INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Aristolochia cymbifera Mart. & Zucc. E Byrsonima verbascifolia (L.) Rich. ex Juss: INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO SAZONAL E CIRCADIANA

Autor: Henrique Antonio de Oliveira Lourenço Orientadora: Professora Dr.^a Juliana de Fátima Sales

TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Aristolochia cymbifera Mart. & Zucc. E Byrsonima verbascifolia (L.) Rich. ex Juss: INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO SAZONAL E CIRCADIANA

Autor: Henrique Antonio de Oliveira Lourenço Orientadora: Professora Dr.^a Juliana de Fátima Sales

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde – Área de concentração Ciências Agrárias.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Aristolochia cymbifera Mart e Zucc. E Byrsonima verbascifolia (L.) Rich. ex Juss: INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO SAZONAL E CIRCADIANA

Autor: Henrique Antônio de Oliveira Lourenço Orientadora: Dra. Juliana de Fátima Sales

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias – Área de concentração Ciências Agrárias – Ciências Agrárias

APROVADA em 31 de julho de 2012.

Prof^a. Dra. Suzan Kelly Vilella Bertolucci *Avaliadora externa*UFLA/MG

Dra. Flávia Dionísio Pereira *Avaliadora interna*Bolsista PNPD – IF Goiano/RV

Prof^a. Dra. Juliana de Fátima Sales *Presidente da banca*IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha existência.

À minha esposa Edna, por sempre me incentivar e apoiar quando mais precisei e aos meus filhos Luiza e Luiz Felipe que me dão alegria e forças para alcançar novos desafios.

À minha mãe Maria José, que foi a base para o meu crescimento como ser humano, juntamente com meu pai José Antonio (in memoriam), que com certeza vibra comigo em cada conquista.

Aos meus avós Henrique e Rosa, pelas palavras de sabedoria, meus irmãos Wilson e Rose, meus tios Benjamim e Eliane, e ainda meus cunhados pelo apoio.

À minha orientadora Professora Juliana de Fátima Sales, pelo dinamismo, apoio, paciência e amizade durante este período.

À minha coorientadora Professora Vanisse de Fátima Silva, pelo empenho e dedicação para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador Professor Fabiano Guimarães Silva, pela sua capacidade em orientar, ajudando sempre a buscar a melhor alternativa a seguir.

À Professora Flávia Dionísio Pereira, pelas sugestões e contribuições, sempre muito importantes.

À Professora Michellia Pereira Soares, pela atenção e apoio na identificação das espécies, juntamente com sua assistente Patrícia.

Ao Professor Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho e sua irmã Jaqueline, pelo incentivo ao ingresso neste programa.

Aos demais professores e servidores do programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, que contribuíram para o desenvolvimento de mais esta etapa.

Ao Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde e ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pelo ensino de qualidade.

A toda equipe do Laboratório de Cultura de Tecidos, em especial aos amigos Paulo Dorneles, Paula, Layara, Luciana Vitorino, Gessiane, Laiane, Lorena e Mariluza, pelo apoio e amizade.

Aos demais colegas do Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pelos momentos de dificuldade e também de descontração ali vividos.

A toda equipe do Laboratório de Sementes: Bethânia, Rodolfo, Lilian e Glicélia. Em especial a aluna de iniciação científica Nathália, pelo grande apoio na condução dos experimentos e a dedicação.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo aos demais envolvidos no projeto.

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

BIOGRAFIA DO AUTOR

HENRIQUE ANTONIO DE OLIVEIRA LOURENÇO, filho de José Antonio Lourenço e Maria José de Oliveira Lourenço, nasceu no dia 29 de agosto de 1974, na cidade de Rio Verde-GO. Concluiu o curso Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Rio Verde – GO (EAFRV), no ano de 1991. Graduou-se em Ciências Biológicas - Bacharelado e Licenciatura na Universidade de Rio Verde (FESURV), no ano de 2009. Em janeiro de 2010, ingressou como aluno especial no Programa de Pós-Graduação *STRICTO SENSU* em Ciências Agrárias, no Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, matriculando em agosto de 2010, como aluno regular.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIAÇÕES E UNIDADES	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO GERAL	01
1. O Cerrado Brasileiro	02
2. O uso de fitoterápicos.	04
3. Metabólitos secundários ou especiais	04
4. Óleos essenciais	05
5. Caracterização botânica de Aristolochia cymbifera	08
6. Propriedades medicinais de A. cymbifera	10
7. Constituição química do gênero Aristolochia	10
8. Caracterização da espécie <i>Byrsonima verbascifolia</i>	12
9. Propriedades medicinais de <i>B. verbascifolia</i>	14
10. Constituição química do gênero <i>Byrsonima</i>	15
11. Fatores que influenciam a síntese de terpenos	16
12. Variação sazonal	16
13. Variação circadiana	18
14. Referências Bibliográficas	19
ODIETIVOS CEDAIS	20

CAPÍTULO 2. TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Aristolochia cymbifera</i> Mart & Zucc. SOBRE A INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO SAZONAL E CIRCADIANA	
Resumo	31
	31
Abstract	32
Introdução	33
Parte Experimental	34
Resultados e Discussão	36
Conclusões	40
Agradecimentos	40
Referências Bibliográficas	41
CAPÍTULO 3. TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Byrsonima verbascifolia</i> Rich. ex A. Juss em diferentes estações e horários de coleta	47
Resumo	47
Abstract	48
Introdução	49
Parte Experimental	50
Resultados e Discussão	52
Conclusões	55
Agradecimentos	55
Referências Bibliográficas	55

ÍNDICE DE TABELAS

		Página
CAPÍTUL	O II	
Tabela 1.	Teor de óleo essencial (TOE) e concentrações relativas de monoterpenos hidrocarbonados (MH) no óleo essencial das folhas e ramos novos de <i>Aristolochia cymbifera</i> , coletadas em diferentes horários do dia e épocas do ano. IF Goiano - Câmpus Rio Verde, GO, 2011	44
Tabela 2.	Composição química do óleo essencial das folhas e ramos novos de <i>Aristolochia cymbifera</i> , coletadas entre agosto/2010 e julho/2011. IF Goiano - Câmpus Rio Verde, GO, 2011	45
Tabela 3.	Concentrações relativas de monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e de sesquiterpenos oxigenados no óleo essencial das folhas e ramos novos de <i>Aristolochia cymbifera</i> , coletadas em diferentes épocas do ano. IF Goiano-Câmpus Rio Verde, GO, 2011	46
Tabela 4.	Concentrações relativas de biciclogermacreno no óleo essencial das folhas e ramos novos de <i>Aristolochia cymbifera</i> , coletadas em diferentes horários do dia e épocas. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011	46
CAPÍTUL	O III	
Tabela 1.	Teor de óleo essencial (TOE) das folhas de <i>Byrsonima</i> verbascifolia Rich ex A Juss, coletadas em diferentes estações	57

	do ano e horários do dia, IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2012	
Tabela 2.	Composição química do óleo essencial das folhas <i>Byrsonima verbascifolia</i> Rich. ex A. Juss., coletadas entre dezembro/2010 a novembro/2011. Compostos listados em ordem de eluição de uma coluna DB-5. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2012	58
Tabela 3.	Concentrações relativas de monoterpenos oxigenados (MO), sesquiterpenos hidrocarbonados (SH) e de sesquiterpenos oxigenados (SO) e outros no óleo essencial das folhas <i>Byrsonima verbascifolia</i> , coletadas em diferentes estações do ano. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011	59
Tabela 4.	Concentrações relativas de Pentacosano, Dietil éster do ácido Benzeno-1,2- dicarboxílico e Espatulenol no óleo essencial das folhas de ramos novos de <i>Byrsonima verbascifolia</i> , coletadas em diferentes estações do ano. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011	59

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
CAPÍTUL	01	
Figura 1.	Via dos isoprenoides em plantas	08
Figura 2.	Jarrinha (<i>Aristolochaia cymbifera</i>) Mart. & Zucc. A - Ramos flexuosos, com flores em forma de um jarro. B - Fruto em forma de cápsula elipsoide deiscente	10
Figura 3.	Murici <i>Byrsonima verbascifolia</i> (L.) DC. A - Visão geral do arbusto. B - Inflorescência com racemos de flores de coloração amarelada. C - Fruto drupa de cor amarela quando maduro	14
CAPÍTUL	O II	
Figura 1.	Plantas de <i>Aristolochia cymbifera</i> Mart & Zucc. A, B e C - Surgimento de folhas e ramos novos em agosto, setembro e outubro, respectivamente. D - Florescimento iniciado em dezembro. E - Início da frutificação em março. F - Maturação e abertura dos frutos deiscentes, aumento da senescência e presença de folhas necrosadas após elevada precipitação do mês de março	44
Figura 2.	Dados meteorológicos e umidade do solo em base úmida no período de agosto de 2010 a julho de 2011, no município de Rio Verde-GO. A - Temperatura média (°C). B - Umidade relativa do ar (%). C - Presinitação (mm). D - Umidade do solo (%)	45
	do ar (%). C - Precipitação (mm). D - Umidade do solo (%)	45

CAPÍTULO III

Figura 1.	Planta de murici <i>Byrsonima verbascifolia</i> Rich. ex A. Juss. A - Maior enfolhamento e início de formação de frutos. B - Frutos formados na primavera. C - Frutos em amadurecimento no verão. D - Lesões castanho-avermelhadas no inverno. E - Folhas amareladas ou completamente secas no inverno. F - Início de brotação na primavera. G - Início de florada na primavera. H - Florescimento pleno na primavera.	60
Figura 2.	Dados meteorológicos e umidade do solo em base úmida (médias mensais) no período de dezembro de 2010 a novembro de 2011, no município de Rio Verde-GO. A - Temperatura média (°C). B - Umidade relativa do ar (%). C - Precipitação (mm). D - Umidade do solo (%)	61

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIAÇÕES E UNIDADES

TOE	Teor de óleo essencial
MO	Monoterpenos oxigenados
MH	Monoterpenos hidrocarbonados
SO	Sesquiterpenos oxigenados
SH	Sesquiterpenos hidrocarbonados
HC	Hidrocarboneto
HCCL	Hidrocarboneto de cadeia longa
DBC	Delineamento em blocos ao acaso
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectometria de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CCD	Cromatografia de camada delgada
EM	Espectometria de massas
h	Horas
min	Minutos
mm	Milímetros
cm	Centímetros
m	Metros
g	Gramas
mL	Mililitros
°C	Graus Celsius
Т %	Teor percetual (g/100g)
μm	Micromol
μL	Microlitro
eV	Elétron-volt
m/z	Relação massa/carga

RESUMO

TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Aristolochia cymbifera Mart. & Zucc. E Byrsonima verbascifolia (L.) Rich. ex Juss: INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO SAZONAL E CIRCADIANA.

