

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS RAIZES E FOLHAS,
E MORFO-ANATÔMICA DOS CAULES E FOLHAS
DE *Urera baccifera* GAUDICH**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Amanda Leitão Gindri

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS RAIZES E FOLHAS,
E MORFO-ANATÔMICA DOS CAULES E FOLHAS DE *Urera
baccifera* GAUDICH**

Amanda Leitão Gindri

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Farmacognosia, Fitoquímica e Farmacologia de Produtos Naturais e Bioativos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof^a. Dra. Margareth Linde Athayde

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a dissertação de Mestrado**

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS RAIZES E FOLHAS,
E MORFO-ANATOMICA DOS CAULES E FOLHAS DE *Urera*
baccifera GAUDICH**

elaborada por
Amanda Leitão Gindri

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Margareth Linde Athayde, Dra.
(Presidente/Orientadora)

Michel Mansur Machado, Dr. (UNIPAMPA)

Solange Cristina da Silva Martins Hoelzel, Dra. (UNIFRA)

Santa Maria, 5 de julho de 2012

*Este trabalho é dedicado aos meus pais, Nilson e Analaura, e a meu irmão, Lucas.
Meus exemplos, meus orgulhos!
Eu os amo com todas as minhas forças!*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a prof. Dra. Margareth Linde Athayde, por aceitar me orientar e me acolher em seu grupo de trabalho. Muito obrigada, prof., pela atenção, pelos ensinamentos e pela amizade! És meu exemplo de profissional!

Agradeço também ao professor Dr. João Marcelo, pela orientação no trabalho de morfo-anatomia, pelos ensinamentos e pela paciência de orientar uma farmacêutica no campo da biologia.

À UFSM, ao PPGCF e ao secretário do programa Paulo Ricardo, pelo auxílio nesta jornada.

Agradeço a meus pais e irmão, Nilson, Analaura e Lucas, por todo amor, atenção e auxílio, desde a coleta da planta até o incentivo e força para executar e escrever todo o trabalho. Não há palavras para expressar o quanto vocês significam para mim!

À meu namorado, Paulo, pelo amor, atenção e paciência durante estes dois anos de trabalho. Muito obrigada por me apoiar e compreender minha falta de tempo. Te amo!

À minha cunhada e amiga Litiele, pelo apoio e amizade em todos os momentos, no trabalho e em casa. Você me ajudou muito, pode ter certeza!

À toda minha família, tios, primos e vó, que pela amizade e carinho ajudaram com que esta dissertação fosse escrita. Em especial a Didi Janete e a Tia Analice, pelo amor, apoio e incentivo incondicional!

Agradeço também aos colegas do laboratório de fitoquímica, por todos os ensinamentos e amizade. Vocês fizeram o meu mestrado melhor.

Aos amigos do Labot, muito obrigada pelo auxílio, ensinamentos e amizade. Jamais esquecerei vocês! As biólogas que moram no meu coração!

Obrigada também aos amigos da Anafarm Farmácia! Pela amizade e apoio!

A minha amiga-irmã, Ana Paula, pela amizade incondicional (que já dura 10 anos!) e força.

E a todos os amigos que de uma forma ou outra me auxiliaram nesta jornada, só tenho a agradecer!

A vida não dá e nem empresta,
não se comove e nem se
apieda. Tudo quanto ela faz é
retribuir e transferir aquilo que
nós lhe oferecemos.

(Albert Einstein)

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Universidade Federal de Santa Maria

ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS RAÍZES E FOLHAS, E MORFO-ANATÔMICA DOS CAULES E FOLHAS DE *Urera baccifera* GAUDICH

AUTORA: AMANDA LEITÃO GINDRI

ORIENTADORA: MARGARETH LINDE ATHAYDE

Data e Local da defesa: Santa Maria, 5 de julho de 2012.

A planta *Urera baccifera* Gaudich, conhecida como Urtiga-Brava, tem suas folhas e raízes utilizadas para infecção urinária e artrite. Já existem estudos sobre sua atividade antiinflamatória, mas poucos são os estudos a respeito de sua composição química. Devido à escassez de dados, este estudo visa realizar uma análise fitoquímica qualitativa e quantitativa, e avaliar a atividade antioxidante das raízes e folhas da planta, além de realizar um estudo morfo-anatômico e histoquímico das folhas e caules. Na análise qualitativa foram obtidos resultados positivos para aminogrupos, antocianinas, antocianidinas e flavonóides, esteróides, fenóis com posição para livres, cumarinas, saponinas e ácidos orgânicos nas folhas e raízes. Na análise qualitativa a planta mostrou valores significantes de compostos fenólicos, flavonoides, flavonóis, alcaloides e taninos condensados principalmente na fração clorofórmio das folhas e raízes. O extrato bruto das duas partes da planta demonstraram uma moderada atividade antioxidante. Foi quantificado numa concentração expressiva, ácido oxálico nas raízes, indicando toxicidade. A análise da morfologia dos caules e folhas evidenciou tricomas urticantes, tectores simples e glandulares, cristólitos na epiderme e presença abundante de cristais do tipo drusas de oxalato de cálcio, além de elucidar a estrutura interna dos tecidos da planta. Nos testes histoquímicos foram evidenciados nos diferentes órgãos vegetativos, substâncias que formam as paredes celulares, substâncias de reserva e metabólitos secundários, como compostos fenólicos, lipídios, terpenóides e cetosteróides, taninos e serotonina. Mais estudos serão realizados com raízes, caules e folhas de *Urera baccifera*, a fim de elucidar sua composição química e analisar seu potencial tóxico.

Palavras-chave: Tricomas. Urticaceae. Urtiga-brava.

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF ROOTS AND LEAVES AND MORPHO-ANATOMICAL ANALYSIS OF LEAVES AND STEAMS OF *Urera baccifera* GAUDICH

AUTHOR: AMANDA LEITÃO GINDRI

ADVISER: MARGARETH LINDE ATHAYDE

Defense date and place: Santa Maria, July 5th, 2012.

The plant *Urera baccifera* Gaudich, known as stinging nettle, had its leaves and roots used to urinary infections and arthritis. Studies about its anti-inflammatory activities already exist, but are few the studies about their chemical constituents. Due the shortage of dates, this study aim to realize an qualitative and quantitative photochemistry analysis, and antioxidant activity of the plant roots and leaves, beyond realize a morphoanatomic and hystochemical study its leaves and stems. In the qualitative analysis were obtained positive results to aminogroups, anthocyanins, anthocyanidins and flavonoids, steroids, phenols with free para positions, coumarins, saponins and organic acids in the leaves and the roots. In the qualitative analysis the plant showed significant values of phenolic compounds, flavonoids, alkaloids and condensed tannins, mainly in the chloroform fraction of leaves and roots. The crude extract of both part of the plant presented a moderated antioxidant activity. An expressive concentration of oxalic acid was quantified in the roots, indicating toxicity. The morphological analysis of steams and leaves showed stinging, simple tectores and glandular trichomes, cistolits in the epidermis and abundant presence of drusen-type crystals of calcium oxalate besides that elucidate the inner structure of the plant tissues. In the hystochemical tests were presented in the different vegetative organs, substances which form cell walls, reserve substances and secondary metabolites, like phenolic compounds, lipids, terpenoids and cetosteroids, tannins and serotonin. More studies will be realized with *Urera baccifera* roots, stems and leaves, to elucidate its chemical composition and toxic potential.

Key-words: Stinging nettle. Trichomes. Urticaceae.

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1

Table 1 – Extracts, reagents and methodology used for each one of the metabolites tested in the qualitative phytochemical analysis.....	28
Table 2 – Results obtained to the roots and leaves of <i>Urera baccifera</i> in the qualitative phytochemical analysis.....	34
Table 3 – Results of polyphenols, flavonoids, flavonols, condensed tannins and alkaloids obtained to the roots and leaves of <i>Urera baccifera</i>	35
Table 4 – Results of the roots and leaves of <i>Urera baccifera</i> in the DPPH assay. IC50 and percentage of DPPH scavenging.....	37
Table 5 – Results of the roots and leaves of <i>Urera baccifera</i> in the lipid peroxidation assay.....	39
Table 6 – Results of the oxalic acid quantification to roots and leaves of <i>Urera baccifera</i>	39

MANUSCRITO 2

Tabela 1 – Rotina histológica realizada com o caule e folha de <i>Urera baccifera</i>	46
Tabela 2 – Corantes utilizados no procedimento histoquímico, metabolitos evidenciados.....	48
Tabela 3 – Resultados obtidos no procedimento histoquímico para o pecíolo, lamina foliar e caule de <i>Urera Baccifera</i> Gaudich.....	55

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

MANUSCRITO 1

Figure 1 – Chromatogram and DAD of the standard oxalic acid in 4 mg/mL.....33

MANUSCRITO 2

- Figura 1 – Epiderme abaxial da lamina foliar de *U. baccifera*, evidenciando-se os estômatos anisocíticos (a-20µm) e anomocíticos (b-50µm)..... 52
- Figura 2 – Nervura secundária da folha em visão transversal, observam-se o parênquima paliçádico e lacunoso, e os tricomas urticantes da epiderme (100µm).....52
- Figura 3 – Nervura central da folha em visão transversal, contendo grande emergência (500µm)..... 53
- Figura 4 – Epiderme do pecíolo. Verificam-se tricomas glandulares, urticantes e cystólitos (50µm)..... 53
- Figura 5 – Visão geral do pecíolo em visão transversal, contendo duas emergências e feixes vasculares dispersos (500µm)..... 53
- Figura 6 – Visão geral do caule transversal (500µm), verificando-se a diferença nos feixes vasculares, onde, o cambio interfascicular produz somente floema secundário.. 53
- Figura 7 – Visão longitudinal do caule (500µm).....53
- Figura 8 – Detalhe do tricoma glandular com cabeça multicelular e cystólito na epiderme e cristais do tipo drusas no colênquima do caule (50µm).....53
- Figura 9 – Tricoma tector simples do pecíolo, corte transversal (50 µm)..... 54
- Figura 10–Tricoma glandular do caule, corte transversal (200 µm)..... 54
- Figura 11–Tricoma urticante com ponta rompida (A) (100µm) e intacta (B) (200 µm) após processo de extração de epiderme..... 54
- Figura 12–Emergência do caule de *U. baccifera* após rotina histológica (200 µm)..... 54
- Figura 13–Grãos de amido no caule, corte transversal frente à Lugol (100µm)..... 57
- Figura 14–Mucilagem na epiderme do tricoma, corte longitudinal frente à fucsina básica (100µm)..... 57
- Figura 15–Mucilagem na epiderme do tricoma, corte longitudinal frente à vermelho do congo (100µm)..... 57
- Figura 16–Compostos fenólicos (flavonóides) no pecíolo, corte transversal frente à Cloreto Férrico (100µm)..... 57
- Figura 17–Compostos fenólicos (flavonóides) no tricoma, corte longitudinal frente à Cloreto Férrico (500µm). 57
- Figura 18–Lipídeos no caule, corte transversal frente à Sudam III (100µm)..... 57
- Figura 19–Lipídeos ácidos no mesófilo da lamina foliar, corte transversal frente à Azul do Nilo. 57
- Figura 20–Lipídeos ácidos e neutros no caule, corte transversal frente a Azul do Nilo (100µm)..... 57
- Figura 21–Proteínas no mesófilo da lâmina foliar, corte transversal frente à Azul de Comassie (100µm)..... 57

Figura 22–Proteínas na epiderme e parênquima do tricoma, corte longitudinal frente a safranina (200µm).....	58
Figura 23–Proteínas e celulose no mesófilo da lâmina foliar, corte transversal frente à safranina (100µm).....	58
Figura 24–Terpenoides e cetoesteróides no caule, corte transversal frente à dinitrofenilhidrazina com ácido sulfúrico 2N (100µm).....	58
Figura 25–Terpenoides e cetoesteróides no mesófilo da lâmina foliar, corte transversal frente à dinitrofenilhidrazina com ácido sulfúrico 2N (100µm).....	58
Figura 26–Taninos no caule, corte longitudinal frente à vanilina clorídrica (100µm).....	58
Figura 27–Serotonina na epiderme do mesofilo da lamina foliar, corte transversal frente à p-dimetilaminobenzaldeído em ácido sulfúrico concentrado (50µm).....	58
Figura 28–Cloretos na Nervura central da lamina foliar, corte longitudinal frente à nitrato de prata (200µm).....	58
Figura 29–Amido, polissacarídeos e substancias fenólicas em nervura secundária da lamina foliar, corte transversal frente à PAS (100µm).....	58
Figura 30–Amido, polissacarídeos e substancias fenólicas no pecíolo, corte transversal frente à PAS (200µm).....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

EA – Ethyl acetate fraction (Fração acetato de etila)

CE – Crude extract (Extrato bruto)

CL – Chloroform fraction (Fração clorofórmio)

DPPH – Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

IC50 - Inhibition concentration of 50% oxidant activity (Concentração inibitória de 50% da atividade oxidante)

NB – n-butanol fraction (Fração n-butanol)

SD – Standard deviation (Desvio Padrão)

TBars - Thiobarbituric acid reactive substances (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
Referencial teórico	14
Família Urticaceae.....	14
Gênero <i>Urera</i> Gaudich.....	15
Espécie <i>Urera baccifera</i> Gaudich.....	16
Descrição da espécie.....	16
Habitat, nomes e usos populares.....	17
Atividades farmacológicas e composição química.....	18
Outros estudos.....	21
Tricomas.....	21
Objetivos	23
Objetivo geral.....	23
Objetivos específicos.....	23
Apresentação	24
MANUSCRITO 1	25
Abstract	25
Introduction	26
Methodology	27
Chemicals.....	27
Preparation of the sample extracts and fractions.....	27
Qualitative Phytochemical Analysis.....	28
Determination of total polyphenol.....	29
Determination of total flavonoids.....	29
Determination of total flavonols.....	30
Determination of total of Condensed tannins.....	30
Determination of total alkaloids.....	31
Antioxidant activity using the DPPH photometric assay.....	31
Lipid peroxidation assay.....	32
Oxalic acid quantification by high pressure liquid chromatography (HPLC).....	32
Statistical analysis.....	33
Results and Discussion	34
Conclusion	40
References	40
MANUSCRITO 2	43
Resumo	43
Abstract	43
Introdução	44
Metodologia	45
Material vegetal.....	45
Reagentes.....	45
Rotina histológica.....	46
Histoquímica.....	47
Resultados	49
Análise morfo-anatômica.....	49
Folha.....	49

Lamina foliar.....	49
Pecíolo.....	50
Caule.....	51
Tricomas.....	51
Análise histoquímica.....	54
Discussão.....	59
Morfo-anatomia.....	59
Histoquímica.....	62
Conclusão.....	64
Referências.....	65
DISCUSSÃO GERAL.....	67
CONCLUSÃO GERAL.....	71
REFERÊNCIAS.....	72

1. INTRODUÇÃO

Em muitas comunidades e grupos étnicos, o conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico. As plantas são usadas para o tratamento e cura de enfermidades pela espécie humana desde o início de sua existência, e ainda hoje, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras (MACIEL et al., 2002).

Um grande avanço científico tem sido verificado envolvendo estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais, visando obter novos compostos com propriedades farmacêuticas (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998). Nos últimos anos, a fitoterapia é uma terapia medicinal que vem crescendo muito. O mercado mundial de fitoterápicos girava, no ano de 2001, em torno de 22 bilhões de dólares (YUNES et al., 2001) e em 2010, em cerca de 50 bilhões de dólares (GALILEU, 2010). Atualmente, várias empresas nacionais têm utilizado matéria-prima vegetal diretamente na elaboração de seus medicamentos, o que levou os fitoterápicos a se tornarem suporte na indústria farmacêutica genuinamente nacional, de pequeno e grande porte. O crescimento do mercado de fitoterápicos é da ordem de 15% ao ano, enquanto que o dos medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4% (SIMÕES et al., 2010).

A maioria dos produtos naturais fabricados pela indústria brasileira está fundamentada somente no uso popular das plantas, sem nenhuma comprovação pré-clínica e nem clínica, não podendo ser competitivo a nível nacional e muito menos internacional (YUNES et al., 2001). Mesmo não possuindo estudos sobre os constituintes químicos de algumas plantas medicinais, estas acabam sendo prescritas com frequência, devido às observações populares sobre o uso e eficácia das mesmas, o que acaba colaborando de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas desses vegetais (MACIEL et al., 2002).

Devido à grande utilização de plantas medicinais e medicamentos a base de plantas pela população, o Ministério da Saúde vem criando políticas para o uso de

fitoterápicos, tais como: o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e o Comitê Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (BRASIL, 2008), além da Comissão Técnica e Multidisciplinar de elaboração e atualização da Relação Nacional de Plantas Mediciniais - Renaplam e da Relação Nacional de Fitoterápicos - Renafito – COMAFITO (BRASIL, 2010).

Informações obtidas da medicina popular são um aspecto muito importante a ser considerado quando se procura obter substâncias ativas em uma planta. Também consideram-se importantes as informações botânico-taxonômicas e químico-taxonômicas. É mais viável estudar primeiro a parte da planta utilizada popularmente e após as outras partes, pois na maioria dos casos ocorre a diferenciação significativa da constituição química da planta em partes distintas. É importante determinar a data e o local da coleta, pois esses fatores podem influenciar na biossíntese de metabólitos secundários. Para a separação, purificação e identificação dos constituintes químicos de uma planta se utilizam diferentes técnicas cromatográficas, tais como: cromatografia em coluna aberta (CC), com sílica gel como fase estacionária, cromatografia em camada delgada (CCD), que serve para identificar e reunir as frações separadas na CC, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que pode identificar e quantificar um composto, entre outras técnicas (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998).

A família Urticaceae é encontrada no Brasil, onde é representada por 8 Gêneros, dentre eles *Urtica* e *Urera*. A planta *Urera baccifera* (L.) Gaudich, pertencente à família citada, é um arbusto que apresenta pelos urticantes e é conhecido popularmente como urtiga-brava. Esta planta pode ser encontrada em florestas latifoliadas em altitude superior a 800 metros. Poucos são os trabalhos encontrados na literatura a cerca dos componentes químicos desta espécie (MARTINS et al., 2006).

