<i>trans</i> - <i>p</i> -2-meten-1-ol	1141	-	-	-	2,1
cânfora	1146	-	-	-	0,6
borneol	1169	-	-	0,33	-
4-terpineol	1177	-	-	5,98	-
<i>cis</i> -3-butanoato de hexenila	1186	-	0,2	-	-
α -terpineol	1189	-	-	6,83	-
mirtenol	1196	-	-	1,16	-
n-decanal	1202	0,19	0,5	-	-
geraniol	1253	0,22	-	-	-
n-decanol	1270	0,42	-	8,56	-
undecan-2-ona	1294	0,6	0,8	-	-
undecanal	1307	0,29	-	-	-
δ -elemeno	1338	0,23	0,4	-	-
acetato de octila		-	-	-	-
N.I	-	-	-	-	-
N.I	-	-	0,3	-	-
<i>trans</i> -geraniol		-	-	0,55	-
acetato de endobornil		-	-	-	-
N.I	-	-	-	-	-
α -cubebeno	1351	-	-	-	-

(continuação)

acetato de citronelil	1353	-	-	-	0,9
α -copaeno	1377	-	-	-	-
β -cubebeno	1388	-	-	0,42	-
β -elemeno	1391	-	-	-	0,8
N.I	-	-	-	-	0,2
longifoleno	1408	-	-	-	2
dodecanal	1409	-	0,2	-	-
α -gurjuneno	1410	1,81	-	-	0,8
(E)-cariofileno	1419	-	-	2,96	0,1
N.I	-	-	-	-	0,1
aromadendreno	1441	-	-	0,44	-
α -humuleno	1455	-	-	0,69	0,8
(E, β)-farneseno	1457	-	-	-	0,8
alloaromadendreno	1460	-	-	-	-
1-dodecanol	1471	-	-	5,57	-
γ -muuroleno	1480	2,96	-	-	-
α -amorfeno	1485	-	-	-	-
germancreno-D	1485	0,82	1,2	-	3,3
β -selineno	1490	1,38	-	-	-
biciclogermacreno	1500	-	0,2	-	-
epi-biciclosesquifelandreno	-	-	-	0,58	-
α -muuroleno	1500	0,73	-	0,56	0,6
β -guaieno	1503	3,14	-	-	-
(E,E)- α -farneseno	1506	-	1	-	-
γ -cadineno	1514	1,04	-	0,32	0,1
δ -cadineno	1523	2,03	-	3,46	3,2
dodecanato de metila	1526	0,51	-	-	-
α -cadineno	1539	0,25	-	-	-
epóxido γ -gurjuneno	1542	0,43	-	-	-
N.I	-	0,23	-	-	-

(continuação)

elemol	1550	-	-	0,41	-
germacreno B	1561	-	-	-	2,8
(E)-nerolidol	1563	-	0,3	-	-
(Z)-3-benzoato de hexenila	-	-	0,2	-	-
ledol	1569	0,38	-	-	-
germacreno D-4-ol	1576	2,77	-	-	-
espatulenol	1578	6,66	-	0,81	3,7
óxido de cariofileno	1583	2,08	-	-	2,5
globulol	1585	2,82	-	-	-
viridiflorol	1593	1,74	-	-	-
guaiol	1601	-	-	-	-
khusimone	1604	1,22	-	-	-
N.I	-	0,58	-	-	-
1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1619	1,42	-	-	-
N.I	-	0,18	0,3	-	-
1- <i>epi</i> -cubenol	1629	0,56	-	-	-
α -acorenol	1633	2,08	-	-	-
epoxi-aloaromadendreno	1641	-	-	1,68	-
τ -muurolol	1642	27,47	-	-	-
<i>epi</i> - α -murulol	1642	-	-	-	-
selina-3,11-dien-6- α -ol	1644	-	-	0,68	-
α -muurolol	1646	-	-	-	-
cubenol	1647	-	-	-	5,6
β -eudesmol	1651	-	-	-	1,5
α -cadinol	1654	3,5	-	1,05	7,1
7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1664	1,28	-	-	-
guaia-3-10(14)-dien-11-ol	1678	0,4	-	-	-
khusinol	1680	1,12	-	-	-
N.I	-	1,83	-	-	-
eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol	1688	0,58	-	-	-

(conclusão)

7(11)eudesmen-4-ol	1700	-	-	-	-
longifolol	1715	-	-	-	-
N.I	-	2,14	-	-	-
N.I	-	0,39	-	-	-
N.I	-	0,2	-	-	-
N.I	-	0,21	-	-	-
N.I	-	0,41	-	-	-
14-oxi- δ -muuroleno	1769	1,13	-	-	-
N.I	-	1,37	-	-	-
nootkatone	1807	4,11	-	-	-

4.1.1.6 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de frutos de *S. terebinthifolius* coletados em Ijuí

Além de folhas, algumas espécies tiveram seus frutos analisados. A espécie *S. terebinthifolius* produz frutos aromáticos, muito utilizados como condimento, substituto da pimenta. Trata-se de um óleo interessante sob o ponto de vista econômico por ser mais abundante que o óleo das folhas e das flores. Para se verificar a influência sazonal nesta composição, comparou-se o óleo dos frutos de duas estações-outono (maio de 2009) e verão (janeiro de 2010), conforme a Tabela 12.

Os óleos apresentam percentagens diferenciadas de monoterpenos, sendo evidenciada a presença majoritária dos pinenos: α -pineno, β -pineno e limoneno na fração dos monoterpenos hidrocarbonetos. No óleo do verão, pode-se observar grande proporção de hidrocarbonetos monoterpênicos, com um aumento da concentração de limoneno, tornando-se o principal componente em ambos os óleos. Além disso, é interessante notar a quase ausência de monoterpenos oxigenados. Na fração sesquiterpênica hidrocarbonada do óleo do outono, destacou-se o δ -cadineno (7,23%) como composto majoritário. Já no verão, além do δ -cadineno, foi evidenciado o germacreno D (7,49%).

O óleo dos frutos investigados por Santos *et al.*⁵⁰ (2009) se caracterizou pela predominância de monoterpeno e sesquiterpenos hidrocarbonetos (56,35-22,49%), dentre os quais limoneno (16,99%) e germacreno D (10,85%), além de uma elevada concentração de mirceno (20,43%). Os resultados são consistentes com os observados em nossa análise, exceto o observado para o mirceno.

O óleo volátil dos frutos analisados na Tunísia¹²⁹ apresentou como componentes majoritários: α -felandreno (34,38%), β -felandreno (10,61%), α -terpineol (5,60%), α -pineno (6,49%), β -pineno (3,09%) e *p*-cimeno (7,34%), respectivamente, além de acentuada quantidade de γ -cadineno (18,04%).

Tabela 12. Compostos identificados e (%) nos óleos essenciais dos frutos de *S. terebinthifolius* (Ijuí, 2009-2010)

(continua)

Pico	Componente	Ik (a)	Ik (b)	T FRUTA 25	T FRUTA 28	Ident.
				Maio/09	Jan./10	
1	α -pineno	932	939	12,81	13,27	IK,EM
2	Sabineno	972	975	0,71	0,97	IK,EM
3	β -pineno	978	979	3,42	4,21	IK,EM
4	mirceno	989	991	0,49	1,05	IK,EM
5	limoneno	1029	1029	18,72	25,83	IK,EM
6	canfenol	1112	1114	-	0,35	IK,EM
7	trans-pinocarveol	1139	1139	0,22	-	IK,EM
8	sabinol	1143	1143	0,29	-	IK,EM
9	verbenol	1149	1145	0,19	-	IK,EM
10	mirtenal	1199	1196	0,43	-	IK,EM
11	N.I	1212		0,34	-	IK,EM
12	trans-carveol	1223	1217	0,39	-	IK,EM
13	α -copaeno	1375	1377	1,22	1,15	IK,EM
14	β -cubebeno	1386	1388	-	0,33	IK,EM
15	β -elemeno	1388	1391	0,36	-	IK,EM
16	(Z)-cariofileno	1395	1409	0,36	-	IK,EM
17	α -gurjuneno	1406	1410	0,50	0,98	IK,EM
18	(E)- cariofileno	1418	1419	2,81	4,67	IK,EM
19	N.I	1451	-	-	0,33	IK,EM
20	trans-muurola-3,5-dieno	1452	1454	-	0,33	IK,EM
21	α -cariofileno	1454	1455	0,79	1,26	IK,EM
22	alloaromadendreno	1459	1460	0,20		IK,EM
23	(E)- 9- <i>epi</i> -cariofileno	1465	1466	-	0,23	IK,EM
24	trans-cadina-16),4-dieno	1473	1477	0,86	-	IK,EM
25	γ -gurjuneno	1474	1477	-	0,28	IK,EM
26	germancreno D	1480	1485	1,96	7,49	IK,EM
27	trans-muurola-4(14),5-dieno	1490	1493	0,98	-	IK,EM

(continuação)

28	viridifloreno	1496	1497	0,41	1,42	IK,EM
29	α -selineno	1496	1498	-	0,90	IK,EM
30	α -muuroleno	1498	1500	2,85	1,64	IK,EM
31	trans- β -guaieeno	1503	1503	-	0,24	IK,EM
32	cupareno	1508	1505	0,57	-	IK,EM
33	germacreno A	1506	1509	-	0,44	IK,EM
34	γ -cadineno	1513	1514	1,69	0,90	IK,EM
35	δ -cadieno	1518	1523	7,23	7,42	IK,EM
36	trans-calameneno	1522	1529	0,37	-	IK,EM
37	10- <i>epi</i> -cubebol		1535		0,28	IK,EM
38	α -cadineno	1537	1539	0,49	0,27	IK,EM
39	cis-muurol-5-en-4- β -ol	1551	1552	0,38	-	IK,EM
40	ledol	1570	1569	0,51	0,26	IK,EM
41	espatulenol	1577	1578	0,91	1,33	IK,EM
42	óxido de cariofileno	1582	1583	2,50	0,19	IK,EM
43	globulol	1585	1585	0,91	0,89	IK,EM
44	viridiflorol	1604	1593	0,64	0,50	IK,EM
45	5- <i>epi</i> -7- <i>epi</i> - α -eudesmol	1608	1608	1,92	1,25	IK,EM
46	N.I	1614		0,26	-	IK,EM
47	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1618	1619	-	0,33	IK,EM
48	1- <i>epi</i> -cubenol	1628	1629	0,84	0,63	IK,EM
49	τ -cadinol	1643	1640	2,37	1,76	IK,EM
50	τ -muurolol	1645	1642	4,83	2,66	IK,EM
51	cubenol	1648	1647	1,12	0,76	IK,EM
52	α -cadinol	1657	1654	9,27	5,42	IK,EM
53	cis-calameneno-10-ol	1694	1661	0,26	-	IK,EM
54	N.I	1732		-	0,53	IK,EM
55	eudesm-7(11)-en-4-ol	1733	1700	1,36	2,92	IK,EM
56	N.I	1763		0,25	-	IK,EM
57	N.I	1776		0,67	-	IK,EM

(conclusão)

58	N.I	1782		0,22	-	IK,EM
59	N.I	1797		0,24	-	IK,EM
60	N.I	1802		0,30	-	IK,EM
61	α -acetato de eudesmol	1807	1795	1,04	-	IK,EM
62	N.I	1831		0,47	-	IK,EM
Classes dos Compostos						
	Monoterpenos Hidrocarbonetos			36,15	45,33	
	Monoterpenos Oxigenados			1,86	0,35	
	Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			23,65	30,56	
	Sesquiterpenos Oxigenados			31,27	19,43	
	TOTAL			92,93	95,67	

Legenda:

^(a)Componentes listados em ordem de eluição na coluna DB-5;^(b)Índice de Kovats da calculado;^(c)Índice de Kovats da literatura Adams 2001;

(N.I.) Não identificados.

4.1.1.7 Análise comparativa da composição química dos óleos voláteis de frutos maduros (StFM) e verdes (StFV) de *S. terebinthifolius* coletados em Ijuí

Na literatura encontra-se o relato de Dumond,⁷² em 2006, descrevendo o perfil químico do óleo de duas fases de frutos: verdes e maduros. A presente análise torna-se válida, uma vez que se trata de espécie do nosso bioma. O rendimento em óleo volátil dos frutos verdes e maduros foi de 2,92-3,2%. Os óleos foram caracterizados por altas concentrações de monoterpenos hidrocarbonetos (70,49-75,74%), juntamente com quantidades não tão consideráveis de sesquiterpenos, resultado comparável ao observado por Bendaoud *et al.*¹²⁹ em óleos dos frutos de *S. terebinthifolius* analisados na Tunísia. Os monoterpenos mais abundantes em ambas as amostras de frutos maduros e verdes foram o α - pineno, o β -pineno e o limoneno, Tabela 13. Tanto as concentrações dos sesquiterpenos hidrocarbonetos como dos oxigenados não apresentaram acentuadas variações. É ilustrado na Figura 32 o perfil cromatográfico dos óleos essenciais.

Tabela 13. Compostos identificados e composição química (%) nos óleos essenciais dos frutos verdes (StFV) e maduros (StFM) de *S. terebinthifolius* (Ijuí)

(continua)

Pico	Compostos (a)	Ik (b)	Ik (c)	StFV	StFM	Ident.
1	α -tujeno	931	930	0,45	0,46	IK,EM
2	α -pineno	932	939	39,09	35,28	IK,EM
3	canfeno	949	954	0,20	0,16	IK,EM
4	sabineno	972	975	3,15	2,95	IK,EM
5	β -pineno	978	979	11,70	9,68	IK,EM
6	mirceno	989	991	1,76	3,03	IK,EM
7	α -felandreno	1007	1003	1,77	1,81	IK,EM
8	p-cimeno	1029	1025	1,34	0,84	IK,EM
9	limoneno	1029	1029	16,66	16,04	IK,EM
10	terpinen-4-ol	1183	1177	0,27	0,24	IK,EM
11	α -copaeno	1375	1377	0,69	0,77	IK,EM
12	β -elemeno	1389	1391	0,18	0,26	IK,EM
13	longifoleno	1400	1408	0,25	0,31	IK,EM
14	(Z)-cariofileno	1402	1409	1,13	1,28	IK,EM
15	α -gurjuneno	1405	1410	0,25	0,40	IK,EM
16	(E)-cariofileno	1417	1419	0,27	0,37	IK,EM
17	β -copaeno	1427	1432	0,17	0,21	IK,EM
18	β -gurjuneno	1428	1434	3,69	4,54	IK,EM
19	γ -elemeno	1433	1437	3,85	4,68	IK,EM
20	α -muuroleno	1494	1500	1,26	1,08	IK,EM
21	germacreno A	1507	1509	-	0,24	IK,EM
22	γ -cadineno	1513	1514	0,62	0,71	IK,EM
23	N.I	1520		-	0,22	IK,EM
24	δ -cadineno	1527	1523	3,53	4,00	IK,EM
25	germacreno B	1561	1561	0,71	0,77	IK,EM
26	germacreno D-4-ol	1574	1576	0,34	0,49	IK,EM
27	espatulenol	1578	1578	1,19	1,66	IK,EM

(conclusão)

28	óxido de cariofileno	1581	1583	0,29	0,28	IK,EM
29	guaiol	1605	1601	0,44	0,43	IK,EM
30	τ -muurolol	1640	1642	0,90	0,78	IK,EM
31	δ -cadinol	1645	1646	0,23	0,21	IK,EM
32	α -cadinol	1656	1654	0,76	0,65	IK,EM
33	khusinol	1681	1680		0,36	IK,EM
Classes dos compostos						
	Monoterpenos hidrocarbonetos			76,05	70,25	
	Monoterpenos Oxigenados			0,27	0,24	
	Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			16,59	19,84	
	Sesquiterpenos Oxigenados			4,15	4,86	
	TOTAL			96,48	95,19	

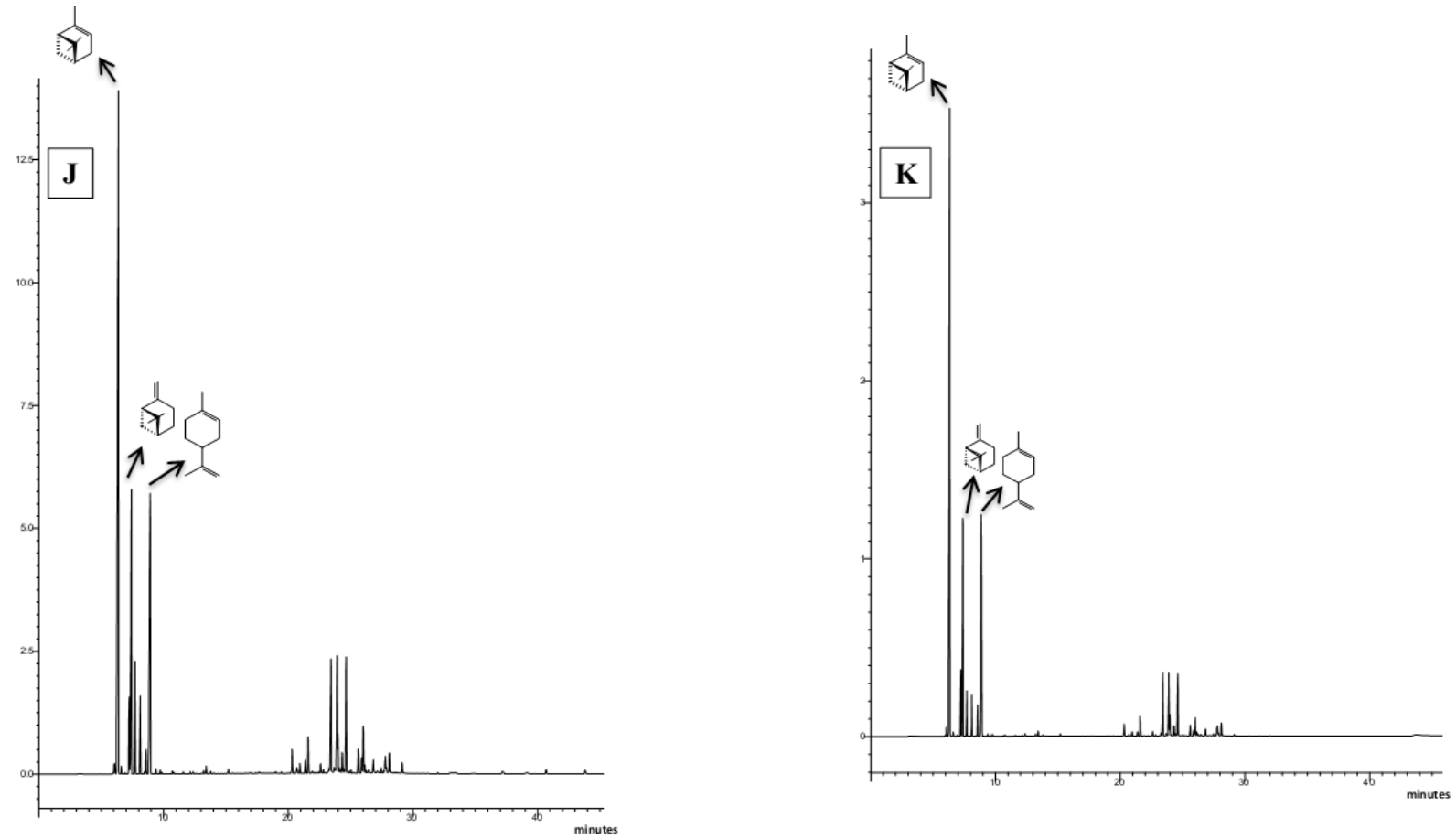


Figura 32. Perfil cromatográfico do óleo dos frutos maduros (J) e verdes (K) de *S. terebinthifolius* coletados em Ijuí.

4.2 Análise dos extratos aquosos e identificação dos metabólitos isolados

4.2.1 Fracionamento cromatográfico do extrato acetato de etila obtido do extrato aquoso *S. lentiscifolius*

Do extrato aquoso de acetato de etila de *S. lentiscifolius* foi isolado: um composto não identificado, FLA-1 (**115**) e o ácido gálico (**116**), enquanto do extrato aquoso butanólico de *S. molle* foram isolados e identificados os flavonóides quercetina (**90**) e rutina (**117**).

O composto denominado de FLA-1 (**115**) foi obtido do extrato aquoso de acetato de etila e apresentou-se como sólido amarelo de PF: 293-296 °C com decomposição. Este composto foi submetido á análise de RMN ¹H, de ¹³C e de massas.

O espectro de massas Figura 34 ESI (+) mostrou um íon molecular a m/z 539,2 o que corresponde a uma massa de 538 uma para FLA-1. Pela análise do RMN ¹H Figura 35 o espectro de hidrogênios mostra que a estrutura apresenta apenas hidrogênios aromáticos, já que os fenólicos foram trocados por deutério em MeOD. Estes hidrogênios aparecem no espectro em δ 7,88, 7,53, 6,98 e 6,74 ppm, todos na forma de dubletos com constantes de acoplamento orto (8,4 Hz e 8,8 Hz) e com integração para dois hidrogênios. Além desses, observa-se ainda quatro sinais singletos em δ 6,69, 6,63, 6,56 e 6,39 ppm. O espectro de carbonos Figura 36 sugere que a estrutura é composta por 30 carbonos, entre eles duas carbonilas. Estes dados, juntamente com os dados de massas, sugerem que a estrutura trata-se de um biflavonóide, do tipo agathisflavona, descartando a estrutura que propomos inicialmente do biflavonóide hinokiflavona isolado anteriormente do gênero *Rhus*.¹⁸³ Outros estudos ainda deverão ser feitos para comprovar a estrutura, uma vez que o ponto de fusão difere do encontrado na literatura.

¹⁸³Parveen, M.; Khan, N. U.; *Curr. Sci.* 1987, 56, 1171.