Autor: Henrique Antonio de Oliveira Lourenço Orientadora: Dr^a. Juliana de Fátima Sales

Diversas espécies nativas do bioma Cerrado se destacam pelo seu amplo uso etnomaedicinal, entretanto, um percentual muito pequeno tem sido objeto de estudos científicos, dificultando a padronização e segurança no uso. A atividade biológica de um extrato vegetal pode ser atribuída a diversas classes de compostos, entre eles os terpenos, componentes de óleos essenciais, encontrados em várias partes de plantas, cuja produção é sensível a diversos fatores ambientais. A avaliação desses fatores abióticos, entre eles variação sazonal e circadiana pode ser fundamental para elucidação de algumas respostas fisiológicas da planta na produção de metabólitos secundários ou especiais, podendo ainda provocar alterações no metabolismo primário, que indiretamente interfere sobre a produção dos óleos essenciais, cuja variação muitas vezes impossibilita a padronização e a qualidade de seus compostos. Objetivou-se neste trabalho, verificar o teor e a composição química dos óleos voláteis extraídos de folhas e ramos de jarrinha (*Aristolochia cymbifera* Mart & Zucc) e folhas de murici (*Byrsonima verbascifolia* L. Rich. ex Juss.) coletadas em diferentes horários e épocas do

ano. O óleo essencial das folhas e ramos de jarrinha e de folhas de murici foi extraído por hidrodestilação em Clevenger e analisados por CG/EM. Os teores de óleo essencial foram expressos com base na matéria seca da amostra. Cada experimento consistiu de um fatorial 12x3, sendo 12 épocas e 3 horários de coleta (06, 12 e 18h). O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso (DBC), com três repetições. Os resultados obtidos indicam que a influência da sazonalidade e da variação circadiana, embora existentes, podem interagir de forma diferente, conforme as espécies. Em A. cymbifera maiores concentrações de sesquiterpenos hidrocarbonados (24% a 62,3%), foram encontradas. Houve interação entre a variação sazonal e circadiana, no teor de óleo essencial e de monoterpenos hidrocarbonados, com maior influência entre épocas, em que os maiores teores foram observados no mês de setembro (0,24; 0,23 e 0,19%), para os horários 6h, 12h e 18h. Para os demais terpenos houve influência apenas da sazonalidade. Para o constituinte majoritário, biciclogermacreno (13,66%), também ocorreu interação entre os fatores e no mês de março foram observadas maiores concentrações relativas (28,06%; 44,12% e 28,75%). Enquanto para B. verbascifolia, a concentração de sesquiterpenos oxigenados foi predominante, com menor concentração de monoterpenos oxigenados. Os componentes majoritários do óleo essencial foram representados pelo pentacosano (2,747% a 9,613%), espatulenol (3,398% a 10,552%) e dietil éster do ácido benzeno-1,2- dicarboxílico (3,861 a 15,307%). O teor de óleo essencial não foi influenciado pela variação sazonal e circadiana. Por outro lado, a composição química do óleo essencial sofreu influência da variação sazonal, sendo que os monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos hidrocarbonados obtiveram maiores concentrações na primavera e no verão, enquanto para os sesquiterpenos oxigenados a maior concentração ocorreu no outono, sem ocorrência de variação circadiana. Somente o espatulenol sofreu influência da variação sazonal, dentro do grupo majoritário, obtendo maior concentração no outono, entretanto também não ocorreu variação circadiana.

Palavras-chave: épocas, horários, cerrado, jarrinha, murici, terpenos.

xv

ABSTRACT

CONTENT AND CHEMICAL COMPOSITION EVALUATION OF THE

ESSENTIAL OIL OF Aristolochia cymbifera Mart. & Zucc. AND Byrsonima

verbascifolia (L.) Rich. ex Juss: INFLUENCE OF SEASONAL AND CIRCADIAN

CHANGES.

Author: Henrique Antonio de Oliveira Lourenço

Advisor: Dr. Juliana Fatima Sales

Several native species of the Cerrado biome stand out for its etno maedicinal

widespread use however, a very small percentage of them has been the subject of

scientific studies, making difficult its standardization and safety use. The biological

activity of a plant extract can be attributed to several classes of compounds, including

the terpenes which are components of essential oils, found in many parts of plants,

whose production is sensitive to several environmental factors. The evaluation of these

abiotic factors, including seasonal and circadian variation may be crucial to elucidate

some physiological responses of plant in the production of special or secondary metabolites, may also causing changes in primary metabolism, which indirectly

interferes with the essential oils production, which variation often prejudice the

standardization and quality of its compounds. The objective of this study was to verify

the content and chemical composition of volatile oils extracted from leaves and

branches of jarrinha (Aristolochia cymbifera Mart & Zucc) and leaves murici (Byrsonima verbascifolia L. Rich. Ex Juss.) collected in different times and seasons of the year. The essential oil from the jarrinha leaves and branches and murici leaves was extracted by hydrodistillation in Clevenger and analyzed by GC / MS. The essential oil contents were expressed based on dry matter of the sample. Each experiment consisted of a factorial 12x3, 12 times and 3 collection times (06, 12 and 18h). The experimental design was a randomized block design (RBD) with three replications. The results indicate that there is influence of seasonal variation and circadian variation, although they may interact differently, depending on the species. In A. cymbifera higher concentrations of hydrocarbon sesquiterpenes (24% to 62.3%), were found. There was interaction between the circadian and seasonal variation in the essential oil content and hydrocarbon monoterpenes, with higher influence between times, where the highest levels were observed in September (0.24, 0.23 and 0.19%), for times 6:00, 12:00 and 18:00. For other terpenes there was only influence of the seasonally. For the majority constituent, bicyclogermacrene (13.66%), there was also interaction of factors and it was observed in March the highest relative concentrations (28.06%, 44.12% and 28.75%). While for *B. verbascifolia*, the concentration of oxygenated sesquiterpenes were predominant, with lower concentration of oxygenated monoterpenes. The major components of the essential oil are represented by Pentacosane (2.747% to 9.613%), spathulenol (3.398% and 10.552%) and diethyl ester of benzene-1, 2 - dicarboxylic acid (3.861 to 15.307%). The essential oil content was not influenced by circadian and seasonal variation. Moreover, the chemical composition of the essential oil suffered influence of seasonal variation, and the oxygenated monoterpenes and sesquiterpenes obtained higher hydrocarbon concentrations in the spring and summer, while to the oxygenated sesquiterpenes the highest concentration occurred in autumn, without occurrence of circadian variation. Only spathulenol was influenced by seasonal variation within the majority group, with higher concentrations in autumn, however there was also no circadian variation.

Key words: season, time, cerrado, jarrinha, murici, terpenes.

INTRODUÇÃO

As últimas décadas possibilitaram um avanço importante no estudo de plantas utilizadas na medicina popular, principalmente pelo incentivo da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2007) no consumo de plantas medicinais, sobretudo nos países mais pobres. Esse crescimento também ocorreu nos países de primeiro mundo, visto a necessidade de encontrar não apenas uma alternativa de baixo custo, mas obter melhores efeitos sobre as enfermidades, com redução dos efeitos colaterais. Contudo, para o uso racional das plantas medicinais, há necessidade em assegurar a eficácia, a segurança e a qualidade (CALIXTO, 2001; NUNES *et al.*, 2003).

Diversos trabalhos indicam que vários fatores abióticos como variação circadiana e sazonal podem influenciar no teor dos metabólitos secundários ou especiais, sendo os responsáveis diretos pela atividade biológica do extrato de plantas (BLANK, 2005; GOBBO-NETO, 2007; CASTRO, 2008; SANTOS, 2009; MORAIS, 2009; SOUZA, 2011). Atividades que podem ser atribuídas a um composto isolado ou pela interação sinérgica de vários constituintes, gerando uma desuniformidade muito grande nos processos de extração e dificultando a utilização na indústria farmacêutica ou até mesmo o uso pelas populações nativas (GOBBO-NETO, 2007).

A manutenção da diversidade do cerrado é afetada a cada ano pelas grandes mudanças provocadas pelo homem nessas áreas. Fatores climáticos muito favoráveis, aliados a características de composição de solo e topografia muito adequada para a atividade agropecuária, fizeram com que ocorresse uma ocupação rápida e desordenada, sem a preocupação com a preservação das diversas espécies, ali presente, sendo este, o bioma brasileiro que mais sofreu impactos antropogênicos (MITTERMEIER et al., 2005). Apesar disso, estima-se que 0 bioma Cerrado tenha mais de 7000 espécies em sua flora vegetal, configurando como o segundo bioma brasileiro em diversidade (ALMEIDA et al., 1998; KLINK e MACHADO, 2005). Desta forma, observa-se que as plantas medicinais representam uma alternativa viável, do ponto de vista sócio-econômico, tornando necessário criar estratégias que possam ser utilizadas visando aliar preservação e exploração sustentável.

Embora diversas espécies vegetais nativas do cerrado possuam grande potencial para uso fitoterápico, sendo muitas delas já utilizadas pela população regional, apenas uma pequena parcela delas foram objeto de estudos científicos (CRAVOTTO *et al.*, 2010). Estudos detalhados quanto ao comportamento de plantas sobre a influência da variação circadiana e sazonal nos teores e composição química de óleos essenciais foram realizados apenas em algumas espécies. Essas informações são de fundamental importância para a determinação do potencial medicinal, já que a constituição química de uma planta medicinal está intimamente ligada a sua atividade biológica (CALIXTO, 2000; SAKAMOTO *et al.*, 2005).

Portanto, objetivou-se avaliar a influência da variação circadiana e sazonal, no teor e composição química do óleo essencial de folhas e ramos de jarrinha (*Aristolochia cymbifera*) Mart. & Zucc. e folhas de murici [*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich. ex Juss]. Estudos iniciais mostraram que essas espécies têm propriedades fitoterápicas e uso popular. Alguns compostos, entre eles os terpenos foram encontrados em raízes, caules e folhas, tornando viável o estudo mais detalhado visando não só a quantificação dos teores de óleo essencial, bem como a identificação dos constituintes presentes em suas folhas. Assim posteriormente será possível verificar se há relação entre os compostos encontrados e os efeitos atribuídos popularmente as espécies.

1. O Cerrado brasileiro

O bioma Cerrado em sua área original ocupava aproximadamente 23,92% do território nacional (203,6 milhões de hectares), consistindo no segundo maior bioma do país (IBGE, 2004; KLINK e MACHADO, 2005), distribuído sobretudo, no Planalto Central do Brasil e outras regiões do país em pequenas áreas de transição, incluindo a Amazônia (SILVA et al., 2001; IBGE, 2004;). Conforme o Ministério do Meio Ambiente (2007), os resultados do Mapeamento de Cobertura Vegetal dos Biomas Brasileiros (Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade – Probio), indicaram que o bioma Cerrado tinha até 2002: cobertura vegetal natural – 60,5%;

cobertura vegetal antrópica – 38,9%; e massa d'água – 0,6%, entretanto, pouco tempo depois, através de análises do Cerrado por meio de imagens do sensor MODIS (resolução de 250 metros de pixel), foi estimado que 55% de sua área, já estava desmatada (MACHADO, *et al.*, 2004).

O Cerrado é considerado um dos *hotspots* mundiais de biodiversidade (MYERS et al., 2000), e dentre as savanas do mundo, sua flora é conhecida como a mais rica em diversidade, estimando mais de 11 mil espécies de plantas nativas abrigadas em seus diversos ecossistemas (MENDONÇA, 2008). Para Vieira (2006), por causa dessa riqueza de espécies, algumas delas podem ser consideradas "Plantas do Futuro", já que ainda são subutilizadas pelas comunidades locais, por falta de conhecimento científico, indicando que o potencial dessas plantas pode ser muito maior do que se conhece hoje.

As variações na fertilidade e nas características físicas dos solos promovem diferentes tipos de composição florística, fitossociológica e produtividade nesses ecossistemas naturais (HARIDASAN, 2000). Ocorre o predomínio da vegetação aberta em sua formação campestre, caracterizado pela coexistência de árvores de porte baixo, tortuosas, de folhas grandes, casca grossa e raízes profundas, associadas a gramíneas temporárias, entretanto a vegetação do bioma do Cerrado não possui fitofisionomia única em toda a sua extensão, diferindo desde formas campestres bem abertas, como os campos limpos de cerrado, até formas mais densas, como os cerradões, ou formas intermediárias, como savana, carrasco, campos sujos e campos cerrados (ALMEIDA et al., 1998; RATTER, 2003; MENDONÇA et al., 2008). Apesar da grande riqueza florística, acredita-se que mais de 65% da cobertura vegetal inicial do cerrado foi modificada nas últimas décadas, sendo substituída por lavouras e pastagens, restando somente cerca de 20% em seu estado original, que pode levar a redução da capacidade de exploração sustentável dessas áreas em um futuro muito próximo (MITERMEIER et al.,2005; NÓBREGA e ENCIMAR, 2006; SANTOS et al., 2009), pela descaracterização da vegetação nativa, reduzida a pequenos fragmentos (KLINK e MOREIRA, 2002).