1.1 Referencial teórico

1.1.1 Família Urticaceae

Abrigada dentro da ordem Rosales, a família Urticaceae possui representantes predominantemente herbáceos, sendo raras as plantas arbustivas e arbóreas. As folhas são inteiras, simples, de disposição alterna, algumas vezes oposta, com estípulas, lâminas pecioladas ou sésseis, raras vezes lobadas, inteiras ou denteadas, serradas ou crenadas, e em geral, trinervadas desde a base. Apresentam tricomas sem ramificações, às vezes urticantes (longos, em linha reta, rígidos e irritantes) em algumas espécies como *Urtica* e *Urera*, além de cristólitos de carbonato de cálcio na epiderme. Nesta família, as flores são muito pequenas, de sexo separado e, em muitas vezes, reunidas em densas inflorescências axilares com ou sem perianto. Quando há perianto, este pode ser formado por quatro ou cinco sépalas dispostas em duas séries. As flores masculinas em geral possuem quatro estames e um rudimento de ovário no centro (pistilódio). Os estames apresentam-se sempre como filetes curvados no botão. O botão abre-se explosivamente e o movimento lança o pólen no ar como uma poeira. Isto ocorre pela manhã, logo que a planta recebe os primeiros raios de sol. A flor feminina possui um único ovário unicarpelar e unilocular com um só óvulo. Às vezes ocorrem estaminódios. Na família Urticaceae o fruto é aquênio ou drupa (ARAUCO & GUÉZOU, 2006; JOLY, 1998; STEINMANN, 2005).

Urticaceae é um grupo monofilético e circunscrita de modo amplo. As espécies herbáceas e lenhosas desta família apresentam cristólitos mais ou menos alongados, laticíferos restritos à casca ou muito reduzidos, que produzem seiva translúcida e mucilagínosa, gineceu pseudomonômero com óvulos basais, estames curtos e embriões retos (SYTSMA et al 2002 apud ROMANUIC NETO et al, 2009).

A família é numerosa, varia de cerca de 40 a 50 gêneros e 700 a 1200 espécies de plantas monóicas e dióicas, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo, e concentradas no sudeste da Ásia. No Brasil ocorrem 12

gêneros e cerca de 80 espécies (LIMA, et al., 2008; ROMANUIC NETO et al, 2009; STEINMANN, 2005). O maior gênero da família é o *Pilea*, outros exemplos são *Urtica* e *Urera* (JOLY, 1998).

A importância desta família é grande, alguns gêneros, como *Boehmeria*, *Girardinia* e *Urtica* são cultivadas pelas fibras contidas em seus talos que são usadas para a fabricação de tecidos (STEINMANN, 2005). Algumas espécies pertencentes à família Urticaceae apresentaram atividade antiinflamatória, antiviral, hipoglicemiante e cardiovascular (MARTINS et al., 2009).

1.1.2 Gênero *Urera* Gaudich

O gênero *Urera* compreende arbustos, árvores e videiras, que ocorrem freqüentemente na região ribeirinha e em mata cerrada na Mesoamérica. Esse gênero é caracterizado por frutos suculentos formados pela dilatação das tépalas, estigmas penicilados ou capitados, pistilódios glabros e pelos com a base bulbosa, que urticam em algumas espécies (MONRO & RODRIGUEZ, 2009).

Este gênero apresenta de 35 a 75 espécies distribuídas mundialmente, sendo característica de áreas abertas como pastagens, além de ser conhecida por apresentar tricomas urticantes e algumas vezes, espinhos nas folhas e caules. São plantas principalmente dióicas, com indumento de acúleos, filetes retos no botão, estigmas penicilados terminais e algumas vezes, espinhos grossos. As folhas são alternas, espiraladas até dísticas, com lâminas inteiras, lisas ou rugosas, estípulas axilares, livres ou cordadas na base. Há presença de estípulas, com nervuras peninérveas ou trinervadas desde a base, com cistólitos puntiformes, baciliformes ou lineares. As inflorescências são altamente divididas, apresentam brácteas, flores pediceladas ou sésseis, filetes retos ou dobrados o botão, unissexuais. Perianto frutífero em geral carnoso e de varias cores (ARAUCO & GUÉZOU, 2006; ROMANUIC NETO et al, 2009; STEINMANN, 2005).

As plantas denominadas *Urera*, juntamente com as do gênero *Urtica*, são as urtigas das matas que, em geral, são consideradas como padrão de terra fértil e

produzem queimaduras causadas pelos pêlos urticantes que se encontram nas porções vegetativas (JOLY, 1998).

A distribuição deste gênero é quase pantropical, estando presente na África, América Central, América do Sul, Ilhas do Caribe, sul do México, Austrália, Ilhas do Pacífico, mas ausente na Ásia. Dentro da família Urticaceae presente na Mesoamérica, o gênero *Urera* é o único que apresenta frutos suculentos brilhantes, sendo também caracterizado por liberar um látex aquoso em seus galhos quando cortados, e, em algumas espécies, pêlos bulbosos pungentes. Este gênero inclui espécies que são utilizadas para tratar doenças inflamatórias, artrites, febres, hemorragias, erisipelas e sífilis, além de algumas espécies possuírem moderada importância como alimento para as lepidópteras (MONRO & RODRÍGUEZ, 2009).

1.1.3 Espécie *Urera baccifera* (L.) Gaudich. ex Wedd.

1.1.3.1 Descrição da espécie

A espécie *Urera baccifera* (L.) Gaudich. ex Wedd., é uma planta arbustiva dióica que possui cerca de 1 metro e meio de altura, sendo que alguns autores descrevem ser de 3 a 4 metros de altura, armada de espinhos urticantes que se estendem dos caules até as nervuras dorsais das folhas onde são bastante menores. Os ramos apresentam 0,5 a 1 cm de diâmetro, com tricomas urticantes desde a base. Os ramos novos são minúsculos-pubescentes como os pecíolos foliares quando novos. As folhas são alternas, grandes e longo-pecioladas, com limbo oval-cordado, grosso-denteado nas margens, áspero na face e minúsculo-pubescente no verso, de mais ou menos 20 cm de comprimento e 14 cm de largura sobre o pecíolo de 10 a 15 cm de comprimento quando adulto. As folhas costumam ser menores na extremidade dos ramos do que as inferiores já adultas, na sombra o limbo chega a mais de 30 cm e o pecíolo até 37 cm de comprimento. Tricomas urticantes estão distribuídos por todo o limbo e cistólitos estão concentrados

irradiados próximos às nervuras, com face adaxial hispida e abaxial opaca. São de 6 a 10 pares de nervuras secundárias, estípulas entre 0,5 e 2,5 cm de comprimento e pecíolos de 4 a 24 cm de comprimento, estriados. As flores encontram-se abaixo das folhas, apresentam de 6 a 13 cm, cor alaranjada a róseo-vinácea, pubescentes, assimétricas, pequenas em inflorescências axilares, menores que as folhas e, às vezes não atingindo o tamanho dos pecíolos. As sementes são ovais, estriadas, com cotilédones largos e embriões retos (ARAUCO & GUÉZOU, 2006; CORRÊA, 1984; ROMANUIC NETO et al, 2009).

1.1.3.2 Habitat, nomes e usos populares

Esta planta está presente em florestas perenes ou sazonais, vegetação ribeirinha, do nível do mar até 1.400 metros, do México até Panamá, Colômbia, Peru, Bolívia, Brasil e Paraguai (MARTINS et al., 2009; MONRO & RODRIGUEZ, 2009). Foi verificada a presença da espécie *Ureia baccifera* em estudo da vegetação de uma floresta em Santa Maria, RS por Longhi e colaboradores (2000).

É pelo fato das folhas e os caules de *U. baccifera* serem recobertos por pêlos urticantes que surgiram seus nomes populares, como *nettles* ou *stinging nettles*– em inglês, *ortigas* – em espanhol, urtiga – em português, urtiga-brava, além de urtigão-do-mato, urtiga-vermelha, urtiga-da-folha-grande e urtigão (BADILLA, et al., 1999; CORRÊA, 1984; LINDENMAIER & PUTZKE, 2011; LONGHI et al., 2000; ROMANUIC NETO et al, 2009).

Este arbusto é popularmente utilizado para condições inflamatórias, onde as folhas ou raízes são utilizadas para infusão e topicamente. Também existem relatos que os ameríndios costa-riquenhos enquanto atravessavam altas montanhas batiam em si mesmos com os caules espinhosos da planta para repelir calafrios. Seu efeito rubefaciente também é empregado em dores reumáticas e artrite (BADILLA, et al., 1999a; VALADEAU et al., 2009).

Na Região Central do Rio Grande do Sul, a infusão das raízes e folhas deste arbusto foi descrito como utilizado por 3 comunidades Mbya/Guaranis para infecção

urinária. A espécie é nativa da região e seu nome Guarani é Pyno (LINDENMAIER & PUTZKE, 2011.).

O povo Anesha, também chamado Amuesha, é um grupo de povos ameríndios, que moram na região central do Peru, na Cordilheira Oriental dos Andes, e possuem uma forte medicina tradicional. Este povo utiliza popularmente *Urera baccifera* para diarreia e dor no estômago, sendo que seu modo de preparo seria, após algumas folhas da planta serem fervidas e o doente beber esta preparação, estas mesmas folhas seriam retiradas e aplicadas como cataplasma sobre a barriga. Já para dores reumáticas, poucas folhas são preparadas como chá e pequenas quantidades são bebidas regularmente. As folhas quentes também são aplicadas em cataplasma sobre a articulação dolorosa. Utilizada para tosse, gripes e resfriados com febre, uma pequena xícara de chá das folhas de *U. baccifera* é bebida três vezes por dia (VALADEAU et al., 2009; VALADEAU et al., 2010).

1.1.3.3 Atividades farmacológicas e composição química

Este arbusto também é foco de pesquisas de sua atividade antiinflamatória, como no grupo de Badilla e colaboradores (1999a), que pesquisaram as atividades antiinflamatórias e antinoceptivas das folhas desta planta em ratos. Seus resultados mostraram uma inibição do efeito de migração dos leucócitos e redução no exsudato pleural, além de atividade analgésica periférica na faixa de 25-100 mg/kg via intraperitoneal.

Em outro estudo do mesmo grupo de pesquisa foi verificado que a dose de 500mg/kg via intraperitoneal dos extratos das folhas de *U. baccifera* produziu efeito similar ao padrão indometacina, utilizado no experimento. Entretanto, a planta não demonstrou efeito quando administrada oralmente. O extrato foi classificado como levemente tóxico (BADILLA, et al, 1999b).

Testes realizados com plantas nativas na Costa Rica utilizaram as folhas de *U. baccifera* contra o edema induzido pelo veneno da cobra *Bothrops asper*. Os cientistas testaram as doses de 250 e 500 mg/kg do extrato intraperitonealmente e

mediram o edema na pata de ratos em 1, 2, 4, 6 e 14 horas. Foi verificado que os extratos da planta apresentaram uma importante redução no edema induzido pelo veneno em todos os tempos medidos e em todas as concentrações (BADILLA et al., 2006).

Experimentos que pesquisam a atividade antiviral *in vitro* dos extratos das partes aéreas de *U. baccifera* foram realizados por Martins e colaboradores (2009). Esses autores testaram os extratos particionados da planta (n-butanol, acetato de etila, hexano e etanol) contra o Herpes vírus Tipo 1 (HSV-1) e Tipo 2 (HSV-2). Os extratos da planta mostraram a máxima porcentagem de inibição contra HSV-1, sendo a fração mais ativa a n-butanol, seguida por acetato de etila e etanol. Os extratos etanólico e acetato de etila demonstraram agir na penetração viral, além disto, este último também age na atividade dos receptores celulares. Já o extrato n-butanol possui atividade virucida. No entanto, os mesmos extratos não mostraram atividade contra HSV-2.

Em testes realizados com o líquido extraído dos pelos urticantes de *U. baccifera*, que é descrito como tendo efeitos dermatológicos locais e sistêmicos em músculos lisos e veias sanguíneas terminais, Schäfer (2001) avaliou a reatividade cutânea deste líquido, aplicando-o em sete voluntários saudáveis. Foi observada uma sensação de queimação e dilatação imediata, que indicou a presença de histamina nos pêlos urticantes desta planta e, além disso, a inoculação gerou uma reação eczematosa crônica que durou 2 semanas.

Melendez e Capriles (2006) testaram a atividade antimicrobiana de 172 espécies de plantas contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os autores utilizaram as folhas da planta *Ureca baccifera*, que foram submetidas a uma extração com metanol, filtradas e evaporadas até *secura*. Não foi verificada atividade das folhas da planta contra os dois microrganismos testados.

A atividade contra malária e *Leishmania* foi avaliada por pesquisadores do Peru. O extrato etanólico das folhas de *U. baccifera* mostrou um IC₅₀ (Concentração Inibitória 50%) contra *Leishmania* de $48,6 \pm 7,2$ µg/ml e contra a malária não foi evidenciada atividade inibitória. Os autores consideraram uma boa atividade contra *Leishmania* em uma dose menor que 10 µg/ml de extrato, portanto, apesar de haver

atividade para a planta, esta não foi considerada satisfatória (VALADEAU et al., 2009).

Em um estudo para avaliar parâmetros citogenéticos induzidos por extratos aquosos de plantas utilizados como anti-hipertensivas na Argentina, as raízes de *U. baccifera* demonstraram a diminuição não significativa do índice mitótico na planta teste (*Allium cepa*), entretanto, foram observadas uma produção significativa de anormalidades cromossômicas durante a divisão (AMAT et al, 2001).

Martins e colaboradores (2006) realizaram o teste de capacidade antioxidante pelo método do DPPH nos galhos de *U. baccifera*. Após o fracionamento, o grupo relatou que os extratos diclorometano e acetato de etila apresentaram modesta capacidade antioxidante, com IC₅₀ (índice que descreve a concentração necessária para inibir a auto-oxidação do DPPH em 50%) de 37,05 e 57,20 µg/mL, respectivamente. Os extratos bruto, hexânico e n-butanólico não apresentaram boa capacidade, sendo que estes obtiveram valores de IC₅₀ >1000 µg/mL.

O extrato bruto das raízes da planta apresentou valor de IC₅₀ 188,57 µg/mL, quando testados pelo mesmo método, confirmando os valores elevados que o extrato bruto dos galhos obteve pelo grupo de pesquisa anterior. No mesmo estudo foi realizada uma análise fitoquímica qualitativa onde foram evidenciados heterosídeos flavonoídicos e purinas apenas na casca, heterosídeos saponínicos apenas no miolo e taninos e mucilagens na casca e no miolo da raiz, além de ter sido quantificado compostos fenólicos totais (29,76 ± 1,5 mg/g de extrato), flavonóides (16,42 ± 0,1 mg/g de extrato), taninos condensados (19,11 ± 0,77 mg/g de extrato) e alcalóides totais (1,58 ± 0,02 mg/g de extrato) (GINDRI et al, 2010).

As folhas de *Urera baccifera* também tiveram seus compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante quantificados, obtendo valores mais altos para a fração acetato de etila em todos os testes, sendo os valores: 77,75 mg/g, 27,14 mg/g e IC₅₀ 120,16±0,32 µg/mL, respectivamente (MANNION & MENEZES, 2010).

1.1.3.4 Outros estudos

Dutra e Oliveira (2004) estudaram a relação entre formigas e borboletas e os frutos de *U. baccifera*, em uma floresta em Campinas, no sudeste do Brasil. Estes pesquisadores observaram que as formigas estavam presentes na planta o ano todo exceto durante o período de senescência da planta, sendo que todas as estruturas reprodutivas e vegetativas eram visitadas por estes animais. As lagartas estavam presentes no período chuvoso, após o período de senescência da planta. Também foi observado que os frutos ainda ligados a planta são atrativos efetivos para formigas. A interação entre as formigas e a planta foi citada como possivelmente mutualística, devido ao fato de que as formigas obtêm benefícios alimentares com a remoção dos frutos e podem ser responsável pela proteção da planta contra herbívoros, ao passo de que as formigas provavelmente colaboram para um aumento da germinação das sementes, pois estas consomem somente a polpa do fruto da planta.

Conforme outro estudo do mesmo grupo de pesquisa, 22 espécies de formigas aparecem na planta, principalmente nas folhas, durante o ano todo, onde visitam os ramos e colhem frutos frescos. Estes autores também comprovaram que a presença das formigas efetivamente reduz o aparecimento de larvas lepidópteras na planta (DUTRA et al., 2006).

1.1.4 Tricomas

Uma grande parte das plantas pertencentes ao gênero *Urera* possui tricomas urticantes, e isto leva a uma importância além de medicinal, econômica. A planta *U. baccifera* é bastante utilizada como cerca - viva em países como a Guatemala e Costa Rica, (MONRO & RODRÍGUEZ, 2009).

Tricomas são apêndices epidérmicos que podem variar muito em estrutura, além de possuir valor diagnóstico em taxonomia. Estas estruturas podem ser de dois

tipos: tricomas tectores ou não-glandulares, que podem ser ainda unicelulares (simples), os mais comuns, ou multicelulares; e os tricomas glandulares, formados por uma haste ou pedúnculo e uma cabeça uni ou multicelular, e que estão envolvidos na secreção de diversas substâncias, tais como: óleos, néctar, sais, resinas, mucilagem, sucos digestivos e água (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Na família Urticaceae já foram evidenciados três tipos de tricomas. São eles: os tricomas não-glandulares, principalmente unicelulares, que podem estar ausentes em algumas espécies; os tricomas glandulares, com haste unicelular e cabeça com poucas células, já evidenciados em *Urtica* e *Laportea*; e os tricomas urticantes, que apresentam o conteúdo rapidamente emitido após a perda da cabeça destacável, que ocorrem nas espécies de *Urera* (METCALFE & CHALK, 1965).

Entretanto, tricomas urticantes podem ser considerados pela literatura como um tipo de tricoma glandular. Estas estruturas são apêndices epidérmicos que apresentam uma parte basal volumosa e envolvida pela epiderme, além de uma parte superior em formato tubular, contendo uma vesícula esférica na extremidade superior. Quando entra em contato com a pele humana ou animais, esta parte tubular do tricoma urticante rompe-se em um plano determinado, formando uma cunha que penetra facilmente na pele. Assim, o líquido urticante é injetado através da pressão exercida na parte bulbosa em contato com o tecido (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Os tricomas nas folhas de arbustos de regiões secas apresentam a vantagem de manter a temperatura da folha menor que a do ar, o que leva a temperatura da folha próxima à temperatura ótima para fotossíntese. Entretanto, existe a desvantagem de que a presença dos mesmos tricomas na folha reduz a taxa de fotossíntese por refletir fóton que poderiam ser usados no processo de fotossíntese (EHLENRINGER & MOONEY, 1978).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Este trabalho objetiva-se a realizar uma análise qualitativa e quantitativa dos metabólitos secundários das raízes e folhas, além de realizar um estudo da anatomia interna de suas folhas e caules.