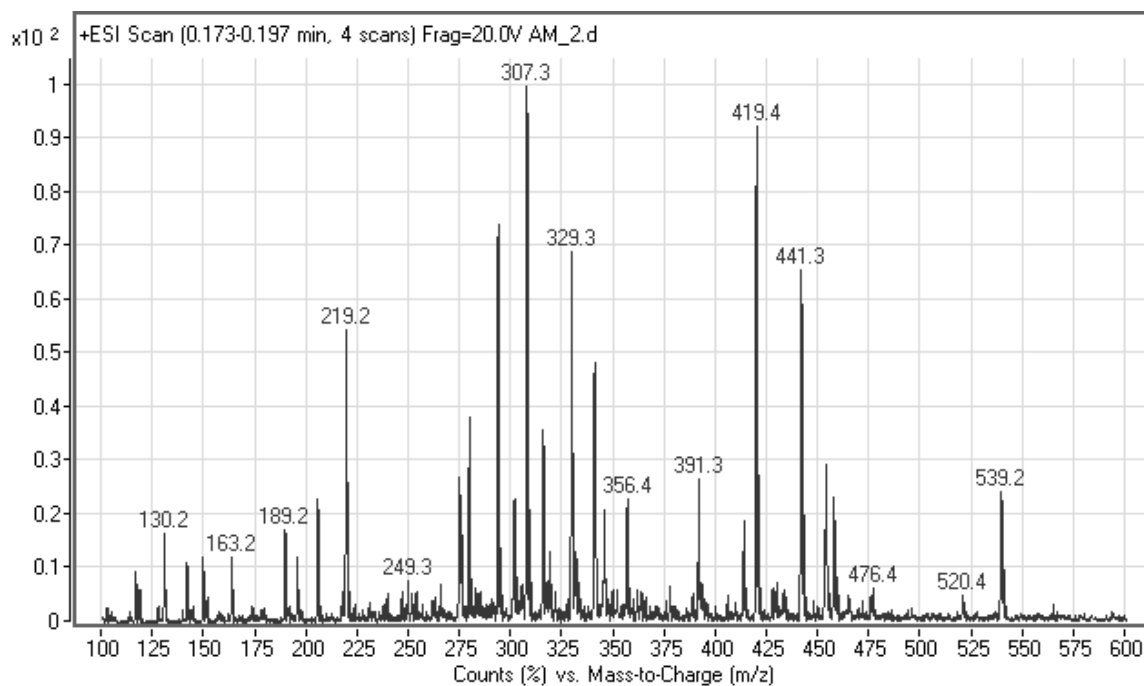


Figura 33. Espectro de Massas do FLA-1 (115).

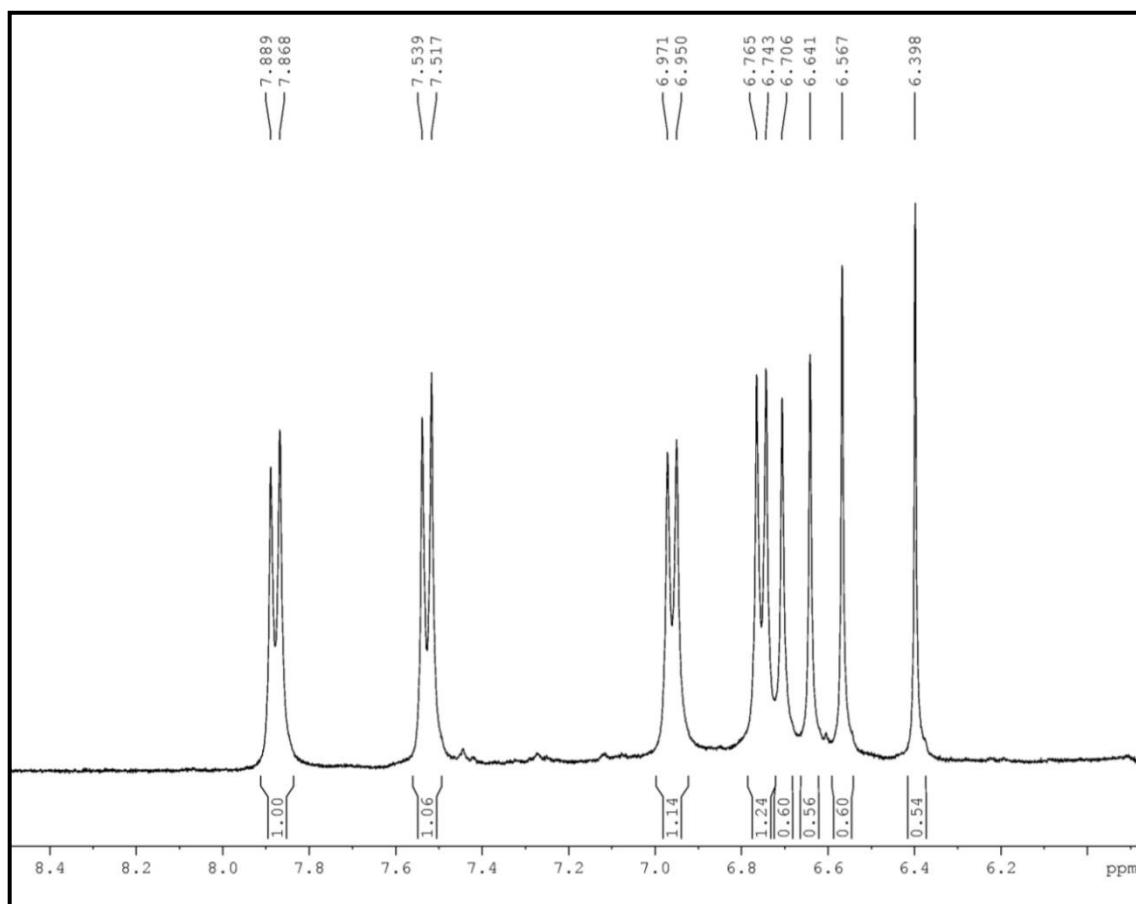


Figura 34. Espectro expandido na região δ 6,4-8,0 ppm de RMN de ^1H de FLA-1 (115) em MeOD, a 400,13 MHz.

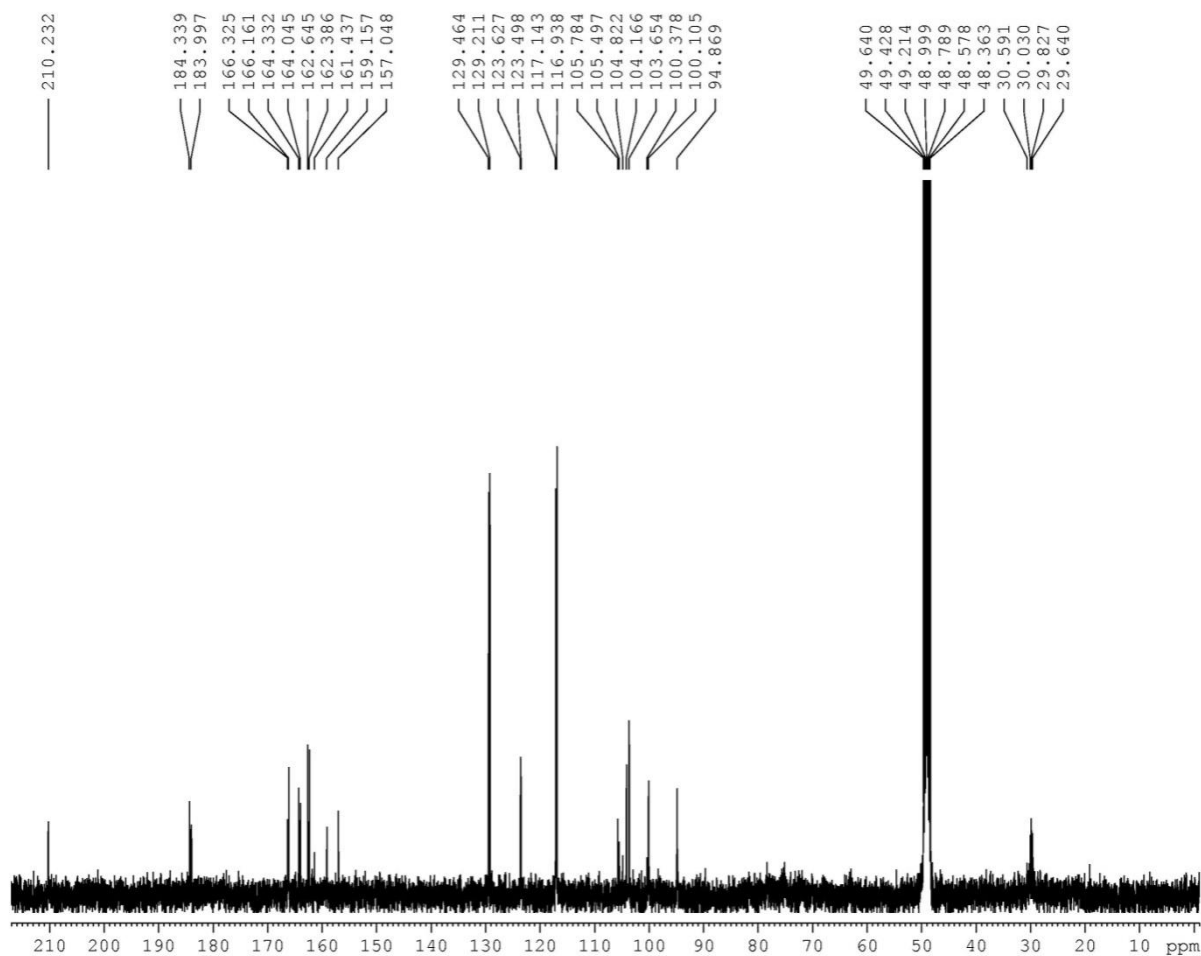


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C de FLA-1(**115**) em MeOD, a 100,62 MHz.

4.2.2 Isolamento e caracterização do ácido gálico

Ácido gálico (**116**) foi obtido da fração acetato de etila obtida do resíduo aquoso de *S. lentiscifolius*. A estrutura foi confirmada utilizando-se dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e de uma reação de derivatização.

No espectro de RMN de ^1H , Figura 36, é possível observar apenas um sinal, com integração para dois hidrogênios (H-2 e H-6, 2H, δ 7,15 ppm) do anel aromático.

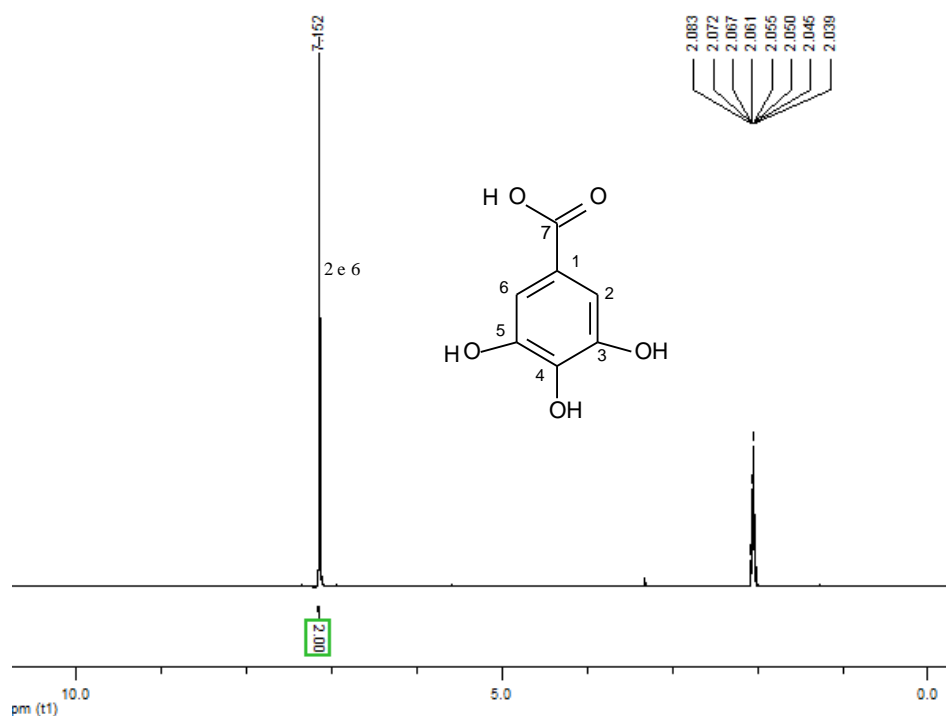


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H de ácido gálico (**116**), em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, a 400,13 MHz.

No espectro de RMN ^{13}C , Figura 38 é possível observar cinco sinais e dois sinal sobrepostos, que se referem ao C-2 e C-6 (δ 111,07 ppm) e C-3 e C-5 (δ 146,90 ppm). O sinal que absorve em 169,07 ppm, refere-se a carboxila C-7 e os sinais que absorvem em 122,94 ppm e 139,61 ppm, referem-se ao C-1 e C-4, respectivamente. Após a análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , é proposta a estrutura do ácido gálico (**116**). Os dados espectrais, ao serem comparados com os dados da literatura, levaram à identificação da substância como sendo o ácido gálico (**116**).^{184,185}

¹⁸⁴ SUNG,D.; ZHAO,Z.; WONG,H.;FOO,L.Y. Tanins and other phenolics from *Myrica esculenta* bark. **Phytochemistry**, 1988, v. 27, p. 579-583.

¹⁸⁵ANDERSEN, O. M. et al. Anthocyanins acylated with galic acid from chenille plant, *Acalypha hispida*. **Phytochemistry**, 2003, v. 64, p. 867-871.

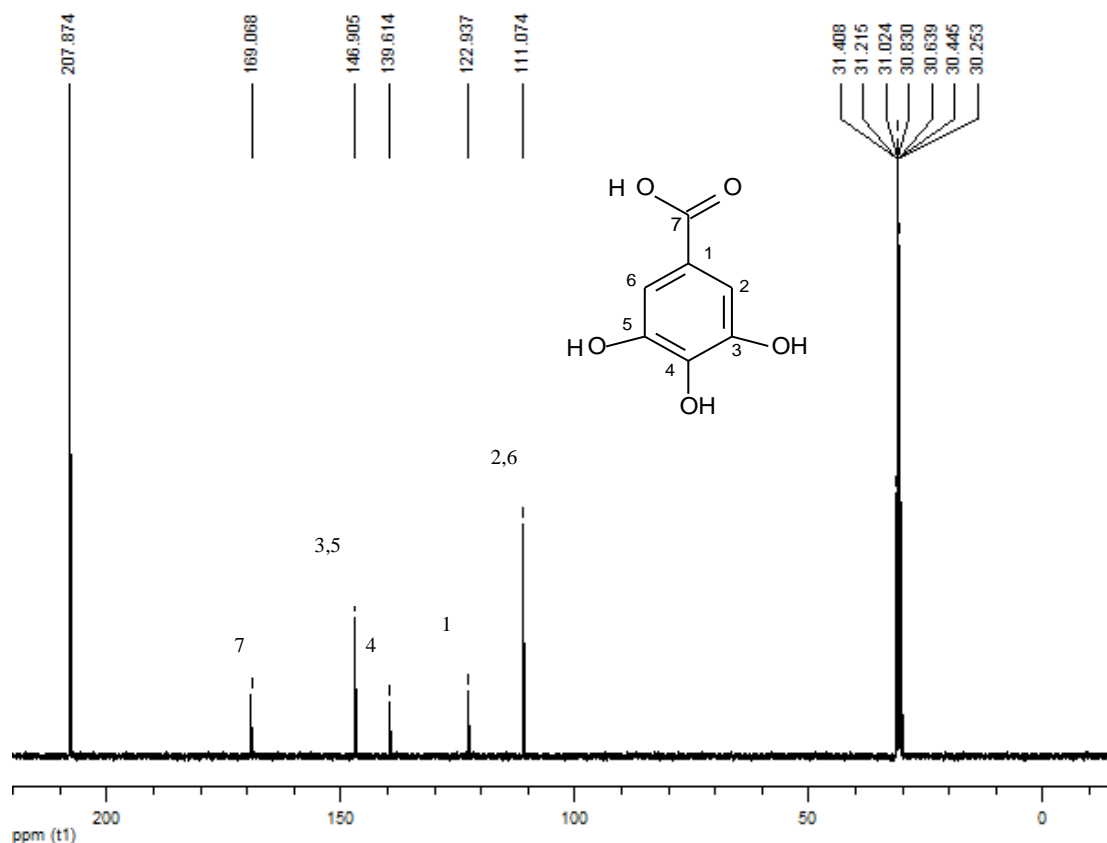


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C de Ácido gálico (**116**), em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, a 100,62 MHz.

4.2.3 Galato de metila

O ácido gálico (**116**), por apresentar grupos reativos foi submetido à reação de esterificação, conforme descrito na parte experimental. Um dos objetivos para a realização desta modificação estrutural foi avaliar o potencial biológico comparando o composto esterificado com o ácido gálico não metilado. A confirmação do produto metilado foi através da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura.⁸⁷

No espectro de RMN de ^1H , conforme a Figura 38, é possível observar, além do sinal em δ 7,11 ppm (2H, s, H-2 e H-6) referente aos dois hidrogênios aromáticos, temos o sinal da metoxila (3H, s, $-\text{OCH}_3$), que possui um deslocamento químico em 3,78 ppm. Além da análise do espectro de ^1H , o espectro de ^{13}C , ilustrado pela Figura 39, ajudou a confirmar a obtenção do produto esterificado.

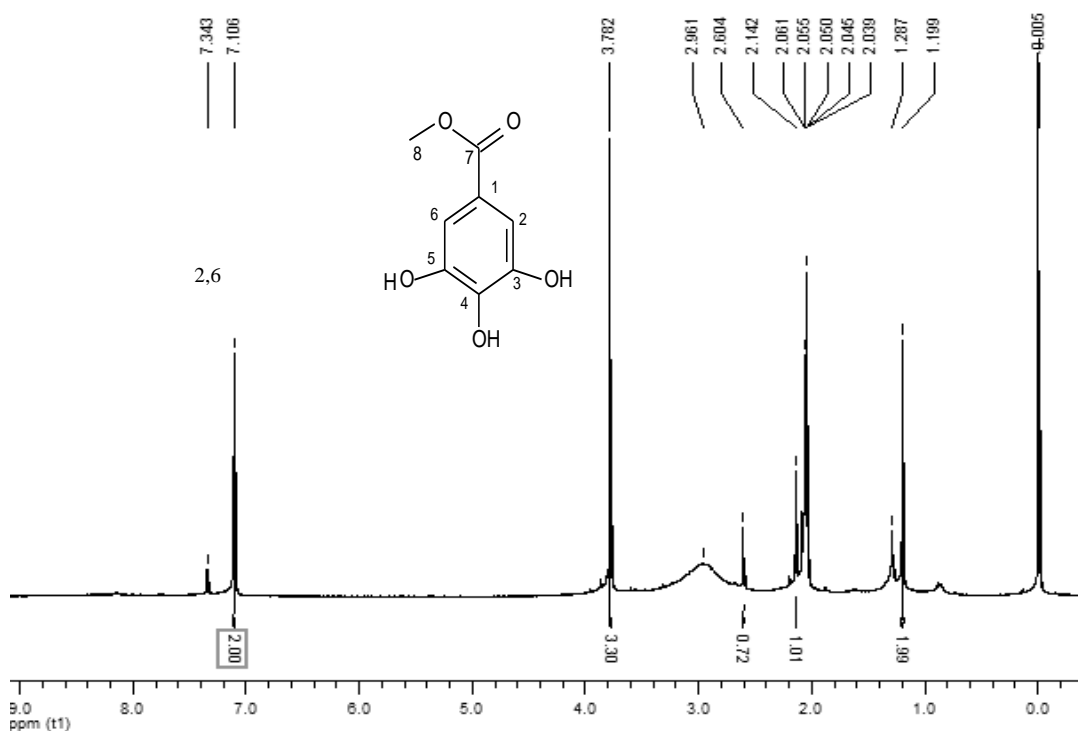


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H de galato de metila (**118**), em CD_3COCD_3 a 400,13 MHz.

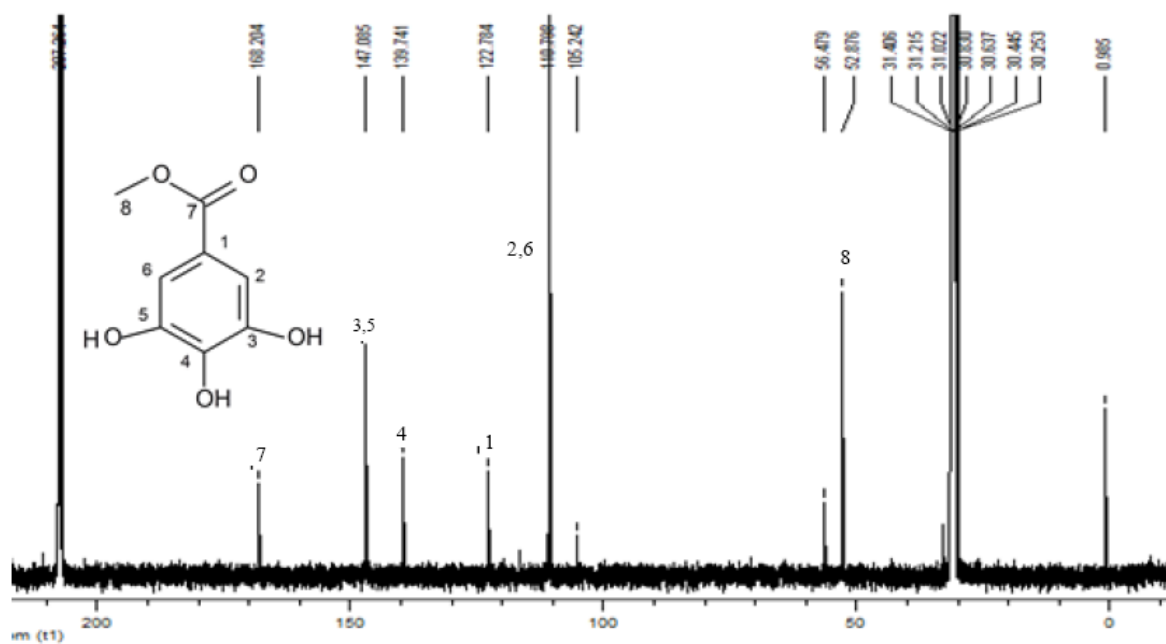


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C de galato de metila (**118**), em CD_3COCD_3 , a 100,62 MHz.

No espectro de ^{13}C , é possível observar o sinal em δ 52,88 ppm referente a metoxila, que na Figura 37 não é observado, confirmando que o composto submetido a reações de esterificação ocorreu. O que o diferencia também é a posição do C-7, que aparece em campo

mais alto, com um deslocamento químico em δ 168,20 ppm, característico de carbonila de éster.

4.2.4 Análise dos extratos aquosos através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE–DAD) das espécies estudadas

As plantas são utilizadas popularmente na forma de chás (extrato aquoso), decidiu-se aproveitar o resíduo aquoso após a extração dos voláteis, para se verificar o que é solúvel da planta na fase aquosa. As fases aquosas (1/3) resultante das extrações dos óleos voláteis foram liofilizadas, e outra parte (2/3) submetida á partição líquido-líquido com solventes de diferentes polaridades, neste caso, n-hexano, acetato de etila e n-butanol, o solvente foi rotaevaporador, originando os diferentes extratos os quais foram analisados por CLAE. Considerando-se que os extratos sejam constituídos por substâncias muito polares, como os compostos fenólicos, flavonóides, taninos, saponinas, entre outras, este fracionamento tem como objetivo facilitar o estudo, separando os constituintes por polaridade. Espera-se que a fração acetato de etila seja composta por possíveis flavonóides, ou outros compostos aromáticos não muito polares, enquanto a n-butanólica seja composta pelo restante polar, geralmente, de difícil isolamento. Não se espera muito resultado da fração hexânica, geralmente, composta de material graxo, que possa ser extraído pela água, ou resquícios de material volátil não extraído pela hidrodestilação. Para este estudo, utilizou-se uma quantidade de 100 g de folhas de cada espécie, que foram refluxadas em água por duas horas rendimento, Tabela 14.