Dentro do bioma Cerrado, pequenas diferenças climáticas podem existir, entretanto, para o Brasil Central, o clima é do tipo Awa (Köppen-Geiger), com temperaturas predominantemente quentes, variando de 19 a 28°C, chuvas mais concentradas no verão e outono (outubro a abril), com precipitação média anual abaixo de 2000 mm (BRASIL, 1992).

Devido à sua grande importância e reconhecimento nacional e mundial, vários pesquisadores têm buscado práticas de exploração sustentáveis, através de estratégias de conservação e manejo racional, visando preservar o patrimônio genético (MMA, 2007).

2. O uso de plantas medicinais

A utilização de plantas medicinais é uma prática tão antiga quanto a própria existência humana (MACIEL et al., 2002). Desde a antiguidade até os tempos atuais diversas civilizações como os egípcios, gregos, e romanos fizeram uso deste artifício para se livrar de várias moléstias que eram acometidos (MARTINS et al., 1996; GIACOMETI, 1989).

Atualmente o uso de plantas medicinais é realizado de forma empírica, através de chás, infusões e outros preparos, baseado no conhecimento popular. Ou como medicamento fitoterápico, após passar por um processo de validação, que incluem estudos botânicos, ensaios biológicos pré-clínicos e clínicos, embasados por trabalhos científicos nos quais se estudam as classes de substâncias produzidas pelas plantas e a atividade que exercem no organismo humano. Entretanto, entre centenas de espécies com potencial medicinal brasileiras somente cerca de 5 % tem sido objeto de pesquisa (MATOS, 1996), sendo que poucas delas são estudadas de acordo com os protocolos modernos (LAPA, 1999), dificultando a utilização segura e eficaz de várias espécies de plantas (RIBEIRO et al., 2005).

A grande diversidade de espécies, muitas vezes ricas em determinados compostos, favorece as mais diversas atividades biológicas e ou farmacológicas, bem como a síntese de novos fármacos. As maiores possibilidades de descoberta de novos princípios ativos estão fundamentadas no estudo etnofarmacológico, tendo como indicativo o uso popular da espécie. Entretanto outros métodos podem ser utilizados, visando encontrar compostos inéditos através de ensaios randômicos, no qual a espécie é escolhida aleatoriamente sem nenhuma informação prévia (CORDELL e COLVARD, 2005).

3. Metabólitos secundários ou especiais

Alguns compostos orgânicos produzidos pelos vegetais, considerados vitais e relacionados diretamente com crescimento e desenvolvimento de plantas, são

denominados metabólitos primários. Já os metabólitos secundários apesar de não serem necessários ao ciclo da vida das plantas desempenham papel na interação das plantas com o meio ambiente (PERES, 2004). A produção destes metabólitos ocorre principalmente para proteção a herbivoria e atração a polinizadores, por causa de sua importância, também são conhecidos por metabólitos especiais, das quais resultam substâncias de baixo peso molecular, às vezes produzidas em pequenas quantidades. Entre as principais classes destacam os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Dessas substâncias, destacando as voláteis, que ao se difundir a partir da evaporação, constituem uma ligação entre a planta e o meio ambiente. Tais compostos voláteis são constituídos principalmente de terpenoides, fenilpropanoides e derivados de ácidos graxos (TAIZ e ZEIGER, 2004).

4. Óleos essenciais

Os óleos essenciais ou voláteis são os compostos ativos do metabolismo vegetal de maior utilização na pesquisa. Podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como as células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos, tricomas glandulares, bolsas lisígenas e esquisolisígenas, ou ainda, acumular em qualquer órgão de uma planta, sendo que sua composição pode variar segundo a localização e espécie. Sua distribuição no reino vegetal é restrita a cerca de 50 famílias, sendo a maior parte angiospermas dicotiledôneas, tais como: Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae, Rutaceae, entre outras. (SIMÕES e SPITZER, 2003; BRENNA, 2003; SOUZA, 2007).

A ANVISA define óleos essenciais como produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado), sejam eles misturados, retificados, desterpenados, concentrados ou isolados (SIMÕES e SPITZER, 2003; MOUCHREK FILHO, 2000). Em geral, apresentam-se como misturas de substâncias químicas de natureza terpênica, incluindo seus derivados alcoólicos e aldeídicos dentre outros (GIRARD, 2005). Essas misturas complexas voláteis e lipofílicas, normalmente odoríferas e líquidas, podem conter 100 ou mais compostos orgânicos, que podem ter aroma agradável e intenso, sendo solúveis em solventes orgânicos apolares e pouco solúveis em água (SIMÕES e SPITZER, 2003).

Os terpenoides e os fenilpropanoides são os compostos mais comuns encontrados nos óleos essenciais, sendo que cerca de 40.000 moléculas diferentes compõem a família dos terpenoides ou isoprenoides (AHARONI, A. et al. 2004). A via de biossíntese de isoprenoides gera metabólitos primários e secundários, entre eles: citocinina, ácido giberélico (AGs), ácido abscísico (ABA), clorofilas, ubiquinonas e plastoquinonas. Nos óleos essenciais os terpenos encontrados com maior frequência são os monoterpenos (esqueleto formado por 10 átomos de carbono) e sesquiterpenos (15 átomos de carbono) arranjados em estruturas acíclicas, monocíclicas, bicíclicas e tricíclicas, bem como os diterpenos (20 átomos de carbono), constituintes minoritários dos óleos essenciais (CASTRO, 2004).

Os terpenoides são originados da condensação enzimática de unidades isoprênicas com 5 átomos de carbono, unidas por ligação cabeça-cauda, com duas ou mais unidades isoprênicas (McGARVEY e CROTEAU, 1995). Os isoprenoides são derivados da via do mevalonato (MVA), ativada no citosol, ou através da via metileritritol fosfato (MEP), ativada no plastídio (MAHMOUD e CROTEAU, 2002; RODRIGUEZ-CONCEPCION, 2004). Ambas as vias conduzem à formação do isopentenil difosfato (IDP) e dimetilalil difosfato (DMAP), que são os blocos de construção básicos na biossíntese de terpenoides, utilizados em reações de condensação enzimática, na produção de precursores de terpenos, como: geranil difosfato (PIB), precursor de monoterpenos; farnesil difosfato (FDP), precursor de sesquiterpenos; geranilgeranil difosfato (GGDP), precursor de diterpenos e carotenoides A condensação de duas unidades de FDP produz esqualeno, o precursor de triterpenos e esteróis (SCHUHR, 2003). Portanto a via do mevalonato fornece os precursores para a produção de sesquiterpenos e triterpenos (incluindo esteróis) e para prenilação de proteínas (ubiquinona e do grupo heme-A) na mitocôndria. Nos plastídios, a via MEP fornece os precursores para a produção de isoprenos, monoterpenos, diterpenos (GAs) e carotenoides (Figura 1) (AHARONI, A. et al. 2005).

A indústria e a comunidade científica buscam compreender e controlar os processos de síntese desses compostos, que são responsáveis pelas qualidades atribuídas às espécies vegetais, entre elas propriedades medicinais (SILVA & CASALI, 2000).

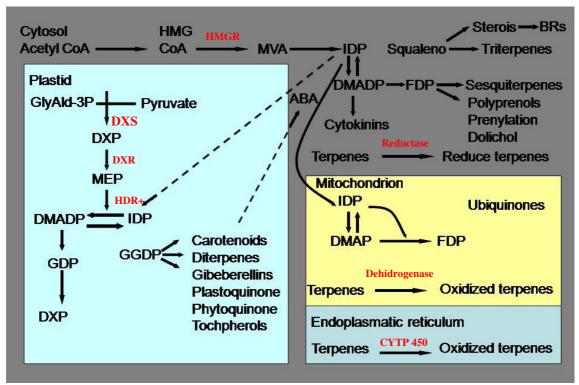


Figura 1. Via dos isoprenoides em plantas. Fonte: AHARONI et al., 2005.

Muitas espécies nativas do cerrado possuem compostos importantes, como resinas, óleos, taninos, gomas, ceras e tinturas. Dentre estes, os óleos essenciais possuem grande aplicação nas indústrias de cosméticos, perfumaria, alimentos e medicamentos (BALANDRIN *et al.*, 1985; MORAIS, 2009; BIZZO, 2009), sendo comercializados beneficiados ou em sua forma bruta, podendo ainda ser utilizados como insumos na produção de solventes, plásticos, inseticidas e tintas (CRAVEIRO, 1993). A utilização farmacêutica de compostos terpênicos inclui o uso neurológico, dermatológico e como antibiótico, analgésico, anti-inflamatório, gastrointestinal e anticancerígeno (SILVA-SANTOS *et al.*, 2008), além de outras atividades biológicas relatadas, como efeito: anti-hepático, antimalárico, antimicrobial, diurético e antiúlcerogênico (BERTEA, 2005; LIN, 2005; RODRIGUEZ-CONCEPCION, 2004).

Vários métodos podem ser empregados, para extração de óleos essenciais: enfloração (enfleurage), hidrodestilação, destilação por arraste a vapor d'água, extração com solventes orgânicos, prensagem e extração por CO₂ supercrítico, dependendo dos objetivos e espécies a estudar. Comparando arraste a vapor e hidrodestilação, embora ambos visem arrastar o óleo volátil através de vapor, existe diferença no modo que o material vegetal é preparado, sendo que no arraste a vapor não há contato com a água, em estado líquido, enquanto na hidrodestilação, há o contato do material vegetal com a água, em estado liquido, ocorrendo o arraste dos óleos voláteis pela tensão de vapor mais elevada

que a da água, sendo essa técnica a mais empregada na pesquisa em laboratórios, usando o aparelho do tipo Clevenger (OLIVEIRA, 2001; SANTOS *et al.*, 2004; PINO *et al.*, 2008).

Avaliando diferentes métodos de extração de óleos essenciais de caules e folhas de três espécies de *Ocimun (O. basilicum, O. kilimandscharicum* e *O. micranthum)*, verificou-se que a produção de óleo foi maior por destilação a vapor do que extração por solventes orgânicos. Amostras de folhas secas e frescas em comparativo não variaram quanto ao rendimento de óleo essencial e das características relativas dos principais constituintes, sendo que também não sofreram influência da quantidade de fitomassa seca utilizada (10- 75g) na extração (CHARLES e SIMON, 1990).

Óleos obtidos de extrações da espécie *Hyptis marrubioides*, utilizando folhas inteiras ou trituradas em moinho, não tiveram diferenças encontradas na sua composição, indicando que as folhas podem ou não, ser trituradas (SALES, 2007). Com relação ao tempo de extração, estudos avaliando os tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos em *Rosmaninus officinalis* (Lamiaceae), constataram maior rendimento de óleo essencial nos tempos de 90 e 120 minutos, tanto sob aquecimento lento, quanto rápido. Os tempos maiores também influenciaram a composição química, no qual maiores teores de α-pipeno e β-mirceno foram identificados (PRINS, LEMOS e FREITAS, 2006). Em um trabalho envolvendo 80 compostos da família Aristolochiacea, com dois tempos de extração (2-4h), os melhores resultados obtidos foram em análise de PCA, com óleos extraídos por 2 horas (MESSIANO, 2010). Os processos de extração, embora padronizados, podem requerer alguns ajustes, conforme a espécie em estudo e que tipo de composto se deseja extrair.