1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma análise fitoquímica qualitativa preliminar nos extratos hidroalcólico e aquoso das folhas e raízes;
- Quantificar compostos fenólicos, flavonoides, flavonóis, alcaloides e taninos condensados nas frações clorofórmio, acetato de etila, n-butanol e extrato bruto das folhas e raízes da planta, através de espectrofotometria;
- Quantificar ácido oxálico, substância potencialmente tóxica e presente em plantas da família Urticaceae, nos extratos brutos e frações das raízes e folhas, através de cromatografia líquida de alta eficiência;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos brutos e frações das raízes e folhas, através do ensaio pelo radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico);
- Realizar uma análise morfológica da anatomia interna dos caules e folhas (lâmina foliar e pecíolo), através de microscopia óptica;
- Executar uma análise histoquímica qualitativa nos cortes dos caules e folhas da planta, a fim de definir quais os metabolitos presentes e onde se localizam.

1.3 Apresentação

Os resultados, discussões e conclusões desta dissertação estão divididos em dois capítulos: o MANUSCRITO 1, denominado: Secondary metabolites and antioxidant capacity of leaves and roots of *Urera baccifera* (L.) Gaudich; e o MANUSCRITO 2, denominado: Estudo morfo-anatômico e histoquímico dos caules e folhas de *Urera baccifera* (L.) Gaudich. Os dois manuscritos estão em fase de revisão para futura submissão a revistas científicas.

Uma discussão geral e as conclusões são apresentadas após os dois capítulos.

2. MANUSCRITO 1: Secondary metabolites and antioxidant capacity of leaves and roots of *Urera baccifera* Gaudich (Urticaceae)

Amanda Leitão Gindri¹, Aline Augusti Boligon¹, Ritiel Correa da Cruz¹, Letiele Bruck de Souza², Michel Mansur Machado³, Margareth Linde Athayde¹

¹-Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

²-Postgraduate Program in Agrobiology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

³-Titular Professor, Federal University of Pampa, Uruguaiana, RS, Brazil.

Abstract: This work aimed to study the roots and the leaves of *Urera baccifera* (Urticaceae) by a qualitative phytochemistry analysis and quantitative analysis of: total phenolic compounds, flavonoids, flavonols, alkaloids and condensed tannins by spectrophotometer method and oxalic acid by chromatographic method, and also analyze the antioxidant activity by DPPH radical and Lipid peroxidation assay. The qualitative test showed positive results to: aminogroups, anthocyanins, anthocyanidins and flavonoids, steroids, phenols with free *para* positions, coumarins, saponins, organic acids and mucilagens in the leaves and the roots. The plant showed moderated values of phenolic compounds, flavonoids, flavonols, alkaloids and condensed tannins mainly on the chloroform fraction of the leaves and roots. The crude extract of both part of the plant showed the higher inhibition percentage, presenting a moderated activity on the two experiments. Oxalic acid presented high values in the roots and not expensive values in the leaves, being majors mainly on the crude extract and n-butanol fraction. The moderated antioxidant activity of *U. baccifera* is confirmed by the not too high polyphenol, flavonoids and flavonols values. The stinging of the plant can be justified by the important quantity of oxalic acid. More studies are necessary about the toxicity and composition of this kind of nettle.

Keywords: Alkaloids. Condensed tannins. DPPH. Flavonoids. Flavonols. Phenolic compounds. Oxalic acid. TBARS.

1. Introduction

Urera baccifera (L.) Gaudich. ex Wedd., from the Urticaceae family, is popularly known as “Urtigão” in Brazil and infusions of its leaves and roots are used to treat urinary infections (LINDENMAIER & PUTZKE, 2011). In Costa Rica, the leaves are used against rheumatic pains (BADILLA et al., 1999a) and a variety of inflammatory conditions, where the leaves are an herbal remedy orally as an infusion or topically applied (BADILLA et al., 1999b).

This plant has already been tested concerning its anti-inflammatory potential showing good results when intraperitoneally administrated (BADILLA et al., 1999a, BADILLA et al., 1999b). The leaves extracts presented a slight inhibition against snake venom (BADILLA et al, 2006). Against herpes simplex virus type 1, extracts of *U. baccifera* aerial parts were capable to inhibit different steps of viral replication (MARTINS et al, 2009).

Contrasting with the good activities expressed above, these plant rhizomes showed a significant production of chromosome abnormalities during division (AMAT et al, 2002).

Due to the few studies about the chemical constitution and antioxidant capacity of *Urera baccifera*, this study aimed to realize a preliminary phytochemical analysis, to quantify polyphenols, flavonoids, flavonols, condensed tannins and alkaloids by spectrophotometer methods, oxalic acid by high pressure liquid chromatography. The antioxidant capacity was evaluated by the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DDPH) and lipid peroxidation (in blood samples) method in the crude extract and fractions of leaves and roots of *U. baccifera*.

2. Methodology

2.1 Chemicals

Acetonitrile, aluminum chloride, ascorbic acid, Bertrand reagent, bismuth nitrate, Bouchardart reagent, butanol, calcium carbonate, catechin, chloridric acid, chloroform, disodic sulfite, 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH), Dragendorff reagent, ethanol, ethyl acetate, ferric chloride, Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, iron sulfate, Kedde reagent, Liebermann reagent, magnesium granules, malondialdehyde (MDA), Mayer reagent, methanol, Millon reagent, ninhydrin, nitric acid, oxalic acid, phosphate buffer, micro-sodic paper, quercetin, sodium hydroxide, anhydrous sodium sulfate, sulfuric acid, thiourea, Vacutainer (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes with heparin, vanillin.

All solvents used for analysis were of analytical grade.

2.2 Preparation of the sample extracts and fractions

The leaves (900g) and the roots (1.720g) of *U. baccifera* were collected in São Francisco de Assis, RS, Brazil (29°37.115' S, 054°53.970'W; altitude 150m) on May, 2010. The plant was identified by Dr. Renato Zachia, from Federal University of Santa Maria, and a voucher is deposited on the University Herbarium by the number 13.070. The material was reduced, dried, milled and taken to maceration (30 g plant/ 100 mL solvent) with ethanol 70% for 7 days, with daily agitation for 8 weeks. Once a week, the extract was filtered, resulting in the ethanolic extract. After the elimination of the ethanol on rotary evaporator, the extract results in aqueous extract. These extracts were used to the qualitative phytochemical analysis.

To the quantification of the metabolites and the antioxidant analysis, part of the aqueous extract was totally dried, becoming the crude extract and part was

fractionated with crescent polarity solvents: chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol. The fractions were equally dried. The income of the leaves and roots were, respectively: crude extract: 31,5 and 22,3%; chloroform: 2,2 and 0,54%; ethyl acetate: 1,1 and 0,3%; *n*-butanol: 2,1 and 1,8%.

2.3 Qualitative Phytochemical Analysis

The qualitative phytochemical analysis used the methodology of Matos (2009) and Moreira (1979). The etanolic and aqueous extracts were submitted to characterization reactions, which are exposed in table 1.

Table 1 – Extracts, reagents and methodology used for each one of the metabolites tested in the qualitative phytochemical analysis.

Test	Extract	Reagent
<i>Anthocianic heterosides</i> ¹	aqueous	Acid and base
<i>Cianogenetic heterosides</i> ¹	aqueous	Sulfuric acid and picro-sodic paper
<i>Aminogroups</i> ¹	aqueous	Nihidrina
<i>Volatiles acids</i> ¹	aqueous	Sulfuric acid
<i>Phenols and tanins</i> ²	etanolic	Ferric chloride
<i>Anthocyanins, anthocyanidins and flavonoids</i> ²	etanolic	Acid and base
<i>Leucoanthocyanidins, catechins e flavones</i> ²	etanolic	Acid and base and heat
<i>Flavones, flavonols e xanthones</i> ²	etanolic	Magnesium granules
<i>Steroids Triterpenes</i> ¹	etanolic	Chloform, sodium sulfate anhydrous, sulfuric acid
<i>Catechins</i> ²	etanolic	Chloridric acid
<i>Resins</i> ²	etanolic	Ethanol and water
<i>Cardioactive heterosides</i> ¹	etanolic	Kedde, Liebermann- Burchard
<i>Phenols with free ortho and meta positions</i> ¹	etanolic	Liebermann and sodium hydroxide
<i>Phenols with free para positions</i> ¹	etanolic	Millon
<i>Coumarins</i> ¹	etanolic	Sodium hydroxide 1N
<i>Organic acids</i> ¹	etanolic	pH determnation
<i>Phenols</i> ¹	etanolic	Ferric chloride
<i>Saponins</i> ¹	aqueous	agitation
<i>Alkaloids</i> ¹	etanolic	Mayer, Dragendorff, Bouchardart, Bertrand
<i>Mucilagens</i> ¹	aqueous	tumescece index

Methodology: 1 - Moreira (1979); 2 - Matos (2009).

2.4 Determination of total polyphenol:

The total polyphenol content of the crude extract and the fractions chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol from the leaves and the roots of *Urera baccifera* were measured following the Chandra e Mejia (2004) methodology. In this method, 1.0 mL of Folin-Ciocalteu reagent was added to 1.0 mL of each sample in 150 µg/mL. After 5 min. 2.0 mL of calcium carbonate 20% were added. The test was made in triplicate and all solutions were diluted in ethanol. The absorbance was read after 10 min. in a spectrophotometer, in 730 nm. The total polyphenol content was expressed in milligram equivalents of gallic acid per milliliter of extract. To this quantification were used the equation obtained with the standard gallic acid (0,001-0,03 mg/mL of gallic acid): $y=30.767x-0.0087$, $R=0.9992$.

2.5 Determination of total flavonoids:

The quantification of flavonoids followed the Woisky and Salatino (1998) methodology with few modifications. Into 2.0 mL of the crude extract and the fractions chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol from the leaves and the roots *U. baccifera*, in a concentration of 150 µg/mL, 1.0 mL of aluminum chloride 2% was added. After 1 hour the samples were read in spectrophotometer in 420 nm. All solutions were diluted in methanol and the test was made in triplicate. The equation obtained with the standart quercetin (0,002-0,018 mg/mL of quercetin) was $y=40.175x+0.001$, $R=0.9998$ and the results expressed in milligram of equivalents of quercetin per milliliter of extract.

2.6 Determination of total flavonols:

The total flavonols were estimated using the method of Jimoh et al (2010), where into 2.0 mL of the samples in 400 µg/mL of the crude extract and the fractions chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol from the leaves and the roots *U. baccifera* 2.0 mL of aluminum chloride 2% and 3.0 mL of sodium acetate 50 g/L were added. After 2.5 hours, the absorbances were read at 440 nm. The test was made in triplicate and all solutions were diluted in ethanol. For the quantification we used the equation obtained with the standard quercetin (0,002-0,026 mg/mL of quercetin): $y=24.478x-0.0251$, $R=0.9926$. The results were expressed in milligram of equivalents of quercetin per milliliter of extract.

2.7 Determination of total of condensed tannins:

On the test of determination of condensed tannins we used Morrison et al (1995) method. In this methodology, 0.1 mL of the samples of the crude extract and the fractions chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol from the leaves and the roots in 25 mg/mL, in methanol, to 0.9 mL of methanol and 5.0 mL of vanillin reagent (equal volumes of: 8.0 mL chloridric acid concentrated in 100.0 mL methanol and 1.0 g vanillin in 100.0 mL methanol) were added. After a water bath for 20 min., the absorbance was read in 500nm. The analysis was carried out in triplicate and the standard was catechin. To the quantification we used the equation obtained with the standard (2.5 – 200.0 µg/mL of catechin): $y=0.0015x-0.0005$, $R=0.9968$. The results were expressed in milligram of equivalents of catechin per milliliter of extract.

2.8 Determination of total alkaloids:

The method of Oliveira et al (2006) was used to determine the total of alkaloids on the the crude extract and the fractions chloroform, ethyl acetate and *n*-butanol from the leaves and the roots *Urera baccifera*. In this methodology, 5.0 mL of the samples in 60.0 mg/mL had the pH adjusted to 2.0 with chloridric acid 1% and 2.0 mL of Dragendorff was added. The tubes were taken to centrifugation for 30 minutes at 2400 rpm and the supernatant was retired. The precipitate was washed with ethanol and the solvent was discard. The residue was treated with dissodic sulfite 1% and centrifuged for 10 min. and 2400 rpm, retiring the supernatant one more time. The precipitate was dissolved in nitric acid concentrate and transferred to a 10.0 mL volumetric flask calibrated with distillated water. 1.0 mL this solution was mixed to 5.0 mL thiourea, and read in 435 nm on a spectrophotometer, using as a background a solution of 1.0mL nitric acid and 5.0 mL of thiourea. The test was made in triplicate and the standard was bismuth nitrate. The equation obtained was $y=2.2783x+0.0361$, $R=0.9997$ (0.01 – 0.09 mg/mL of bismute nitrate). The results were expressed in milligram of equivalentents of alkaloids per milliliter of extract.

2.9 Antioxidant capacity using the DPPH photometric assay

The antioxidant capacity with the DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical) photometric assay was based on Choi et al (2002), where 2.5 mL of the samples fractions and crude extract from the two parts of *U. baccifera* were prepared in 250, 125, 62,5, 31.25 and 15.25 µg/mL, and to 1.0 mL of DPPH (12.0 mg DPPH + ethanol qsp 100.0 mL) were added. Ethanol (1.0 mL) and plant extract (2.5 mL) was used as a blank for each concentration and the negative control was DPPH (1.0 mL) and ethanol (2.5 mL). The positive control was ascorbic acid on the same concentration of the samples. All the test made in triplicate. The reaction occurs in 30 min., and then the absorbance was read on the spectrophotometer in 518 nm. The values were

converted in percentage using the equation hereafter: scavenging capacity % = 100 – [(Abs of sample – Abs of blank) X 100/ abs control]. A graphic was plotted, with the results of scavenging capacity % (ordinate) related with the concentration of the samples (abscissa) and the IC₅₀ (extract inhibitory concentration of 50% DPPH radical activity) was calculated by linear regression of plots.

2.10 Lipid peroxidation assay

Lipid peroxidation was quantified by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), according to Ohkawa et al (1979). Peripheral blood samples were collected after 12 hours overnight fasting by vein puncture (approbation number 23081.005770/2009-38) using top Vacutainer (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes with heparin. Blood specimens (5.0 mL) were routinely centrifuged within 1 hour of collection for 15 min at 2500 g, and aliquots of plasma and erythrocyte samples were stored at 20°C until biochemical analysis. Red blood cells are placed into contact with the varying concentrations of the plant for 2 hours. After this period was added to the iron sulfate solution (FeSO₄) freshly prepared 10 mM for 1 hour. The measurement is expressed in nmol of malondialdehyde (MDA)/ mL erythrocyte.

2.11 Oxalic acid quantification by high pressure liquid chromatography (HPLC)

Oxalic acid was quantified in the roots and leaves extracts following the Fu et al (2006) methodology with minor modifications. High performance liquid chromatography (HPLC-DAD) was performed with the HPLC system (Shimadzu, Kyoto, Japan), Prominence Auto-Sampler (SIL-20A), equipped with Shimadzu LC-20 AT reciprocating pumps connected to the degasser DGU 20A5 with integrator CBM

20A, UV–VIS detector DAD SPD-M20A and Software LC solution 1.22 SP1. C-18 column (4.6 mm x 250 mm) packed with 5 μ m diameter particles. The mobile phase was 25 mM phosphate buffer (pH 2.5): acetonitrile at 95:5 (v/v), at flow rate 0.8 mL/min and 20 μ L were injected. The peak was identified by comparison with the retention time of the standard (Figure 1) solution, in a wavelength of 207 nm. The samples concentrations were 5.0 mg/mL in distilled water and were tested in triplicate. The calibration curve of oxalic acid in the concentration range of 1.0-12.0 mg/mL was made in triplicate and the equation obtained was: $y = 10.548.869x + 6.236.233$, $R=0.9958$. The retention time of oxalic acid standard was 3.8 min.

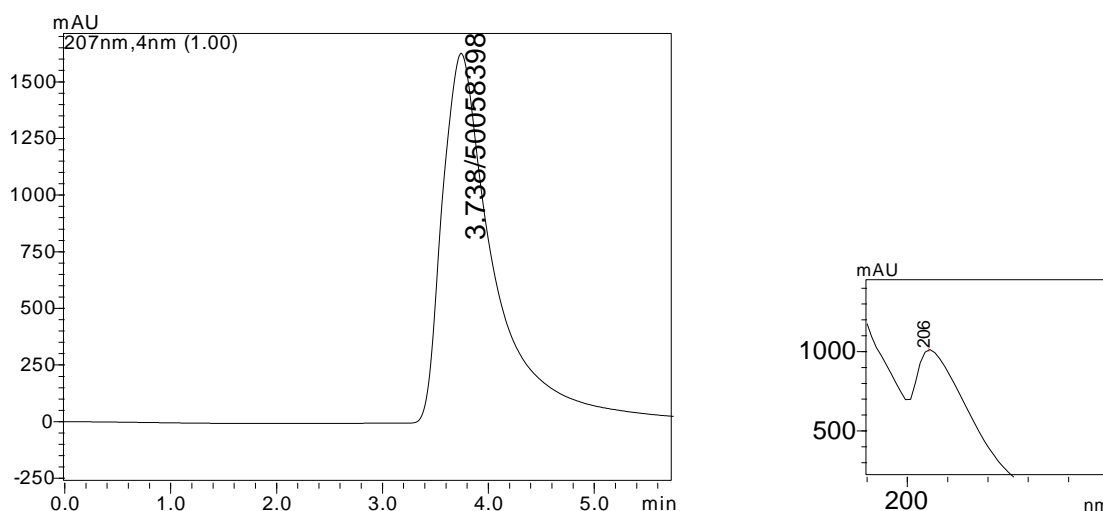


Figure 1: Chromatogram and DAD of the standard oxalic acid in 4 mg/mL.