Tabela 14. Rendimento dos extratos aquosos obtidos das hidrodestilações das folhas e da partição com os solventes orgânicos (hexano, acetato de etila e n-butanol) das espécies estudadas.

Espécie Vegetal	Massa Vegetal	Extrato Aquoso %	Extrato Hexânico %	Extrato Acetato de etila %	Extrato butanólico %
<i>S. lentiscifolius</i>	100g	3,70g	0,19g	2,95g	1,60g
<i>S. terebinthifolius</i>	100g	2,25g	0,20g	1,70g	0,67g
<i>S. molle</i>	100g	5,13g	1,20g	3,90g	1,20g
<i>S. polygamus</i>	100g	1,57g	0,10g	0,23g	1,35g

Os extratos aquosos e frações foram analisados por CLAE, obtendo um perfil químico de cada amostra. Para isso, foi utilizada uma coluna fase reversa C-8 e C-18. Como sistema eluente foi usado gradiente de MeOH:H₂O. Ácido gálico (**116**), ácido clorogênico, ácido caféico, e os flavonóides quercetina (**90**), rutina (**117**) e kampfrol (**91**) foram utilizados como padrões. Os tempos de retenção e o espectro de absorção no UV dos padrões, bem como das substâncias caracterizadas nos extratos, podem ser observados nos cromatogramas CLAE, Figura 40 a Figura 49.

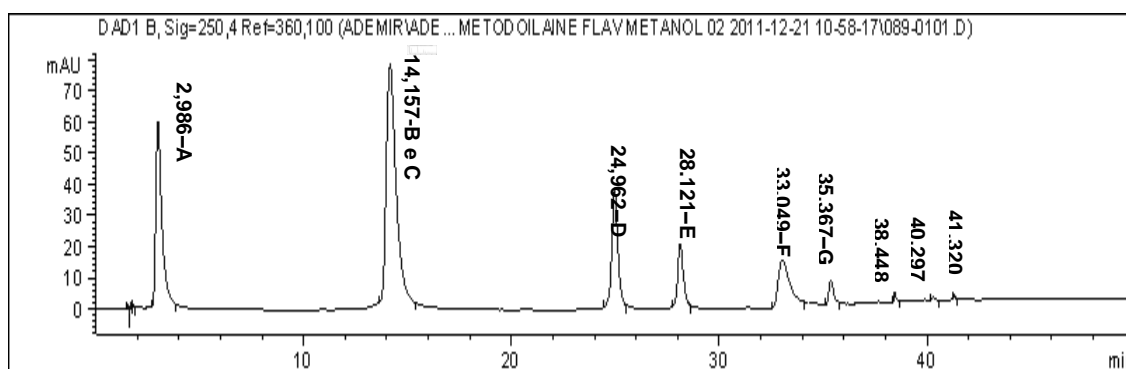


Figura 40. Perfil cromatográfico por CLAE dos padrões **A**- ácido gálico, **B**-ácido clorogênico, **C**-ácido caféico, e os flavonóides **D**-rutina, **E**-quercetrina, **F**-quercetina, e **G**-kampfrol.

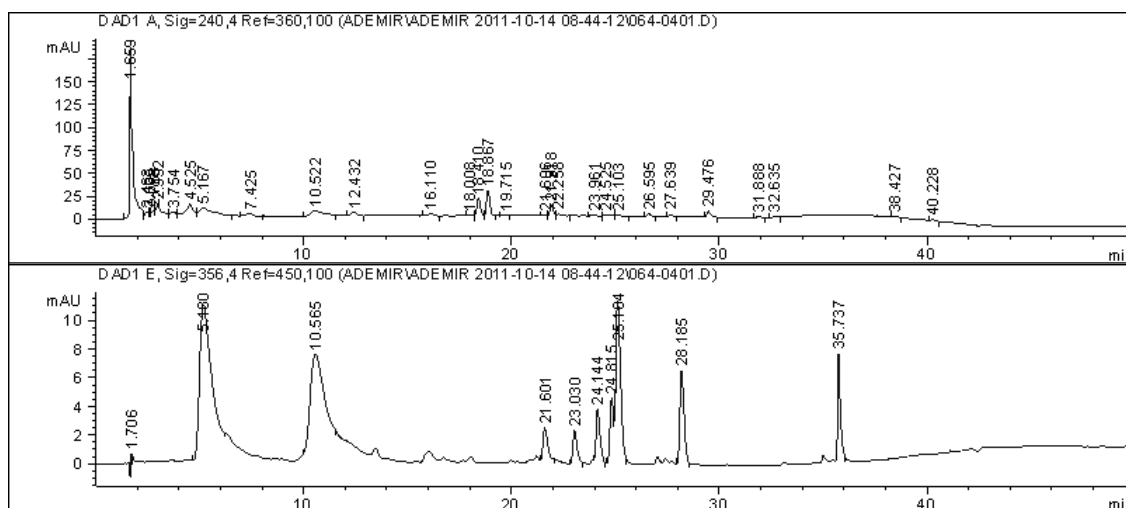


Figura 41. Perfil cromatográfico do extrato aquoso de *S. lentiscifolius*.

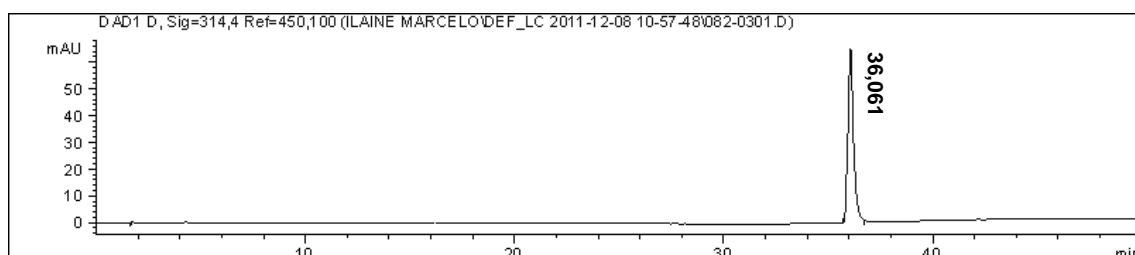


Figura 42. Perfil cromatográfico do extrato aquoso de acetato de etila de *S. lentiscifolius* – caracterização do composto FLA-1(115).

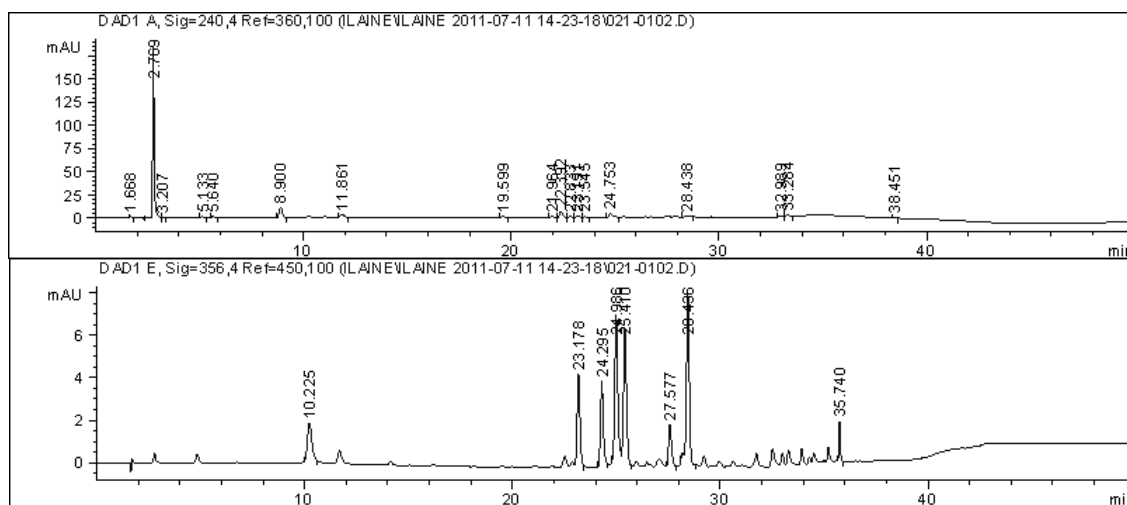


Figura 43. Perfil cromatográfico do extrato acetato de etila das folhas de *S. lentiscifolius*.

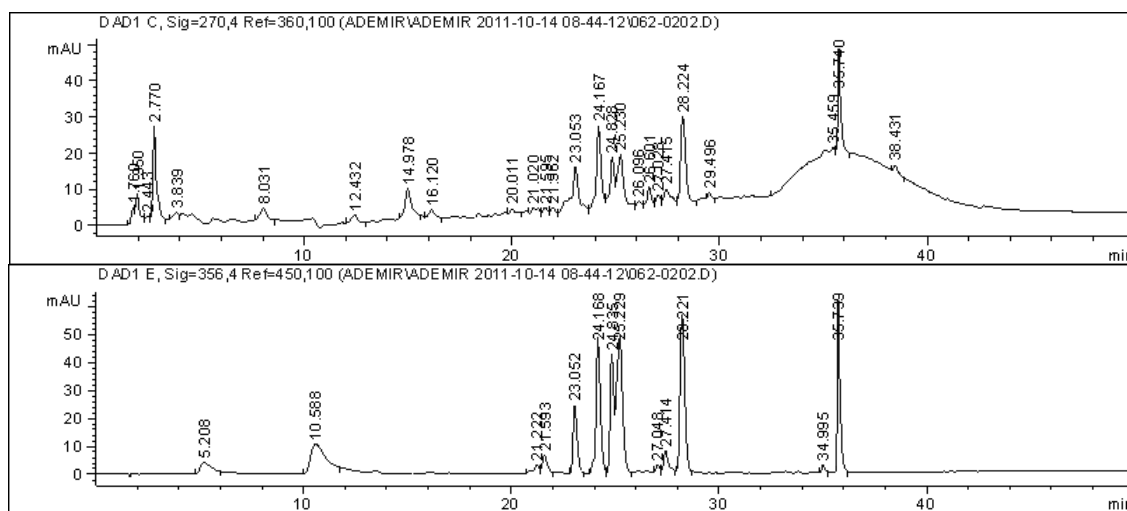


Figura 44. Perfil cromatográfico do extrato n-butanólico das folhas de *S. lentiscifolius*.

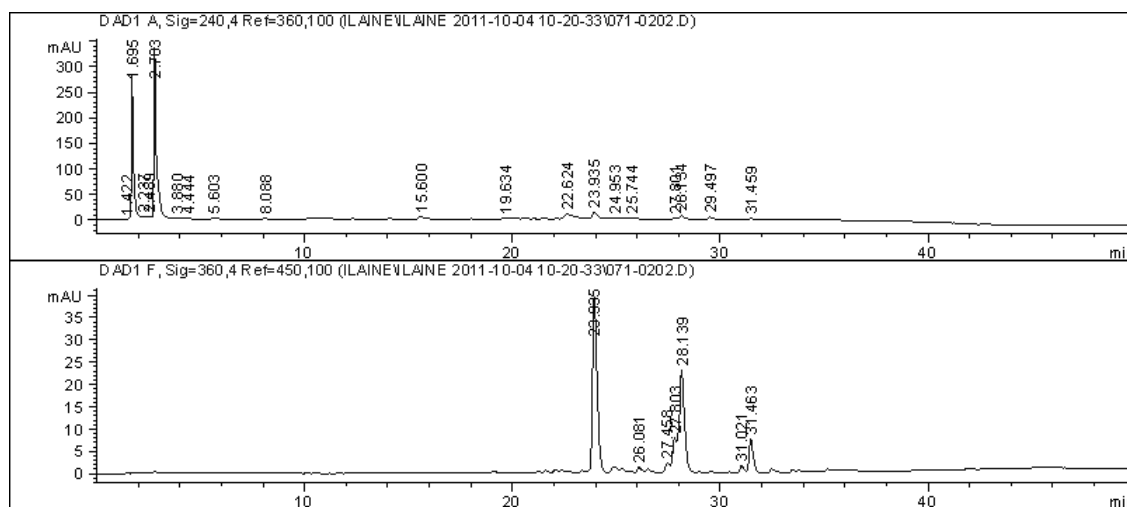


Figura 45. Perfil cromatográfico do extrato aquoso das folhas de *S. terebinthifolius*.

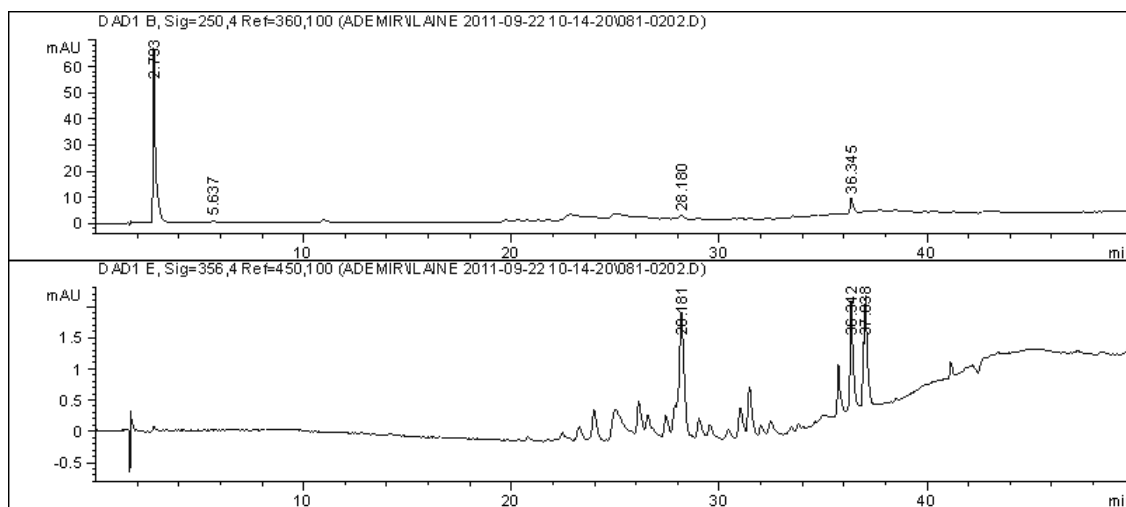


Figura 46. Perfil cromatográfico do extrato acetato de etila das folhas de *S. terebinthifolius*.

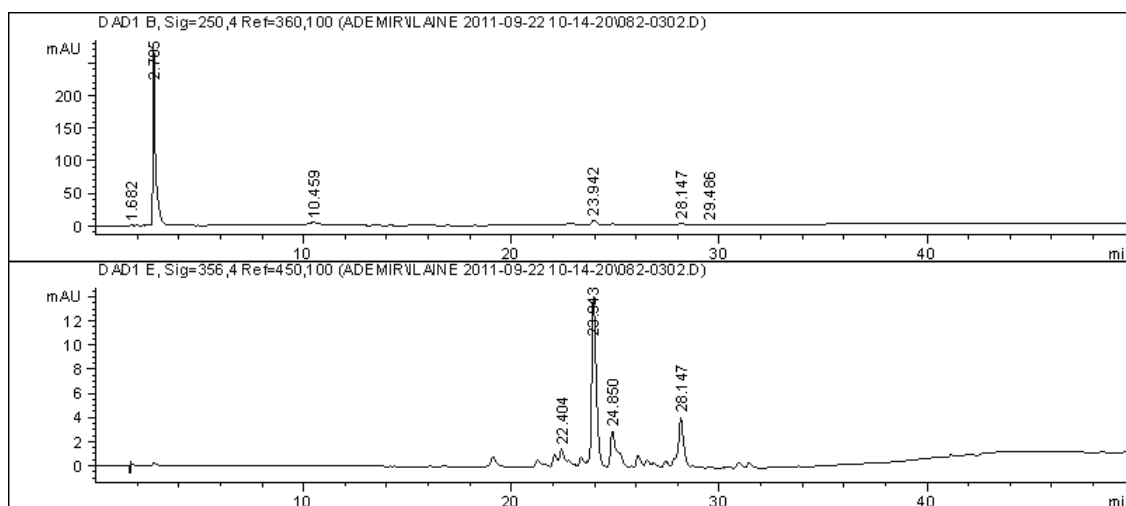


Figura 47. Perfil cromatográfico do extrato butanólico das de *S. terebinthifolius*.

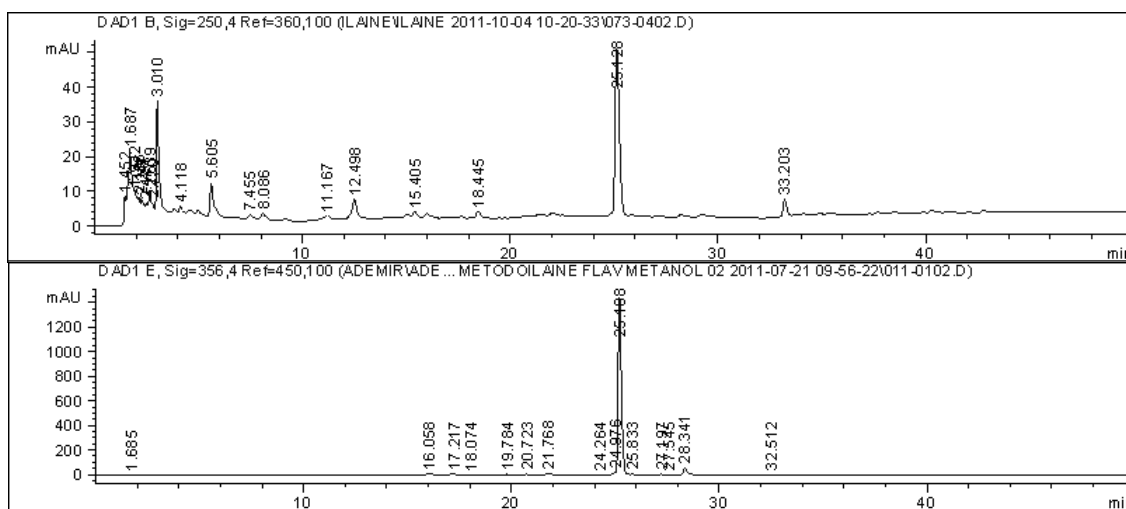


Figura 48. Perfil cromatográfico do extrato aquoso butanólico das folhas de *S. molle*.

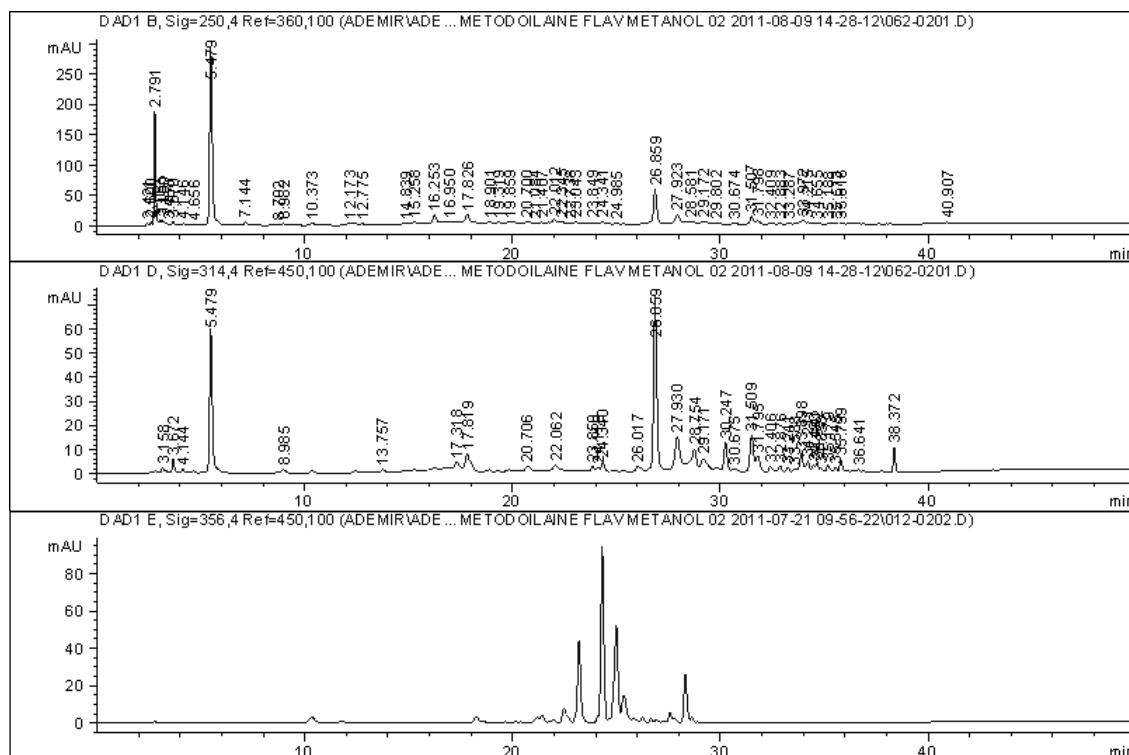


Figura 49. Perfil cromatográfico do extrato aquoso de *S. polygamus*.

A análise cromatográfica dos extratos aquosos, das frações acetato de etila e n-butanólica das espécies *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius* e *S. polygamus*, evidenciaram a presença de diferentes substâncias fenólicas e flavonóides sendo que o ácido gálico (**116**) está presente em todas as frações. Apenas *S. molle* não apresentou este componente.

4.2.5 Fracionamento cromatográfico do extrato aquoso butanólico de *S. molle*

Uma vez constatada, a presença de substâncias fenólicas e flavonóides no extrato aquoso butanólico através da análise por CLAE, procedeu-se a separação cromatográfica. A separação cromatográfica possibilitou o isolamento e identificação do flavonóide quercetina (**90**) e rutina (**117**). Estes dois flavonóides foram facilmente identificados através de CCD e CLAE, comparando com padrões de quercetina (**90**) e rutina (**117**) existente no laboratório. Para comprovar suas estruturas, os dois flavonóides foram submetidos às análises de RMN de ^1H e de ^{13}C . O espectro de hidrogênios da quercetina (**90**) realizado em MeOD, Figura 50, mostra dois sistemas de *spins*, um do anel A, em que os hidrogênios aparecem na forma de dupletos e em δ 6,37 e 6,17 ppm, ambos com um $J = 2,0$ Hz de uma relação meta. O sistema

de *spins* do anel C é constituído de um hidrogênio que aparece em 6,87 ppm ($J= 8,4\text{Hz}$, H-5'), que acopla com um hidrogênio (orto) que aparece em 7,60 ppm, na forma de um duplo-doubleto ($J=8,4\text{ Hz}$ e $2,0\text{ Hz}$, H-6'), o qual acopla em meta com outro hidrogênio em 7,71 ppm ($J= 2,0\text{ Hz}$, H-2'). O espectro de ^{13}C mostra que a estrutura é composta por quinze carbonos, todos aromáticos, que se distribuem entre 94,4 ppm e 177,2 ppm (C-4), Figura 51. O carbono carbonílico aparece em 177,3 ppm, enquanto os carbonos metínicos aromáticos em δ 121,2 ppm; 115,9 ppm; 115,7 ppm; 98,9 ppm e 94,2 ppm. Os demais carbonos da estrutura são desidrogenados e não são observados no experimento DEPT 135°. Como quercetina (**90**) é um flavonóide muito estudado e comum em plantas, dispensamos maiores discussões quanto sua estrutura.