5. Caracterização botânica de *Aristolochia cymbifera* (Mart. & Zucc)

A família Aristolochiaceae se divide em cerca de sete gêneros, encontrados em diferentes regiões climáticas do mundo, com quase 600 espécies, distribuídas em grande maioria nos trópicos, ou em menor intensidade nos subtrópicos e zonas temperadas. No Brasil esta família é representada por três gêneros: *Aristolochia, Holostylis* e *Euglypha* (WU *et al*, 2004). Alguns autores relatam que o gênero *Aristolochia* é composto por cerca de 400 a 500 espécies, concentradas em regiões tropicais (WU *et al*, 2001; YU *et al*, 2007; KELLY e GONZÁLES, 2003), sendo que 60 a 90 espécies nativas, entre

lianas e ervas anuais, estão bastante dispersas geograficamente na flora brasileira (LEITÃO e KAPLAN, 1992), desde florestas tropicais e capoeiras nas regiões sul e sudeste do Brasil, até a Bahia, sendo possível encontrar algumas de suas espécies na região Centro-Oeste, nas áreas de cerrado, em zonas de transição. Várias espécies de *Aristolochia* no Brasil apresentam características e propriedades semelhantes, sendo conhecidas popularmente por cipó-mil-homens, cipó-mata-cobra, erva-de-urubu, patinho e jarrinha. Algumas espécies são exóticas, com belas flores de odor nauseobundo que são consideradas carnívoras (LEITÃO e KAPLAN, 1992; LORENZI, MATOS e GOMES, 2002).

A espécie *Aristolochia cymbifera* Mart. & Zucc., é uma liana herbácea de ramos finos e flexuosos, com caule engrossado e casca corticosa fissurada. Suas folhas são simples, membranáceas, pecioladas e glabras, com 12-20 cm de comprimento (LORENZI, MATOS e GOMES, 2002). As flores são solitárias em forma de urna e os frutos são cápsulas elipsoides deiscentes (Figura 2).

Conforme Barros (2012), a classificação, a espécie *Aristolochia cymbifera* tem a seguinte divisão sistemática:

Divisão: Magnoliophyta,

Classe: Magnoliopsida,

Ordem: Piperales,

Família: Aristolochiaceae,

Gênero: Aristolochia





Figura 2. Jarrinha (*Aristolochaia cymbifera*) Mart. & Zucc. A - Ramos flexuosos, com flores em forma de um jarro. B - Fruto em forma de cápsula elipsoide deiscente. Fotos: Arquivo pessoal.

6. Propriedades medicinais de A. cymbifera

O nome *Aristolochia* vem do grego (*aristos*: excelente e *lochios*: parto), referindo-se ao uso tradicional popular como emenagoga e facilitador do parto (MENGUE *et al*, 2001). Na medicina popular é utilizada em vários países da América do Sul, incluindo o Brasil, sendo ainda também utilizado na China (LOPES, 2001). Entre suas propriedades destacam o efeito estomáquico, antisséptico, anti-inflamatório, sedativo, diaforético, diurético, antiofídico, contraceptivo, antirreumática, emenagogo e para atonia uterina (STASI, 1989; LORENZZI, 2002; PACHECO, 2009). Entre outras atividades farmacológicas, há relatos sobre efeitos antibacteriano, antifúngico, sendo também utilizado em terapias de emagrecimento (WU, *et al.*, 2004; FRANCISCO, *et al*, 2003), entretanto em alguns países a comercialização de ervas medicinais contendo extratos de espécies deste gênero é proibida, pelas suas propriedades mutagênicas, nefrotóxicas e carcinogênicas, que podem resultar em nefropatia ou câncer urotelial em humanos (POON *et al*, 2007).

Entre 75 extratos de plantas utilizadas na medicina popular na Colômbia, testados com relação ao efeito anti-hemorrágico contra o veneno de *Bothrops atrox.*, o extrato etanólico de *Aristolochia grandiflora* demonstrou moderado efeito neutralizante (OTERO *et al*, 2000).

7. Constituição química do gênero Aristolochia

A composição química dessas espécies é muito diversificada, sendo constituídas de ácidos graxos, terpenoides, lignoides, flavonoides, alcaloides e compostos fenantrênicos (LOPES, 2001). O alcaloide aristoloquina é a principal substância com potencial terapêutico do gênero, entretanto resinas amargas e aromáticas, além de óleos etéreos estão presentes (COSTA, 1981). Análises fitoquímicas de certas estruturas de plantas de algumas espécies de *Aristolochia*, identificaram a presença de compostos terpênicos e fenólicos. Em raízes e caules foi verificado a presença de diterpenos (LOPES, BOLZANI e TREVISAN, 1987), enquanto em folhas foi identificado a presença de sesquiterpenos (LOPES e BOLZANI, 1986). Duas biflavonas, quatro chalcona-flavonas e um tetraflavonoide, foram isolados do caule de *Aristolochia ridicula* (CARNEIRO *et al.* 2000; MACHADO e LOPES, 2005).

O número de espécies de *Aristolochias* brasileiras é bastante significativo, entretanto, somente algumas delas têm os compostos de seus óleos conhecidos. Os constituintes desses óleos são basicamente monoterpenos e sesquiterpenos, sendo alguns hidroxilados (MESSIANO, 2010). A maior parte dos estudos realizados, discorrem sobre as diversas espécies do gênero, sendo que boa parte delas não são encontradas no Brasil.

No estudo fitoquímico do extrato do caule de *A. esperanzae*, foram identificados asarinina, ácido pupolifólico, ácido 2-oxo-pupolifólico, ácido aristolóquico II, aristolactama AII, aristolactama AIa, β -cubebina, ácido aristolóquico I, sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo e estigmastan-3,5,22-trieno (PACHECO *et al*, 2010).

Nos óleos essenciais da parte aérea da *A. mollissima*, foram identificadas 5 classes: monoterpenos hidrocarbonados, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados, sesquiterpenos oxigenados e outros, totalizando 74 constituintes, entre eles: 2,2,7,7-tetramethyltricyclo-[6.2.1.0 (1,6)]-undec-4-en-3-ona (15,9%), espatulenol (6,8%), acetato de bornilo (4,5%), óxido de cariofileno (4,5%) e acetato de cedrenol (4,5%) (YU, 2007).

Na espécie *Aristolochia elegans*, foram encontrados 58 constituintes, nos óleos essenciais da folha, sendo que prevaleceu maior percentual de sesquiterpenos e pequeno percentual de monoterpenos. Os constituintes majoritários foram os sesquiterpenos hidrocarbonados: β-cariofileno, biciclogermacreno e germacreno D (VILA, 1997). O conteúdo de sesquiterpenos em folhas e caules de *Aristolochia argentina*, também foi maior que os monoterpenos (17-28%) e (0,5-3%), sendo os principais constituintes: biciclogermacreno, β-cariofileno, germacreno D e espatulenol, que foram encontrados principalmente em folhas e caules (PRIESTAP, 2003).

O constituinte canfeno foi o principal componente dos óleos de *A. galeata e A. malmeana*. Em outras espécies o composto mais abundante foi: (o-cimeno) para *A. arcuata*, (8,14-cedranediol) para *Aristolochia chamissonis*, (trans-nerolidol) para *A. elegans*, (viridifloreno) para *A. esperanzae*, (felandreno) para *A. gigantea*, (eudesmenol) para *A. lagesiana*, (limoneno) para *A. Melastoma* e (acetato de isobornilo) para *A. pubescens*. Concentração maior de monoterpenos hidrocarbonados (60,9-100,0%) foi observada nos óleos de *A. arcuata*, *A. galeata*, *A. gigantea*, *A. malmeana e A. Melastoma*, enquanto o óleo de *A. pubescens* teve predominância de monoterpenos oxigenados (59,9%) e no de *A. esperanzae* houve predomínio de sesquiterpenos

hidrocarbonados (100%), enquanto nos de *A. chamissonis, A. elegans* e *A. lagesiana* houve predomínio de sesquiterpenos oxigenados (41,4%, 72,2% e 52,8%), respectivamente (FRANCISCO, 2007).

Para o gênero Aristolochia não foram encontrados estudos relacionados a interferência de fatores abióticos na produção de óleos essenciais, comprovando a necessidade em estudar estes fatores.

8. Caracterização botânica Byrsonima verbascifolia (L.) DC.

A família Malpighiaceae contempla cerca de 65 gêneros e 1250 espécies, de ocorrência em regiões tropicais e subtropicais, nos dois hemisférios do planeta (ANDERSON, 2001). Desse total, o gênero *Byrsonima* possui aproximadamente 150 espécies (JUDD, 2007). A família é marcada pela presença de nectários extraflorais dispostos aos pares na base das sépalas em quase todas as espécies (CASTRO, 2005), o que dificulta a classificação (DAVIS, *et al.*, 2001). É um arbusto hermafrodito com muitos ramos ascendentes, eretos, de base lenhosa e com tronco nodoso, medindo de 1 a 4 metros, sendo nativa principalmente em solos argilo-arenosos do cerrado. Os frutos são drupas globosas, de cor amarela, com cerca de 1 centímetro de diâmetro. As flores são reunidas em racemos terminais de 5 a 10 centímetros, com cores variando de amarelo a alaranjado. Possui filotaxia oposta, com folhas simples, inteiras subsésseis, que apresentam estípulas, sendo que o limbo foliar mede de 8 a 24 x 6 a 18 cm. (SOUZA, 2008). As folhas contêm tricomas (estruturas armazenadoras de óleos e resinas) dispostos nas faces abaxial e adaxial de suas folhas (ARAÚJO, 2010).

Ocorre principalmente no Cerrado *sensu stricto* e Campos Cerrados, distribuído no Distrito Federal e nos Estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Bahia, Tocantins e Paraíba (ALMEIDA, 1998; VIEIRA, 2006). É conhecido popularmente por murici-rasteiro, orelha-de-veado, orelha-de-burro, douradinha-falsa, murico-grande, muriciguassu, murici-pequeno, murici-caendo ou murici-assu (LORENZI, 2002; VASCONCELOS FILHO, 2008).

As flores vistosas e os frutos atraem aves, que confere a espécie o potencial para utilização na recuperação de áreas degradadas, podendo ainda ser empregada como planta ornamental (GAVILANE *et al.*, 1991; VICENTINI, 1999), ou a exploração de forma extrativista em agrupamentos nativos (SOUZA *et al.*, 2003).

Conforme Mamede (2012), a espécie *Byrsonima verbascifolia* tem a seguinte divisão sistemática:

Divisão: Magnoliophyta,

Classe: Magnoliopsida,

Ordem: Polygalales,

Família: Malpighiaceae,

Gênero: Byrsonima



Figura 3. Murici *Byrsonima verbascifolia* (L.) DC. A - Visão geral do arbusto. B - Inflorescência com racemos de flores de coloração amarelada. C - Fruto drupa de cor amarela quando maduro. Fotos: Arquivo pessoal.

9. Propriedades medicinais de B. verbascifolia

No uso medicinal popular o murici tem sido empregado no tratamento de diversas doenças. Sua casca tem efeito antidiarreico, adstringente e febrífugo. Contém entre 15 a 20% de tanino (BRANDÃO, 1991). Os frutos podem ser um laxante brando, além de serem utilizados para combater tosse e bronquite. As folhas associadas aos ramos são antissifilíticas, diuréticas e eméticas. Efeito antimicrobiano, antihemorrágico, cicatrizante, anti-inflamatório e tóxico também são atribuídos a doses elevadas. Na indústria alimentícia e farmacêutica é utilizado o óleo extraído da semente (ALMEIDA, 1998; FARIA et al., 2002). Os triterpenoides são citados por possuírem propriedades medicinais anti-inflamatórias, antifúngica, antibacteriana, antiviral, analgésica, antitumoral e cardiovascular (MENDES, 2004).