2.12 Statistical analysis

Statistical analysis was performed using version 7.0 of the Statistica software. Differences among experimental data were analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey test, and those at $p < 0.05$ were considered significant.

3. Results and discussion

The leaves and the roots of *U. baccifera* showed the following results for the qualitative phytochemical analysis (Table 2).

Table 2 - Results obtained to the roots and leaves of *Urera baccifera* in the qualitative phytochemical analysis.

Test	Leaves	Roots
<i>Anthocianic heterosides</i>	-	-
<i>Cianogenetic heteroides</i>	-	-
<i>Amino groups</i>	+	+
<i>Volatiles acids</i>	-	-
<i>Phenols and tanins</i>	-	-
<i>Anthocyanins, anthocyanidins and flavonoids</i>	+	+
<i>Leucoanthocyanidins, catechins e flavones</i>	-	-
<i>Flavones, flavonols e xanthones</i>	+	+
<i>Steroids</i>	+	+
<i>Triterpenes</i>	-	-
<i>Catechins</i>	+	-
<i>Resins</i>	-	-
<i>Cardioactive heterosides</i>	-	-
<i>Phenols with free ortho and meta positions</i>	-	-
<i>Phenols with free para positions</i>	+	+
<i>Coumarins</i>	+	+
<i>Organic acids</i>	+	+
<i>Phenols</i>	+	+
<i>Saponins</i>	+	+
<i>Alkaloids</i>	-	-
<i>Mucilagens</i>	+	+

+ positive results in the qualitative tests - negative results in the qualitative tests

Flavonoids, purines, saponins, tannins and mucilages had already been identified on the roots of *U. baccifera* (GINDRI, et al, 2010). The quantification of polyphenols, flavonoids, and flavonols reaffirm the results of this phytochemical

screening. However, the negative results of alkaloids and tannins don't necessarily imply in the absence of these compounds, because in preliminary phytochemical analysis the compounds with very low quantity to the detection can give negative results on those tests (BOLIGON et al, 2009).

The quantification of polyphenols, flavonoids, flavonols, condensed tannins, proanthocyanidins and alkaloids are expressed in the ensuing table (table 3).

Table 3 - Results of polyphenols, flavonoids, flavonols, condensed tannins and alkaloids obtained to the roots and leaves of *Urera baccifera*.

	Leaves				Roots			
	CE±SD	CL±SD	AE±SD	NB±SD	CE±SD	CL±SD	AE±SD	NB±SD
Polyphenols (mg/g)	61.55±1.54	36.27±1.23	47.39±0.99	49.05±0.88	29.98±1.27	46.59±0.88	35.54±0.45	24.71±0.45
Flavonoids (mg/g)	41.54±0.53	82.92±1.68	55.76±1.25	26.61±0.25	16.13±0.22	76.78±0.85	15.38±0.75	9.24±0.1
Flavonols (mg/g)	15.47±0.72	52.4±2.91	7.26±0.54	9.1±0.27	5.73±1.1	7.40±0.62	7.06±0.27	6.65±0.2
Condensed tannins (mg/g)	1.95±0.04	2.46±0.05	1.95±0.05	1.1±0.07	0.19±0.03	0.3±0.03	1.0±0.04	0.23±0.03
Alkaloids (mg/g)	2.34±0.02	7.5±0.01	0.94±0.02	0.694±0.01	1.6±0.04	11.3±0.03	2.79±0.03	0.394±0.03

SD=Standard deviation; CE=crude extract; CL=Cloroformic fraction; AE=ethyl acetate fraction; NB=n-butanol fraction;

Phenolic compounds are an extensive group of simple and complex structures, having at least one aromatic ring, whereupon one hydrogen is replaced by a hydroxyl. Inside this group are the flavonoids, which have two phenyls linked by a three carbons chain. Flavonols are flavonoids with a hydroxyl on the C-3, having the characteristics of co-pigmentation in flowers and UV protection in leaves (SIMÕES et al, 2010).

The Folin method is largely used to phenolic compounds quantification, being the Folin-Ciocalteu more sensitive to the total phenolic reduction and decrease the precipitation tendency. This test is based on the phosphomolybdic-phosphotungstic acid reduction by the phenolic hydroxyls, producing a blue complex that absorb in 620 and 740 nm. Anyway, it isn't a specific method, because it can detect all phenolic groups presented in the plant extract (ANGELO & JORGE, 2007).

In flavonoids quantification, the cation aluminum form stable complexes with these metabolites in methanol, occurring a deviation on the spectrophotometric analysis to higher wavelengths and one intensification on the absorption. That way,

it's possible to quantify flavonoids, avoiding the other phenolic substances interference, mainly the phenolic acids that invariably follow the flavonoids on the vegetable tissues (MARCUCCI et al, 2011).

The contents of polyphenols, flavonoids, flavonols, condensed tannins, and alkaloids, presented significant differences between the leaves and roots extracts and fractions ($p < 0,05$). According previously studies of our and other researchers groups, the crude extract of the roots showed similarly results to polyphenols (29.76 ± 1.5 mg/g of plant extract), flavonoids (16.42 ± 0.1 mg/g of plant extract), and alkaloids (1.58 ± 0.02 mg/g of plant extract) (GINDRI et al, 2010). Accordingly Mannion & Menezes, (2010) study, the crude extract and fractions of the leaves presented results varying from 0 to 77.75 mg of gallic acid/g dry material, being the ethyl acetate fraction the highest. The same fraction show the higher results of flavonoids, where the values ranged from 0 to 27.14 mg/g rutin equivalents. The differences between all these analyses can occur due the different places of collecting, soil, climate among others factors.

Leaves of *Urtica urens*, another plant of Urticaceae family, presented lower results of phenolic compounds (4.58 ± 1.4 mg tannic acid/g of dry plant material), flavonoids (0.36 ± 0.03 mg quercetin/g of dry plant material) and flavonols (0.71 ± 0.02 mg quercetin/g of dry plant material) in the water extracts (JIMOH et al, 2010).

The hydroalcoholic extract of the leaves of *Urtica pilulifera* (Urticaceae) presented total phenolic 85.40 ± 7.77 μ g/100g value and the roots 125.06 ± 5.54 μ g/100g value (ÖZEN et al, 2010), differently from *U. baccifera*, which showed an higher amount in the leaves.

Phenolic compounds were quantified also in *Urtica dioica* L (Urticaceae), presenting 25.3 μ g pyrocatechol equivalent / mg plant extract (GÜLCIN et al, 2004).

Alkaloids are pharmacologically active nitrogen compounds, predominantly found on angiosperm group. Condensed tannins are formed by polycondensation of two or more unities of flavan-3-ol and flavan-4-ol. These metabolites are also called of proanthocyanidins (SIMÕES et al, 2010).

Previously, the crude extract of roots of *U. baccifera* was quantified by Gindri et al. (2010), obtaining a similarly value (1.58 ± 0.2 mg/g). Alkaloids and proanthocyanidins were quantified in the crude extract of *Urtica urens* leaves too,

showing as a result 0.58 ± 0.03 and 2.92 ± 0.38 mg/g, respectively. In this study, the authors considering the alkaloid value lower than others leafy vegetables reported above (JIMOH et al, 2010).

The results of antioxidant capacity with the DPPH photometric assay are exposed in Table 4. These results are expressed in IC_{50} (inhibition concentration of 50% autoxidation) in $\mu\text{g/mL}$ and percentage of inhibition DPPH scavenging \pm standard deviation in an extract concentration of 250 $\mu\text{g/mL}$.

Table 4 - Results of the roots and leaves of *Urera baccifera* in the DPPH assay. IC_{50} and percentage of DPPH scavenging.

	Leaves			
	CE	CL	AE	NB
IC_{50}	118.31 \pm 0.000	620.93 \pm 0.024	>1000	388.43 \pm 0.04
% DPPH scavenging	60.33	22.68	14.70	35.76
	Roots			
	CE	CL	AE	NB
IC_{50}	189.49 \pm 0.008	187.62 \pm 0.012	>1000	468.69 \pm 0.048
% DPPH scavenging	60.39	62.01	29.34	25.16

CE=crude extract; CL=Chloroform fraction; AE=ethyl acetate fraction; NB=n-butanol fraction; IC_{50} (inhibition concentration of 50% autoxidation)

Stable at room temperature, the free radical DPPH produces a violet solution in ethanol. Its molecule has an odd electron, with a strong absorption in 518nm in visible spectrophotometer. This electron becomes paired in the presence of a free radical scavenger, an antioxidant molecule, resulting in fade absorption and a decolorization according the number of electrons taken up. This reaction gives rise to uncolored ethanol solutions (CHOI et al, 2002; MENSOR et al, 2001).

The most active samples of the leaves were the crude extract and n-butanol fraction on the DPPH test. This good activity can be related to the considerable polyphenol index of both. According Mensor *et al.* (2001) the most polar extracts should present the major number of phenolic molecules, showing a raised antioxidant capacity.

There's no significant differences ($p > 0.05$) between the chloroform fraction of the roots and the crude extracts of leaves and roots, the n-butanol fraction of both and the ethyl acetate of roots and leaves.

The crude extract and chloroform fraction of the roots presented the better antioxidant capacity. In this part of the plant, the chloroform and ethyl acetate fractions showed the best polyphenol values. The previous affirmation weren't confirmed in this case. So, we can suggest that the moderated antioxidant effect of *Urera baccifera* may be owing to other secondary metabolites.

In the same test, the crude extract of the roots of *U. baccifera* showed a similar IC₅₀ value, 188.57 µg/g extract (GINDRI et al, 2010). The branches of the plant showed a smaller index to the dichloromethane and ethyl acetate fractions (37.05 and 57.20 g/mL respectively), without activity to the ethanol, hexane and butanol extract (> 1000 g/mL) (MARTINS et al, 2006).

The aerial parts of this plant were tested, and the ethyl acetate extract continue to be the most active sample, however, its index was 120.16±0.32 g/mL. The others partitions presented no relevant antioxidant capacities, being indicated by the authors to the possible mouthful of hydroxyl groups to undergo oxidation (MANNION & MENEZES, 2010).

When evaluated at the same method, *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaves presented a significantly lower concentration of DPPH scavenging in comparison with the standard quercetin, 37 and 93% in 60 µg/mL, respectively (GÜLCIN, et al, 2004). Another kind of nettle, *Urtica urens* leaves, showed 91.2 and 63.5% in 1mg/mL methanol and water extracts, respectively (JIMOH et al, 2010). The hydroalcoholic extracts of roots, flowers, leaves and seeds of *Urtica pilulifera* were tested against DPPH, obtaining as a result 58.52, 51.38, 38.62 and 28.41% in 250 µg/mL respectively. The IC₅₀ value of these extracts were 281.0, 495.4, 427.7, 907.1 µg/mL (ÖZEN et al, 2010). These values enhanced the obtained results of this work.

The results of lipid peroxidation of the leaves and the roots of *U. baccifera* are presented in table 5. These results are expressed in nmol of malondialdeyde (MDA)/ mL erythrocyte ± standard deviation.

Table 5 - Results of the roots and leaves of *Urera baccifera* in the lipid peroxidation assay

Lipid peroxidation (nmol MDA/ mL)	Leaves			
	CE	CL	AE	NB
	103.62±0.0012	104.35±0.001	104.84±0.009	103.95±0.0011
Lipid peroxidation (nmol MDA/ mL)	Roots			
	CE	CL	AE	NB
	111.84±0.0011	110.56±0.001	113.17±0.0009	112.60±0.001

CE=crude extract; CL=Chloroform fraction; AE=ethyl acetate fraction; NB=n-butanol fraction;

The lipid peroxidation quantified by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) uses as basis the formation of malonaldehyde for evaluating the extension of lipid peroxidation. At low pH and high temperature, malonaldehyde binds thiobarbituric acid to form a red complex that can be measured at 532 nm. The increase in the amount of red pigment formed correlates with the oxidative rancidity of the lipid (ÖZEN et al, 2010).

In this test was observed the slight variation in the results of leaves and roots of *U. baccifera*. The leaves extracts presented a slightly lower values than the roots extracts, whenever, it was no significant differences ($p>0.05$) among the roots samples. Similarly, there's no significant differences ($p>0.05$) between the leaves samples, only when compared the two part of the plant.

In contrast, Özen et al (2010) tested hydroalcoholic extracts of roots, flowers, leaves and seeds of *U. pilulifera* in TBARS assay and peroxidation of linoleic acid assay, concluding that all extracts had high antioxidant activities. Therefore, they declare that the plant have lipid peroxidation inhibition activity.

The oxalic acid quantification showed higher results from the roots when compared with the leaves (Table 6). The results are presented in mg oxalic acid / g extract ± standard deviation.

Table 6 - Results of the oxalic acid quantification in roots and leaves of *Urera baccifera*.

Oxalic acid (mg/g)	Leaves				Roots			
	CE	CL	AE	NB	CE	CL	AE	NB
0.44±0.05	-	0.23±0.04	0.36±0.04	1.79±0.22	0.06±0.001	1.38±0.15	1.82±0.21	

CE=crude extract; CL=Chloroform fraction; AE=ethyl acetate fraction; NB=n-butanol fraction;

The oxalic acid and its soluble salts can be founded in the vegetable tissues in important values, and can promote an intoxication case by oxalate in living beings (SIMÕES et al, 2010).

The crude extract and fractions of *U. baccifera* roots showed high values of oxalic acid, and the n-butanol fraction was the highest one. The leaves presented lower values of this acid, being elevated the crude extract and n-butanol fraction. This compound is concentrated in those two samples because have more affinity with this solvents. There's significant differences between all samples tested ($p < 0.05$), except the n-butanol and crude extract of roots ($p = 0.1972$).

When evaluated the stinging trichomes of *Urtica thunbergiana* (Urticaceae) by the same method, Fu and colleagues (2006) obtained the concentration of 480 mg/mL of oxalic acid in a trichome solution (100 stinging hairs/ 1mL distilled water) or 0.13% (weight/volume) in each stinging hairs. This study reaffirms the elevated concentration of this acid in the Urticaceae family.

4. Conclusion

Leaves and roots of *Urera baccifera* presented a moderated antioxidant capacity, that is confirmed by the not expressive polyphenol, flavonoids and flavonols contents. The plant showed a moderate value of condensed tannins and alkaloids, and an important quantity of oxalic acid, what can justify its stinging. This results motivated more studies about its toxicity and composition.

5. References

AMAT, A. G. et al. Evaluation of Cytological Parameters Induced by Aqueous Extracts of Seven Plants Used as Antihypertensive Agents in Argentine Folk Medicine. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.21, n.1, p.34-42, 2002.

ANGELO, P.M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66 n.1, p.232-240, 2007.

BADILLA, B. MORA, G., POVEDA, L.J. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts of five costa Rican medicinal plants in Sprague-Dawley rats. **Revista de Biologia Tropical**, v.47, n.4, p.723-727, 1999a.

BADILLA, B. et al. Anti-inflammatory activity of *Urera baccifera* (Urticaceae) in Sprague-Dawley rats. **Revista de Biologia Tropical**, v.47, n.3, p.365-371, 1999b.

BADILLA, B. et al. Edema induced by *Bothrops aspes* (Squamata: Viperidae) snake venom and its inhibition by Costa Rican plant extracts. **Revista de Biologia tropical**, v.54, n.2, 245-252, 2006.

BOLIGON, A.A. et al. Estudo fitoquímico das cascas do tronco de *Scutia buxifolia* Reissek. **Saúde (Santa Maria)**, v.35, n.2, p.4-6, 2009.

CHANDRA, S.; DE MEJIA, E.G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparision to Mate (*Ilex paraguayensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 3583-3589, 2004.

CHOI, C.W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparision. **Plant Science**, v.163, p. 1161-1168, 2002.

FU, H.Y. et al. Identification of Oxalic Acid and Tartaric Acid as Major Persistent Pain-inducing Toxins in the Stinging Hairs of the Nettle, *Urtica thunbergiana*. **Annals of Botany**, v.98, p.57–65, 2006.

GINDRI, A. L. et al. Análise fitoquímica qualitativa das cascas e do miolo da raiz de *Urera baccifera* (L.) Gaudich (Urticaceae). **Saúde (Santa Maria)**, v.36, n.2, p. 63-70, 2010.

GÜLCIN, İ. et al. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, v.90, p.205-215, 2004.

JIMOH, F. et al. Polyphenolic and biological activities of leaves extracts of *Argemone subsiformis* (Papaveraceae) and *Urtica urens* (Urticaceae). **Revista de Biologia Tropical**, v.58, n.4, p.1517-1531, 2010.

LINDENMAIER, D. S. & PUTZKE, J. Estudo etnobotânico em três comunidades MBYA/Guarani na região central do Rio Grande do Sul, Brasil, **Caderno de Pesquisa**, Série Biologia, v.23, n.3, p.6-18, 2011.

MANNION F. & MENEZES, F. S. Antioxidant activity of *Urera baccifera* Gaud extracts. **The Trinity College Dublin Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**. v.2, p.8-9, 2010.

MARTINS, G.R. et al. Atividade Antioxidante do Extrato Etanólico e Suas Partições Obtidos dos Galhos de *Urera baccifera* Gaudich. Através do ensaio com DPPH. **29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2006.

MARTINS, F.O. et al. *In vitro* inhibitory effect of *Urera baccifera* (L.) Gaudich. extracts against herpes simplex. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.1, n.11, p.581-584, 2009.

MARCUCCI, M. C., WOISKY, R. G., SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. Disponível in: <http://www.bichoonline.com.br/artigos/apa0014.htm>, 2011.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. Ed. Fortaleza: UFC; 2009. 150p.

MENSOR, L.L. et al. Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method. **Phytotherapy Research**, v.15, p. 127–130, 2001.

MOREIRA, E. A. Contribuição para o estudo fitoquímico de *Lobelia hassleri* A. ZAHLB e *Lobelia stellfeldii* R. BRAGA. *Companulaceae*. **Tribuna Farmacêutica**, v. 47, n. 1, p. 13-39, 1979.

MORRISON, I.M. et al. Determination of lignin and tannin contents of Cowpea seed coats. **Annals of Botany**, v.76, p. 287-290, 1995.

OHKAWA, H.; OHISHI, H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, **Analytical Biochemistry**, v.95, p.351-358, 1979.

OLIVEIRA, M.A.C. et al. Desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de alcalóides totais como berberina em fitoterápico contendo *Berberis vulgaris* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.3, p.357-364, 2006.