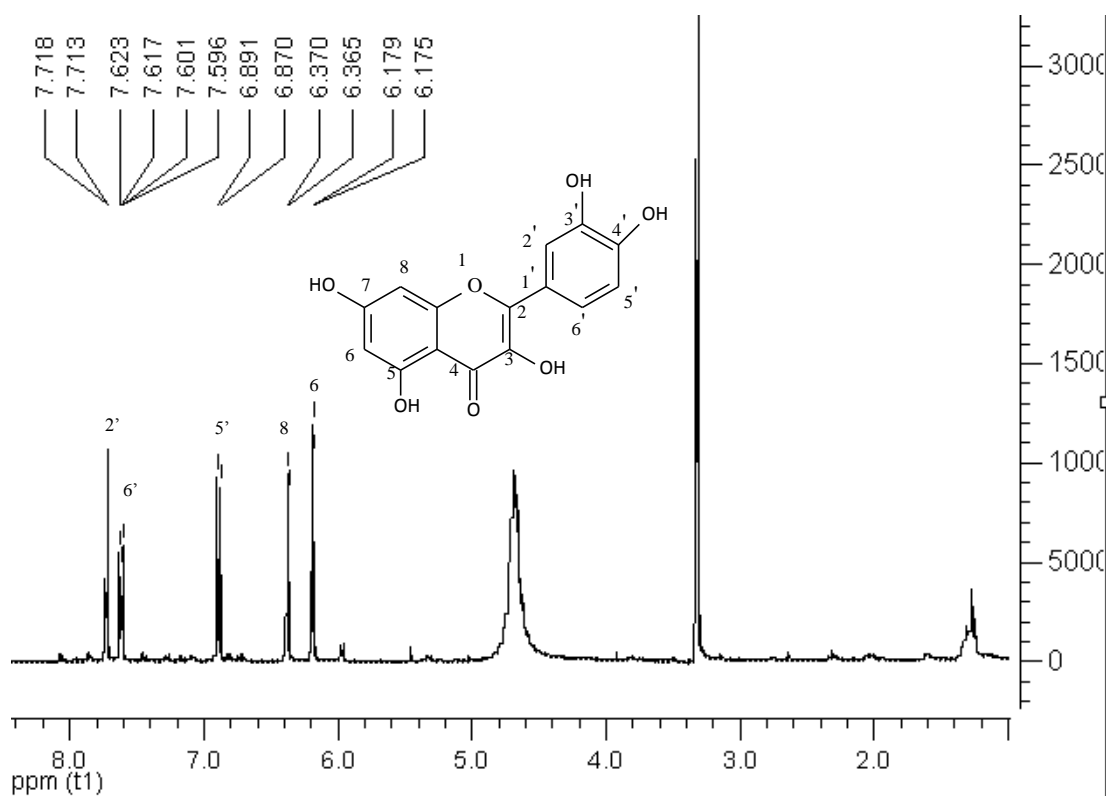


Figura 50. Espectro de RMN de ^1H da quercetina em MeOD, a 400,13 MHz.

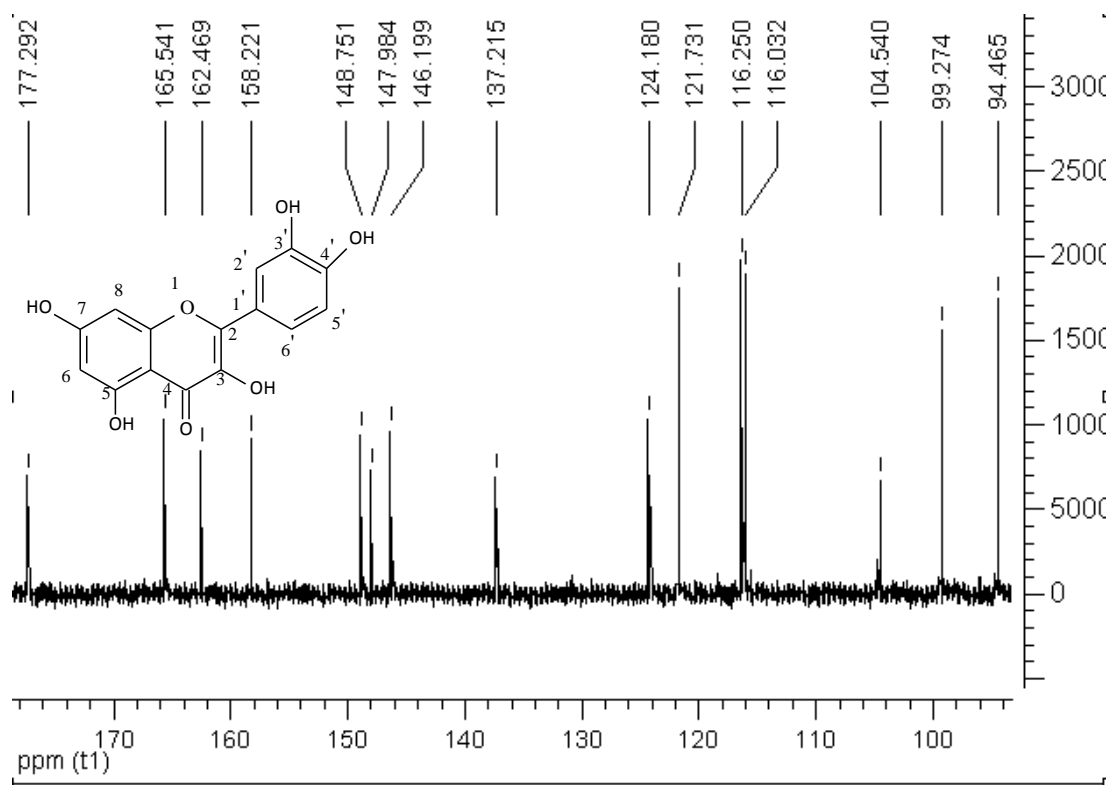


Figura 51. Espectro de RMN de ^{13}C da quercetina em MeOD, a 100,62 MHz.

O flavonóide rutina (**117**) foi obtido do mesmo extrato de *S. molle*, através de separação em cromatografia em coluna utilizando-se fase reversa. O espectro de RMN de ^1H , na região dos aromáticos, apresentou-se muito parecido com o do flavonóide quercetina (**90**), indicando a mesma substituição nos anéis A e C, Figura 52. A diferença foi observada no acúmulo de sinais de hidrogênios na região do espectro entre δ 3,0 ppm e 4,0 ppm, indicando que o sistema da quercetina (**90**) estava substituído com açúcares. O sinal em δ 5,10 ppm ($J=7,6$ Hz), corresponde ao hidrogênio anomérico da glicose ligado ao sistema genina. O espectro de ^{13}C , Figura 53 que mostra que a estrutura é composta por vinte e seis carbonos, sendo quinze distribuídos na região dos aromáticos, entre eles uma carbonila em 179,4 ppm, e onze carbonos entre 17,8 ppm e 100,0 ppm, correspondentes ao sistema do dissacarídeo rutinose (α -L-ramnopiranosil-1,6) β -D-glicopiranosose. O sinal que aparece em 17,8 ppm, trata-se do carbono metílico da unidade piranosose. A análise dos dois espectros confirma o flavonóide rutina (**117**).

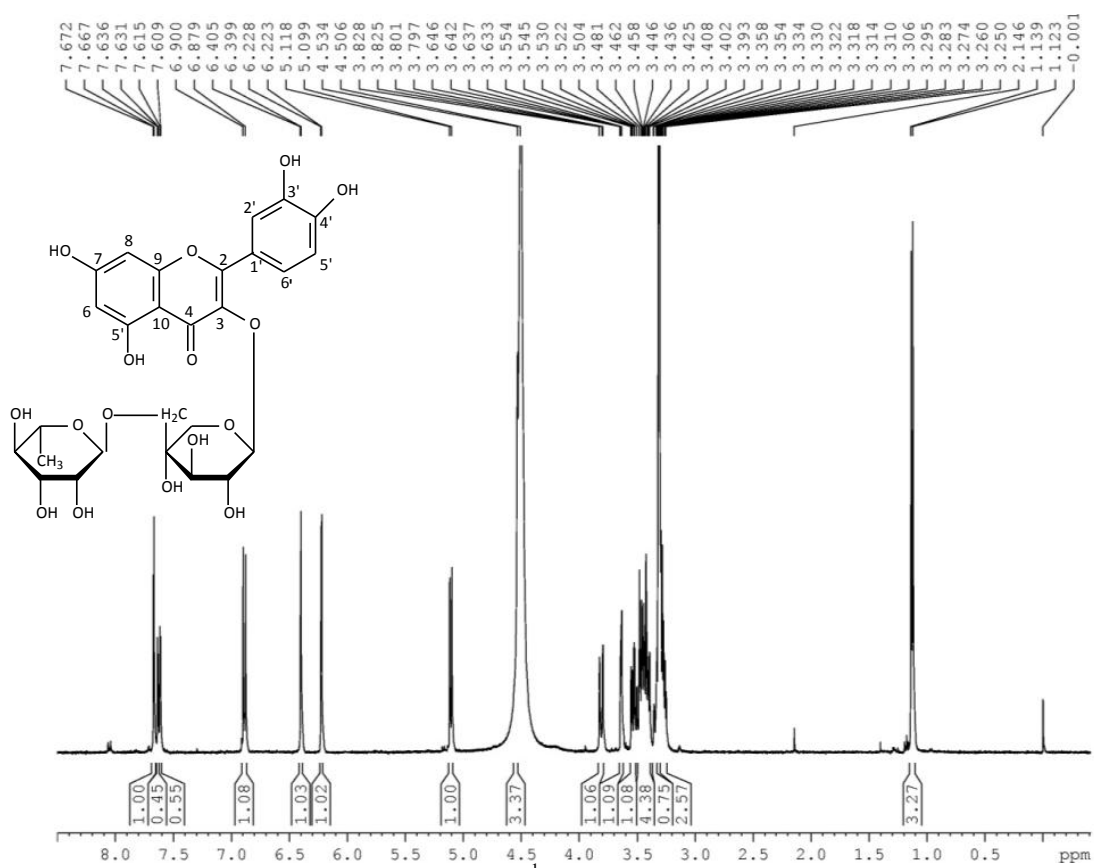


Figura 52. Espectro de RMN de ^1H da rutina em MeOD, a 400,13 MHz.

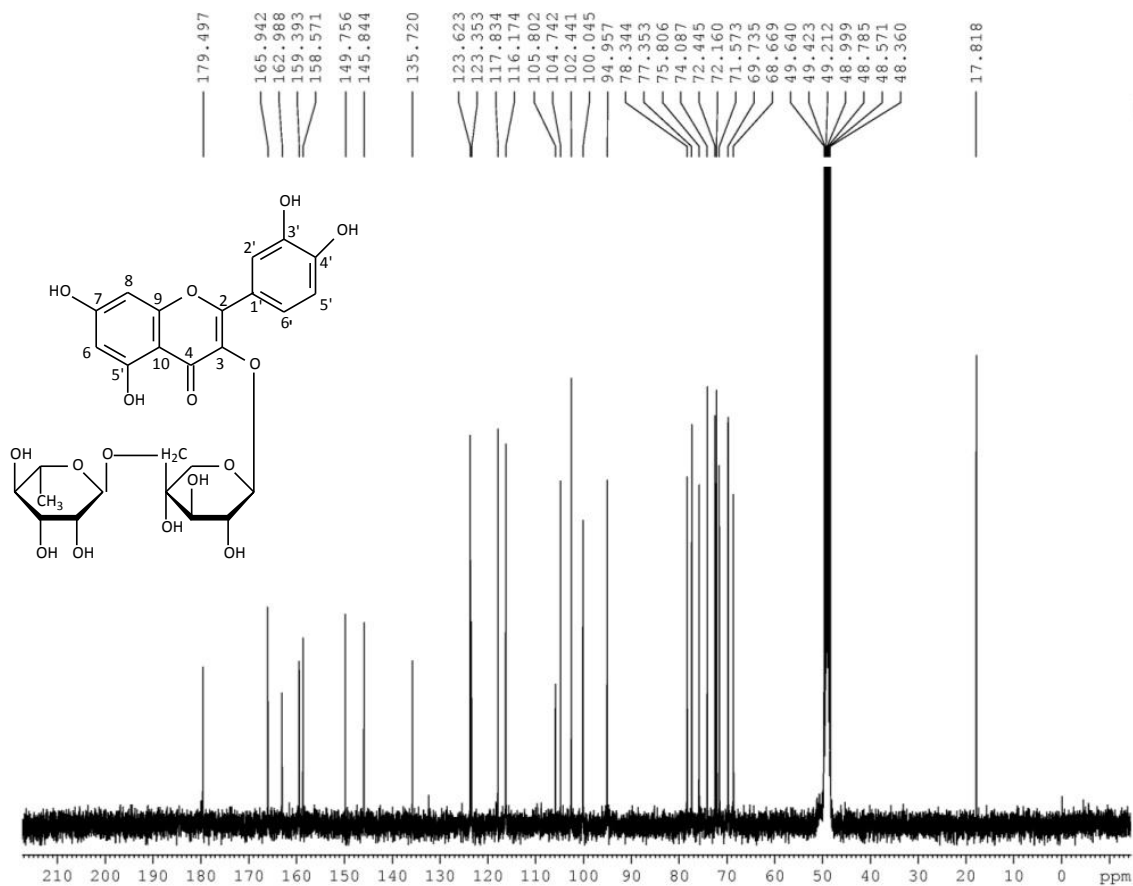


Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C da rutina em MeOD, a 100,62 MHz.

4.3 Análise do extrato bruto da espécie *S. lentiscifolius*, isolamento e identificação de seus constituintes, derivatizações

Espécies do gênero *Schinus* são alvos de estudos pelo potencial que apresentam na área química farmacológica, visto a grande quantidade de compostos isolados e atividades biológicas descritas em estudos publicados com plantas deste gênero. Porém, para a espécie *S.lentiscifolius*, até o presente momento não foram encontrados relatos de estudos sobre isolamento de metabólitos, devido a este fato, optou-se por realizar a análise fitoquímica da mesma.

Para este estudo, folhas de *S. lentiscifolius* (420,00g) coletadas em Ijuí foram inicialmente extraídas com n-hexano para retirar gorduras, e em seguida, extraídas com acetato de etila. Este extrato, o de acetato de etila, o mais promissor por apresentar atividades antimicrobiana e antioxidante em um screening inicial, foi objeto de um estudo bioguiado. O extrato (15,57 g) foi submetido a um fracionamento por (CC), utilizando-se n-hexano-acetato de etila, gradiente, como sistema eluente. Foram coletadas doze frações conforme Tabela 2 da parte experimental. A fração II (316 mg), eluída com hexano-acetato de etila, constituída de um componente principal, foi submetida novamente a CC, utilizando-se como solvente eluente hexano-acetona. Desta coluna obtiveram-se dez frações, das quais as frações cinco e sete Hex: (CH₃)₂CO (95:05) eram constituídas apenas do componente principal. As mesmas foram reunidas e originaram um composto sólido branco (180 mg), de ponto de fusão 77-78 °C. Este composto foi analisado através de EM e de RMN de ¹H e de ¹³C. O espectro de massas, Figura 54 mostrou um íon molecular a m/z=284,7. Este dado, associado aos dados de RMN de ¹H e de ¹³C, sugere tratar-se de um álcool de cadeia longa, identificado neste trabalho como nonadecanol (**119**). Os espectros de RMN de ¹H Figura 55 e de ¹³C, Figura 56, mostraram que a estrutura trata-se de um álcool primário pela presença de um CH₂ carbinólico (CH₂OH), grupos metilênicos DEPT 135°, Figura 57 e de apenas um grupo metílico.

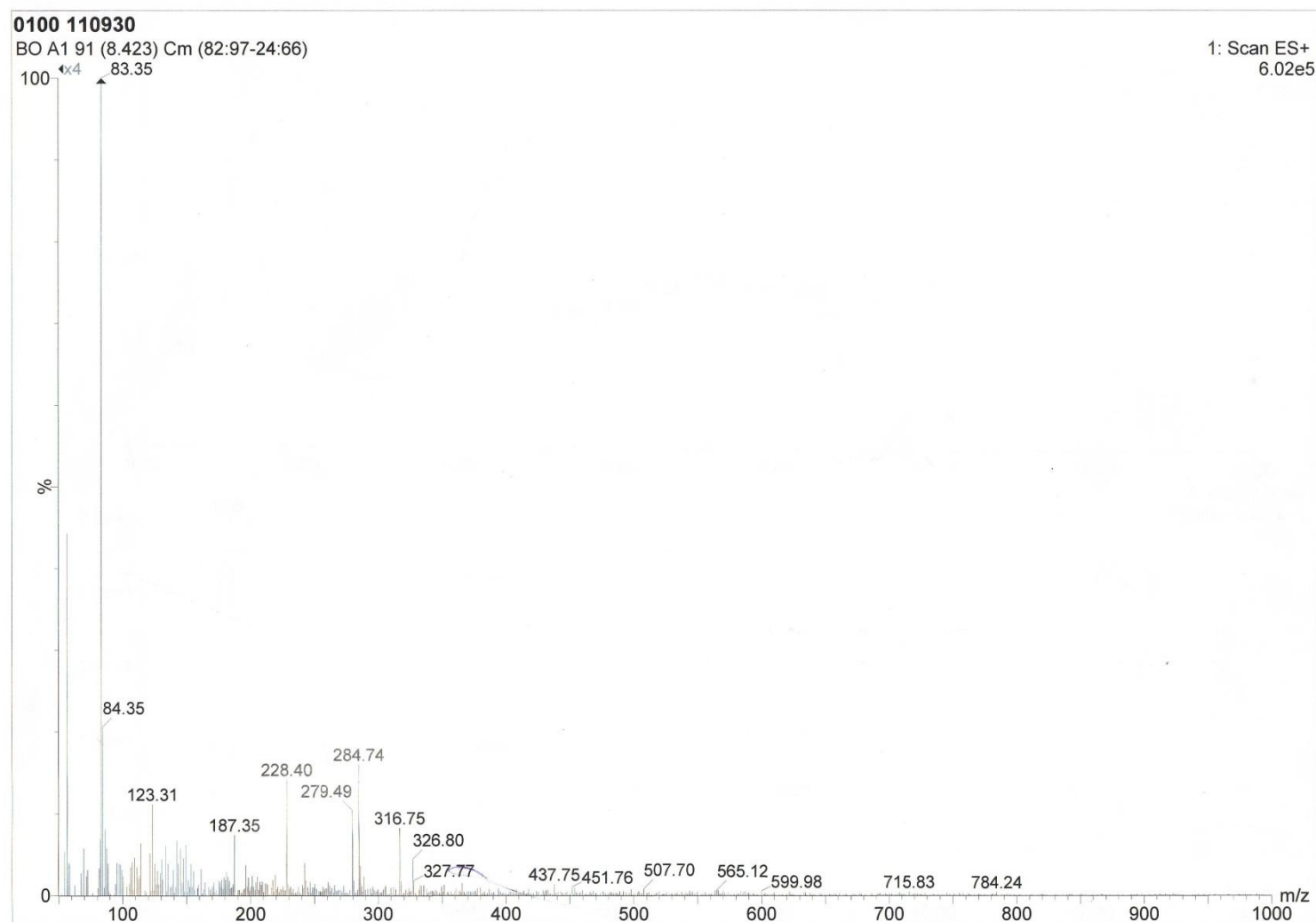


Figura 54. Espectro de Massas do álcool graxo (**119**).

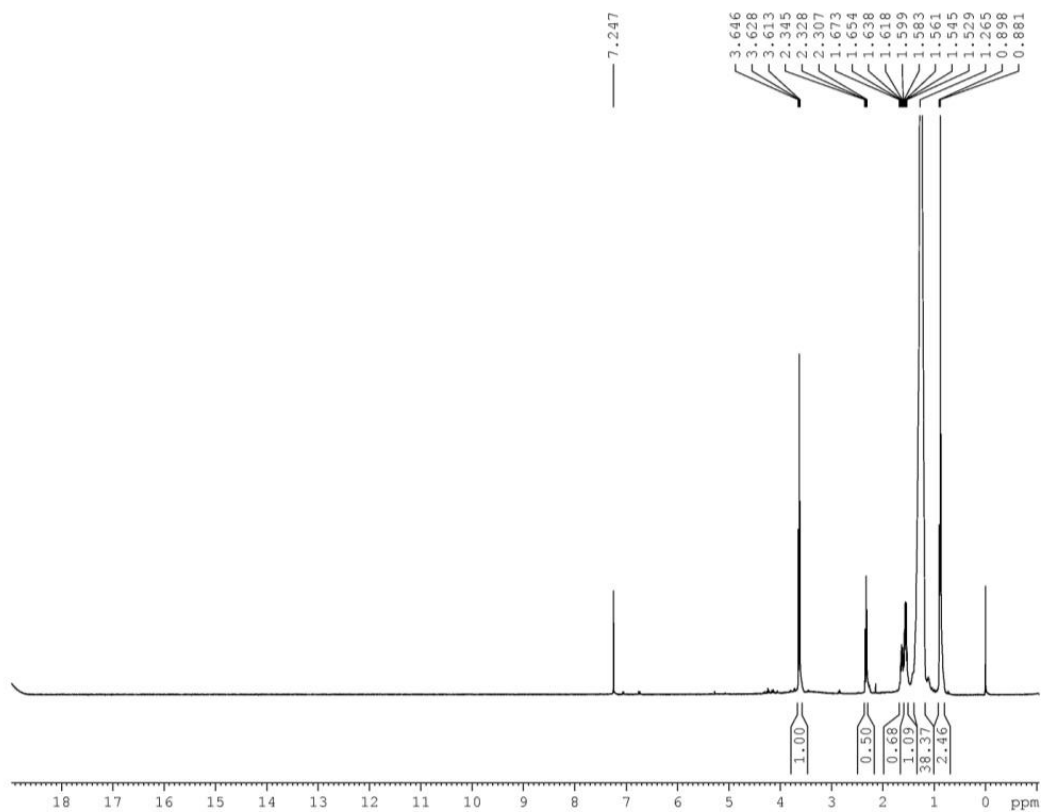


Figura 55. Espectro de RMN de ^1H do álcool graxo (**119**), em CDCl_3 , a 400,13 MHz.