Também foram investigadas em diferentes espécies do gênero, as atividades biológicas: espasmogênica, antiespasmogênica, imunoestimuladora, anti-inflamatória tópica, anti-hemorrágica, antiglicemiante, anti-hiperlipidêmica, antiulcerogênica, antidiarreica e antioxidante, sendo que os resultados contribuem para a validação dos usos etnofarmacológicos (SIMPLÍCIO, 2011). Entre vinte e quatro plantas tradicionalmente utilizadas na Colômbia no tratamento de doenças de pele, que foram testadas, o extrato metanólico de *B. verbascifolia* foi que obteve atividade antimicrobiana e antiviral mais potente (LOPEZ et al., 2001).

A atividade anti-inflamatória, antitumoral e anti-hiperlipidêmica são atribuídas a presença de flavonoides e terpenos nas espécies desse gênero (HARBORN e WILLIAMS, 2000; SIMPLÍCIO e PEREIRA, 2011). Em um trabalho com a casca de *Byrsonima intermedia* A. Juss, foram identificados flavonoides, saponinas, taninos, triterpenos e esteroides, chegando a conclusão de que seu extrato pode ser utilizado para o tratamento da dor e de inflamações (ORLANDI, 2011). Também foi observado efeito anti-inflamatório no extrato das folhas de *Byrsonima intermedia*, possivelmente relacionados a efeito sinérgico e pela presença de catequina e flavonoides (MOREIRA, 2011).

Em estudos realizados em ratos, utilizando 500 mg/Kg do extrato metanólico da espécie *Byrsonima crassifolia*, o efeito antidepressivo encontrado parece estar relacionado a presença de flavonoides neuroativos como rutina, quercetina e hispiridina (HERRERA-RUIZ et al., 2011).

Extratos obtidos a partir de *Byrsonima verbascifolia*, sob avaliação citotóxica e antigenotóxica, produziram efeitos modulatórios contra danos induzidos no DNA de

células somáticas normais de *Drosophila melanogaster* (KIM *et al.*; MENDANHA *et al.* 2010). Tais efeitos protetores foram atribuídos à presença de flavonoides, terpenoides e taninos, que são considerados eliminadores de radicais livres (GOH e BARLOW, 2002; SILVA *et al.*, 2006).

10. Constituição química do gênero Byrsonima

Estudos fitoquímicos realizados com *Byrsonima verbascifolia* identificaram presença de compostos fenólicos e terpênicos, entre eles taninos flavonoides e triterpenos nas folhas, e triterpenoides na casca, tornando-se necessários estudos relacionados à produção destes compostos (LORENZZI, 2002).

Apesar de alguns derivados flavonoídicos terem sido isolados de *Byrsonima*, a classe de substâncias naturais de maior ocorrência neste gênero são os triterpenos. Na espécie *Byrsonima verbascifolia*, foram isolados 7 constituintes triterpenoides, através de um extrato hexânico da casca do caule (GOTTLIEB, et al., 1975). Já em *Byrsonima crassifolia*, *B. microphylla* e *B. verbascifolia* foi relatada a ocorrência de sulfonoglicolipídios, esteroides, triterpenos, ésteres aromáticos, aminoácidos e proantocianidinas (SANNOMIYA et al., 2005).

Bejar *et al* (2000) relataram a presença de glicolipídeos, proantocianidinas e triterpenos em *Byrsonima crassifolia*. Enquanto, saponinas e triterpenos foram detectados em *Byrsonima fagifolia* Nied. utilizando solução de cloreto férrico a 5% em metanol e soluções padrão como compostos de referência (LIMA et al., 2008).

Diversos ésteres etílicos, compostos carbonílicos e ainda um grande número de alcoóis, compostos de enxofre, compostos aromáticos e ácidos graxos foram identificados por cromatografia gasosa de alta resolução CG/EM, totalizando 46 compostos voláteis, dos quais 41 foram identificados em frutos de murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich), sendo que alguns foram identificados pela primeira vez (ALVES e FRANCO, 2003).

Em extratos clorofórmicos do caule de *Byrsonima microphila*, foram encontrados duas novas naftoquinonas, cinco flavonoides e quatro triterpenos, sendo um deles (D1-lupenona) encontrado pela primeira vez, entretanto, não foi constatado nenhuma atividade antioxidante para estas substâncias (AGUIAR, DAVID e DAVID, 2005).

11. Fatores que influenciam a produção de terpenos

A produção de óleos voláteis em plantas é em grande parte determinada geneticamente, entretanto pode sofrer influência do ambiente em que se encontra, sendo que as alterações promovidas pelo ambiente são chamadas de fatores de variabilidade (SOUZA, 2007). Variações na temperatura e intensidade luminosa podem influenciar na fotossíntese e respiração, interferindo na produção de metabólitos secundários ou especiais de forma indireta, pela dependência de produtos do metabolismo primário, na síntese desses compostos (SANTOS, 2003). Em plantas da espécie *Bacharis trimera*, submetidas a diferentes níveis de irradiância, não houve influência no teor de óleo essencial, entretanto maior rendimento de óleo foi observado em plantas cultivadas a pleno sol (SILVA, 2006).

De um modo geral a produção ou síntese de óleos voláteis, tende a aumentar em temperaturas mais elevadas, apesar do risco de grandes perdas em dias muito quentes (EVANS, 1996). Conforme relatos, o estresse hídrico pode influenciar o aumento na produção de diversos tipos de metabólitos secundários, entre eles alguns terpenoides (LOPES *et al.*, 2001; GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Além do horário, época de colheita, temperatura baixa ou excessiva, outros fatores podem influenciar o conteúdo de óleos essenciais como a fertilidade do solo, localização, altitude, pós-colheita, intensidade de chuvas próximas à colheita e até mesmo o método de extração (LETCHAMO e GOSSELIN, 1996; GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Apesar da possibilidade da influência desses fatores, em estudo realizado durante 2 anos, com a espécie *Eremanthus seidelii* (Asteraceae), amostrada no seu *habitat* natural, não houve influência sazonal e circadiana, sobre o metabolismo secundário e as concentrações se mantiveram constantes (SAKAMOTO, 2005).

Os níveis de resposta aos diversos fatores anteriormente citados, indicam que a influência sobre a produção dos metabólitos secundários pode ou não existir, estando relacionada também as características da espécie em estudo, bem como sua interação com o ambiente (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

12. Sazonalidade

A sazonalidade é um dos fatores que se destacam por ter efeitos significativos sobre o rendimento de biomassa, teor e composição de óleos essenciais em diversas

espécies. A influência da variação climática sazonal provoca no metabolismo secundário, respostas lentas, mas de grandes proporções (LEAL, 2001).

Os maiores rendimentos de óleo essencial foram observados em *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae), em folhas coletadas às 9 horas durante o verão, inverno e primavera, sendo que o teor de óleo também foi influenciado pela estação do ano e tempo de secagem (BLANK *et al.*, 2007). Já na espécie *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Poaceae), foi observado que nos meses de abril, setembro e outubro quando o índice pluviométrico e temperatura foram mais elevados, ocorreu maior rendimento de óleo essencial, comparados aos meses de março, maio, julho e agosto, meses em que ocorreram menos chuvas e maior variação da temperatura (SANTOS et al., 2009).

O óleo essencial de *Artemisia campestris* (Asteraceae), demonstrou maiores teores no verão do que no inverno, sendo que também houve maior presença de compostos monoterpênicos em meses mais frios e sesquiterpênicos em meses mais quentes, em especial espatulenol e β-eudesmol, além de (AKROUT *et al.*, 2003). Em *Eucalyptus citriodora, Artemisia dracunculus e Salvia officinalis* maiores rendimentos de colheita (biomassa) foram observados nos meses mais quentes (SANGWAN *et al.*, 2001). Enquanto em *Cistus monspeliens*, houve variação durante o ano na composição química dos óleos das folhas, sendo que o rendimento foi maior no mês de maio e menor em fevereiro (ANGELOPOULOU *et al.*, 2002).

Segundo Schimit (2008) a variação sazonal pouco afetou o potencial antimicrobiano de extratos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae), entretanto o extrato de verão teve atividade bactericida contra *S. aureus e P. mirabilis*, em concentração menor, mostrando um pequeno efeito deste fator também sobre a atividade biológica. A espécie *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini (Asteraceae) obteve maior teor de óleos nas plantas colhidas aos 105 dias após o plantio, durante o período de pré-floração, do que em outras épocas de colheita (FONSECA, CASALI e BARBOSA, 2007).

Em diferentes locais de coleta, a espécie *Eucalyptus citriodora* Hook. (Myrtaceae) demonstrou maior rendimento de óleo essencial em coletas realizadas no mês de fevereiro (CASTRO, 2008). Enquanto em *Trichilia catigua* A. Juss e *Siparuna guianensis* Aubl. não houve interferência da variabilidade sazonal nos teores de óleo (CASTELLANI *et al.*, 2006). A espécie *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton (Verbenaceae), sob estudo bimestral apresentou o menor teor de óleo essencial no mês de agosto, provavelmente em razão das condições ambientais estressantes. O maior teor

foi observado no mês de abril, quando as condições climáticas foram amenas, com a idade fisiológica jovem (BRANT *et al.*, 2008).

Maiores teores de óleos essenciais de *Hyptis marrubioides* Epl., (Lamiaceae), foram encontrados no verão, quando as plantas estavam em floração, possivelmente em virtude dos dias mais longos. No inverno, verificou-se que o teor de monoterpenos dobrou em relação aos sesquiterpenos, que pode estar relacionado ao ciclo fisiológico da planta (BOTREL *et al.*, 2010). Influência da sazonalidade também foi constatada nos principais constituintes voláteis de *Aniba canelilla*, 1-nitro-2-feniletano e metileugenol, na região amazônica. No período das cheias, o 1-nitro-2-feniletano é o principal composto nas cascas de caule e o metileugenol o de menor concentração, mas no período da seca ocorre uma inversão entre estes dois compostos (TAVEIRA et al.2003).

O teor de óleos essenciais extraídos de folhas de *Virola surinamenses*, mantiveram constante durante as épocas do ano, entretanto foram verificadas variações na composição química, com diferenças tanto entre as classes, como entre os constituintes (LOPES, 1997).

13. Variação circadiana

A variação circadiana tem sido objeto de estudo em diversas espécies com potencial fitoterápico, porque está entre os fatores ambientais de maior relevância que podem afetar a qualidade e o teor do óleo essencial das espécies, podendo variar dentre elas. A variação circadiana é caracterizada por alterações qualitativas e quantitativas do metabolismo secundário, mas de menor impacto, influenciada por flutuações climáticas no decorrer do dia (LEAL, 2001). Durante o dia o aroma característico de cada planta se torna mais acentuado, indicando aumento de concentração de óleos essenciais neste período, implicando na alteração da proporção relativa entre os componentes dos óleos essenciais (MORAES, 2009).

Diversos estudos visaram estabelecer uma padronização com relação aos melhores horários de coleta, otimizando assim o processo de extração. De uma maneira mais generalista o horário de colheita utilizado para a maioria das plantas medicinais é pela manhã ou no fim da tarde, quando se espera obter óleos mais aromáticos que nas horas mais quentes do dia, entretanto, é um fator variável conforme a espécie (HERTWING, 1986). Em colheitas realizadas às 8 horas e às 12 horas foram observados maiores rendimentos de óleo essencial de *Ocimum basilicum* L., Lamiaceae

(CARVALHO FILHO et al., 2006). *M. officinalis* (Lamiaceae), sob cultivo em campo, teve maior teor de óleo essencial nas folhas frescas colhidas às 17 horas. Já em *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae), o teor de óleo essencial não foi influenciado pelo horário de colheita, entretanto, o rendimento máximo foi observado às 9 horas durante o verão, inverno e primavera (BLANK et al., 2005, 2007).