ÖZEN, T.; CÖLLÜ, Z.; KORKMAZ, H. Antioxidant properties of *Urtica pilulifera* root, seed, flower and leaf extract. **Journal of Medicinal Food**. v.13, n.5, p.1224-1231, 2010.

SIMÕES, M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC. 6 ed, 1 reimp, 2010. 1102 p.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal Apicultural Research**, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

3. MANUSCRITO 2: Estudo morfo-anatômico e histoquímico dos caules e folhas de *Ureria baccifera* (L.) Gaudich

Amanda Leitão Gindri¹, Letiele Bruck de Souza², João Marcelo de Oliveira²,
Margareth Linde Athayde¹

¹-Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

²-Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi estudar a morfo-anatomia interna e histoquímica dos caules e folhas de *Ureria baccifera* (Urticaceae). A lamina foliar, pecíolo e caule foram estudados seguindo técnicas de microscopia e microtécnica vegetal e os testes histoquímicos foram realizados nos 3 órgãos anteriores e no tricoma urticante conforme técnicas descritas na literatura. A análise da morfologia interna dos caules e folhas da planta evidenciou 3 tipos de tricomas (urticantes, tectores simples e glandulares), cristólitos na epiderme e presença abundante de cristais do tipo drusas de oxalato de cálcio nos parênquimas, colênquima e junto aos feixes vasculares do caule, pecíolo e lamina foliar, além do agrupamento destes nos tricomas urticantes. O caule e pecíolo apresentaram estrutura semelhante de epiderme, colênquima e parênquima, diferenciando-se apenas na estrutura dos feixes vasculares. Nos testes histoquímicos foram evidenciados nos diferentes órgãos vegetativos substâncias que formam as paredes celulares, substâncias de reserva, além de metabólitos secundários, como compostos fenólicos, lipídios, terpenóides e cetosteróides, taninos e serotonina. Este estudo foi o primeiro que demonstrou a morfologia interna e os metabolitos presentes na planta.

Palavras-chave: Tricomas. Oxalato. Urtiga-brava. Urticaceae.

ABSTRACT: This work aimed to study the inner morpho-anatomy and histochemistry of the stems and leaves of *Ureria baccifera* (Urticaceae). The leaf blade, petiole and stem were studied according microscopy and vegetable microtechnique techniques and the histochemistry test were made in the three organs above and in the stinging trichome conforming techniques already described. The inner morphology analysis of plant stems and leaves showed 3 kind of trichomes (stinging, simple tector and glandular), cystoliths on the epidermis and plenty of drusen-type crystals of calcium oxalate on the parenchyma, collenchyma and along the vascular bundles of the stem, petiole and foliar blade, beyond the groups of it in the stinging trichomes. The stem and petiole presented similar structure of epidermis, parenchyma and collenchyma, differing only in the vascular bundles structure. On the histochemistry tests were evidenced in the different parts, substances that form the cellular walls, reserve substances and secondary metabolites, like phenolic compounds, lipids, terpenoids, cetosteroids, tannins and serotonin. This study was the first that demonstrated the inner morphology and the metabolites presented in the plant.

Key-words: Trichomes. Oxalate. Stinging-nettle. Urticaceae.

1. INTRODUÇÃO

A família Urticaceae compreende cerca de 40 gêneros e mais de 700 espécies de plantas monóicas e dióicas, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (LIMA et al., 2008). O gênero *Urera* compreende arbustos, árvores e videiras, que ocorrem freqüentemente na região ribeirinha e em mata cerrada na Mesoamérica. Esse gênero é caracterizado por frutos suculentos formados pela dilatação das tépalas, pistilódios glabros e pêlos com a base que urticam em algumas espécies (MONRO & RODRIGUEZ, 2009). As plantas deste gênero, juntamente com as do gênero *Urtica*, são as urtigas das matas que, em geral, são consideradas como padrão de terra fértil e produzem queimaduras causadas pelos pêlos urticantes que se encontram nas porções vegetativas (JOLY, 1998).

A espécie *Urera baccifera* (L.) Gaudich, é uma planta arbustiva que possui cerca de 1 metro e meio de altura, é armada de espinhos urticantes que se estendem até as nervuras dorsais das folhas onde são bastante menores. Os ramos novos são minúsculos-pubescentes, como os pecíolos foliares quando novos. As folhas são alternas, grandes e longo-pecioladas, com limbo oval-cordado, grosso-denteado nas margens, áspero na face e minúsculo-pubescente no verso, de mais ou menos 20 cm de comprimento e 14 cm de largura sobre o pecíolo de 10-15 cm de comprimento quando adulto. As folhas costumam ser menores na extremidade dos ramos do que as inferiores já adultas, na sombra o limbo chega a mais de 30 cm e o pecíolo até 37 cm de comprimento. As flores são pequenas em inflorescências axilares, menores que as folhas e, às vezes não atingindo o tamanho dos pecíolos (CORRÊA, 1984).

Nas Américas, o arbusto aparece desde a América Central até a Argentina, incluindo a região Andina (MARTINS et al., 2009). Foi verificada a presença da espécie *Urera baccifera* em estudo da vegetação de uma floresta em Santa Maria, RS por Longhi e colaboradores (2000).

Devido ao fato de não existirem estudos a respeito da morfo-anatomia de *Urera baccifera*, este trabalho objetiva-se em analisar as folhas e caules da planta

neste aspecto vegetal, levando em conta os metabólitos secundários da mesma, realizando para este fim, testes histoquímicos.

2. METODOLOGIA

2.1 Material vegetal

As folhas e caules de *Urera baccifera* foram coletados no município de São Francisco de Assis (29° 37.115' S 054° 53. 970' W; altitude 150m), RS, em dezembro de 2011. A planta foi identificada pelo prof. Dr. Renato Záchia, e o material testemunho encontra-se depositado no Herbário da Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Biologia (SMDB), com registro n° 13.070.

2.2 Reagentes

Ácido acético glacial, ácido clorídrico, ácido periódico, ácido pícrico, ácido sulfúrico, álcool etílico, Azul de Comassie, Azul de toluidina O, Azul do Nilo, cloreto férrico, dicromato de potássio, dinitrofenilhidrazina, formaldeído, fucsina básica, glicerina, hidroxietilmetacrilato, Lugol, nitrato de prata, p-dimetilaminobenzaldeído, peróxido de hidrogênio, Reativo de Bouchardatt, Reativo de Dragendorff, Reativo de Schiff, Reativo de Wagner, safranina, Sudan Black B, Sudan III, tampão benzoato de sódio, tampão Tween, Vermelho do Congo, vanilina clorídrica.

Todos os reagentes utilizados neste trabalho apresentavam grau analítico.

2.3 Rotina histológica

O material foi dissecado em estereomicroscópio Olympus SZH10, fixado em FAA 50 (álcool etílico, ácido acético, formaldeído e água), lavado com tampão Tween e desidratado em série etílica conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1 - Rotina histológica realizada com o caule e folha de *Urera baccifera*.

Procedimento		Tempo
Fixação	FAA 50	72 h
Hidratação	Álcool 50° GL	10 min
	Álcool 30° GL	10 min
	Álcool 10° GL	10 min
	Água destilada	10 min
Lavagem	Tween	7 dias
	Água destilada	10 min
Desidratação	Álcool 10° GL	10 min
	Álcool 30° GL	10 min
	Álcool 50° GL	10 min
	Álcool 70° GL	10 min
	Álcool 90° GL	10 min
	Álcool 100° GL	10 min

O material foi pré-infiltrado com uma solução de hidroxietilmetacrilato e etanol absoluto (1:1), durante o período de 24 horas, seguido de infiltração em hidroxietilmetacrilato por cerca de 24 horas e emblocado com esta resina em suporte de Teflon até sua polimerização. Secções foram realizadas em micrótomato rotativo Leica, na espessura de 5µm.

Para a análise de microscopia de campo claro as laminas foram coradas com Azul de Toluidina O, na concentração de 0,05%, em tampão benzoato de sódio, pH 4,4. Este corante cora de azul as ligninas, de púrpura as pectinas e de verde os compostos fenólicos.

Para a análise da epiderme do caule, lamina foliar e pecíolo foi realizado uma extração da planta fresca em solução de partes iguais de peróxido de hidrogênio:ácido acético glacial, por 24 horas, para extração da epiderme. As laminas foram montadas com uma solução de glicerina alcoólica (1:1).

A análise das lâminas histológicas foi realizada em microscópio óptico Olympus CH30 equipado com sistema fotográfico e Leica DM500, nos quais o material foi fotomicrografado.

2.4 Histoquímica

Para a análise histoquímica do caule e folhas o material foi processado conforme o item anterior e os cortes foram corados com corantes específicos para cada metabólito, conforme a tabela a seguir (Tabela 2).

Tabela 2 - Corantes utilizados no procedimento histoquímico, metabólitos evidenciados.

Corante	Metabólito	Coloração observada
<i>Lugol</i> ¹	Amido	Azul violáceo ou preto
	Parede celulósica	Cinza
	Parede lignificada	Amarelo
<i>Fucsina básica</i> ²	Mucilagem, amido	Vermelho
<i>Vermelho do Congo</i> ¹	Mucilagem	Vermelho
<i>Cloreto férrico</i> ¹	Substâncias fenólicas	Coloração azul-escura ou esverdeada
<i>Sudan III</i> ²	Lipídeos, suberina, cutina	Amarelo alaranjado ou vermelho
<i>Sudan Black B</i> ³	Lipídeos, suberina	Preto azulado
<i>Azul do Nilo</i> ²	Lipídeos totais: Neutros	Rosa
	Ácidos	Azul
<i>Dragendorff</i> ⁴	Alcalóides	Cor ou precipitado pardo
<i>Bouchardatt (Wagner)</i> ³	Alcalóides	Cor ou precipitado vermelho
<i>Ácido pícrico</i> ²	Alcalóides	Precipitado
<i>Azul de Comassie</i> ²	Proteínas	Azul violácea
<i>Safranina</i> ²	Suberina, proteínas, cutículas e lignina, taninos	Vermelho
	Celulose	Azul
<i>Dinitrofenilhidrazina com ácido clorídrico 2N</i> ²	Terpenóides e cetoesteróides	Vermelho alaranjado
<i>Ácido sulfúrico</i> ²	Lactonas sesquiterpênicas	Vermelho acastanhado
<i>Ácido clorídrico</i> ¹	Carbonato de cálcio	Cristais dissolvem-se com efervescência
	Oxalato de cálcio	Cristais dissolvem-se sem efervescência
<i>Vanilina clorídrica</i> ³	Taninos	Vermelho
<i>Dicromato de potássio</i> ²	Taninos	Marrom
<i>p-dimetilaminobenzaldeído em ácido clorídrico concentrado</i> ²	Serotonina	Precipitado
<i>Nitrato de prata</i> ²	Cloretos	Precipitado
<i>PAS (Ácido periódico 1% e Reagente de Schiff)</i> ²	Amido	Vermelho, magenta
	Polissacarídeos	Vermelho, magenta
	Substâncias fenólicas	Vermelho

Referência: 1 - KRAUS & ARDUIN, 1997; 2 - CORSI, 1992; 3 - VENTRELLA & MARINHO, 2008; 4 - SIMÕES et al, 2010

Os testes histoquímicos são qualitativos e apresentam coloração temporária.

3. RESULTADOS

3.1 Análise morfo-anatômica

3.1.1 Folha

3.1.1.1 Lamina foliar

A folha é dorsiventral e hipoestomática, com sistema dérmico formado por epiderme uniestratificada, sendo que na face ventral encontram-se células relativamente volumosas, vacuoladas, com citoplasma reduzido e periférico. A parede celular é pecto-celulósica, sendo a externa levemente mais espessa que as demais. Na epiderme ventral predominam células mucilaginosas e cristólitos.

Na análise da epiderme abaxial através da técnica de remoção da epiderme foram evidenciados diversos estômatos anomocíticos e anisocíticos, tricomas tectores simples e cristólitos (Figura 1).

No mesófilo, o parênquima paliçádico é formado por uma camada de células e o esponjoso por 3 a 4 camadas celulares. Há presença de cristais do tipo drusas tanto no parênquima paliçádico quanto no esponjoso. Também evidenciam-se cloroplastos em grande quantidade em ambos parênquimas, além de cloroplastos mais volumosos, com grãos de amido no parênquima esponjoso.

Nas nervuras de menores calibres (Figura 2) o sistema fundamental é composto de parênquima com células isodiamétricas, poliédricas, sem diferenciação entre parênquima paliçádico e esponjoso, nem acúmulo de cloroplastos, além da presença de diversos tricomas tectores simples. As nervuras de 3ª ou 4ª ordem ocorrem junto ao parênquima esponjoso, na metade abaxial da folha.

Os feixes vasculares são colaterais e apresentam extensão de bainha parenquimática, com exceção dos feixes de menor calibre, que não apresentam

esta. Em torno dos feixes vasculares o sistema fundamental se diferencia em bainha e extensão de bainha.

A nervura central (Figura 3) apresenta uma camada de epiderme contendo diversos tricomas tectores simples e células mucilaginosas, de 4 a 5 camadas de colênquima e, na região central, dispersos no parênquima, os feixes vasculares. Nestes dois últimos tecidos existem diversos cristais do tipo drusas. Foi evidenciado uma emergência (tricoma urticante) nesta nervura. Os tricomas estão descritos no item 3.1.3.

3.1.1.2 Pecíolo

Epiderme uniestratificada, com presença de diversos cistólitos, tricomas tectores simples e glandulares e células mucilaginosas, sem evidencia de estômatos. Abaixo da epiderme encontra-se o colênquima angular contínuo, que varia de 6 a 15 camadas de espessura. O sistema vascular é fragmentado, em estrutura de feixe. Observa-se atividade cambial restrita aos feixes vasculares, que são colaterais. O restante do sistema fundamental é formado por parênquima com presença de espaços intercelulares. A parede celular do pecíolo é predominantemente pectocelulósica.

Na epiderme do pecíolo (Figura 4) foi possível observar tricomas tectores simples em grande quantidade, vários tricomas glandulares e cistólitos.

Tanto no pecíolo como no caule, como veremos a seguir, há a presença de emergências chamadas de tricomas urticantes, contendo tricomas glandulares e tectores simples. Na emergência verificada no pecíolo (Figura 5), observa-se o sistema dérmico, unicelular, e o parenquimático, formado por 2 ou 3 camadas de células subdérmicas e miolo volumoso. O colênquima não se torna descontínuo neste ponto. Estes tricomas estão descritos no item 3.1.3.

3.1.2 Caule:

Epiderme predominantemente uniestratificada, no entanto algumas células se dividem periclinalmente, formando 2 ou 3 camadas. Presença de diversos tricomas glandulares e tricomas tectores simples, além de idioblastos com cristólitos e células mucilaginosas. A epiderme do caule em vista frontal evidenciou uma grande quantidade de tricomas tectores simples e vários tricomas glandulares.

O colênquima apresenta-se de 4 a 15 camadas de células na região subepidérmica. Este tecido é descontínuo, pois na região cortical aparece o parênquima fundamental.

O câmbio vascular possui atividade diferenciada (Figura 6 e 7), com o câmbio interfascicular produzindo somente floema secundário. O parênquima encontra-se voltado para face xilemática, ou seja, o xilema secundário é composto apenas de parênquima. No início da atividade cambial fascicular: forma xilema e floema.

No câmbio vascular e no colênquima estão diversas cristais do tipo drusas. A medula parenquimática apresenta forma de eustelo, onde os feixes vasculares estão em forma de cilindro ou anel concêntrico.

Bem como no pecíolo há ocorrência de emergências, os tricomas urticantes. Estas emergências estão melhor descritas no item a seguir.

3.1.3 Tricomas

A planta *U. baccifera* apresentou três tipos de tricomas: tricomas tectores simples, tricomas glandulares e tricomas urticantes. Os tricomas tectores simples eram unicelulares e apareceram em grande quantidade no caule e folha (Figura 9). Os tricomas glandulares (Figura 10) possuíam um pedúnculo unicelular e uma cabeça multicelular (formada por 4, 5 ou 6 células). Já os tricomas urticantes, são formados por uma grande emergência na base e uma ponta que possui uma única camada de células, o que o torna extremamente frágil. Devido a esta fragilidade a

ponta se torna fácil de ser destacada, liberando assim o líquido interno (Figura 11 A e B).

Formado por uma camada de epiderme, que pode conter tricomas tectores simples e glandulares, além de células mucilaginosas e cistólitos, o tricoma urticante apresenta tecido parenquimático volumoso, onde há presença de diversas drusas de oxalato de cálcio. A ponta facilmente destacada deste tricoma apresenta uma única camada de células, como já foi dito, e armazena líquido urticante de composição química ainda incerta em todo o seu interior. Na figura 12 pode-se observar o tricoma completo fixado e nele o local de depósito do líquido.

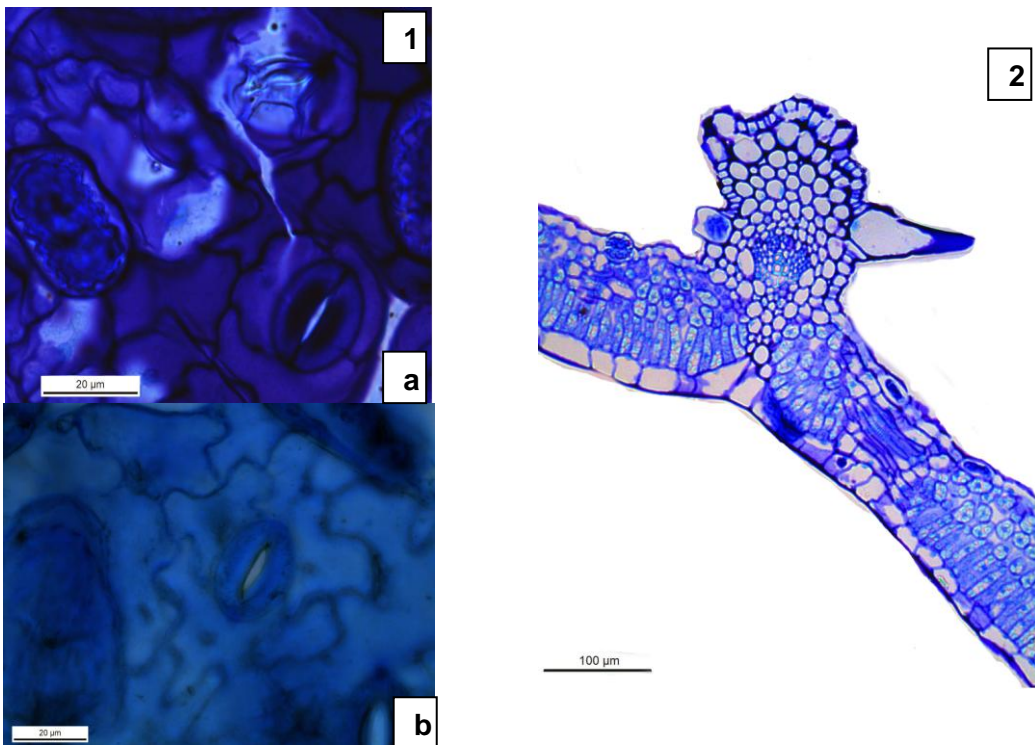


Figura 1: Epiderme abaxial da lamina foliar de *U. baccifera*, evidenciando-se os estômatos anisocíticos (a-20μm) e anomocíticos (b-50μm). **Figura 2:** Nervura secundária da folha em visão transversal, observam-se o parênquima paliçádico e lacunoso, e os tricomas urticantes da epiderme abaxial (100μm).