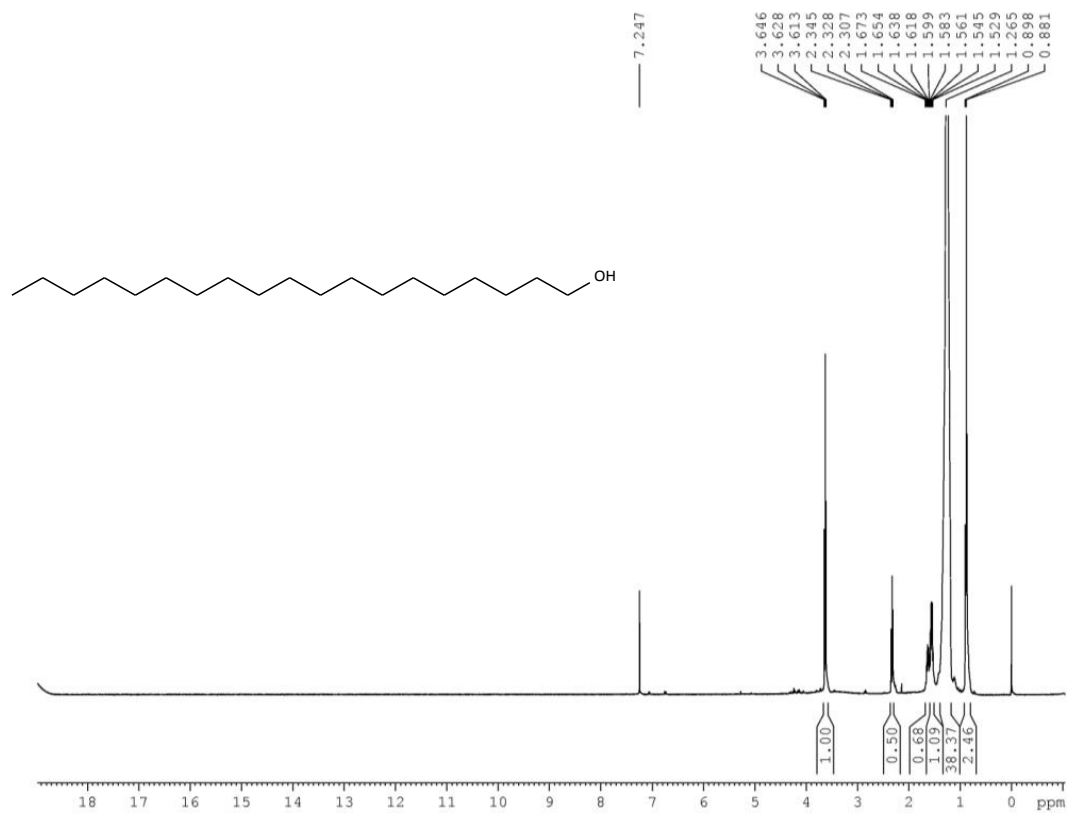


Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C do álcool graxo (**119**), em CDCl_3 , a 100,62 MHz.

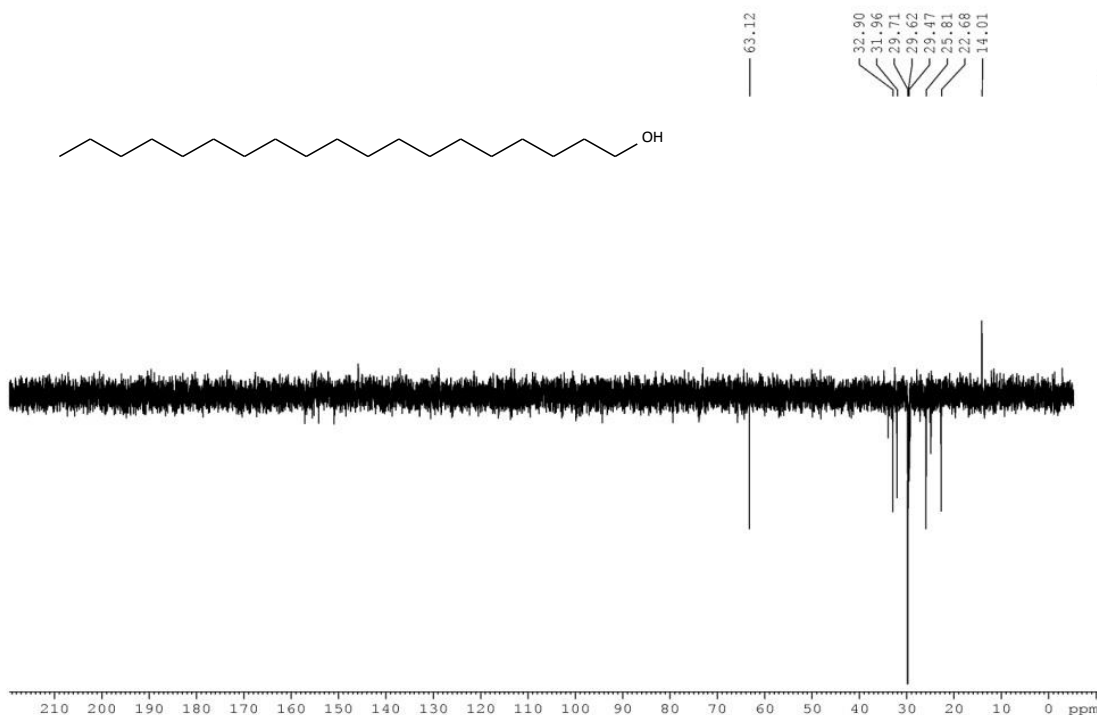


Figura 57. Espectro de RMN de DEPT 135° álcool graxo (**119**), em CDCl_3 , a 100,62 MHz.

A fração IV resultou em um sólido impuro que após sucessivas lavagens com éter etílico-acetona, apresentou uma substância na forma de agulhas cristalinas. Obteve-se um sólido de PF= 210-211°C, que foi submetido à análise estrutural através de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais. O conjunto de dados espectroscópicos juntamente com a faixa de fusão mostraram inicialmente ser um composto triterpênico, com uma função carboxila de um ácido carboxílico (182,4 ppm) e uma carbonila de cetona (218, 2 ppm). No espectro de RMN de ^1H do metabólito, Figura 58, detectou-se a presença de sete grupos metílicos ligados a carbonos terciários, com deslocamento químico de 1,08, 1,02, 0,95, 1,01, 0,79, 0,99, 0,97 ppm (3H cada, Me-23, -24, -25, -26, -27, -29 e -30). O singleto em 5,16 ppm (1H, s, H-19) é conferido a um hidrogênio olefínico (H-19). O sinal que absorve em 2,47 ppm (2H, m) na forma de um multipeto, é atribuído aos hidrogênios H-2 vizinhos a carbonila da cetona. Na região compreendida entre δ 1,14 ppm a 2,27 ppm estão presentes os demais hidrogênios, sendo muito difícil a atribuição isolada de cada hidrogênio, devido a sobreposição destes. A presença de um carbono carbinólico na posição três é comum em triterpenos testados no laboratório, como lupeol e ácido betulínico, entretanto, neste experimento a presença da carbonila na posição três indica um metabólito inexistente em no grupo de pesquisa NPPN.

No espectro de RMN de ^{13}C , Figura 59 e Figura 60, foram observados sinais em δ 133,1 ppm e 136,5 ppm que caracterizam os carbonos olefínicos C-18 e C-19 respectivamente, de triterpenos com esqueleto do tipo 18,19-oleanano, estruturas descritas pela primeira vez por Majumder (1979).¹⁸⁶

Além desses dados, o espectro DEPT 135, Figura 61, e HMQC, Figura 62, confirmaram a presença de sete metilas (26,80, 20,87, 16,42, 15,78, 14,76, 30,28 e 29,03 ppm), dez carbonos metilênicos, quatro metínicos e nove carbonos desidrogenados, incluindo as duas carbonilas. Estes dados foram comparados com dados da literatura,^{169,187} Tabela 15.

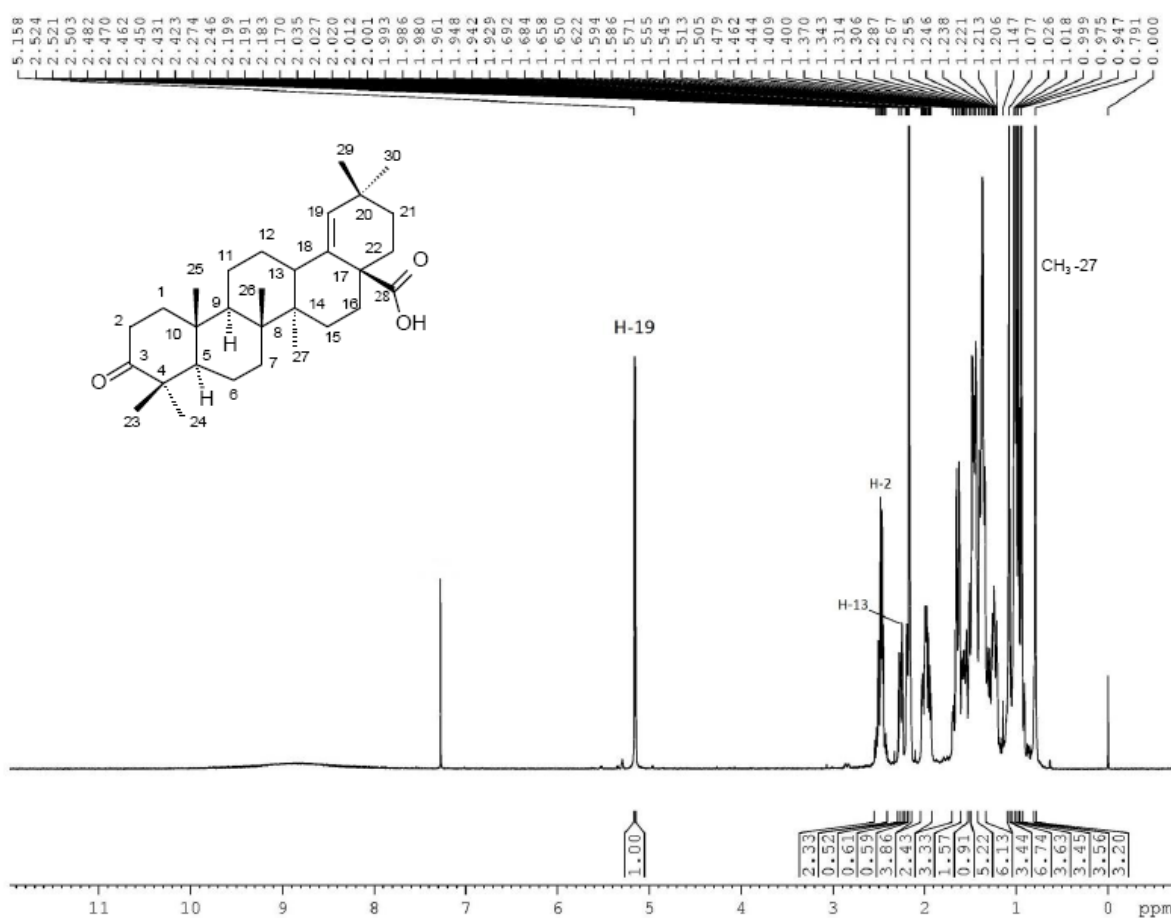


Figura 58. Espectro de RMN de ^1H de ácido morônico (**120**), em CDCl_3 , a 400,13 MHz.

A real conectividade e a estereoquímica relativa da estrutura, foi possível após análise dos cristais por raios-X Figura 63. Com esta análise, e já comprovada pelos dados de RMN, concluímos tratar-se do triterpeno pentacíclico do tipo oleanano conhecido por ácido morônico

¹⁸⁶MAJUMDER, P. L.; MAITI, R. N.; PANDA, S. K.; MAL, D. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of naturally occurring substances. Structure of moronic acid. **J. Org. Chem.**, 1979, v. 44, n. 15, p. 2811-2811.

¹⁸⁷AHSAN, M; ARMSTRONG, J. A; GRAY,A.I; GRAY WATERMAN ,P. G.Terpenoids, alkaloids and coumarins from *boronia inornata* and *boronia gracilipes*. **Phytochemistry**, 1995, v. 38, n. 5, p. 1275 1278.

(120). Este triterpeno, que já foi anteriormente isolado das espécies *Ozora mucronata*¹⁸⁸ e de *Rhus javanica*,¹⁸⁹ está presente em abundância na própolis brasileira,¹⁹⁰ porém, pela primeira vez de uma espécie do gênero *Schinus*. Trata-se, então, de um metabólito interessante pelas suas atividades farmacológicas comprovadas, como: antitumoral,^{188,169} antimicrobiana, anti-herpes, antidiabético,^{188,189,190} anti-HIV, inibidor do vírus Epstein-Barr,^{189,190,191} entre outras.

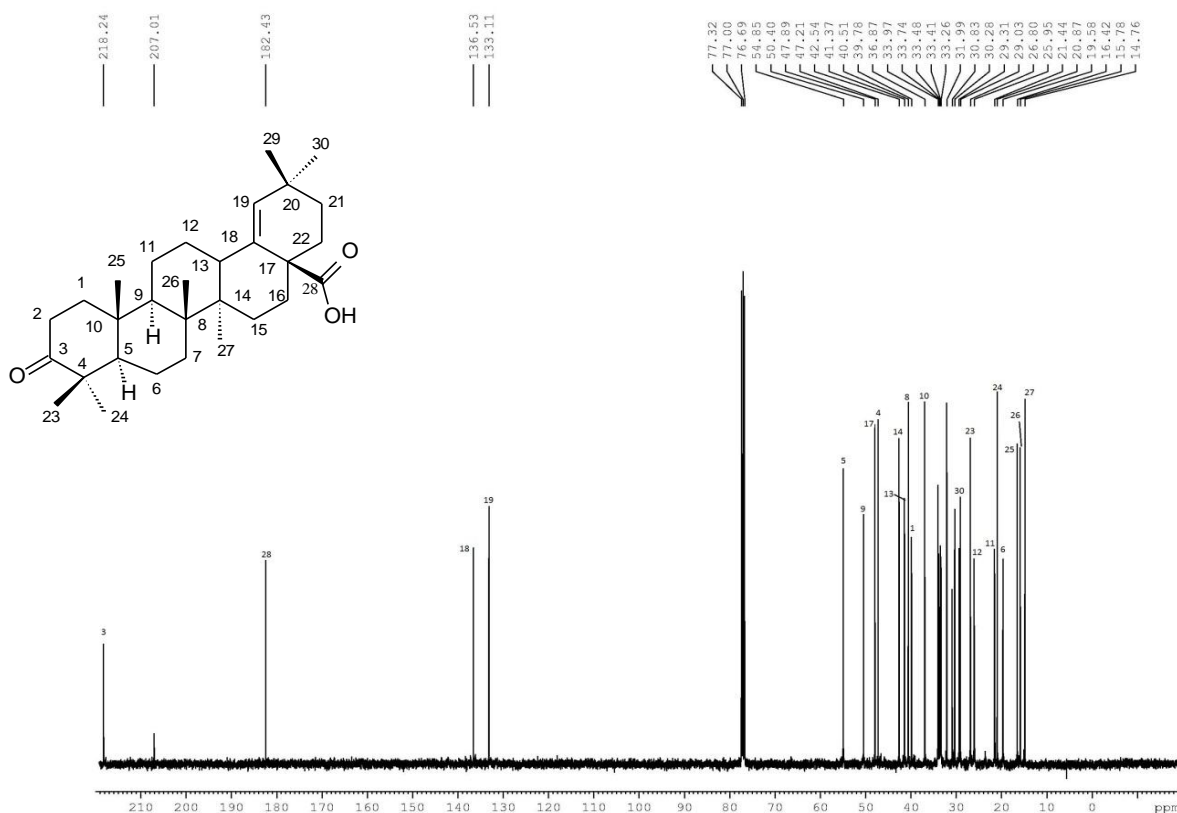


Figura 59. Espectro de RMN de ¹³C de Ácido morônico (120), em CDCl₃, a 100,62 MHz.

¹⁸⁸HOSTETTMANN-KALDAS, M., NAKANISHI, K. Moronic acid, a simple triterpenoid keto acid with antimicrobial activity isolated from *Ozora mucronata*. **Planta Med.**, 1979, 37 (4), 358–360.

¹⁸⁹KUROKAWA, M., BASNET, P., OHSUGI, M., HOZUMI, T., KADOTA, S., NAMBA, T., KAWANA, T., SHIRAKI, K. Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* in vitro and in vivo. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 1999, 289 (1), 72–78.

¹⁹⁰ITO, J., CHANG, F.R., WANG, H.K., PARK, Y.K., IKEGAKI, M., KILGORE, N., LEE, K.H. Anti-AIDS agents. (1) Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from Brazilian propolis. **J. Nat. Prod.**, 2001, 64 (10), 1278–1281.

¹⁹¹FANG-RONG CHANG.; YI-CHUNG HSIEH.; YUNG-FU CHANG.; KUO-HSIUNG LEE.; YANG-CHANG WU.; LI-KWAN CHANG. Inhibition of the Epstein-Barr virus lytic cycle by moronic acid. **Antiviral Research**, 2010, v. 85 p. 490–495.

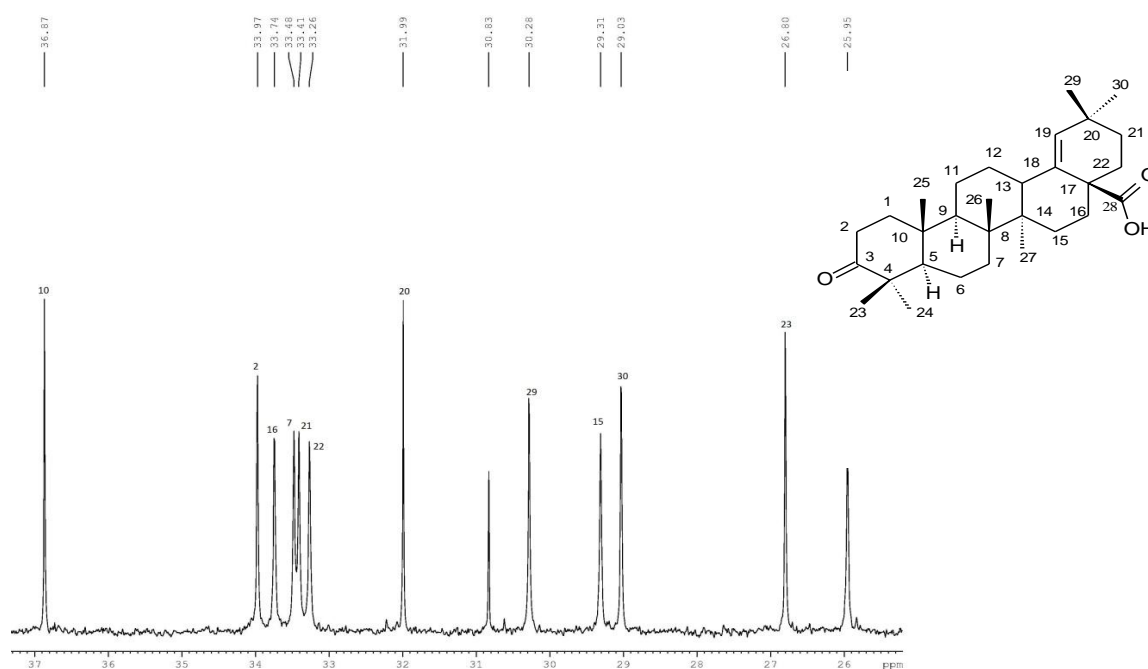


Figura 60. Espectro expandido de RMN de ^{13}C de ácido morônico (**120**), região δ 26,00-37,00 ppm, em CDCl_3 , a 100,62 MHz.

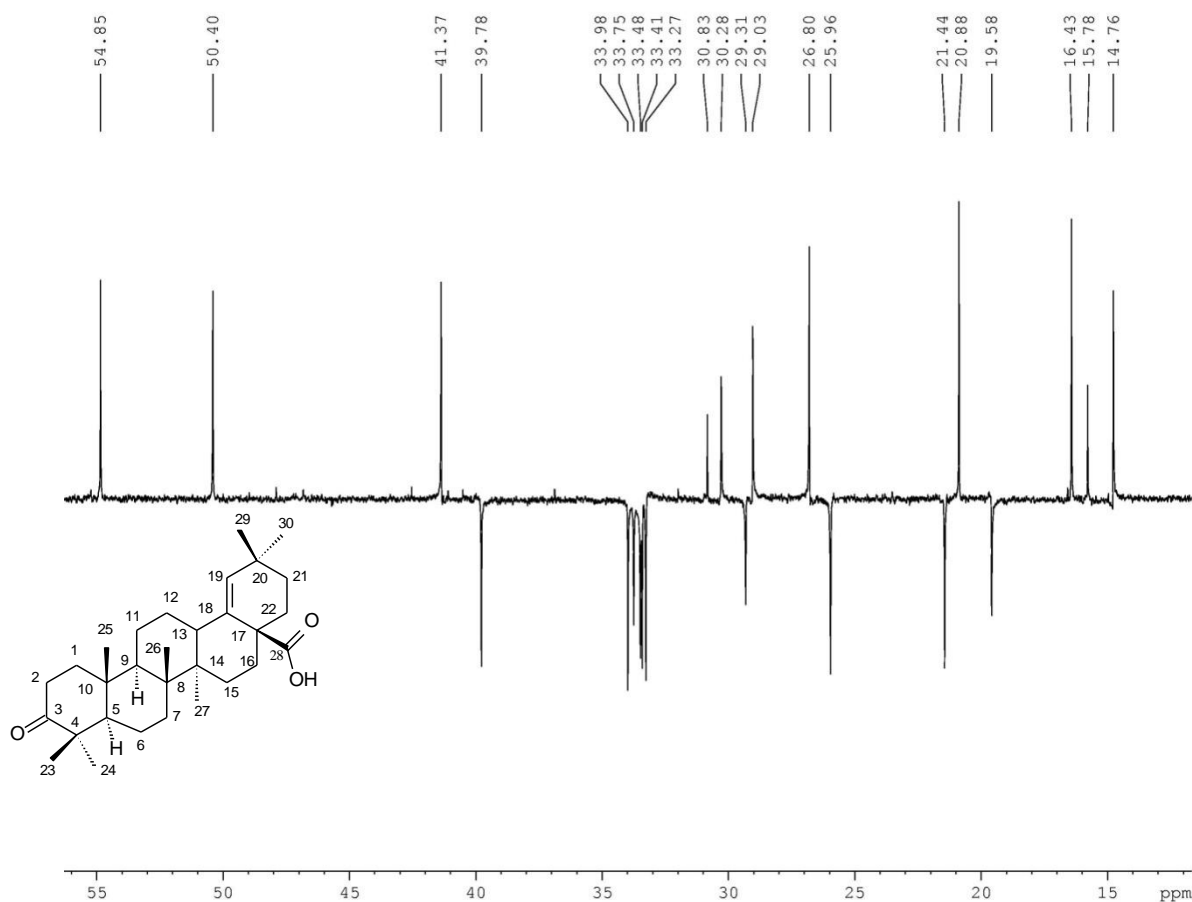


Figura 61. Espectro DEPT 135° de ácido morônico (**120**), em CDCl_3 , a 100,62 MHz.