A espécie *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini (Asteraceae) obteve maior teor de óleos essenciais nas coletas realizadas às 7 e às 13 horas e menor teor na coleta realizada às 18 horas, possivelmente pela liberação de compostos atrativos à polinizadores, através das flores no horário de maior visitação de abelhas (FONSECA, CASALI e BARBOSA, 2007). Maior teor de óleo essencial foi observado em *Mentha piperita* (Lamiaceae) coletada entre às 7 e 12 horas (SOUZA et al., 2006). Já a espécie *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) submetida a diferentes horários de coletas, obteve o maior teor em coleta realizada às 18 horas (SOUZA et al., 2006, 2011).

Na espécie *Virola suranimenses* a variação circadiana foi marcante, indicando teores de monoterpenos estáveis às 6 e 9 horas, diminuindo pela metade a tarde. Com relação aos teores de óleo essencial, permaneceram constantes nos diferentes horários, entretanto a composição química sofreu influência circadiana sobre as classes e compostos (LOPES, 1987).

14. Referências Bibliográficas

AGUIAR, R. M.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Unusual naphthoquinones, catechin and triterpene from *Byrsonima microphylla*. Phytochemistry 66 (2005) 2388–2392.

AHARONI, A. et al. (2004) Gain and loss of fruit flavor compounds produced by wild and cultivated strawberry species. Plant Cell 16, 3110–3131.

AHARONI, A.; JONGSMA, M.A.; BOUWMEESTER, H.J. Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. TRENDS in Plant Science. Vol.10, No.12, 2005, p. 594-602.

ALMEIDA, S.P. de; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. Cerrado: espécies vegetais úteis. In:_______Planaltina: **EMBRAPA-CPAC**, p.106-112,1998.

ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Headspace gas chromatography–mass spectrometry of volatile. Journal of Chromatography A, 985 (2003) 297–301.

ANDERSON, C. (2001) The identity of two water-dispersed species of Heteropterys (Malpighiaceae): H. leona and H. platyptera. Contr Univ Michigan Herb 23:35–47

- ANGELOPOULOU, D.; DEMETZOS, C.; PERDETZOGLOU, D. Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliens* L. leaves. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, n.3, p.189-203, 2002.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Legislação: Resoluções.** Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/104_99.htm > Acesso em: 20/06/12.
- ARAÚJO, J. S.; AZEVEDO, A.A.; SILVA, L.C.; MEIRA, R.M.S.A. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in the Cerrado area (Brazil). Plant Syst Evol (2010) 286:117–131.
- ARKOUT, A. A.; CHEMLI, R.; SIMMONDS, M.; KITE, G.; HAMMAMI, M. CHREIF, I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisa campestris* L. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, n.5, p.333-336, 2003.
- BALANDRIN, M.F., KLOCKE, J.A., WORTELE, E.S. et al. Natural plant chemical source of industrial and medicinal materials. **Science**, v.228, p.1154-1160, 1985.
- BARROS, F.; ARAÚJO, A.A.M. 2012. *Aristolochiaceae in* **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB080576> Acesso em: 23/09/12.
- BERTEA, C.M. et al. (2005) Identification of intermediates and enzymes involved in the early steps of artemisinin biosynthesis in Artemisia annua. Planta Med. 71, 40–47.
- BÉJAR, E., REYES-CHILPAS, R., JIMÉNEZ-ESTRADA, M., 2000. In: Atta-ur-Rahman (Ed.), Studies in Natural Products Chemistry, vol. 24. Elsevier Science Publisher, Amsterdam, pp. 799–844. Bioactive compounds from selected plants used in the XVI century mexican traditional medicine.
- BIZZO, H. R.; Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 3, 588-594, 2009.
- BLANK, A.F. et al. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 17(4): 557-564, 2007.
- BLANK, A.F. et al. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (Melissa officinalis L.) cultivada em dois ambientes. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.1, p.73-78, 2005.
- BOTREL, P.P. et al. Teor e composição química do óleo essencial de Hyptis marrubioides Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade. **Acta Scientiarum. Agronomy. Maringá,** v.32, n.3, p.533-538, 2010.
- BRANDÃO, M. Plantas produtoras de tanino nos cerrados mineiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 15, n. 168, p. 38-46, 1991.
- BRANT, R.S. Teor do óleo essencial de cidrão [Aloysia triphylla (L'Hér.) Britton] em função da variação sazonal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.10, n.2, p.83-88, 2008.

- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normas climatológicas 1960-1991.** Brasília, 1992. 84p.
- BRENNA, E.; CLAUDIO, F.; SERRA, S. Enantioselective perception of chiral odorants. Tetrahedron: Asymmetry Pergamon, v. 14, p. 1-42, 2003.
- CALIXTO, J.B.; Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2000**, *33*, 179.
- CALIXTO, J.B. Medicamentos fitoterápicos. p. 297-315. In: R.A. Yunes & J.B. Calixto. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna.** Chapecó, Argos Ed., 2001.
- CARNEIRO, F.J. et al. Bi-and tetraflavonoids from *Aristolochia* species. **Phytochemistry** 55(7):823-832, 2000.
- CARVALHO FILHO, J.L.S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 16(1): 24-30, 2006.
- CASTELLANI, D.C.; CASALI, V. W. D.; SOUZA, A. L.; CECON, P. R.; CARDOSO, C. A.; MARQUES, V. B. Produção do óleo essencial em catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss) e negramina (*Siparuna guianensis* Aubl.) em função da época de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, p.62-5, 2006.
- CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, v. 27, p. 55-57, 2004.
- CASTRO, N.E.A. et al. Avaliação de rendimento e dos constituintes químicos do óleo essencial de folhas de Eucalyptus citriodora Hook. colhidas em diferentes épocas do ano em municípios de Minas Gerais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.10, n.1, p.70-75, 2008.
- CASTRO, V.S.; LORENZZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. p 354-357.
- CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. 1990. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil (*Ocimum* spp.). **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 115:458-462.
- CORDELL, G.A.; COLVARD, M. D. Some thoughts on the future of ethnophamacology. Journal of Ethnopharmacology, v. 100, p. 5-14, 2005.
- COSTA, E. L.; HIME, N. C. Rodriguesia 1981, XXXIII, 23.
- CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C.; Quim. Nova 1993, 16, 224.

- CRAVOTTO, G.; BOFFA, L.; GENZINI, L.; GARELLA, D. Phytotherapeutics: an evaluation of the potential of 1000 plants. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics (2010) 35, 11–48.
- DAVIS, C.C.; ANDERSON, W.R.; DONOGHUE, M.J. (2001) Phylogeny of Malpighiaceae: evidence from chloroplast *ndhF* and *trnl-F* nucleotide sequences. Am J Bot 88:1830–1846.
- DIAS, B.F.S. 2008. Conservação da biodiversidade no bioma Cerrado: histórico dos impactos antrópicos no bioma Cerrado. *In*: Faleiro, F.G. & Farias Neto, A.L. Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. p. 303-333.
- EVANS, W. C.; *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 14th ed., WB Saunders Company: London, 1996, cap. 7.
- FARIA, E.A. de; LELES, H.I.G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Eclética Química**, Marília, SP, v. 27, 2002.
- FONSECA, M.C.M.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A. Influência da época e do horário de colheita nos teores de óleo essencial e de taninos em couve-cravinho (*Porophyllum ruderale*) (Jacq.) Cassini. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.2, p.75-79, 2007.
- FRANCISCO, M.C.; NASSER, A.L.M.; LOPES, L.M.X. 2003. Tetrahydroisoquinoline lkaloids and 2-desoxyribonolactones from Aristolochia arcuata. *Phytochemistry* 62, 1265–1270.
- FRANCISCO, M.C.; MESSIANO, G.B.; LOPES, L.M.X.; TININIS, A.G.; OLIVEIRA, J.E.; CAPELLARI- JR, L. Classification of Aristolochia species based on GC–MS and chemometric analyses of essential oils. *Phytochem.* **2007**, *Phytochemistry* 69 (2008) 168–175.
- GAVILANE, M. L.; BRANDÃO, M.; CARDOSO, C. Plantas da formação do cerrado com possibilidade para ser empregadas como ornamentais em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 15, n. 168, p. 21-28, 1991.
- GIACOMETTI, D.C. 1989. Ervas condimentares e especiarias. Livraria Nobel S.A. p. 15-43.
- GIRARD, E.A., Volume, Biomassa e Rendimento de Óleos Essenciais do Craveiro (*Pimenta pseudocaryophyllus (Gomes) Landrum*) em Floresta Ombrófila Mista, Curitiba-PR, Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná, 75 f., 2005.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P.; Quim. Nova. 2007, 30, 374.
- GOH, L. M.; BARLOW, P.J. (2002). Antioxidant capacity in *Ginkgo biloba*. Food Res. Int. 35: 815-820.

- GOTTILIEB, O. R.; HENRIQUES, M., P.; TAVEIRA M. M. Triterpenoids from *Byrsonima verbascifolia*. *Phytochemistry*, v. 14, n. 5-6, p. 1456-1456, 1975.
- HARBORN, J. B.; WILLIAMS, C. A.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 481; Liu, J.; *J. Ethnopharmacol.* **1995**, *49*, 57.
- HARIDASAN, M. Nutrição Mineral de Plantas Nativas do Cerrado. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.12, n.1, p.54-64, 2000.
- HERRERA-RUIZ, M.; ZAMILPA, A.; GONZÁLEZ-CORTAZAR, M.; REYES-CHILPAS, R.; LEON, E.; GARCIA, J.; TORTORIELO, J.; HUERTA-REYES, M. 2011. Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia*. Phytomedicine 18 (2011) 1255–1261.
- HERTWING, V.I.F. **Plantas aromáticas e medicinais:** plantio, colheita, secagem e comercialização. São Paulo, SP: Ícone, 1986. 441p.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa de Biomas e de Vegetação. Comunicação Social 21 maio 2004.** Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1 69>. Acesso em: 09 jun. 2012.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Plant systematics**: a phylogenetic approach. 3rd ed. Sunderland, U.S.: Sinauer Associates, 2007. p. 268-271.
- KELLY, L.M.; GONZÁLES, F.; Syst. Bot. 2003, 28, 236.
- KIM, S.; JUNG, J.; AHNA, J.; RESTIFO, L. L.; KWONA, H. *Drosophila* as a model system for studying lifespan and neuroprotective activities of plant-derived compounds. Journal of Asia-Pacific Entomology 14 (2011) 509–517.
- KLINK, C.A.; MOREIRA, A.G.; 2002. Past and current human occupation, and land use. In: Oliveira, P.S., Marquis, R.J. (Eds.), The Cerrados of Brazil. Columbia University Press, New York, pp. 69–88.
- KLINK, C.A.; MACHADO, R.B.; 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. Conserv. Biol. 19, 707–713.
- LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; GODINHO, R. O.; LIMA, T.C.M. 1999. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. P. 183-198.
- LEAL, T. C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J. F. S.; CARVALHO, A. J. C. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.). **Revista Ceres**, v.48, n.455, p.445-54, 2001.
- LETCHAMO, W.; GOSSELIN, A. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of Thymus vulgaris are influenced by light intensity and water supply. Journal of Horticultural Science, Kent, v. 71, n. 1, p. 123-134, jan. 1996.
- LEITÃO, G. G.; KAPLAN, M. A. C. Rev. Bras. Farm. 1992, 73, 65.