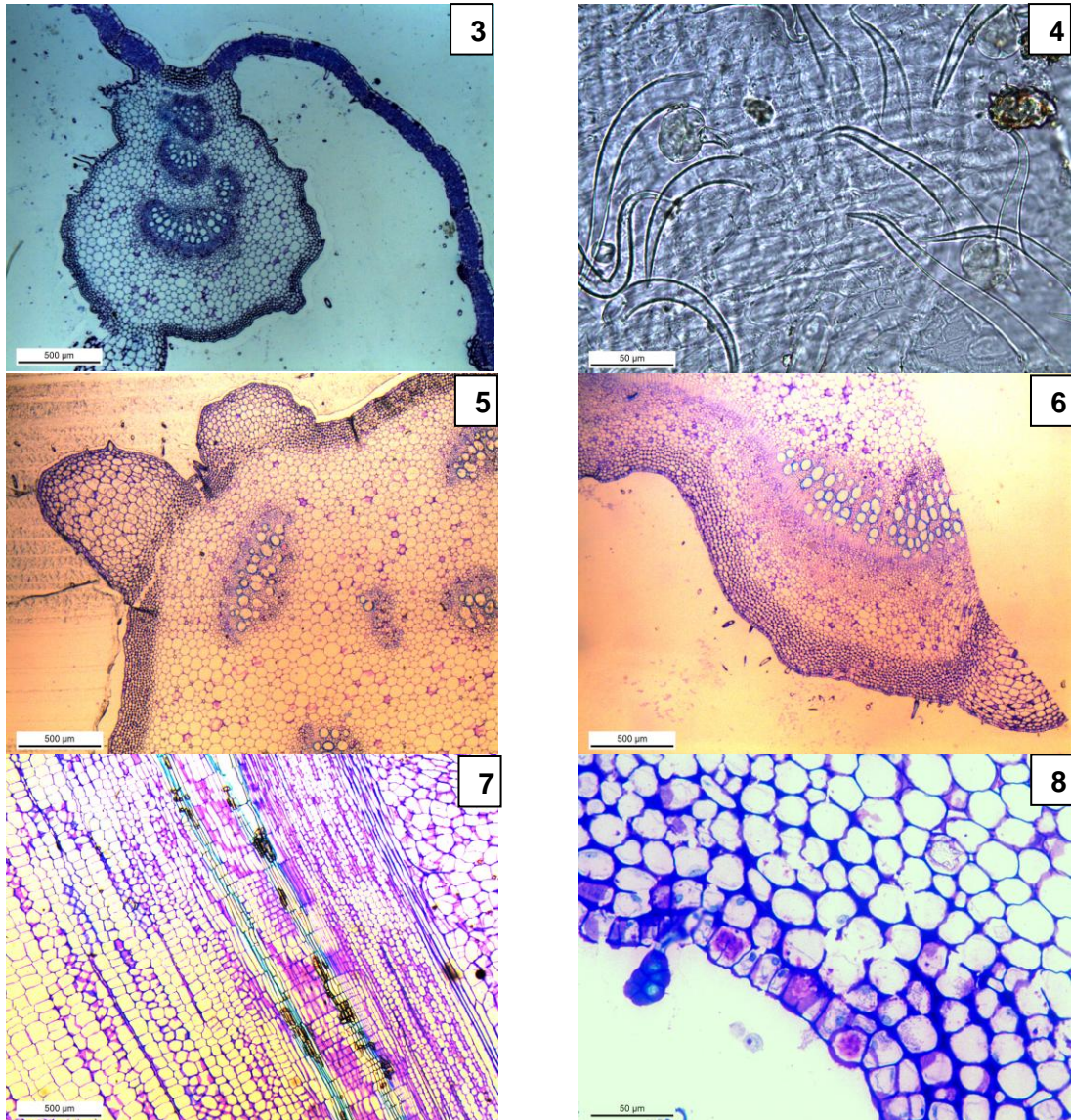


Figura 3: Nervura central da folha em visão transversal, contendo grande emergência (500 μ m). **Figura 4:** Epiderme do pecíolo. Verificam-se tricomas glandulares, tectores e cistólitos (50 μ m). **Figura 5:** Visão geral do pecíolo em corte transversal, contendo duas emergências e feixes vasculares dispersos (500 μ m). **Figura 6:** Visão geral do caule transversal (500 μ m), verificando-se a diferença nos feixes vasculares, onde, o cambio interfascicular produz somente floema secundário. **Figura 7:** Visão longitudinal do caule (500 μ m). **Figura 8:** Detalhe do tricoma glandular com cabeça multicelular, cistólito na epiderme e cristais do tipo drusas no colênquima do caule em corte transversal (50 μ m).

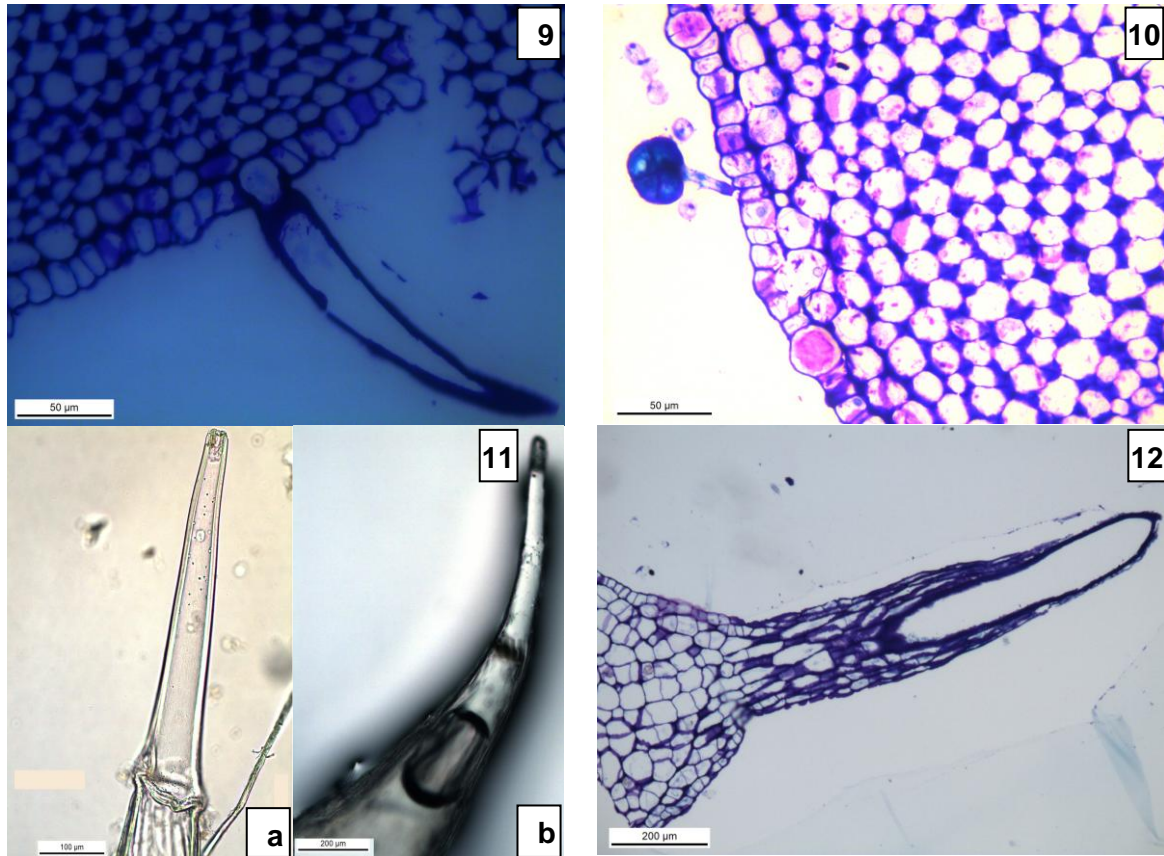


Figura 9: Tricoma tector simples do pecíolo, corte transversal (50 µm). **Figura 10:** Tricoma glandular do caule, corte transversal (200 µm). **Figura 11:** Tricoma urticante com ponta rompida (A) (100µm) e intacta (B) (200 µm) após processo de extração de epiderme. **Figura 12:** Emergência do caule de *U. baccifera* após rotina histológica (200 µm).

3.2 Análise histoquímica

Os testes histoquímicos foram realizados com a lamina foliar, pecíolo, caule e tricoma extraídos de *Ureca baccifera*. Os resultados dos testes estão descritos a seguir (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados obtidos no procedimento histoquímico para o pecíolo, lamina foliar e caule de *Urera Baccifera* Gaudich.

Corante	Lâmina foliar	Pecíolo	Caule	Tricoma
<i>Amido</i>	+	+	+	+
<i>Paredes celulósicas</i>	+	+	+	-
<i>Paredes lignificadas</i>	+	+	+	+
<i>Substâncias fenólicas</i>	+	+	+	+
<i>Mucilagens</i>	+	+	+	+
<i>Lipídeos neutros</i>	-	+	+	-
<i>Lipídeos ácidos</i>	+	+	+	+
<i>Alcalóides</i>	-	-	-	-
<i>Proteínas</i>	+	+	+	+
<i>Celulose</i>	+	-	-	-
<i>Terpenóides e cetoesteróides</i>	+	+	+	+
<i>Lactonas sesquiterpênicas</i>	-	-	-	-
<i>Cristais de oxalato de cálcio</i>	+	+	+	+
<i>Cristais de carbonato de cálcio</i>	-	-	-	-
<i>Taninos</i>	-	+	+	-
<i>Serotonina</i>	+	-	-	-
<i>Cloretos</i>	+	-	-	-
<i>Amido e polissacarídeos</i>	+	+	+	+

No teste com Lugol foram evidenciados na lâmina foliar, pecíolo e caule (Figura 13) grãos de amido próximo aos feixes vasculares, paredes celulósicas em todo o corte e lignificada nos vasos do xilema. No tricoma os grãos de amido estavam dispersos e as paredes eram lignificadas. O corante fucsina básica evidenciou mucilagens no tricoma (Figura 14), caule, pecíolo e lamina foliar. Confirmando este teste, o corante vermelho do congo demonstrou mucilagens principalmente nas epidermes dos 4 materiais estudados (Figura 15).

O caule e o pecíolo (Figura 16) apresentaram precipitados de cor violácea no parênquima quando testados com o reagente cloreto férrico, já a lâmina foliar apresentou precipitados na nervura central e pontos violáceos nos parênquimas do mesófilo, evidenciando a presença de compostos fenólicos na planta. No tricoma foram observados estes precipitados no tricoma e na cavidade onde fica armazenado o líquido (Figura 17).

O reagente Sudam III exibiu lipídios (pontos vermelhos) no colênquima angular e nos feixes vasculares do pecíolo e caule (Figura 18). A lâmina foliar não apresentou este resultado. Entretanto, frente à Azul do Nilo, foram evidenciados

lipídeos ácidos nos dois parênquimas do mesófilo (Figura 19) da lamina foliar e no tricoma, além de lipídeos neutros e ácidos no pecíolo e caule (Figura 20).

Proteínas apareceram por todo o corte, no entanto estavam mais concentrados na epiderme e floema do pecíolo e caule, e epiderme e parênquima do tricoma. Já na folha estas substâncias estavam em maior volume nas epidermes e núcleos dos parênquimas do mesofilo (Figura 21). No teste safranina também foram observadas suberina, cutícula, ligninas e proteínas nas paredes do pecíolo, caule e tricoma (Figura 22). Além disto, no parênquima paliçádico e esponjoso da lamina foliar foi observado celulose (Figura 23).

Terpenóides e cetoesteróides foram observados nos vasos do xilema e nos parênquimas e epidermes das três partes da planta, além do tricoma (Figura 24 e 25). Os cristais do tipo drusas evidenciados no pecíolo, lâmina foliar, caule e tricoma foram confirmados como sendo de oxalato de cálcio, pois os cristais se dissolveram e não houve efervescência quando adicionado ácido clorídrico.

Taninos foram verificados dispersos no parênquima do caule e pecíolo (Figura 26). No teste com p-dimetilaminobenzaldeído em ácido clorídrico concentrado foram evidenciados grãos dispersos nos parênquimas do mesofilo da lamina foliar, próximos a um tricoma urticantes, indicando a presença de serotonina nesta parte da planta (Figura 27). Cloretos também foram confirmados, mas nesta vez na nervura central, dispersos em grande quantidade junto aos feixes vasculares (Figura 28).

Foram evidenciados amido, polissacarídeos e compostos fenólicos na lamina foliar (Figura 29), pecíolo (Figura 30) e caule de *U. baccifera*, pelo teste PAS.

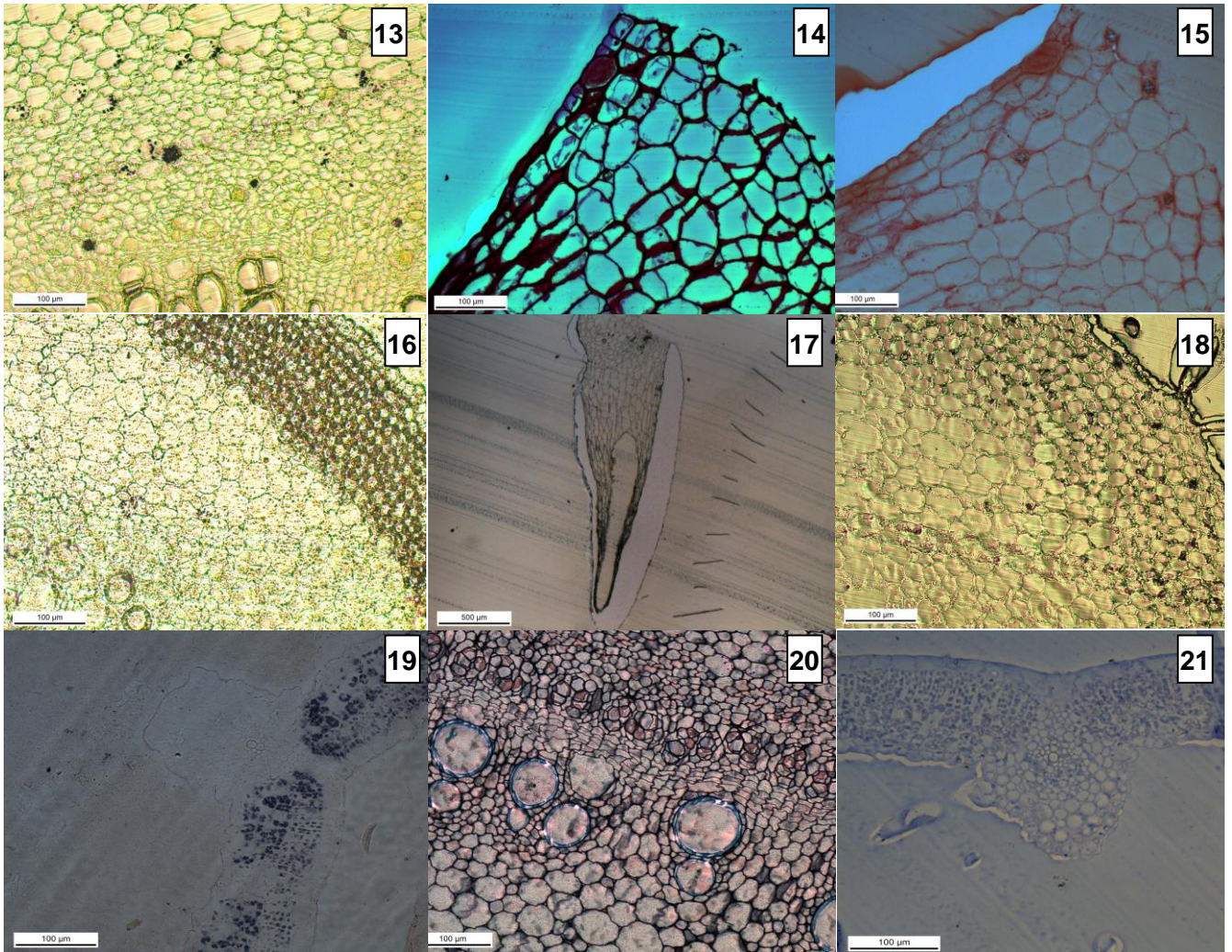


Figura 13: Grãos de amido no caule, corte transversal frente à Lugol (100µm). **Figura 14:** Mucilagem na epiderme do tricoma, corte longitudinal frente à fucsina básica (100µm). **Figura 15:** Mucilagem na epiderme do tricoma, corte longitudinal frente à vermelho do congo (100µm). **Figura 16:** Compostos fenólicos no pecíolo, corte transversal frente à Cloreto Férrico (100µm). **Figura 17:** Compostos fenólicos (flavonóides) no tricoma, corte longitudinal frente à Cloreto Férrico (500µm). **Figura 18:** Lipídeos no caule, corte transversal frente à Sudam III (100µm). **Figura 19:** Lipídeos ácidos no mesófilo da lamina foliar, corte transversal frente à Azul do Nilo. **Figura 20:** Lipídeos ácidos e neutros no caule, corte transversal frente a Azul do Nilo (100µm). **Figura 21:** Proteínas no mesófilo da lâmina foliar, corte transversal frente à Azul de Comassie (100µm).