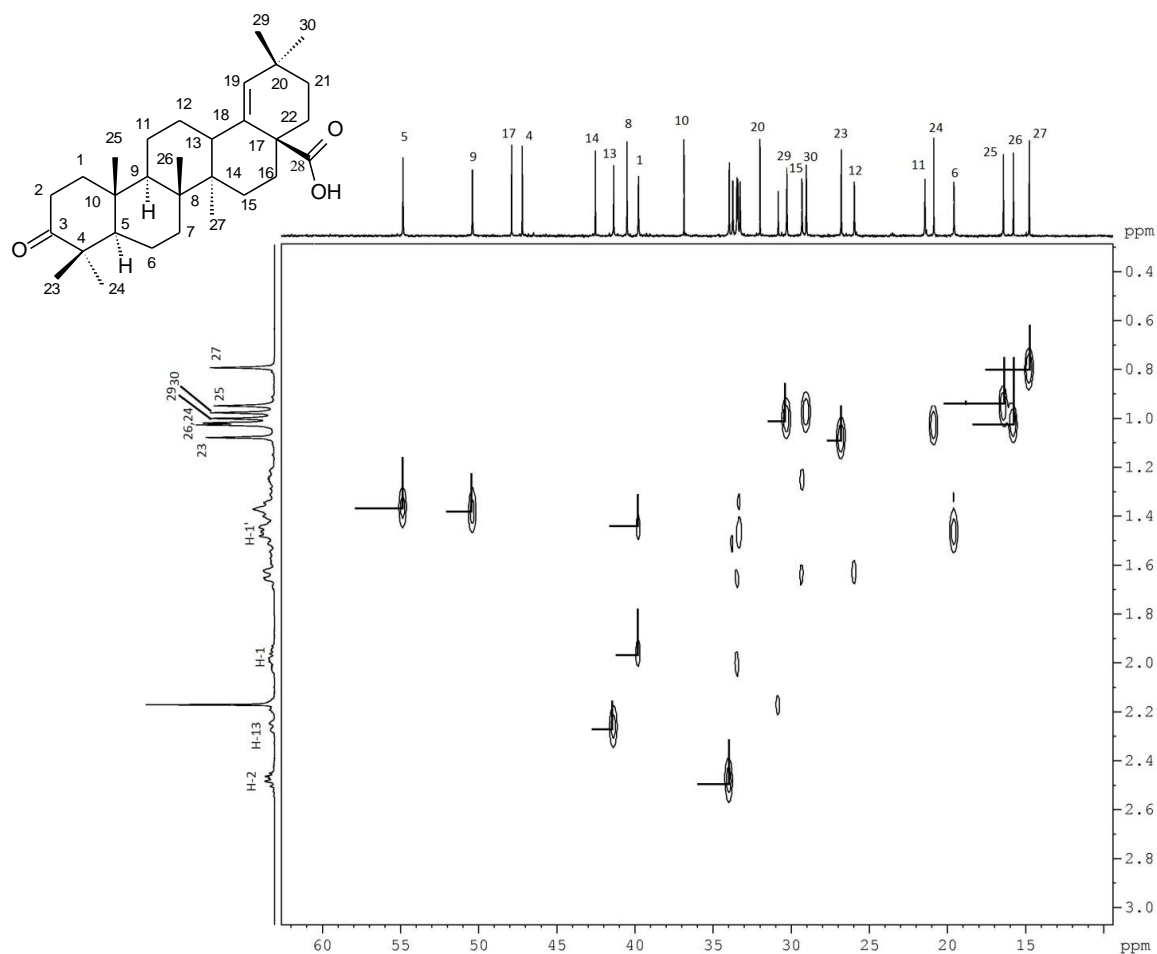


Figura 62. Espectro 2D, heteronuclear $1J_{H-C}$, HMQC de Ácido morônico (**120**), em $CDCl_3$, a 400 MHz.

Tabela 15. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C obtidos para o composto isolado com os dados da literatura¹⁸⁷ para o ácido morônico.

Posição	$\delta^{13}C$ (ppm) de Ac. Morônico	$\delta^{13}C$ (ppm) ¹⁸⁷	Posição	$\delta^{13}C$ (ppm) de Ac. Morônico	$\delta^{13}C$ (ppm) ¹⁸⁷
1	39,78	40,0	16	33,74	34,0
2	33,97	34,2	17	47,89	48,1
3	218,24	218,5	18	136,53	136,7
4	47,21	47,5	19	133,11	133,4
5	54,85	55,1	20	31,99	32,2
6	19,58	19,8	21	33,41	33,6
7	33,48	33,7	22	33,26	33,5
8	40,51	40,7	23	26,8	27,0
9	50,4	50,6	24	20,87	21,1
10	36,87	37,1	25	16,42	16,7
11	21,44	21,6	26	15,78	16,0
12	25,95	26,2	27	14,76	15,0
13	41,37	41,6	28	182,43	182,8
14	42,54	42,8	29	30,28	30,5
15	29,31	29,5	30	29,03	29,3

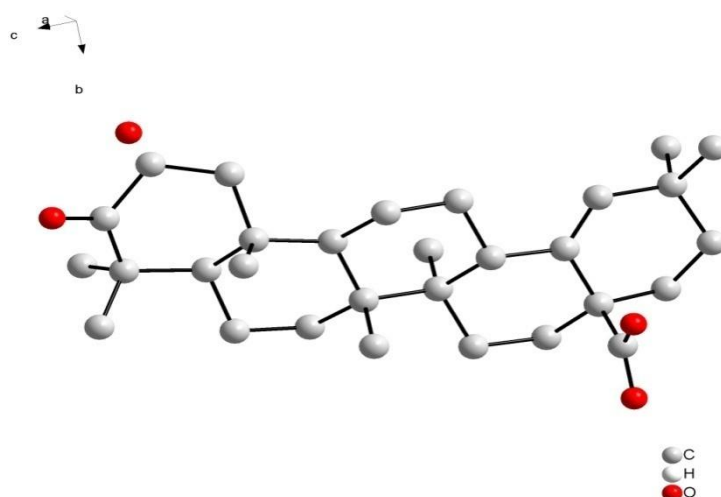


Figura 63. Estrutura do ácido morônico por difração de Raios-X.

O espectro de massas empregando ionização por electrospray (^+ESI) após análise forneceu o pico do íon molecular à m/z 472,4 ($M^+ H_2O$). É importante notar que a fórmula molecular sugerida para o composto revelou uma diferença de 18g na massa molecular do composto, o qual confirmou a presença de uma molécula de água, já observado na análise de raios-X. A fórmula molecular real do composto ácido morônico (**120**), $C_{30}H_{46}O_3$, corresponde a massa = 454 uma.

Como o ácido morônico (**120**) mostrou excelente atividade frente a algumas cepas importantes de bactérias, decidiu-se verificar a importância do mecanismo de ação. Inicialmente propôs-se um estudo da atividade da sua função carbonila. Para isso, o ácido morônico (**120**) foi submetido a uma redução quimio-estereoseletiva da carbonila cetônica com $NaBH_4$. A reação foi realizada na presença de etanol como fonte de hidrogênio, obtendo-se, após duas horas de reação a temperatura ambiente, dois álcoois, numa relação de 3:1 do OH- β : OH- α . O álcool principal corresponde ao produto natural conhecido como ácido morólico (**121**), e o minoritário corresponde ao seu epímero 3-*epi*-morólico (**122**), também isolado naturalmente, e conhecido como ácido acridocarpusico, isolado anteriormente de *Acridocarpus vivy*.¹⁹² As estruturas de ambos foram determinadas por RMN de 1H e de ^{13}C e comparadas com dados disponíveis na literatura.¹⁹² O espectro de hidrogênios mostra claramente a diferença entre os epímeros. No espectro de RMN 1H Figura 64 do ácido morólico (**121**), o sinal do hidrogênio carbinólico (H-3), aparece claramente como um duplo-dublete, com um $J = 10$ Hz, confirmando uma relação axial-axial entre H-3 e um dos

¹⁹²CAO, S.; GUZA, R.C.; MILLER, J. S.; ANDRIANTSIFERANA R.; RASAMISON, V. E.; KINGSTON, D. G. I. Cytotoxic Triterpenoids from *Acridocarpus vivy* from the Madagascar Rain Forest. **J. Nat. Prod.**, 2004, 67, 986-989

hidrogênios em H-2. Isto só é possível com o grupo OH em posição equatorial, o que ocorre quando o OH se encontra na face β (acima do plano). Este hidrogênio em (**122**) aparece como um singlete alargado, sem resolução. O espectro de carbono ^{13}C , Figura 66, de ambos os produtos, mostra que a reação realmente ocorreu com quimioseletividade, pois a carbonila do grupo carboxila permanece na estrutura e a carbonila da cetona se transformou em um grupo carbinólico, com sinal próximo de 80 ppm. Os álcoois foram submetidos às mesmas análises antibacterianas e observou-se que a ausência da carboníla diminuiu muito o potencial antimicrobiano, portanto, esta é uma função importante para este tipo de atividade. Entre os dois álcoois, o ácido morólico (**121**), embora fraco, mostrou o dobro de atividade que o seu epímero ácido acridocarpus.

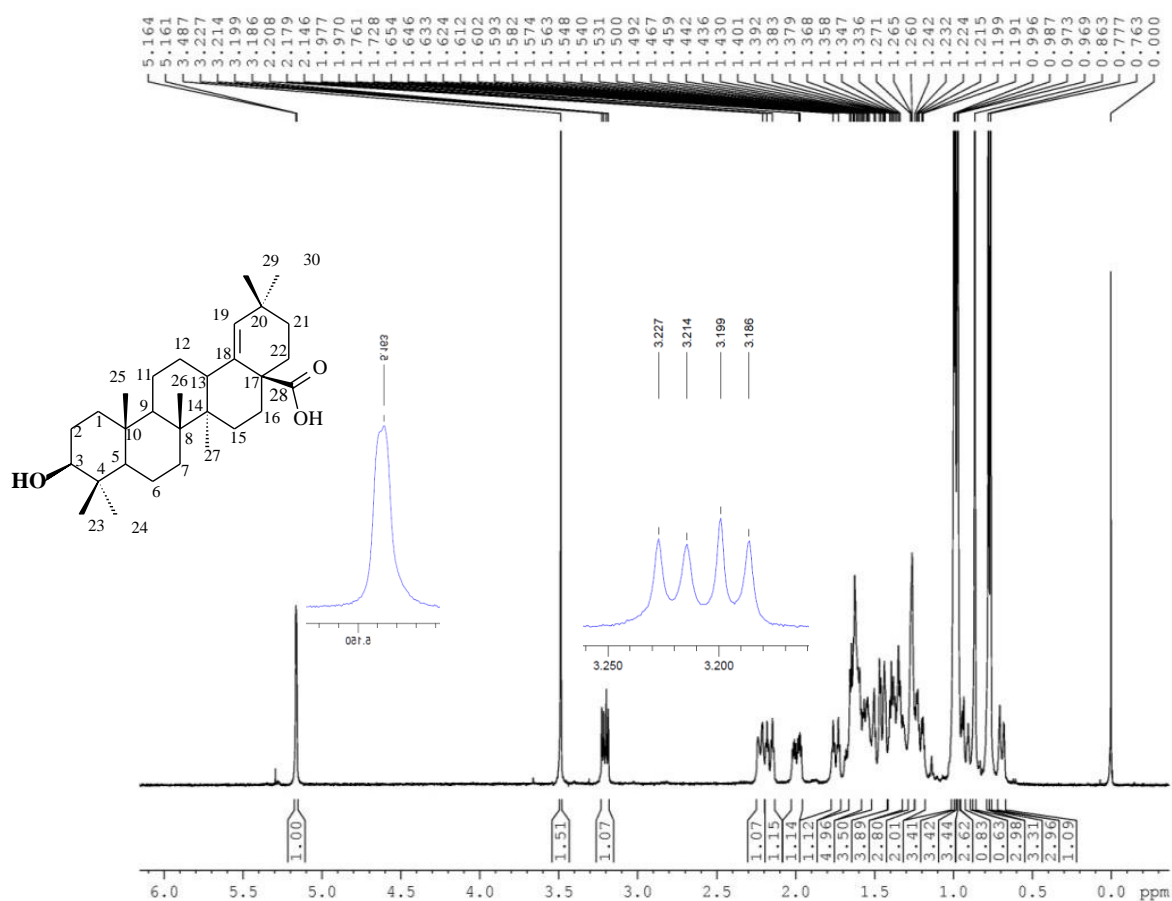


Figura 64. Espectro de RMN de ^1H do ácido morólico (**121**), em CDCl_3 , a 400,13MHz.

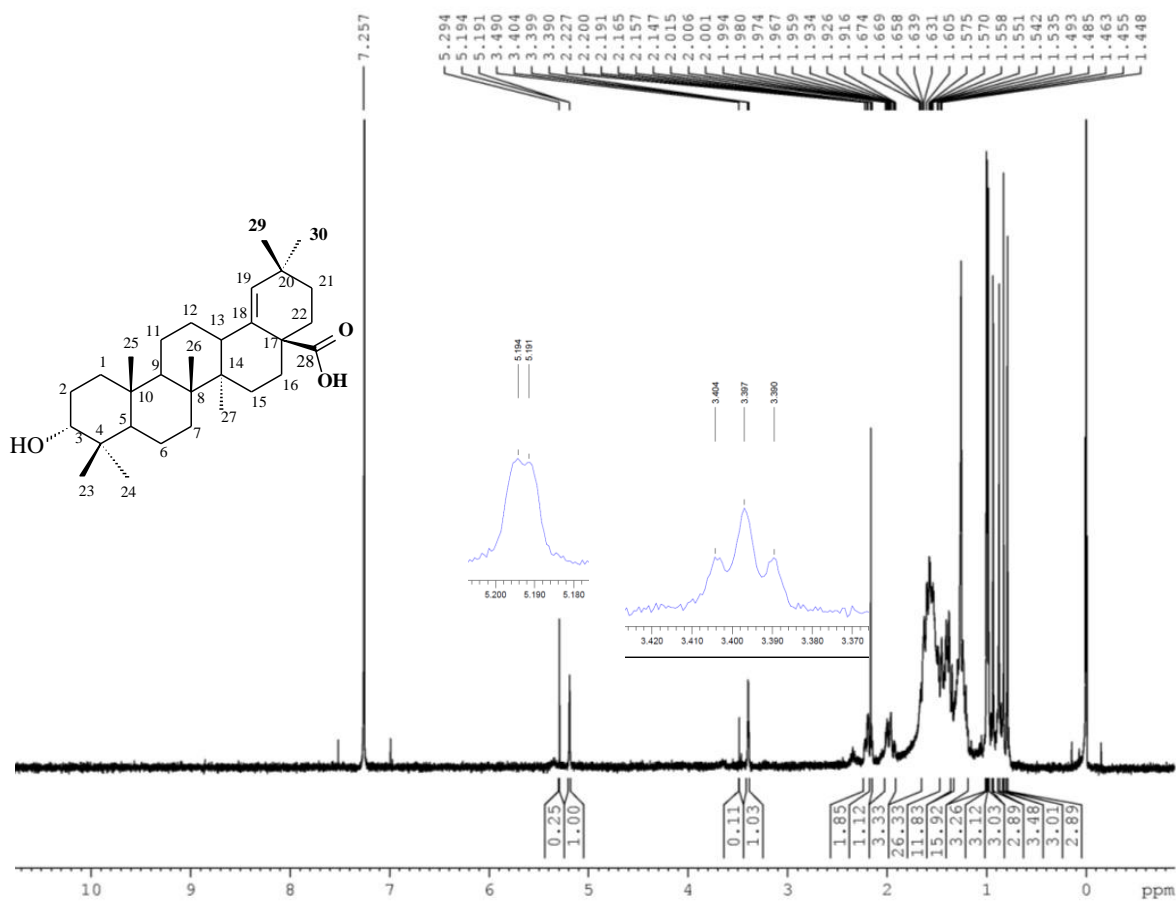


Figura 65. Espectro de RMN de ^1H do ácido-3-epi- moróico (**122**), em CDCl_3 , a 100.62MHz.

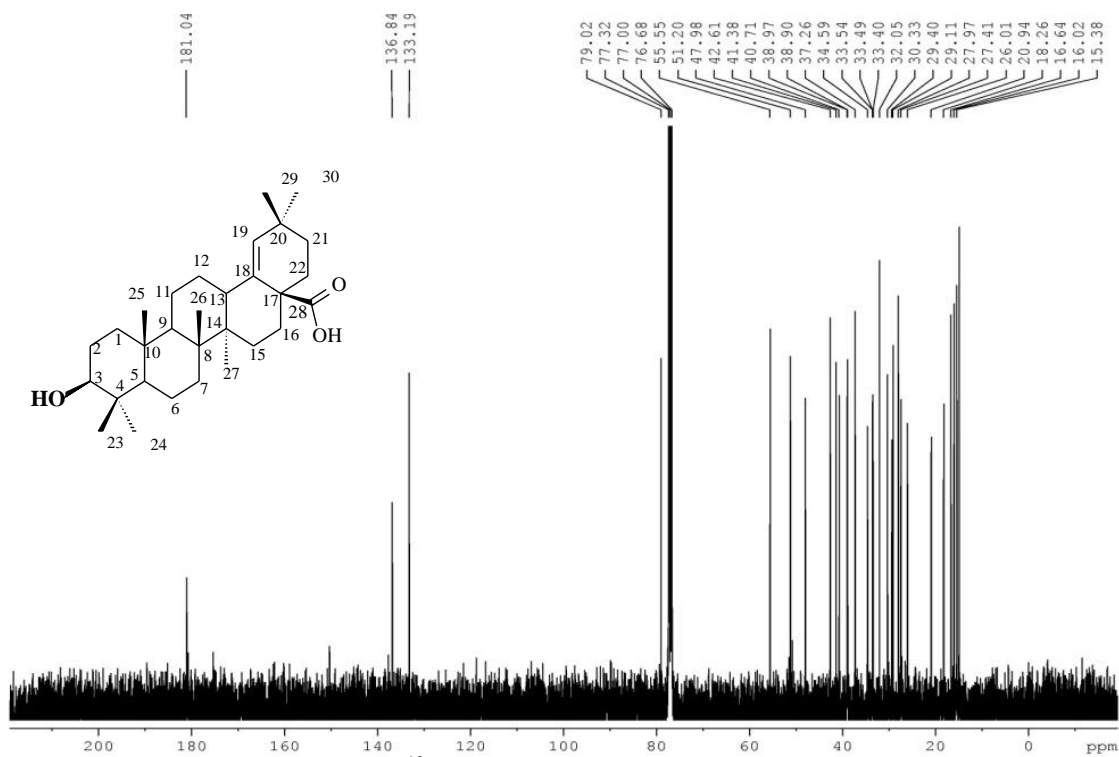


Figura 66. Espectro de RMN de ^{13}C do ácido moróico (**121**), em CDCl_3 , a 100.62MHz.

4.4 Avaliação da atividade biológica das espécies do gênero *Schinus* estudadas

4.4.1 Atividade antimicrobiana

A terapia para infecções bacterianas e fúngicas representa um desafio para pesquisadores, uma vez que os fármacos disponíveis estão perdendo para a resistência que os microorganismos adquirem frente ao uso racional dos medicamentos.

As infecções bacterianas aumentaram nos últimos anos, sendo observada uma crescente resistência a antibióticos. As plantas podem ser potenciais fontes terapêuticas de agentes antimicrobianos. Diferentes grupos de pesquisa estão empenhados na busca de substâncias de origem vegetal que apresentam atividade antimicrobiana.^{193,194,195} Estes estudos contribuem e apontam mecanismos de ação dos óleos voláteis, dos metabólitos isolados e dos extratos provenientes das plantas. De um modo geral, a complexidade da composição química da maioria dos óleos voláteis e dos extratos obtidos das espécies vegetais confere-lhes baixa especificidade,¹⁹⁶ pois a atividade biológica não é atribuída a um único mecanismo de ação, uma vez que a grande variedade de grupos químicos presentes permite que haja vários alvos na célula.¹ O caráter lipofílico permite que os óleos voláteis atravessem a membrana plasmática e a mitocôndria dos microrganismos, desestabilizando essas estruturas e tornando-as mais permeáveis, perdendo íons e outros conteúdos celulares. Compostos fenólicos presentes nos óleos voláteis também atuam desestabilizando a membrana plasmática, interrompendo a bomba de prótons, a transferência de elétrons, o transporte ativo e a coagulação do conteúdo celular.¹

Vaara (1992), em seus estudos, reportou que as bactérias Gram (-) são mais resistentes a um grande número de antibióticos devido à presença de uma membrana externa envolvendo

¹⁹³AUSTIN DJ.; KRISTINSSON KG.; ANDERSON RM. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*;96:1152–6, 1999.

¹⁹⁴SAMY RP.; IGNACIMUTHU S, Sen A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *J Ethnopharmacol.*, 1998, 62:173–181.

¹⁹⁵MOTSEI ML.; LINDSEY KL.; VAN Staden J.; JAEGER AK. Screening of traditionally used South African plants for antifungal activity against *Candida albicans*. *J Ethnopharmacol.*, 2003, 86:235–241.

¹⁹⁶BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. *Food and chemical toxicology.*, 2008, 46: 446-475.

a parede celular, que dificulta a passagem de compostos hidrofóbicos.¹⁹⁷ No entanto, não se pode confirmar que todos os óleos essenciais, apresentam forte atividade frente às bactérias Gram (-). Segundo Edris (2007), os óleos essenciais de *Achillea clavinae* revelaram forte atividade frente às bactérias Gram (-) *Haemophilus influenzae* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo que a bactéria Gram (+) *Streptococcus pyogenesse* mostrou-se mais resistente.¹⁹⁸

Segundo Janssen (1989), os ensaios antimicrobianos em óleos essenciais, suas frações, e extratos, seguem objetivos bem específicos, investigar as propriedades antibacterianas, antifúngicas, para uso em desinfetantes e conservantes de alimentos e suas possíveis interações terapêuticas.¹⁹⁹

Os óleos essenciais são considerados potenciais fontes de estruturas com ação antimicrobiana, especialmente frente bactérias patogênicas.²⁰⁰ Estudos, relacionados à atividade antimicrobiana demonstram que monoterpenos hidrocarbonetos e oxigenados, são capazes de destruir a integridade celular, inibir a capacidade respiratória e atrapalhar o transporte iônico através das membranas celulares de bactérias.²⁰¹

Segundo Murari *et al.* (2008), a atividade bactericida pode ser explicada pela elevada quantidade de álcoois como o *epi- α -muurulol* e *α -cadinol*, que apresentam atividade frente a células vegetativas, agindo como agentes desnaturantes de proteínas, solventes ou agentes desidratantes.²⁰² Os constituintes dos óleos essenciais contendo um grupamento fenólico ou alcoólico exibem efeitos inibitórios mais pronunciados sobre o crescimento microbiano, seguidos dos aldeídos e cetonas.