- LIMA, Z. P.; SANTOS, R. C.; TORRES, T.U.; SANNOMIYA, M.; RODRIGUES, C. M.; SANTOS, L.C.; PELLIZZON, C.H.; ROCHA, L. R. M.; VILEGAS, W.; BRITO, A. R. M. S.; CARDOSO, C. R. P.; VARANDA, E. A.; MORAES, H. P.; BAUAB, T. M.; CARLI, C.; CARLOS, I. Z.; LIMA, C. A. A. *Byrsonima fagifolia*: An integrative study to validate the gastroprotective, healing, antidiarrheal, antimicrobial and mutagenic action. Journal of Ethnopharmacology 120 (2008) 149–160.
- LIN, Z.J. et al. (2005) Simultaneous determination of glycyrrhizin, a marker component in Radix glycyrrhizae, and its major metabolite glycyrrhetic acid in human plasma by LC-MS/MS. J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 814, 201–207.
- LORENZI, H.; MATOS, J.A.; GOMES, O. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p.324, 2002.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. v. 2. 384 p.
- LOPEZ, A.; HUDSON, J. B.; TOWERS, G. H. N. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 77 (2001) 189–196.
- LOPES, L.M.X.; BOLZANI, V.S.; TREVISAN, L.M.V. Clerodane diterpenes from *Aristolochia* species. **Phytochemistry** 26: 2781-2784, 1987.
- LOPES, L.M.X.; BOLZANI, V.S. Lignans and diterpenes of three *Aristolochia* species. **Phytochemistry** 27: 2265-2268, 1986.
- LOPES, L. M. X.; NASCIMENTO, I. R.; SILVA, T. Phytochemistry of the Aristolochiaceae family. **Research Advances in Phytochemistry**, v. 2, p. 19-108,2001.
- LOPES, R.C.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; CECON, P.R. 2001. Influência de três regimes hídricos na produção de óleo essencial em sete acessos de *Polygonum punctatum* Ell. Revista Brasileira de Plantas Medicinais 3: 7-10.
- LOPES, N. P.; KATO, M. J.; DE AGUIAR ANDRADE, E. H.; SOARES MAIA, J. G.; YOSHIDA, M. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamenses* leaves. **Phytochemistry**, v.46, n.4, p.689-693, 1997.
- MACHADO, M.B.; LOPES, L.M.X., 2005. Chalcone–flavone tetramer and biflavones from Aristolochia ridicula. Phytochemistry 66, 669–674.
- MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF. 26p.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.
- McGARVEY, D. J.; CROTEAU, R. Terpenoid metabolism. Plant Cell, v.7, n.7, p. 1015-26. 1995.

MAHMOUD, S.S.; CROTEAU, R.B. (2002) Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. Trends Plant Sci. 7, 366–373

MAMEDE, M.C.H. 2012. *Byrsonima in* **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB019434 Acesso em: 23/09/12.

MARTINS, E.R., CASTRO, D.M., CASTELLANI, D.C., DIAS. J.E. **Plantas medicinais.** Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária, 1996. 220p.

MATOS, J.K.A. Plantas medicinais: aspectos agronômicos. Brasília: Ed. do autor, 1996. 52 p.

MENDANHA, D. M., FERREIRA, H. D., FELÍCIO, L. P., SILVA, E. M., PEREIRA, D.G., NUNES, W. B., CARVALHO, S., 2010. Modulatory effect of *Byrsonima verbascifolia* (Malpighiaceae) against damage induced by doxorubicin in somatic cells of Drosophila melanogaster. Genet. Mol. Res. 9, 69–77.

MENDES, C. L. A. Triterpenóides e a sua Actividade Anti-Inflamatória. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa (2004).

MENDONÇA, R. C.; FEFILIL, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA, Júnior, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E.; FAGG, C. W. Flora vascular do Bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. *In*: Sano, S. M.; Almeida, S. P.; Ribeiro, J. F. Cerrado: ecologia e flora. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2008. v2. 1279p.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2001**, 11, 21.

MESSIANO, G. B. **Terpenos e lignanas de Aristolochiaceae**. 2010. 128 f. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química. Araraquara, 2010.

MITERMEIER, R.A.; GIL, P.R.; HOFFMAN, M.; PILGRIN, J.; BROOKS, T.; MITTEMEIER, C.G., LAMOREUX, J.; FONSECA, G.A.B.; 2005. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Conservation international, Arlington, Virginia.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. 2007. Mapa de Cobertura Vegetal dos Biomas Brasileiros.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Horticultura Brasileira, v. 27, n. 2, 2009, 4050-4063.

MOREIRA, L. Q.; VILELA, F. C.; ORLANDI, L.; DIASA, D. F.; SANTOS, A. L. A.; SILVA, M. A.; PAIVA, R.; ALVES-DA-SILVA, R.; GIUSTI-PAIVA, A. Anti-inflammatory effect of extract and fractions from the leaves of *Byrsonima intermedia* A. Juss. in rats. Journal of Ethnopharmacology 138 (2011) 610–615.

- MOUCHREK FILHO, V. E. Estudos Analíticos e modificações químicas por metilação e acetilação do eugenol contido no óleo essencial extraído das folhas da espécie *Pimenta dióica* Lindl. São Carlos. 2000, 124p. Tese (Doutourado) Instituto de Química de São Carlos, USP.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature, 403: 853-858.
- NÓBREGA, R. C.; ENCINAS, J. I. Uso atual do solo do projeto ecomuseu do cerrado. **Revista Árvore**, v.30, n.1, p.117-122, 2006.
- NUNES, G.P.; SILVA, M.F.; RESENDE, U.M.; SIQUEIRA, J.M.; 2003. Plantas Medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Rev Bras Farmacogn* 13: 83-92.
- OLIVEIRA, C. L. F.; LIMA, I. L., **Óleos essenciais de eucalipto**. In: IV Simpósio de Ciências Aplicadas da FAEF. Anais. Garça: FAEF, 2001, pg. 107-111.
- ORLANDI, L.; VILELA, F. C.; SANTA_CECÍLIA, F. V.; DIAS, D. F.; SILVA, G. A.; PAIVA, A. G. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the stem bark of *Byrsonima intermedia* A. Juss. Journal of Ethnopharmacology 137 (2011) 1469–1476.
- OTERO, R. et al. Snakbites and etnobotany in the northest region of Colombia. Parte III: Neutralization of the hemorhagic efect of *Bothrops atrox*. Venon. *Journal of Etnopharmacology*, v. 73, p. 233-241, 2000.
- PACHECO, A. G. Estudo fitoquímico de *Aristolochia esperanzeae* Kuntze. 2009. 242 f. Dissertação (mestrado) UFMG, Belo Horizonte, 2009.
- PACHECO, A.G.; SILVA, T.M.; MANFRINI, R.M.; SALLUM, W.S.T.; DUARTE, P.; PILÓ-VELOSO, D.; ALCÂNTARA, A.F.C. ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO CAULE DE *Aristolochia esperanzae* Kuntze (ARISTOLOCHIACEAE). *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 8, 1649-1652, 2010.
- PERES, L.E.P. Metabolismo Secundário. Piracicaba São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ/USP. 2004. p. 1-10.
- PINO, J.A., MARBOT, R., PAYIO, A., CHAO, D., HERRERA, P. 2006. Aromatc plants from wester Cuba VII. Composition of the leaf oils of *Psidium wrightii* Krug et Urb., *Lantana involucrate* L., *Cinnamomum montanum* (Sw.) Berchtold et J. Persl. And *Caesalpinia violaceae* (Mill.) Standley. Journal of Essential oil Research 18: 170-174.
- POON, W. T.; LAI, C. K.; CHAN, A. Y. W.; Hong Kong J. Nephrol. 2007, 9, 7.
- PRIESTAP, H. A.; VAN BAREN, C. M.; LIRA, P. L.; COUSSIO, J. D.; BANDONI, A. L.; Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. *Phytochem.* **2003**, 63, 221.
- PRINS, C.L.; LEMOS, C.S.L.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmaninus officinalis*) **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.8, n.4, p. 92-95, 2006.

- RATTER, J.A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J.F., 2003. Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. Edinburgh J. Bot. 60, 57–109
- RIBEIRO, A.Q.; LEITE, J.P.V.; DANTAS-BARROS, A.M.; 2005. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. *Rev Bras Farmacogn 15*: 65-70.
- RODRIGUEZ-CONCEPCION, M. (2004) The MEP pathway: a new target for the development of herbicides, antibiotics and antimalarial drugs. Curr. Pharm. Des. 10, 2391–2400
- SAKAMOTO, H. T.; GOBBO-NETO, L.; CAVALHEIRO, A. J.; LOPES. N. P.; LOPES, J. L. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1396.
- SALES, J. F.; PINTO, J. E. B. P.; BOTREL, P. P.; OLIVEIRA, C. B. A.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; SERAPHIN, J. C. Composition and chemical variability in the essential oil of Hyptis marrubioides Epl. Journal of Essential Oil Research V. 19, n. 6, p. 552-556, 2007.
- SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v.34, p.3-21, 2001.
- SANNOMIYA, M.; FONSECA, V. B.; SILVA, M. A. et al. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 1-6, 2005.
- SANTOS, A.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C. & NETO, O.G.R. 2004. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Comunicado técnico 99. Belém. Embrapa Amazonia Oriental.
- SANTOS, M. R. A.; INNECO, R.; Rev. Ciên. Agronomy. 2003, 34,5.
- SANTOS, A. et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**19(2A): 436-441, 2009.
- SANTOS, P.M.C, ALVES, M.S., SILVA, D.A., CARNEITRO, C.L. & FERNANDES, M. M. 2009. Monitoramento do desmatamento no Cerrado, porção oeste da Bacia do Rio São Francisco: uma análise dos produtos NDVI e Modelo de Mistura Espectral. *In*: XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Natal, RN. Anais... São José dos Campos, SP, INPE.
- SCHMIDT, F.B. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.10, n.2, p.1-5, 2008.
- SCHUHR, C.A. et al. (2003) Quantitative assessment of crosstalk between the two isoprenoid biosynthesis pathways in plants by NMR spectroscopy. Phytochem. Rev. 2, 3–16.

- SILVA, C.J.; FERREIRA, H. D.; FERRI, P. H.; NUNES, W.B., et al. (2006). Ausência de atividade mutagênica de *Guazuma ulmifolia* Lamb. (mutamba) em células somáticas de *Drosophila melanogaster. Rev. Biol. Neotrop.* 3: 163-168.
- SILVA, F.G.; PINTO, J.E.B.P.; CARDOSO, M.G.; NASCIMENTO, E.A.; NELSON, D.L.; SALES, J.F.; MOL, D.J.S. Influência do nível de irradiância no crescimento da planta, rendimento e composição do óleo essencial em carqueja. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 30, n. 1, p. 52-57, jan./fev., 2006.
- SILVA, D. B. da; SILVA, J. A. da; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. de. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2001. 179p.
- SILVA, F., CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleo essencial.** 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitotecnia, 2000. 153p.
- SILVA-SANTOS, A. et al. Analysis of uses of essential oils and terpenics/terpenoids compounds by pharmaceutical industry through USPTO granted patents. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.10, n.1, p.8-15, 2008.
- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. 2003. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p.387-416.
- SIMPLÍCIO, F. G.; PEREIRA, M. M. Aspectos Químicos e Farmacológicos de *Byrsonima* (MALPIGHIACEAE) *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 6, 1032-1041, 2011.
- SOUZA, W.P. et al. Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.8, n.4, p. 108-111, 2006.
- SOUZA, M.F. et al. Influência do horário de coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. **Biotemas,** v.24, n.1, p.9, 2011.
- SOUZA, T. J. T. Determinação da composição química e avaliação preliminar das atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae). 2007. 232 f. Dissertação (mestrado). Porto Alegre. UFRS, 2007.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H.. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.
- SOUZA, F. J. L. de; SILVA, J. R. C.; SILVA, F. J. da. Manejo de neossolo uartzarênico e seu potencial de cultivo com murici (*Byrsonima crassifolia*) em assentamentos de reforma agrária do litoral do Ceará. **Magistra**, Cruz das Almas, BA, v. 15, n. 2, 2003.
- STASI, D.; CLAUDIO, L. *Plantas Medicinais na Amazônia I*, Ed. UNESP, São Paulo, 1989.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3.ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002. p.283-307.