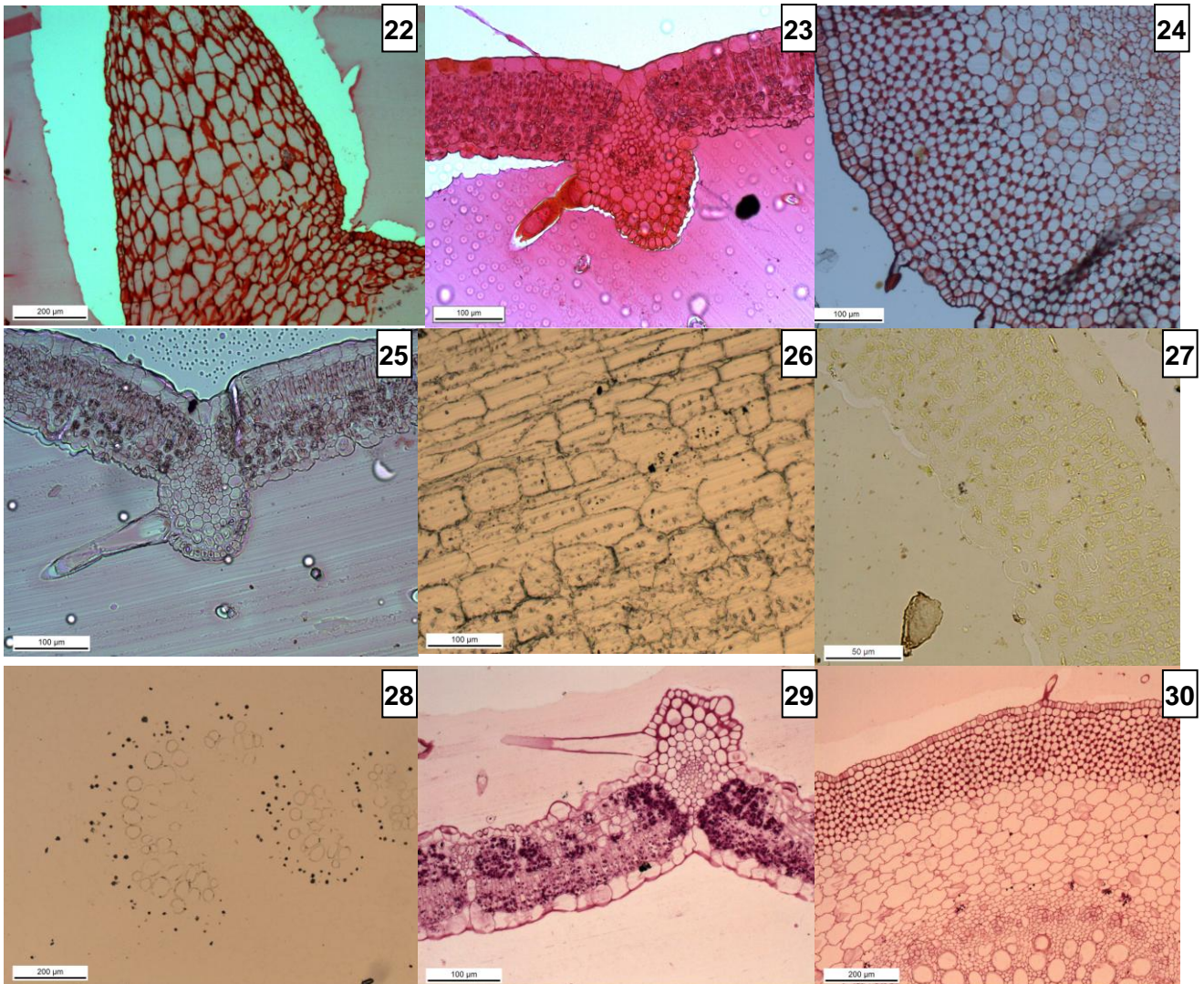


Figura 22: Proteínas na epiderme e parênquima do tricoma, corte longitudinal frente a safranina (200µm). **Figura 23:** Proteínas e celulose no mesófilo da lâmina foliar, corte transversal frente à safranina (100µm). **Figura 24:** Terpenoides e cetoesteróides no caule, corte transversal frente à dinitrofenilhidrazina com ácido sulfúrico 2N (100µm). **Figura 25:** Terpenoides e cetoesteróides no mesófilo da lâmina foliar, corte transversal frente à dinitrofenilhidrazina com ácido sulfúrico 2N (100µm). **Figura 26:** Taninos no caule, corte longitudinal frente à vanilina clorídrica (100µm). **Figura 27:** Serotonina na epiderme do mesófilo da lamina foliar, corte transversal frente à p-dimetilaminobenzaldeído em ácido sulfúrico concentrado (50µm). **Figura 28:** Cloretos na Nervura central da lamina foliar, corte longitudinal frente à nitrato de prata (200µm). **Figura 29:** Amido, polissacarídeos e substancias fenólicas em nervura secundária da lamina foliar, corte transversal frente a PAS (100µm). **Figura 30:** Amido, polissacarídeos e substancias fenólicas no pecíolo, corte transversal frente a PAS (200µm).

4. DISCUSSÃO

4.1 Morfo-anatomia

À família Urticaceae pertencem ervas e arbustos que possuem, em vários gêneros, tricomas urticantes, os quais a cabeça é facilmente destacada, liberando um fluido irritante. Existem nesta família, tricomas glandulares e simples além de cistólitos abundantes, que podem variar em tamanho e formato (METCALFE & CHALK, 1965).

Tricomas são apêndices epidérmicos muito variáveis em estrutura e de valor diagnóstico em taxonomia. Estas estruturas podem ser de dois tipos: tricomas tectores ou não-glandulares, que podem ser unicelulares ou simples e multicelulares, sendo os primeiros mais comuns; e os tricomas glandulares, que são formados por uma haste ou pedúnculo e uma cabeça uni ou multicelular, e que estão envolvidos na secreção de diversas substâncias, tais como: óleos, néctar, sais, resinas, mucilagem, sucos digestivos e água (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Metcalf e Chalk (1965) declaram que três tipos de tricomas já foram evidenciados na família Urticaceae: os tricomas não-glandulares, que são principalmente unicelulares e podem estar ausentes em algumas espécies; os tricomas glandulares, que apresentam haste unicelular e cabeça com poucas células, como já apresentado em *Urtica* e *Laportea*; e os tricomas urticantes, que ocorrem nas espécies de *Urera* e possuem seu conteúdo rapidamente emitido após a perda da cabeça destacável. Os três tipos de tricomas foram evidenciados neste estudo.

Entretanto, Appezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro (2006) definem os tricomas urticantes como um tipo de tricoma glandular, que estão presentes em *Urtica urens* e têm estrutura bastante característica. Estes autores descrevem este apêndice epidérmico como possuindo uma parte basal, mais volumosa, que fica envolvida pela epiderme e uma parte superior tubular, com uma vesícula esférica na

extremidade. Esta parte tubular, quando em contato com a pele, rompe-se num plano determinado, formando uma cunha que penetra facilmente na pele onde o líquido urticante é injetado pela pressão exercida na parte bulbosa.

A vantagem dos tricomas das folhas em arbustos de regiões secas é manter a temperatura da folha menor que a do ar, levando a temperatura da folha próxima a temperatura ótima para fotossíntese. Uma desvantagem é que a presença de tricomas na folha reduz a taxa de fotossíntese por refletir fóton que poderiam ser usados no processo (EHLENRINGER & MOONEY, 1978).

Confirmando dados obtidos neste trabalho, Metcalfe e Chalk (1965) citam que a folha da família Urticaceae é geralmente dorsiventral, com o tecido paliçádico ocupando metade da espessura da lamina.

A lamina foliar de *Urera baccifera* apresenta tricomas tectores simples e glandulares somente na face abaxial, diferente de *Gesnouinia arborea* (Urticaceae) que apresenta tricomas glandulares e tectores em ambas epidermes, sem apresentar emergências urticantes subepidérmicas. Os tricomas glandulares eram com pedúnculo unicelulares e cabeça multicelular (de 3 a 4 células) e os tricomas não-glandulares encontrados nesta espécie foram de 3 tipos: simples, basilados e encurvados (BARRY, 1977). Os tricomas glandulares de *U. baccifera* possuíam as mesmas características descritas acima, no entanto os tricomas não-glandulares eram apenas unicelulares, diferenciando-se assim de *G. arborea*. Também foi evidenciado na nervura central da planta deste estudo um tricoma urticante.

Os estômatos são restritos a superfície abaxial na maioria dos gêneros da família, sendo corroborada esta afirmação para o gênero *Urera* neste trabalho, pois ainda não havia dados na literatura a este respeito. Os cristólitos nesta família apresentam formato variando de arredondado a alongado. Cristais alongados geralmente estão presentes, mas podem estar ausentes de algumas espécies de *Urera*, o que não é o caso de *U. baccifera*, que apresentou cristólitos de forma alongados e arredondados. Todavia, apesar de já haver registro na literatura do gênero *Urera* a presença de canais lactíferos (METCALFE & CHALK, 1965), os mesmos não foram evidenciados neste trabalho.

A superfície da folha de *G. arborea* (Urticaceae) apresenta um retículo de células de forma poligonal, predominando as formas pentagonais e hexagonais além

de terem sido evidenciados cristólitos abundantes. A epiderme inferior desta planta é pluriestratificada, com a maioria das células da camada exterior modificadas para formar tricomas e estômatos. Também foram evidenciados diversos cristais de oxalato de cálcio dispersos, principalmente agrupados. Nesta planta, os estômatos também ocorrem somente na face abaxial, sendo dispersos e numerosos. São anisocíticos e anomocíticos, sendo os últimos mais comuns, além de as células guardas têm a tendência de aparecer em formato circular, como a planta deste estudo (BARRY, 1977). Todas estas características de *G. arborea* são semelhantes às de *U. baccifera*, entretanto o que diferencia as duas plantas é que, a primeira não possui cloroplastos.

Bem como o pecíolo dos gêneros *Bohemeria*, *Debregeasia*, *Laportea* e *Urtica*, o pecíolo de *U. baccifera* apresenta feixes colaterais em formato de arco. Conforme os mesmos autores, cristais de oxalato de cálcio são muito comuns na família e freqüentemente encontram-se agrupados, normalmente situados ao redor dos feixes vasculares (METCALFE & CHALK, 1965). Como observado neste estudo.

Drusas são cristais prismáticos (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006). Cristais do tipo drusas e ráfides contendo oxalato de cálcio foram evidenciados em grande quantidade em todos os órgãos vegetativos de *Dieffenbachia picta* (Araceae), espécie vegetal tóxica e causadora de inflamação. A presença destes cristais é considerada um indicativo de toxicidade da planta, pois, além da irritação mecânica gerada pelos cristais, ocorre a irritação química, que provavelmente está relacionada à associação destes cristais a substâncias tóxicas, como lipídeos, proteínas e alcalóides. As drusas são consideradas o principal cristal associado à irritação mecânica em Araceas (FERREIRA et al, 2006; SIMÕES et al, 2010).

Os cristais de oxalato de cálcio possuem funções variadas, dentre elas osmorregulação e balanço iônico, armazenamento de cálcio ou oxalato, suporte mecânico e proteção contra herbívoros (DUARTE & LOPES, 2005).

A planta em estudo apresentou células mucilaginosas na epiderme do caule, pecíolo e lâmina foliar. Em 7 espécies de *Urera* já foram evidenciados este tipo celular. Embora Metcalfe e Chalk (1965) afirmam que na medula parenquimática do

gênero *Urera* podem ser observadas esclereides ou células pétreas, estas células não foram observadas neste trabalho.

O floema é bem desenvolvido em plantas da família Urticaceae, caracterizado por tubos crivados grandes com proeminentes pratos crivados. O xilema possui forma de cilindro contínuo atravessado por raios estreitos. Raios mais amplos já foram evidenciados em espécies de *Urera* (METCALFE & CHALK, 1965).

Os cristólitos do pecíolo são semelhantes aos descritos para a lâmina foliar e podem ocorrer na epiderme, medula, floema e no eixo da medula. Em *U. baccifera*, os cristólitos estavam presentes nas epidermes do caule e folhas. Canais laticíferos foram evidenciados na periferia da medula, na porção interior do córtex primário, no floema secundário e, algumas vezes, estendendo-se através do pecíolo até as veias da folha e também até a raiz em duas espécies de *Urera* (METCALFE & CHALK, 1965). Na planta em estudo, estes canais não foram evidenciados.

As veias usualmente são de médio tamanho no caule e espessamento em espiral já foi demonstrado em algumas espécies de *Urera*. Neste gênero aparecem dois tipos de parênquima: com paredes lignificadas e paratraqueais ou com paredes finas e não lignificadas. Podem aparecer cristais solitários em *Urera* e *Urtica*, drusas já foram observadas em *Urera caracasana* (Urticaceae), além de numerosas células fusiformes em *Urera*. Raios de 5 a 10 células de largura e fibras septadas neste gênero (METCALFE & CHALK, 1965).

4.2 Histoquímica

Neste estudo foram evidenciados nas 4 estruturas estudadas pelos testes histoquímicos: amido, mucilagem, compostos fenólicos, lipídeos ácidos, paredes lignificadas e celulósicas, proteínas, suberina, cutícula e ligninas, terpenóides e cetoesteróides, cristais do tipo drusas de oxalato de cálcio e polissacarídeos. Além destes compostos, na lâmina foliar também foram verificadas serotonina e cloretos. O pecíolo e caule obtiveram resultados positivos para lipídeos neutros e compostos fenólicos do tipo taninos.

Já foram quantificados nas raízes de *U. baccifera*, compostos fenólicos, flavonóides e taninos, e além disso, foi identificado mucilagens no mesmo estudo (GINDRI et al, 2010), confirmando dados obtidos nestes testes histoquímicos na planta.

Polissacarídeos são polímeros de alto peso molecular, resultantes da condensação de um grande número de moléculas aldoses e cetoses. O amido é um polissacarídeo encontrado em vegetais superiores, constituído por moléculas de glicose e com a função de substância de reserva. Mucilagens são polissacarídeos heterogêneos naturais dos vegetais superiores (SIMÕES et al, 2010).

Paredes contendo lignina e celulose foram evidenciadas neste estudo. A parede celular é formada por microfibrilas de celulose, que estão imersas em uma matriz contendo polissacarídeos não-celulósicos: hemiceluloses e pectinas. Dependendo do tipo de parede, podem ser encontradas muitas outras substâncias, tanto orgânicas quanto inorgânicas, em quantidades variáveis. Entre as substâncias orgânicas destacam-se a lignina, proteínas e lipídios. Substâncias lipídicas como suberina, cutina e ceras também podem ser encontradas, e tornam a parede celular impermeável à água. Dentre as moléculas inorgânicas podem ser citadas a sílica e os cristais (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Lipídeos são compostos biológicos solúveis em solventes orgânicos e são considerados agentes de reserva energética da célula, mensageiros em processos metabólicos, marcadores imunológicos. Os compostos terpênicos são substâncias freqüentes nos óleos voláteis e subdividem-se em monoterpenos e sesquiterpenos. (SIMÕES et al, 2010).

Em testes histoquímicos realizados por Corsi (1992), os tricomas urticantes de *Urtica membranaceae* apresentaram resultados positivos para acetilcolina, serotonina, lipídeos, substâncias pécticas, proteínas, potássio, alcalóides. Segundo os autores, as células do pedestal do tricoma não parecem estar envolvidas nas produções de lipídeos e substâncias pécticas, demonstrando um alto conteúdo de serotonina, potássio e cloretos. A serotonina é um alcalóide indólico, com ocorrência dispersa, derivado do triptofano (SIMÕES et al, 2010).

Os tricomas de *U. baccifera* também apresentaram resultados positivos para proteínas, entretanto não apresentaram resultados positivos para alcalóides,

serotonina e cloretos. Acredita-se que, durante o processo de fixação do material, o líquido urticante da planta tenha se perdido, justificando assim o resultado negativo para estas substâncias. Na lamina foliar foram observados grãos de serotonina perto de um tricoma, o que pode confirmar esta hipótese.

Flavonóides foram identificados em cromatografia líquida de alta eficiência em tricomas glandulares de espécies de *Chromolaena* (Eupatorieae, Asteraceae) (TALEB-CONTINI et al, 2007), que reafirma a positividade dos resultados para compostos fenólicos nesta planta.

Os tricomas glandulares do pedestal parecem produzir um misto de uma secreção lipófila e hidrófila em *U. membranaceae*, pois eles apresentaram resultados positivos para óleo essencial, substâncias pécticas, substâncias fenólicas (provavelmente taninos), proteínas em massa considerável, potássio, cloretos, acetilcolina, serotonina, grupos imidazólicos e proteínas (CORSI, 1992).

Os tricomas glandulares podem funcionar como hidatódios glandulares ou como hidatódios complexos associados a um tecido secretor, já que sua localização é muito peculiar entre a massa compacta de células epidérmicas sobre os cruzamentos de veias, e para as margens das folhas (BARRY, 1977).

5. CONCLUSÃO

Pela primeira vez foi realizado um estudo morfo-anatômico do caule e folhas de *Urera baccifera* Gaudich, verificando-se estruturas importantes para sua identificação. Também foi possível identificar algumas substâncias presentes no tricoma urticante, caule e folhas da planta, que podem ser responsáveis pelo efeito urticante da mesma.

Este trabalho motiva para que mais estudos sejam realizados nesta espécie de urtiga, a fim de elucidar a composição do líquido urticante.