A substância isolada ácido gálico (**116**) testada quanto sua atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco, não apresentou inibição aos microorganismos avaliados.²⁰³ Já, pelo método de microdiluição, foi observada uma redução considerável do crescimento bacteriano para linhagens *S. aureus* (86,64%) e para *E. coli* (75,49%) em concentrações

¹⁹⁷VAARA, M. Agents that increase the permeability of outer membrane. **Microbiological Reviews**, 1992, 56(3): 395-411.

¹⁹⁸EDRIS, A.E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, 2007, 21: 308-323.

¹⁹⁹JANSSEN, A.M. Antimicrobial activities of essential oils: pharmacognostical study. 1989. 181p. Tese (Doctor aan de Rijksuniversiteit te Leiden) - Faculteit der Wiskunde en Natuurwetenschappen.

²⁰⁰BAYATI, F.A. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, 2008, v.116, p. 403-406.

²⁰¹DEBA, F.; XUAN, T.D.; YASUDA, M.; TAWATA, S. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. **Food Control.**, 2008, v. 19, p. 346-352.

²⁰²MURARI, A; CARVALHO, F; HEINZMANN, B; MICHELOT, T; HÖRNER, R; MALLMANN, C. Composição e Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*. In: **Química Nova**, 2008, v.31, n .5, p. 1081-1084.

²⁰³CARDOSO, C.R.P. Avaliação do potencial biológico de plantas pertencentes ao cerrado brasileiro e seus compostos de interesse farmacológico. **Tese Doutorado**. UNESP-Araraquara, 161 f.2009.

maiores. Kang *et al.* (2008) utilizando a mesma metodologia detectaram a atividade antimicrobiana do ácido gálico (**116**) frente *S. mutans*, tendo inibido a produção de biofilmes bacterianos da cavidade oral, porém a mesma atividade não foi observada para *E. coli* e *S. aureus*.^{204,205}

Os estudos realizados por Rios *et al* (2001) comprovaram os resultados já descritos da eficácia terapêutica da substância ácido morônico (**120**). Esta, ao ser administrada por via oral em camundongos se mostrou efetiva como antiviral. As frações dos extratos, aquoso e acetato de etila de *Phoradendron reichenbachian* apresentaram potencial forte anti-HIV. Os mesmos autores obtiveram moderada atividade citotóxica para as linhagens de células testadas.^{169,206}

4.4.1.1 Atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas, frutos e frações de *Schinus lentiscifolius*

O estudo da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas, frutos e suas frações foram avaliados, pelo método de microdiluição em caldo.

Da Tabela 16 a Tabela 18 são apresentados os valores de CIM dos óleos e respectivas frações das folhas e frutos coletados em 31 de dezembro de 2008, 21 de janeiro de 2008 e 04 de janeiro de 2010 de *S. lentiscifolius*.

²⁰⁴KANG, M.S.; OH, J.S.; KANG, I.C.; HONG, S.J.; CHOI, C.H. Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria. **J. Microbiol.**, 2008, v. 46, p. 744 -750.

²⁰⁵SAXENA, G.; MCCUTCHEON, A.R.; FARMER, S.; TOWERS, G.H.N.; HANCOCK, R.E.W. Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. **J. Ethnopharmacol.**, 1994, v. 42, p. 95-99.

²⁰⁶KUROKAWA, M .; BASNE, P .; OHSUGI.; S, KADOTA.; Namba T .; T Kawana.; Shiraki,K. Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* in vitro and in vivo. **J Pharmacol Exp Ther.**, 1999, p ;289 (1):72-80.

Tabela 16. Resultados da Concentração Inibitória Mínima dos óleos de folhas e frutos *S. lentiscifolius*

Frações Microorganismos ^a	SLFol A2 31.12.08		SLFol B2 04.01.10		SLFruA1 31.12.08		SLFruB1 04.01.10		Padrão^c (mg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	5	20	10	>20	5	>20	10	>20	3,12 x 10 ⁻³
<i>S. epidermidis</i>	5	20	10	>20	10	>20	-	>20	3,12 x 10 ⁻³
<i>E. Coli</i>	5	20	10	>20	5	>20	10	>20	1,56 x 10 ⁻³
<i>K.pneumoniae</i>	5	20	10	>20	5	>20	10	>20	3,12 x 10 ⁻³
<i>B. subtilis</i>	5	>20	20	>20	5	>20	10	>20	3,12 x 10 ⁻³
<i>S. pyogenes</i>	5	20	10	>20	5	>20	10	>20	6,25 x 10 ⁻³
<i>S. cerevisiae</i>	2,5	20	s/cresc	>20	s/cresc	>20	s/cresc	>20	10,3 x 10 ⁻³
<i>C. albicans</i>	s/cresc.	-	1,25	>20	s/cresc	>20	5	>20	10,3 x 10 ⁻³

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em mg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; **SLFol A2 e SLFruA1** folhas e **frutos coleta 31.12.08** ; **SLFol B2 , SLFru B1** folhas e **frutos coleta 04.01.10** no verão *S. lentiscifolius*.

O óleo volátil de **SLFol A2**, *S. lentiscifolius*, coleta 31 de dezembro de 2008, apresentou-se ativo para todos os microorganismos avaliados. Pode-se destacar para esta amostra uma melhor atividade frente a leveduras do que as bactérias, como no caso do microorganismo *S. cerevisiae*, para o qual se obteve uma CIM de 2,5 mg/mL. Apartir da análise dos valores obtidos para as CLMs, verificou-se que o óleo volátil de **SLFol A2**, possui uma maior atividade de inibição do crescimento microbiano do que de letalidade. Quando comparado ao óleo volátil **SLFol B2**, *S. lentiscifolius*, coleta 04 de janeiro de 2010, a amostra **SLFol A2** apresentou resultados mais expressivos frente bactérias. No caso das leveduras, ambos os óleos mostraram-se mais ativos podendo-se destacar para o óleo **SLFol B2**, um CIM de 1,25 mg/mL frente ao microorganismo *C. albicans*. Os valores de CLM para este último também demonstraram uma maior tendência à inibição de crescimento antimicrobiano do que de morte celular nas concentrações testadas.

Tabela 17. Resultados de Concentração Inibitória Mínima das frações do óleo dos frutos *S. lentiscifolius*

Frações Microorganismos ^a	SLFru1 31.12.08		SLFru2 31.12.08		SLFru3 31.12.08		Padrão ^c (mg/mL)
	CIM ^b	CML ^b	CIM ^b	CML ^b	CIM ^b	CML ^b	
<i>S. aureus</i>	5	>20	5	>20	5	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>S. epidermidis</i>	10	>20	10	>20	10	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>E. Coli</i>	5	>20	5	>20	5	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>K.pneumoniae</i>	10	>20	5	>20	5	>20	1,56 x10 ⁻³
<i>B. subtilis</i>	10	>20	5	>20	10	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>S. pyogenes</i>	5	>20	5	>20	5	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>C. albicans</i>	1,25	>20	5	>20	5	>20	6,25 x10 ⁻³

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em mg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; **SLFru1, SLFru2, SLFru3** coleta em **31.12.08** de *S. lentiscifolius*

A atividade antimicrobiana demonstrada para diferentes frações do óleo de frutos coleta 31 de dezembro de 2008 codificadas como: **SLFru1, SLFru2, SLFru3**, mostrou moderada atividade antimicrobiana para grande maioria das bactérias por apresentar um CIM (5,0mg/mL). Os valores de CIM para as frações do óleo frente á bactéria *S. epidermidis*, e para *B. subtilis* nas frações **SLFru1** e **SLFru3**, foram maiores este resultado também se reproduziu para a bactéria Gram (-) *K. pneumoniae*. Porém, frente ao fungo, *C. albicans* a fração **SLFru1**, apresentou uma CIM de 1,25mg/mL. A amostra de frutos **SLFruB1** coleta 04 de janeiro de 2010 não mostrou um perfil antibacteriano e antifúngico considerável o que confirma os dados obtidos nos teste realizado com amostras do fruto.

Os resultados apresentados na Figura 18 expressam a atividade antimicrobiana relativa ao fracionamento do óleo volátil de *S. lentiscifolius*, coleta 21 de janeiro de 2008. As frações, de modo geral, mostraram-se ativas frente a todos os microorganismos avaliados com destaque maior para o microorganismo *S. epidermidis*. Para este, obteve-se valores de CIM de 2,5 mg/mL para todas as frações avaliadas e de CLM variando entre 2,5 e 5 mg/mL, demonstrando um bom potencial de atividade destas frações frente a este agente patogênico. Em relação ao microorganismo *E. coli*, as frações do óleo volátil de *S. lentiscifolius* também demonstraram um bom potencial de atividade, apresentando valores tanto de CIM quanto de CLM de 5 mg/mL.

Tabela 18. Resultados de Concentração Inibitória Mínima do óleo das folhas e frações coleta 21.01.08 de *S.lentiscifolius*

Frações	F01 S.L		F02 S.L		F03 S.L		F04 S.L		F05 S.L		Padrão ^c (mg/mL)
Microorganismos ^a	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3,12 x10 ⁻³
<i>S. epidermidis</i>	2,5	5	2,5	5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	1,56 x10 ⁻³
<i>B.subtilis</i>	5	>20	5	10	5	>20	5	>20	5	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>E. coli</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1,56 x10 ⁻³
<i>P. aeruginosa</i>	5	>20	10	>20	10	>20	10	>20	10	>20	3,12 x10 ⁻³
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	1,56 x10 ⁻³

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em mg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura

Legenda: **F01 S.L; F02 S.L; F03 S.L; F04 S.L; F05 S.L** - frações do óleo da coleta em 21.01.08 *S. lentiscifolius*.

4.4.1.2 Atividade antimicrobiana dos extratos de *S. lentiscifolius*

Os extratos hexânico, acetato de etila resultantes da partição do hidrodestilado (chá) das folhas e frutos e o extrato bruto das folhas acetato de etila foram testados para diferentes microorganismos.

Dos resultados apontados na Tabela 19, pode-se destacar as frações **SL EHC FR** e **SL EAcOEtC FR**, as quais obtiveram uma CIM de 31,2 µg/mL e 62,5 µg/mL para o microorganismo *E. coli*, respectivamente. Esta segunda fração, **SL EAcOEtC FR**, também obteve um bom resultado em relação a bactéria *K. pneumoniae* apresentando uma CIM de 31,2 µg/mL. Observando os resultados dessas frações, podemos ainda verificar a prevalência de uma atividade inibitória de crescimento do que de letalidade em relação aos microorganismos avaliados. Também se observa uma menor eficiência antifúngica quando comparada a antibacteriana.

Tabela 19. Resultados de Concentração Inibitória Mínima dos extratos hexânico e acetato de etila resultante do fracionamento chá (resíduo aquoso) e do extrato bruto de *S. lentiscifolius*

Extratos Microorganismosa	SL EHC FL		SL EAcOEtC FL		SL EHC FR		SL EAcOEtC FR		SLEAcOEtB FL		Padrão ^c (µg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	500	500	500	>500	500	500	500	>500	125	>500	3,12
<i>S. epidermidis</i>	125	500	250	>500	62,5	62,5	125	500	125	>500	3,12
<i>B. subtilis</i>	250	>500	500	>500	500	500	500	>500	250	>500	3,12
<i>S. pyogenes</i>	250	>500	250	>500	250	500	500	>500	125	>500	3,12
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	250	>500	3,12
<i>E. coli</i>	125	>500	250	>500	31,2	250	62,5	500	125	>500	3,12
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	250	>500	3,12
<i>K. pneumoniae</i>	250	250	500	>500	125	250	31,2	500	-	-	3,12
<i>S. sonnei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	125	>500	3,12
<i>C. albicans</i>	250	250	125	500	125	125	500	>500	250	250	6,25
<i>C. tropicalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	125	250	6,25
<i>C. neoformans</i>	-	-	250	>500	-	-	-	-	250	250	5,15
<i>S. cerevisiae</i>	500	500	125	500	500	500	-	-	250	500	10,3

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em µg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; NA: não ativo; **SL EHC FL** - *S. lentiscifolius* extrato hexânico chá folhas; **SL EAcOEtC FL** - *S. lentiscifolius* extrato acetato etila chá folhas; **SL EHC FR** - *S. lentiscifolius* extrato hexânico chá frutos; **SL EAcOEtC FR** - *S. lentiscifolius* extrato acetato de etila chá frutos; **SLEAcOB FL** - *S. lentiscifolius* extrato acetato etila bruto folhas.

4.4.1.3 Atividade antimicrobiana das substâncias isoladas, ácido morônico e ácido gálico e derivados das folhas de *S. lentiscifolius*.

Os dados da Tabela 20 apresentam a atividade antimicrobiana testada para as substâncias isoladas, ácido morônico (**120**) e derivados da reação de redução: ácido morólico (**121**) e ácido-*epi*-morólico (**122**), e ácido gálico (**116**), bem como para o produto metilado (**118**). A substância, triterpênica ácido morônico isolada do extrato bruto de acetato de etila das folhas, mostrou destacada atividade antimicrobiana contra as bactérias *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*, *S. saprophyticus*, *E. coli* e *S. sonnei*, apresentando uma CIM de 3,1mg/mL, quando comparada com as duas substâncias derivatizadas. Estes resultados estão em concordância com os estudos anteriormente realizados em que também foi evidenciado potencial antimicrobiano da substância ácido morônico.

É possível visualizar na Tabela 20 que a substituição do grupo carbonila pelo grupo -OH diminuiu a atividade antimicrobiana. Ao comparar este resultado com o obtido para o ácido morônico, observa-se que o grupo carbonila na posição 3 apresenta considerável influência na atividade em relação a do grupo - OH. As modificações estruturais, apesar de simples, podem mudar o perfil de atividade. Neste caso, essas demonstraram menor contribuição antimicrobiana. Entretanto, um estudo mais aprofundado da influência dos substituintes colocados nos grupos carbonilas desta molécula, juntamente com estudos de relação quantitativa entre estrutura química e atividade antibacteriana, seria uma perspectiva de pesquisa interessante para a continuação deste trabalho.

Tabela 20. Atividade antimicrobiana (em µg) dos metabólitos: ácido morônico, ácido morólico, ácido 3-*epi*-morólico, ácido gálico e do produto esterificado de *S. lentiscifolius*.

Extratos Microorganismos ^a	Ácido morônico		Ácido morólico		Ácido 3- <i>epi</i> -morólico		Ácido gálico		EFRU4R		Padrão ^c (µg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	3,1	25	>200	-	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>S. epidermidis</i>	100	>200	100	>200	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>B. subtilis</i>	3,1	50	100	>200	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>S. pyogenes</i>	3,1	50	50	>200	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>S. saprophyticus</i>	3,1	25	NT	NT	NT	NT	200	>200	>200	-	3,12
<i>E. coli</i>	3,1	25	100	>200	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>P. aeruginosa</i>	100	>200	100	>200	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>S. sonnei</i>	3,1	25	200	>200	100	>200	100	>200	>200	-	3,12
<i>C. albicans</i>	>200	-	NT	NT	NT	NT	100	-	NT	-	6,25
<i>C. tropicalis</i>	>200	-	NT	NT	NT	NT	100	>200	NT	-	6,25
<i>C. neoformans</i>	>200	-	NT	NT	NT	NT	100	200	NT	-	5,15
<i>S. cerevisiae</i>	200	200	NT	NT	NT	NT	100	200	NT	-	10,3

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em µg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; EFRU4R- produto esterificado.

NT-nãotestado.

4.4.1.4 Determinação da atividade antimicrobiana do óleo das folhas, dos frutos e das frações de *S. terebinthifolius*

A Tabela 21 apresenta os resultados dos ensaios antimicrobianos do óleo das folhas, frutos e das frações de *S. terebinthifolius* coletados em diferentes períodos (25 de maio de 2009 e 28 de janeiro de 2010). Os melhores resultados foram observados para o óleo dos frutos em relação ao das folhas, para as duas coletas de frutos analisados.

Os valores apresentados tanto para CIM quanto para a concentração letal mínima para a fração do óleo **TFru1** frente á bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *S. pyogenes* foi de 2,5mg/mL. Este valor também se reproduziu para a fração **TFru2** frente a bactérias *S. aureus*.

Tabela 21. Resultados de Concentração Inibitória Mínima do óleo dos frutos coleta outono e verão *S. terebinthifolius*.

Frações Microorga- nismos ^a	TFOLT 25.05.09		T Fru1 25.05.09		T Fru2 25.05.09		T Frut 28.01.10		T Fru B1 28.01.10		T Fru B2 28.01.10		Padrão^c (mg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	-	-	2,5	2,5	2,5	2,5	1,25	1,25	0,625	>20	20	20	3,12x10 ⁻³
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	5	>20	>20	>20	-	-	-	-	3,12x10 ⁻³
<i>B. subtilis</i>	20	20	20	>20	-	-	0,62	0,62	-	-	20	>20	3,12x10 ⁻³
<i>E. coli</i>	10	20	2,5	2,5	1,25	>20	-	-	-	-	-	-	1,56x10 ⁻³
<i>K.pneumoniae</i>	20	20	-	-	20	>20	-	-	-	-	-	-	3,12x10 ⁻³
<i>S. pyogenes</i>	-	-	2,5	2,5	10	10	2,5	2,5	-	-	0,62	>20	6,2x10 ⁻³

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em mg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; **TFOLT** - óleo folhas; **T Fru1**; **T Fru2**- frações do óleo frutos coleta em 25.05.09 ; **T Frut** – óleo total fruto ; **T Fru B1**; **T Fru B2**- frações do óleo frutos coletada em 28.01.09 *S. terebinthifolius*.

O óleo dos frutos de *S. terebinthifolius* obtidos no verão apresentou resultados diferenciados quanto sua atividade antimicrobiana. O óleo total **TFrut** de *S. terebinthifolius* apresentou as melhores atividades frente às bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *S. pyogenes* com valor de CIM e CLM iguais entre 0,625-2,5mg/mL. Já a fração **TFruB1** inibiu somente a bactéria *S. aureus*, sendo que a fração **TFruB2** apresentou uma melhor atividade para *S. pyogenes*.

A Figura 67 mostra o perfil cromatográfico obtido para o óleo de frutos e suas frações, coleta 28 de janeiro de 2010, nessa pode-se verificar que diferenças quanto à constituição química. A fração **TFru B1** apresenta maior concentração de monoterpenos, já na fração

TFruB2 temos um aumento na concentração de sesquiterpenos o que contribui para compreensão das diferenças observadas nos ensaios antimicrobianos. A hipótese de que uma única substância é responsável pela atividade antimicrobiana de uma planta está se tornando cada vez mais improvável. A investigação deve ser centrada no estudo de uma combinação de compostos para conseguir uma maior eficácia.⁹⁹

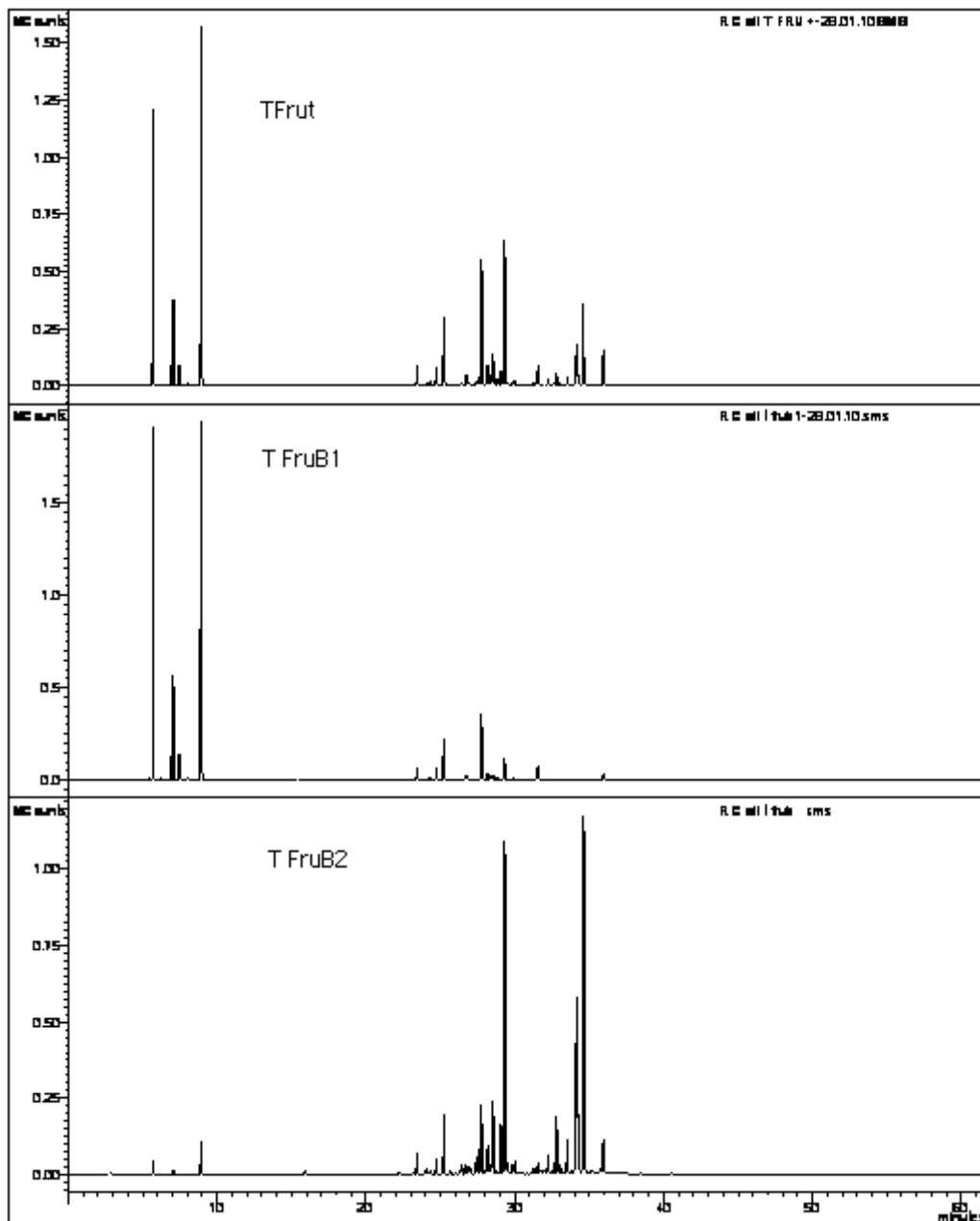


Figura 67. Cromatograma do óleo essencial dos frutos TFrut-óleo total, TFruB1 e TFruB2 - frações de *S. terebinthifolius* coletado 28.01.10.

4.4.1.5 Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de *Schinus terebithifolius*.

Os resultados de atividade antimicrobiana para os extratos hexânicos de folhas **ST EHCFL** e frutos **ST EHC FR** de *S. terebithifolius* mostram valores de concentração inibitória entre 250-200 µg/mL bastante semelhantes, a mesma CIM foi observada para o extrato acetato de etila **ST EAcOEtCFL** das folhas, porém os valores observados para CLM de 500µg/mL foram diferentes Tabela 22.

Tabela 22. Resultados de CIM e CLM para extratos hexânico e acetato de etila do chá de folhas e extrato acetato de etila frutos *S. terebithifolius*

Microorganismos	ST EAcOEtC FL		ST EHC FL		ST EHC FR		Padrão ^c (µg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	500	>500	250	>250	250	>250	
<i>S. epidermidis</i>	250	>500	250	>250	250	>250	3,12
<i>E. coli</i>	250	>500	250	>250	250	>250	1,56
<i>K. pneumoniae</i>	250	>500	250	>250	250	>250	3,12
<i>B. subtilis</i>	500	>500	250	>250	250	>250	3,12
<i>S. pyogenes</i>	250	>500	250	>250	250	>250	6,25
<i>C. neoformans</i>	250	500	-	-	-	-	10,3
<i>S. cerevisiae</i>	500	500	250	500	250	>250	10,3
<i>C. albicans</i>	250	500	-	-	-	-	10,3

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em µg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; coletada no verão **ST EAcOEtC FL** - *S. terebithifolius* extrato Ac. Etila chá folhas **ST EHC FL** - *S. terebithifolius* extrato hexânico chá folhas **ST EHC FR** - *S. terebithifolius* extrato hexânico chá frutos.

4.4.1.6 Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos de *Schinus molle*.

A Tabela 23 resume a atividade antimicrobiana observada para o extrato hexânico das folhas de *S. molle* **SMEHCFL** e dos frutos **SMEAcOEtCFL**. A amostra **SMEHCFL** foi mais ativa frente aos microorganismos testados. Diferenças quanto a atividade foram observadas para os extratos de folhas para **SMEHCFL** e **SMEAcOEtCFL** contra o fungo *S. cerevisiae*, e *C. albicans*.

Tabela 23. Resultados concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Letal Mínima (CLM) – extrato hexânico e acetato etila de folhas *S. molle*

Microorganismos	SM EHC FL		SM EAcOEtC FL		Padrão ^c (µg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	250	>250	-	-	3,12
<i>S. epidermidis</i>	250	>250	250	>500	3,12
<i>E. coli</i>	250	>250	500	>500	1,56
<i>K. pneumoniae</i>	250	>250	500	>500	3,12
<i>B. subtilis</i>	250	>250	500	>500	3,12
<i>S. pyogenes</i>	250	>250	500	>500	6,25
<i>C. neoformans</i>	-	-	-	-	10,3
<i>S. cerevisiae</i>	250	500	500	500	10,3
<i>C. albicans</i>	-	-	250	250	10,3

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em µg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; **SME HCFL** - extrato hexânico chá folhas e **SMEAcOEtCF**- extrato acetato de etila chá folhas de *S. molle*

4.4.1.7 Determinação da atividade antimicrobiana do óleo dos frutos *Schinus Polygamus*

O óleo dos frutos (**PMFru**) apresentou-se tanto bactericida quanto bacteriostático para a maioria dos microorganismos testados. Os valores de concentração inibitória mínima e de letalidade foram iguais, Tabela 24.

Tabela 24. Resultados Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Letal Mínima (CLM) óleo de *S. Polygamus*.

Espécies de microorganismos	PM Fru		Padrão ^c (mg/mL)
	CIM ^b	CLM ^b	
<i>S. aureus</i>	5	5	3,12 x 10 ⁻³
<i>S. epidermidis</i>	-	-	3,12 x 10 ⁻³
<i>B. subtilis</i>	-	-	3,12 x 10 ⁻³
<i>E. coli</i>	10	10	1,56 x 10 ⁻³
<i>K. pneumoniae</i>	20	>20,0	3,12 x 10 ⁻³
<i>S. pyogenes</i>	10	10	6,25 x 10 ⁻³

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em mg/mL; ^c Cloranfenicol para bactérias e nistatina para levedura; NA: não ativo; PMfru- óleo essencial fruto.

Os extratos aquosos das espécies estudadas *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus*, apresentaram uma CIM >500 µg/mL, maior que a concentração testada frente à atividade antibacteriana.

4.4.2 Atividade antioxidante

Os efeitos maléficos dos radicais livres são reconhecidos, antioxidantes naturais que possam inibir ou impedir a ação de espécies reativas como as de oxigênio é preocupação de pesquisadores que estão em busca de plantas com princípios terapêuticos. Existe um maior interesse em extratos vegetais com ação antioxidantes que possam diminuir os danos provocados pelos radicais livres.^{207,208,209}

Além disso, evidências, sobre os efeitos prolongados de alguns antioxidantes sintéticos BHAe BHT (é um antioxidante utilizado na preservação de alimentos e medicamentos, sendo utilizado principalmente para evitar a rancificação de gorduras) têm sido documentados, como efeitos carcinogênicos nos organismos. Por essa razão, tem se dado maior atenção para os antioxidantes naturais e os esforços estão em identificar os compostos responsáveis pela ação antioxidante podendo gradativamente substituir os sintéticos.²¹⁰

4.4.2.1 Atividade antioxidante pelo método do radical livre DPPH

Vários ensaios de antioxidantes com base em diferentes mecanismos têm sido utilizados para testar atividade antioxidante de substância ou mistura de substâncias de origem vegetal.

Os ensaios antioxidantes podem envolver várias metodologias químicas *in vitro*, sem o uso de microorganismos ou animais, o que facilita de certa forma a realização nos laboratórios de química de produtos naturais.

Dentre as diversas metodologias pode-se utilizar o método qualitativo ou o ensaio quantitativo. O método qualitativo fundamenta-se na redução do radical DPPH que avalia a capacidade dos compostos testados serem doadores de hidrogênio - ação antioxidante. A

²⁰⁷GUERRA, E.J.I. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. **An.Med.Interna.**, 2001,v.18, n.6,p.326-335.

²⁰⁸MISTCHER LA. Coevolution: mankind and microbes. *J Nat Prod.*, 2008, n.71, p. 497–509.

²⁰⁹JARVIS I.Imminent threat. **Chem and Eng News.**, 2008, 86:21–4.13.

²¹⁰DUNG, N. T., KIM, J. M.; KANG, S. C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential Oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perrybuds. **Food and Chemical Toxicology.**, 2008, v. 111, p. 648-653.

solução do DPPH possui uma coloração violeta que descolore progressivamente tornando-se amarelada, permitindo assim observar a ação antioxidante da amostra testada Figura 68.

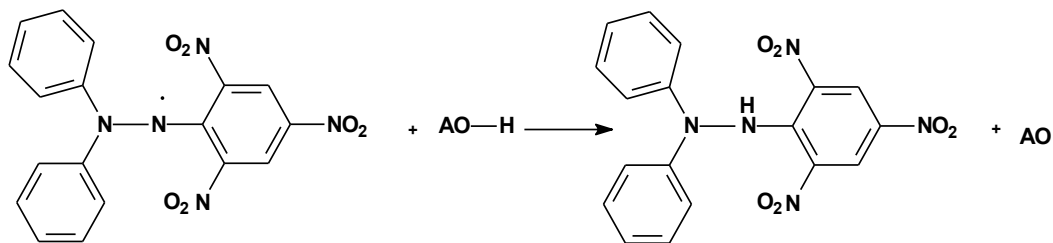


Figura 68. Redução do DPPH.

Estes ensaios têm sido amplamente utilizados para a verificação do potencial antioxidante de plantas medicinais.²¹¹

A atividade antioxidante dos óleos e das frações de *S. lentiscifolius* foi inicialmente avaliada utilizando-se a CCD. Os ensaios preliminares por screening não se mostraram interessantes, sendo dispendioso testar sua atividade antioxidante por métodos quantitativo.

Os extratos, frações e substâncias isoladas, das espécies do gênero *Schinus* estudadas, foram avaliados pela atividade antioxidante pelo método do DPPH quantitativo. Neste método os resultados obtidos são expressos em IC₅₀, que significa a concentração de extrato, fração ou composto isolado necessária para reduzir em 50 % a concentração de DPPH em solução, e pode ser obtida através do gráfico de concentração do DPPH em solução *versus* concentração da solução amostra com o extrato ou a fração analisada. Neste caso, quanto menor a concentração necessária para alcançar a IC₅₀, melhor a capacidade seqüestrante do radical livre por parte da amostra.

A Figura 69 mostra o resultado do percentual de inibição ao radical DPPH do padrão BHT e dos extratos Hex e AcOEt resultantes da partição do resíduo aquoso das folhas e frutos de *S. lentiscifolius*. No que se refere à atividade antioxidante, mensurada através da capacidade dos extratos em seqüestrar o radical DPPH, expressa em percentual de inibição, evidenciou-se que a intensidade da ação foi diferenciada para os diferentes extratos analisados.

²¹¹DJERIDANE, A.; YOUS, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chemistry**, 2006, v.97, p. 654–660.

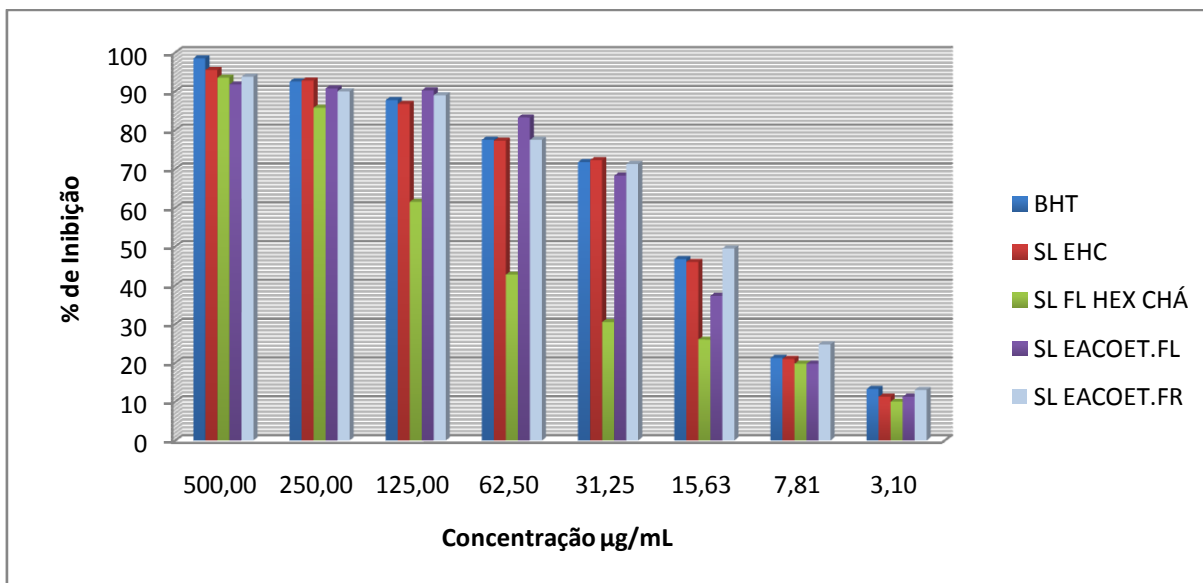


Figura 69. Resultados da avaliação antioxidante dos extratos de *S. lentiscifolius* (% inibição do radical DPPH). Códigos das amostras testadas: **BHT** - di-terc-butil metil fenol; **SL EHC**- extrato hexânico chá dos frutos; **SLFL HEX CHÁ**- extrato hexânico chá das folhas; **SLEACOETFL** extrato acetato de etila chá folhas; **SLEACOETFR**- extrato acetato de etila chá dos frutos de *S. lentiscifolius*.

Pela análise dos resultados da atividade antioxidante podemos observar que todas as amostras testadas foram ativas, apresentando um percentual de inibição ao radical livre DPPH considerável. Para os extratos testados **SL EHC FR**, **SL EACOET FL** e **SL EACOET FR** foram necessários uma concentração de 31,25µg/mL para reduzir o valor da DPPH em 50%, exceto para a amostra **SLFL HEX CHÁ**.

A Figura 70 mostra o resultado do ensaio de atividade antioxidante, expressa em percentual de inibição exibido pelas diferentes concentrações dos extratos das folhas e frutos codificados na legenda da Figura 70 (**SM EACOETCFR**, **EMEHCFL**) de *S. molle*, (**ST AcOETFR**, **ST EHCFL**, **ST ACOETFL**) *S. terebinthifolius*, (**SL FVHEX**), *S. lentiscifolius*, a substância isolada ácido gálico (**116**) e, o produto metilado (**118**). Já na concentração 3,10µg/mL temos uma inibição maior do produto metilado, do ácido gálico, do extrato AcOEt das folhas e dos frutos de *S. terebinthifolius* e do extrato AcOEt de *S. molle* quando comparado ao BHT padrão de referência. Tendo a substância isolada (116), o produto metilado galato de metila (118) e o extrato acetato de etila obtido do chá dos frutos de *S. molle* apresentado um percentual de inibição da DPPH acima dos 50%.

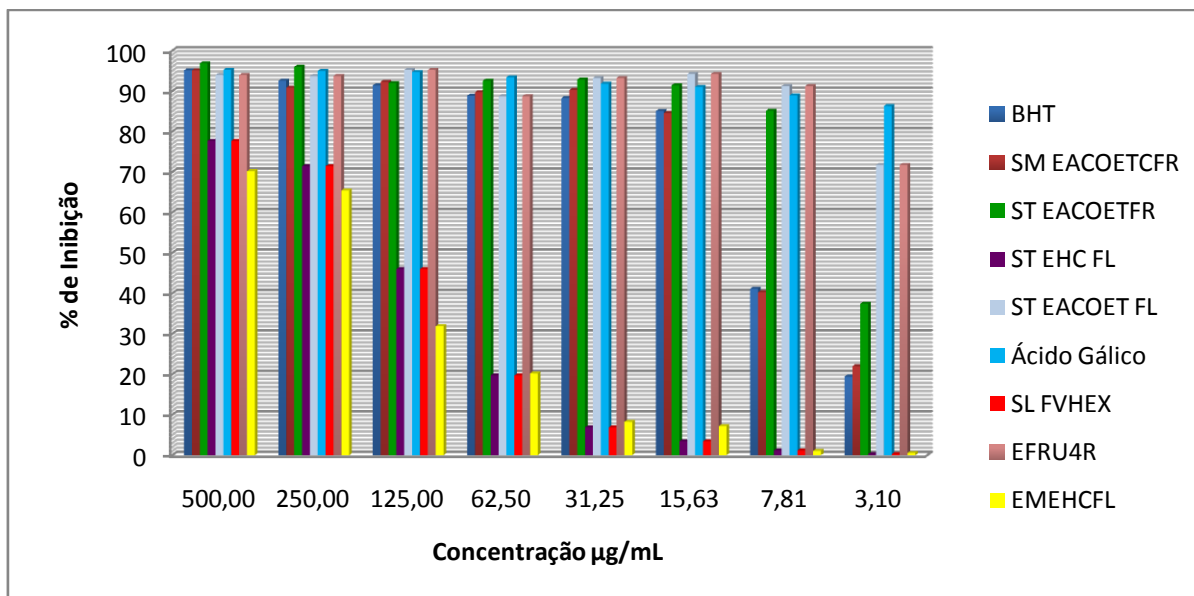


Figura 70. Resultados da avaliação antioxidante dos extratos, e substância isolados (% inibição do radical DPPH).

Códigos das amostras testadas: **BHT** - di-terc-butil metil fenol; **SM EACOETCFR**- extrato acetato de etila chá folhas *S. molle*, **ST EACOETFR** - extrato acetato de etila chá frutos *S. terebinthifolius*; **ST EHCFL**- extrato hexânico chá de folhas *S. terebinthifolius*; e **ST ACOETFL**- extrato acetato de etila chá folhas de *S. terebinthifolius*; **AG**- Ácido Gálico; **SL FVHEX**- extrato hexânico bruto folhas verdes de *S. lentiscifolius*, **EFRU4R**- produto metilado e **EMEHCFL**- extrato hexânico chá folhas *S. molle*.

O extrato **ST EACOET FR** apresentou, na concentração de 62,50µg/mL, um efeito de inibição ao radical livre comparado ao ácido gálico, substância que serve de padrão de análise em ensaios de atividade antioxidante. Já para os extratos hexânicos **SL FVHEX** e **EMEHCFL** foi necessária uma concentração de 250,0 µg/mL para reduzir o valor da DPPH em 50%, nos extratos hexânicos.

As melhores atividades antioxidantes foram observadas para o composto isolado ácido gálico (**116**), da substância metilada (**118**) bem como para os extratos das folhas de acetato de etila. O radical DPPH ficou reduzido a cerca de 70% e 98%, considerando o tempo de 30 minutos e concentração de 500 µg.m⁻¹. A presença de substâncias fenólicas sequestra o radical livre DPPH, evidenciando que em solventes mais polares temos maior quantidade de compostos fenólicos.

CONCLUSÃO

Concluiu-se após o estudo fitoquímico e biológico das espécies *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus* (Anacardiaceae) que:

- o óleo essencial de folhas, frutos e flores de *S. lentiscifolius*, obtido por hidrodestilação em diferentes períodos do ano de estudo, mostrou variações quantitativas em relação à composição química, confirmando a influência de fatores ambientais como sazonalidade e estresse hídrico na composição e no teor de óleo. Ocorreram flutuações dos principais constituintes químicos. A sazonalidade é um parâmetro considerável no rendimento, como também na composição química dos óleos voláteis;

- os óleos essenciais, tanto das folhas quanto dos frutos de *S. lentiscifolius*, apresentaram predominância de sesquiterpenos, com destaque para os sesquiterpenos oxigenados. As frações monoterpênicas se apresentaram em menores quantidades, sendo os monoterpênicos oxigenados quase inexistentes. Dentre os monoterpênicos, os mais presentes e constantes durante o estudo foram os hidrocarbonetos α -pineno, β -pineno e limoneno. Dos sesquiterpenos oxigenados, o espatulenol foi o constituinte presente em todas as amostras analisadas, sendo o constituinte majoritário nas quatro amostras do óleo dos frutos analisados;

- a análise dos óleos essenciais das folhas, no período do inverno, de *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus* mostraram diferenças quantitativas nos seus constituintes químicos e também no número de compostos encontrados, sendo que os óleos de *S. polygamus* analisados mostraram perfis qualitativos diferentes dos relatados na literatura, como a ausência de monoterpênicos hidrocarbonetos. Esses apresentaram reduzida quantidade de monoterpênicos oxigenados, mas são ricos em compostos do tipo sesquiterpenos hidrocarbonetos. A exceção nesta classe é *S. polygamus*, que apresentou maior quantidade em constituintes e em concentração de sesquiterpenos oxigenados;

- o óleo essencial de *S. terebinthifolius* dos frutos apresentou predominância dos monoterpênicos hidrocarbonetos, sendo caracterizados como majoritários o α -pineno e limoneno. Entretanto esta similaridade não foi evidenciada no óleo das folhas, em que o constituinte majoritário dos sesquiterpenos hidrocarbonetos foram germacreno-D e o δ -cadineno;

Do extrato bruto acetato de etila das folhas de *S. lentiscifolius* foram isolados o álcool graxo (**119**), o triterpenoácido morônico (**120**). Foram obtidos também dois derivados do

ácido morônico (**120**), por reação de redução empregando NaBH₄, os quais foram caracterizados como ácido morólico (**121**) e 3-*epi*-ácido morólico (**122**);

- a análise do extrato aquoso de acetato de etila de *S. lentiscifolius* levou ao isolamento do composto FLA-1 (**115**), cuja estrutura não está confirmada, e do ácido gálico (**116**), do qual foi obtido o derivado galato de metila (**118**). Do extrato aquoso butanólico de *S. molle* foram isolados os flavonóides quercetina (**90**) e rutina (**117**). Estes compostos tiveram suas estruturas determinadas através dos dados físicos e das análises de RMN uni e bidimensionais, espectrometria de massas e através da análise de difração de raios-X do ácido morônico (**120**). A análise dos extratos aquosos por CLAE levou à caracterização de ácido gálico (**116**), quercetina (**90**) e rutina (**117**) por comparação com padrões existentes no laboratório. Todos os extratos mostraram a presença do ácido gálico (**116**), exceto nos extratos de *S. molle*;

- a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, de suas frações, dos extratos aquosos e dos extratos orgânicos foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo. Todos os óleos e suas frações mostraram-se ativos frente a algumas das bactérias e fungos testados, obtendo melhores resultados para o óleo de *S. terebinthifolius*. Os extratos aquosos e os orgânicos obtidos das diferentes espécies vegetais apresentaram atividades antimicrobianas em diversos níveis inibitórios;

- através do método do DPPH foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos aquosos hexânico, acetato de etila e dos compostos isolados das espécies estudadas, exceto da *S. polygamus*. Todos os extratos e compostos que foram testados apresentaram resultados de inibição ao DPPH, o que nos permite correlacionar à presença de compostos fenólicos, dos quais o ácido gálico (**116**) foi isolado da *S. lentiscifolius* e os flavonóides quercetina (**90**) e rutina (**117**) foram isolados da *S. molle*. Destacou-se, entre as substâncias avaliadas, o significativo potencial antioxidante do ácido gálico (**116**) e do seu produto esterificado, sendo que o primeiro se mostrou mais ativo, comparado ao próprio padrão BHT. Os dados mostraram que os extratos investigados são promissores *in vitro* à atividade antioxidante, sendo considerados como ponto de partida para novas pesquisas para identificar novos compostos responsáveis pela atividade biológica;

- os resultados obtidos apontam para a importância de estudos dos óleos voláteis de espécies do Bioma Pampa, de forma interdisciplinar, visando à identificação de espécies promissoras para utilização como insumos, contribuindo para discussão quimiotaxonômica e geográfica de espécies do gênero *Schinus*. As diferenças apresentadas na mistura dos

compostos nos óleos das espécies analisadas fornecem características úteis para a compreensão das relações filogenéticas neste grande grupo de plantas;

- este trabalho contribui para a investigação químico-farmacológica da Flora Brasileira, especificamente do Bioma Pampa, ao estudar a composição química e avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos, frações e substâncias isoladas das espécies *S. lentiscifolius*, *S. terebinthifolius*, *S. molle* e *S. polygamus*, pertencentes à família de plantas Anacardiaceae do Brasil;

- os resultados sugerem que as espécies do gênero *Schinus* pertencentes ao Bioma Pampa são fontes de estruturas com potencial biológico, assim como, o triterpeno ácido morônico (**120**) e seus derivados, ácido morólico (**121**) e o ácido 3-*epi*-morólico (**122**), o ácido gálico (**116**) e seu derivado galato de metila, bem como os flavonóides, quercetina (**90**) e rutina (**117**), o que permite a continuação de estudos em várias frentes de trabalho. Uma das perspectivas seria o reisolamento de uma quantidade maior do triterpeno ácido morônico (**120**), preparação de novos derivados e o estudo do mecanismo de ação dos compostos responsáveis pela atividade antibacteriana das espécies analisadas.