6. REFERÊNCIAS:

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 2ª Ed., Viçosa: Ed. UFV, 438 p., 2006. 438 p.
- BARRY, A. R. Epidermis foliar y venacion en *Gesnouinia arborea* (L. Fil) Gaudich. (Urticaceae). **Botanica Macaronesica**, v.4, p.55-68, 1977.
- CORRÊA, M. P., **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**, v. 6, Editora Gráfica Brasileira LTDA, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento florestal; Rio de Janeiro, RJ: IBDF, 1984. 777 p.
- CORSI, G. The stinging hair of *Urtica membranaceae* POIRET (Urticaceae). II Histochemistry. **Phyton**, v.32, n.2, p.247-253, 1992.
- DUARTE, M.R.; LOPES, J.F.; Leaf and stem morphoanatomy of *Petiveria alliacea*. **Fitoterapia**, v.76, p.599-607, 2005.
- EHLENRINGER, J.R. & MOONEY, H.A. Leaf hairs: Effects on physiological activity and adaptative value to a desert shrub. **Oecologia**, v.37, p.183-200, 1978.
- FERREIRA, L.S.; MARSOLA, F.J.; TEIXEIRA, S.P. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Dieffenbachia picta* Schott (Araceae) com ênfase na distribuição de cristais, laticíferos e grãos de amido. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16 (Supl.), p.664-670, 2006.
- GINDRI, A. L. et al. Análise fitoquímica qualitativa das cascas e do miolo da raiz de *Urera baccifera* (L.) Gaudich (Urticaceae). **Saúde (Santa Maria)**, v.36, n.2, p. 63-70, 2010.
- JOLY, A. B., **Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal**. 12º edição, Companhia Editora Vegetal; São Paulo, SP: Nacional, 1998.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Edur:Rio de Janeiro,1997.
- LONGHI, S.J., et al. Aspectos fitossociológicos de fragmento de floresta estacional decidual, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v.10, n.2, p.52-74, 2000.
- MARTINS, F.O. et al. *In vitro* inhibitory effect of *Urera baccifera* (L.) Gaudich. extracts against herpes simplex. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.1, n.11, p.581-584, 2009
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of Dicotyledons. Leaves, stem and wood, in relation to taxonomy.Oxford:London, 3ª ed., v. 2, 1965.

MONRO, A.K.; RODRIGUEZ, A. Three new species and a nomenclatural synopsis of *Ureia* (Urticaceae) from Mesoamérica. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.96, p.268-285, 2009.

SIMÕES, M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC. 6 ed, 1 reimp, 2010. 1102 p.

TALEB-CONTINI, S.H. et al. Detection of flavonoids in glandular trichomes of *Chromolaena* species (Eupatorieae, Asteraceae) by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, 2007.

VENTRELLA, M.C.; MARINHO, C.R. Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenaceae* DC. (Boraginaceae) leaves. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, n.3, p.457-467, 2008.

4 DISCUSSÃO GERAL

A análise fitoquímica preliminar descrita no Manuscrito 1 obteve resultados positivos para: aminogrupos, antocianinas, antocianidinas e flavonoides, esteroides, fenois com posição *para* livre, cumarinas, ácidos orgânicos, saponinas e mucilagens nas raízes e folhas. Flavonóides, purinas, saponinas, taninos e mucilagens já haviam sido identificados nas raízes da planta por GINDRI e colaboradores (2010).

Polifenóis, flavonoides, flavonóis, alcaloides e taninos condensados foram quantificados nas raízes e folhas da planta. O extrato bruto das folhas apresentou o maior valor de polifenóis, no entanto para os outros metabólitos quantificados a fração clorofórmio foi a mais rica nesta parte da planta. Da mesma forma, a fração clorofórmio da raiz apresentou valores mais altos para todos os compostos testados, exceto no caso dos taninos condensados, onde a fração mais concentrada foi a acetato de etila. A quantificação de polifenóis, flavonoides e taninos condensados obtidas para a raiz neste manuscrito foram semelhantes às obtidas por GINDRI e colaboradores (2010) para a mesma parte da planta de polifenóis e flavonóides. Valores semelhantes foram observados para as folhas de *U. baccifera* em outro estudo, entretanto a fração mais concentrada nos dois metabólitos foi a acetato de etila (MANNION & MENEZES, 2010). As diferenças obtidas nos doseamentos das folhas nos dois estudos podem dever-se aos diferentes locais de coleta da planta e de análise.

Na quantificação de ácido oxálico, as raízes demonstraram uma concentração mais alta deste composto, estando mais concentrado na fração n-butanol, seguida pelo extrato bruto. Nas folhas as mesmas frações obtiveram resultados menores. Esta substância já foi quantificada nos tricomas urticantes de uma planta da família Urticaceae (FU et al, 2006).

Na avaliação da atividade antioxidante por DPPH foi verificado que o extrato bruto das folhas e a fração n-butanol e extrato bruto das raízes demonstraram a melhor atividade. Entretanto, a atividade deste tipo de urtiga pode ser considerada moderada. Este fato pode ser confirmado por Gindri e colaboradores (2010) e Mannion e Menezes (2010) que testaram as raízes e folhas, frente ao mesmo

método, obtendo valores semelhantes, apesar dos últimos autores verificarem que a fração das folhas mais ativa foi a acetato de etila.

Frente ao ensaio TBARS, os resultados de IC_{50} obtidos foram moderados, e não diferenciaram muito entre si. Este ensaio contrasta com os resultados obtidos por Özen e colaboradores (2010) para uma planta da mesma família de *U. baccifera*, onde eles concluem que a planta estudada, *Urtica pilulifera*, apresenta inibição da atividade de peroxidação lipídica. No entanto os resultados da planta não foram apresentados, o que não permitiu a comparação com *U. baccifera*.

A análise da morfologia interna dos caules e folhas da planta evidenciou 3 tipos de tricomas (tricomas urticantes, tectores simples e glandulares) e cristólitos na epiderme de ambos. Também foi verificada a presença abundante de cristais do tipo drusas de oxalato de cálcio nos parênquimas, colênquima e junto aos feixes vasculares do caule, pecíolo e lamina foliar, além do agrupamento destes nos tricomas urticantes, o que fortalece a presença de oxalato nesta planta. A presença destas estruturas já foi confirmada na família Urticaceae (METCALFE & CHALK, 1965).

A presença de ácido oxálico e dos cristais do tipo drusas de oxalato de cálcio podem ser indicativos de toxicidade em *U. baccifera*, pois idioblastos contendo drusas e ráfides de oxalato de cálcio também são encontrados em *Dieffenbachia picta* (Araceae), a popular Comigo-ninguém-pode, uma espécie vegetal sabidamente tóxica, onde estes cristais são relacionados aos efeitos tóxicos da planta. Nesta planta também são encontrados quantidades apreciáveis de ácido oxálico e seus sais solúveis, que podem promover um quadro de intoxicação por oxalato (FERREIRA et al, 2006; SIMÕES et al, 2010).

O caule e pecíolo apresentaram estrutura semelhante de epiderme simples, colênquima angular e parênquima, diferenciando-se apenas na estrutura dos feixes vasculares, sendo que no pecíolo estes são fragmentados e em estrutura de feixe, e no caule o câmbio vascular possui atividade diferenciada com o câmbio interfascicular produzindo somente floema secundário. Na epiderme da lâmina foliar foram observados diversos cristólitos, estômatos anomocíticos e tricomas tectores simples, o mesofilo é formado pelos parênquimas (paliçádico e esponjoso). Na nervura central observa-se a epiderme e colênquima semelhantes, e feixes

vasculares dispersos no parênquima. Estas descrições são confirmadas por Metcalfe e Chalk (1965) para o gênero *Urera* e família Urticaceae.

Nos testes histoquímicos apresentados no Manuscrito 2, foram evidenciados polissacarídeos, dentre eles, grãos de amido como substância de reserva no caule, folhas (lamina foliar e pecíolo) e tricomas. Mucilagens (polissacarídeos heterogêneos naturais) também foram evidenciadas nas 4 estruturas da planta, e já foram confirmadas por Gindri e colaboradores (2010) nas raízes da mesma planta, e evidenciados no Manuscrito 1 nas folhas e raízes. Compostos fenólicos também obtiveram resultados positivos nos testes histoquímicos e já foram evidenciados pelo mesmo grupo de pesquisa, além de terem sido identificados e quantificados no Manuscrito 1. Lipídios ácidos estavam presentes em todas as partes vegetativas testadas no segundo capítulo e ácidos orgânicos obtiveram resultados positivos na análise fitoquímica do primeiro capítulo. Lipídios neutros foram evidenciados somente no pecíolo e caule no manuscrito 2.

As paredes celulares encontradas na planta são celulósicas e lignificadas. Também foram evidenciados como componentes destas paredes celulares: proteínas, suberinas, cutículas e ligninas. A estrutura fundamental da parede celular é celulose. As ligninas, proteínas e lipídeos são componentes orgânicos que podem estar ligadas a parede formando as paredes lignificadas (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

Terpenóides e cetoesteróides foram evidenciados nas folhas e caules da planta na análise histoquímica. Na análise fitoquímica qualitativa foram evidenciados esteróides no extrato hidroalcoólico das folhas e raízes, obtendo resultado negativo para triterpenóides. Estes resultados indicam a presença de cetoesteróides distribuídos nos feixes vasculares da planta, principalmente nos vasos do xilema e nos parênquimas e epidermes das três partes da planta, além do tricoma.

A presença de aminogrupos nas folhas e raízes nos testes qualitativos do manuscrito 1 reforçam a presença de serotonina nas folhas relatada no manuscrito 2. A serotonina é um alcalóide indólico, que apresenta grupos amino em sua estrutura (SIMÕES et al, 2010). Cloretos também foram encontrados nas folhas da planta. Mesmo não obtendo resultado positivo para serotonina e cloretos no tricoma urticante, não é descartada a possibilidade da presença destas substâncias no

liquido urticante armazenado na estrutura. O que fortalece esta idéia é a presença destas moléculas próximas a um tricoma urticante no mesófilo foliar e dispersas junto aos feixes vasculares na nervura central. O processo de fixação e desidratação do material pode ter levado a eliminação do liquido urticante, impossibilitando a identificação. A serotonina pode ter sido quantificada com os alcalóides totais no manuscrito 1, pela reação de Draggendorf.

Alcalóides e taninos não foram evidenciados nos testes fitoquímicos qualitativos do Manuscrito 1 e somente compostos fenólicos tipo taninos foram encontrados em pequena quantidade no caule e pecíolo nos testes histoquímicos do Manuscrito 2. Entretanto, estes compostos foram quantificados no Manuscrito 1. Os resultados negativos obtidos nos testes qualitativos podem ter ocorrido devido à baixa concentração destes compostos nas folhas e raízes, indicando que a planta não é rica nestes tipos de metabólitos secundários.

5 CONCLUSÃO GERAL

A análise fitoquímica qualitativa indicou a presença de diversos grupos de metabólitos secundários. Nas quantificações, a fração clorofórmio das folhas e raízes destacou-se apresentando valores mais altos de polifenóis, flavonóides e flavonóis, com única exceção para o extrato bruto das folhas que obteve o valor mais alto na quantificação de polifenóis. As raízes e folhas ainda demonstraram conter alcalóides e taninos condensados em quantidade relativamente moderada na fração acetato de etila (para taninos condensados nas raízes) e clorofórmio (para os outros testes).

Os extratos brutos das folhas e raízes obtiveram a melhor atividade antioxidante nos testes realizados, levando a crer que a atividade antioxidante da planta não se deve somente aos polifenóis e flavonóides, e sim a um conjunto de outros compostos que estejam presentes na planta.

A quantificação de ácido oxálico em uma concentração considerável nas raízes pode ser um indício de toxicidade da planta e motiva para que mais testes sejam realizados a este respeito.

A análise morfo-anatômica permitiu, pela primeira vez para a espécie, a elucidação da estrutura morfológica interna dos caules e folhas de *U. baccifera*, levando a identificação dos 3 tipos de tricomas, da estrutura da epiderme, colênquima e parênquimas, além da estrutura dos feixes vasculares.

Também foram evidenciadas nos diferentes órgãos vegetativos substâncias que formam as paredes celulares, substâncias de reserva, além de metabólitos secundários, como compostos fenólicos, lipídios, cetoesteróides, taninos e serotonina. A presença de diversos idioblastos contendo cristais do tipo drusas de oxalato de cálcio reforçam a presença de oxalato na planta, e o indício de toxicidade.

Mais estudos serão realizados com raízes, caules e folhas de *Urera baccifera* Gaudich, a fim de elucidar sua composição química e analisar seu potencial tóxico.

6 REFERÊNCIAS

AMAT, A.G. et al. Evaluation of Cytopatological Parameters Induced by Aqueous Extracts of Seven Plants Used as Antihypertensive Agents in Argentine Folk Medicine. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 21, n. 1, p. 37-42, nov. 2002.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. 2ª Ed., Viçosa: Ed. UFV, 2006. 438 p.

ARAUCO, R.; GUÉZOU, A. Morphological phylogenetic analysis of *Urera* (Urticaceae) in Costa Rica. **Tropical Plants Systematics**, OTS 06-9, p.109-114, jun.-jul., 2006.

BADILLA, B. et al, Edema induced by *Bothrops asper* (Squamata: Viperidae) snake venom and its inhibition by Costa Rican plants extracts. **Revista de Biologia Tropical**, v.54, n.2, p.245-252, jun. 2006.

BADILLA, B. et al, Anti-inflammatory activity of *Urera baccifera* (Urticaceae) in Sprague-Dawley rats. **Revista de Biologia Tropical**, v.47, n.3, p.365-371, set. 1999a.

BADILLA, B. MORA, G., POVEDA, L.J. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts of five costa Rican medicinal plants in Sprague-Dawley rats. **Revista de Biologia Tropical**, v.47, n.4, p.723-727, dez. 1999b.

BRASIL. Portaria nº 1.102, de 12 de maio de 2010. Constitui Comissão Técnica e Multidisciplinar de Elaboração e Atualização da Relação Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos-COMAFITO. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 mai. 2010. Disponível em: <<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/gm/104037-1102>>. Acesso em: 15 abr. 2012.

BRASIL. Portaria Interministerial nº 2.960, de 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 dez. 2008. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri2960_09_12_2008.html>. Acesso em: 15 abr. 2012.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, n. 1, p.99-105, 1998.

CORRÊA, M. P., **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**, v. 6, Rio de Janeiro: Editora Gráfica Brasileira LTDA, Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento florestal, 1984. 777 p.

DUTRA, H.P., OLIVEIRA, P.S.M.deC. A função ecológica dos frutos de *Urera Baccifera* (Urticaceae): Interações entre *Smyrna blomfidia* (Lep., Nymphalidae) e formigas. In: CONGRESSO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNICAMP, Instituto de Biologia, 2004.

DUTRA, H.P.; FREITAS, A.V.L.; OLIVEIRA, P.S. Dual attraction in the Neotropical shrub *Urera baccifera* (Urticaceae): the role of ant visitation to pearl bodies and fruits in herbivore deterrence and leaf longevity. **Functional Ecology**, v.20, p. 252-260, 2006.

EHLERINGER, J.R. & MOONEY, H.A. Leaf hairs: Effects on physiological activity and adaptive value to a desert shrub. **Oecologia**, v.37, p.183-200, 1978.

FERREIRA, L.S.; MARSOLA, F.J.; TEIXEIRA, S.P. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Dieffenbachia picta* Schott (Araceae) com ênfase na distribuição de cristais, laticíferos e grãos de amido. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16 (Supl.), p.664-670, dez. 2006.

FU, H.Y. et al. Identification of Oxalic Acid and Tartaric Acid as Major Persistent Pain-inducing Toxins in the Stinging Hairs of the Nettle, *Urtica thunbergiana*. **Annals of Botany**, v.98, p.57-65, 2006.

GALILEU. Um mercado incipiente. In: Revista Galileu, São Paulo: Editora Globo, 2010. Disponível em : <<http://galileu.globo.com/edic/129/rdossie5.htm>>. Acesso em 02 mai. 2011.

GINDRÍ, A. L. et al. Análise fitoquímica qualitativa das cascas e do miolo da raiz de *Urera baccifera* (L.) Gaudich (Urticaceae). **Saúde (Santa Maria)**, v.36, n.2, p. 63-70 jul.-dez. 2010.

JOLY, A. B., **Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal**. 12ª edição, Companhia São Paulo: Nacional, 1998. 777 p.

LIMA, N.G.P.B. et al. *Urtica dióica*: uma revisão dos estudos das suas propriedades farmacológicas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.89, n.3, p.199-206, 2008.

LINDENMAIER, D.S.; PUTZKE, J. Estudo etnobotânico em três comunidades Mbya/Guaraní na Região Central do Rio Grande do Sul, Brasil. **Caderno de Pesquisa, Serie Biologia**, v.23, n.3, p.6-18, 2011.

LONGHI, S.J., et al. Aspectos fitossociológicos de fragmento de floresta estacional decidual, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v.10, n.2, p.52-74, 2000.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JÚNIOR, V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MANNION, F. & MENEZES, F.S. Antioxidant activity of *Urera baccifera* Gaud extracts. **The Trinity College Dublin Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 2, p.8-9, 2010.

MARTINS, F.O. et al. *In vitro* inhibitory effect of *Urera baccifera* (L.) Gaudich. extracts against herpes simplex. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.1, n.11, p.581-584, 2009.

MARTINS, G.R., et al. Atividade Antioxidante do Extrato Etanólico e Suas Partições Obtidos dos Galhos de *Urera baccifera* Gaudich. Através do ensaio com DPPH. **29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2006

MELENDEZ, P.A.; CAPRILES, V.A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytotherapy**, v.13, p.272–276, 2006.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of Dicotyledonous. Leaves, stem and wood, in relation to taxonomy. Oxford:London, 3a ed, v.2, 1965.

MONRO, A.K.; RODRIGUEZ, A. Three new species and a nomenclatural synopsis of *Urera* (Urticaceae) from Mesoamérica. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.96, p.268-285, 2009.

ÖZEN, T.; CÖLLÜ, Z; KORKMAZ, H. Antioxidant properties of *Urtica pilulifera* root, seed, flower and leaf extract. **Journal of Medicinal Food**. v.13, n.5, p.1224-123, 2010.

ROMANUIC NETO, S.; GAGLIOTI, A. L.; GUIDO, B. M. O. Urticaceae Juss. do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. **Hoehnea**, v.36, n.1, p.193-205, 2009.

SHÄFER, P. Ein brennhaartoxin der *Urera baccifera* (Urticaceae) als auslöser einer ekzematoiden langzeitreaktion. **Dermatologie in Beruf und Umwelt**, v.49, n.5, p.238-242, 2001.

STEINMANN, V.W. **Urticaceae. Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes**. Fascículo 134, 80p., jul, 2005

SIMÕES, M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC. 6 ed, 1 reimp, 2010. 1102 p.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química nova**, v.24, n.1, p.147-152, 2001.

VALADEAU, C. et al. Medicinal plants from the Yanesha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, p.413–422, 2009.

VALADEAU, C. et al. The rainbow hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. **Journal of Ethnopharmacology**, v.127 , p.175–192, 2010.