TAVEIRA, F.S.N., LIMA, W.N., ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G.S. 2003. Seasonal essential oil variation of Aniba canelilla. 2003. Biochemical Systematics and Ecology 31: 69-75.

VASCONCELOS FILHO, S. C. Caracterização anatômica e histoquímica de folhas, calogênese e fitoquímica de calos de murici [*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich. ex Juss.] 2008. 70 f. Dissertação (mestrado) – UFV, Viçosa, 2008.

VICENTINI, A.; ANDERSON, W. R. Em *Flora da Reserva Ducke - guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme da Amazônia Central*; Ribeiro, J. E. L. S.; Hopkins, M. J. G.; Vicentini, A.; Sothers, C. A.; Costa, M. A. S.; Brito, J. M.; Souza, M. A.; Martins, L. H. P.; Lohmann, L. G.; Assunção, P. A. C. L.; Pereira, E. C.; Silva, C. F.; Mesquita, M. R.; Procópio, L. C., eds.; INPA-DFID: Manaus, 1999, p. 505-511.

VIEIRA, R.F. et al. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**, Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 14-15, 20.

VILA, R.; MUNDINA.; MUSCHIETTI, L.; PRIESTAP, H.A.; BANDONI, A.L.; ADZET, T.; CANIGUERAL, S. Volatile constituints of leaves, roots and stems from *Aristolochia elegans*. Phytochemistry. Vol. 46, n. 6, p. 1127-1129, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with referente to contaminants and residues. Geneva: WHO, 2007. 105 p.

WU, T.; DAMU, A.G.; SU, C.; KUO, P.; Chemical and phylogenetic relationships among Aristolochia L. (Aristolochiaceae) from southeastern Brazil. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21, 594.

WU, T.; CHAN, Y.Y.; LEU, Y.L.; J. Nat. Prod. 2001, 64, 71.

YU, J.Q.; LIAO, Z. X.; CAI, X.Q.; LEI, J.C.; ZOUC, G.L.; Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **2007**, 23, 162.

OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar a influência da variação circadiana e sazonal no teor e composição química do óleo essencial das espécies *Aristolochia cymbifera* Mart & Zucc e *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss;
- Estabelecer os pontos de colheita de folhas de *A. cymbifera e B. verbascifolia* a fim de maximizar o teor de óleo essencial.

CAPÍTULO II

TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE Aristolochia cymbifera Mart & Zucc SOBRE A INFLUÊNCIA DA VARIAÇÃO SAZONAL E CIRCADIANA

RESUMO

Óleos essenciais são encontrados em várias partes de plantas, cuja produção é sensível a fatores ambientais, como sazonalidade e horário de coleta. Objetivou-se verificar o teor e a composição química do óleo volátil de folhas e ramos de *Aristolochia cymbifera* Mart & Zucc., coletadas em diferentes horários e épocas. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em Clevenger e analisados por CG/EM. O experimento consistiu de um fatorial 12x3 (épocas x horários), com delineamento experimental em blocos ao acaso com três repetições. As análises químicas indicaram maiores concentrações de sesquiterpenos hidrocarbonados (24% a 62,3%). Houve interação entre a variação sazonal e circadiana, no teor de óleo essencial e de monoterpenos hidrocarbonados, com maiores teores observados no mês de setembro (0,24; 0,23 e 0,19%) para os horários 6h, 12h e 18h. Para os demais terpenos houve influência apenas da sazonalidade. Para o constituinte majoritário, biciclogermacreno (13,66%), também ocorreu interação entre os fatores e no mês de março foram observadas maiores concentrações relativas (28,06%; 44,12% e 28,75%).

Palavras-chave: jarrinha, monoterpenos, sesquiterpenos

CHAPTER II

CONTENT AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF Aristolochia cymbifera Mart & Zucc ON THE INFLUENCE THE SEASONAL AND CIRCADIAN VARIATION

ABSTRACT

Essential oils are found in many parts of plants, whose production is sensitive to environmental factors such as seasonality and time of collection. This study aimed to verify the content and chemical composition of volatile oil from leaves and stems of *Aristolochia cymbifera Mart & Zucc.*, collected at different times and seasons. Essential oils were extracted by hydrodistillation in Clevenger and analyzed by GC / MS. The experiment consisted of a factorial 12x3 (times x hours), a randomized block design with three replications. The chemical analysis indicated higher concentrations of sesquiterpene hydrocarbons (24% to 62.3%). There was interaction between the circadian and seasonal variation in the essential oil content and in the hydrocarbon monoterpenes, with higher concentrations observed in September (0.24, 0.23 and 0.19%) for the hours 06:00, 12: 00 and 18:00. For other terpenes there was only influence of the seasonally. For the majority constituent, bicyclogermacrene (13.66%), there was also interaction of factors, and it was observed in March the greatest relative concentrations (28.06%, 44.12% and 28.75%).

Key words: jarrinha, monoterpenes, sesquiterpenes

INTRODUÇÃO

No Brasil, o cultivo de plantas medicinais tem se mostrado como uma alternativa promissora e inovadora, despertando um grande interesse dentro do segmento do agronegócio. O consumo de medicamentos derivados de plantas tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, entre todas as classes sociais, principalmente para o tratamento de desordens do trato digestivo, do sistema nervoso central e de doenças respiratórias. Os metabólitos secundários são os compostos de maior interesse nas plantas, por conter princípios ativos que são os responsáveis pelas atividades terapêuticas e biológicas, entretanto um dos principais obstáculos ao seu processamento nas indústrias de fitomedicamentos e cosméticos é a influência dos fatores ambientais e fisiológicos sobre a produção e concentração de seus constituintes. ²

Os óleos essenciais constituem um tipo de metabólito secundário de plantas que tem grande importância econômica, destacando-se nos setores alimentício, farmacêutico, perfumaria e agricultura. Por esta razão, vem crescendo, mesmo que de forma lenta, o número de estudos sobre a constituição e propriedades biológicas dessas essências, bem como os fatores taxonômicos, ambientais e de cultivo que levam à variação tanto na quantidade como na qualidade desses óleos.³ A produção destes óleos é sensível a vários fatores ambientais, tais como sazonalidade e horário de coleta. A época em que uma droga é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano.⁴ Existem, também, cada vez mais estudos mostrando que a composição destes metabólitos secundários de uma planta pode variar apreciavelmente durante o ciclo dia/noite, tendo sido descritas, por exemplo, variações circadianas nas concentrações de óleos essenciais e alcaloides.⁵⁻⁶ Assim, o conhecimento da influência desses fatores é importante nas decisões agronômicas de cultivo e colheita das plantas medicinais.⁷

A família Aristolochiaceae se divide em cerca de sete gêneros, encontrados em diferentes regiões climáticas do mundo, com quase 600 espécies, distribuídas em grande maioria nos trópicos, ou em menor intensidade nos subtrópicos e zonas temperadas. No Brasil esta família é representada por três gêneros: *Aristolochia, Holostylis* e *Euglypha*. Alguns autores relatam que o gênero *Aristolochia* é composto por cerca de 400 a 500 espécies, concentradas em regiões tropicais, 10-12 sendo que entre 60 a 90 ocorrem no Brasil, a em que são conhecidas popularmente como jarrinha, patinho, cipó mil-homens, papo-de-peru, mata-porcos, entre outros. O nome *Aristolochia* vem do grego (*aristos*:

excelente e lochios: parto), referindo-se ao uso tradicional popular como emenagoga e facilitador do parto. ¹⁴ Entre seus constituintes, há relatos de cerca de 275 terpenoides, 57 lignoides, 167 alcaloides e alcamidas e quase 100 derivados fenólicos. 15 Esta diversidade química contribui para diversas atividades farmacológicas, sendo que seu caule, rizoma, raízes e parte aérea são utilizados em vários países da América do Sul, como diurético, sedativo, antisséptico, sudorífico, ¹⁶ abortífero, estomáquico, antiofídico, antiasmático, expectorante e mais recentemente em terapias de emagrecimento. 15, 17-18 Entre os principais compostos secundários relatados no gênero Aristolochia estão os ácidos aristolóquicos, aristolactanas, alcaloides, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos. 13, 19 Os compostos químicos mais abundantes foram sesquiterpenos e diterpenos, totalizando cerca de 24 tipos de sesquiterpenos, incluindo cadinenos, aristolanas, germacrenos e bicyclogermacrenos.^{8,20} Embora os terpenos deste gênero tenham sido amplamente estudados, não há relatos sobre a influência de fatores ambientais na produção destes compostos, especialmente referente a espécie A. cymbifera Mart & Zucc. Sendo assim, justifica-se a realização deste trabalho, considerando que a utilização de plantas medicinais pela população mundial é crescente e as substâncias químicas responsáveis pelo efeito terapêutico representam o ponto de partida para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a variabilidade sazonal e circadiana no teor e composição química do óleo essencial das folhas de A. cymbifera.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Amostras das folhas e ramos apicais dos 40 cm da parte aérea de plantas nativas de *A. cymbifera* foram coletadas à partir de plantas adultas, localizadas em uma fazenda no município de Rio Verde-GO, cujas coordenadas são latitude (S) 17°57'56.1", longitude (WO) 50°57'10.1" e altitude de 687 metros, cuja exsicata se encontra depositada no Herbarium Jataiense, sob o número de registro 5.642. Foram delimitados grupos de plantas de *A. cymbifera* para representar os blocos 1, 2 e 3, separados entre si a uma distância de 1000 m. As coletas mensais foram realizadas sempre na terceira semana, nos respectivos blocos durante doze meses (agosto de 2010 a julho de 2011) em três horários diferentes (6:00, 12:00 e 18:00 h).

Após as coletas o material vegetal foi levado para a Seção de Produtos Naturais do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal Goiano/Câmpus Rio Verde-GO e submetido a desidratação em estufa com circulação forçada à temperatura máxima de 35 °C até massa constante momentos antes da extração. O material vegetal foi pulverizado em moinho de facas tipo Willye Modelo-TE-650, sem utilização de peneiras.

Extração dos óleos essenciais

Após a moagem, três amostras de 25 g de fitomassa foram tomadas para cada época de coleta, e três para cada horário, que foram transferidas para um balão volumétrico de 3000 mL e acrescentado um volume de 600 mL de água destilada. Para extração do óleo essencial o método utilizado foi o de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado por um período de duas horas. O óleo essencial foi separado do hidrolato por partição líquido-líquido, empregando três lavagens com diclorometano, a fase orgânica retirada e seca com sulfato de sódio anidro. O sal foi removido por filtração simples, e posteriormente o solvente orgânico foi evaporado à temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases, até peso constante. O óleo foi conservado em geladeira até as análises químicas. O teor de óleo essencial foi expresso com base na matéria seca da amostra.

Análises químicas dos óleos essenciais

As análises químicas foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, em aparelho de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas quadrupular (CG-EM), Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão), nas seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida, modelo DB-5 (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 μm de espessura do filme) (Shimadzu, Japão), com fluxo de 1 mL.min⁻¹ de hélio como gás de arraste; a temperatura inicial do forno foi de 60°C, mantendo uma rampa de temperatura de 3°C.min⁻¹ até 240°C e, em seguida, uma rampa de 10°C.min⁻¹ até 270°C, mantendo uma isoterma de 7 min, totalizando 70 min. de corrida. A energia de ionização do detector foi de 70 eV, sendo o volume de injeção da amostra de 1,0 μL diluídas em diclorometano (grau ultrarresíduo, Baker, EUA) em uma razão de injeção de 1:20. As análises foram realizadas em triplicata. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220 e 240 °C, respectivamente. A análise foi conduzida no modo

varredura, a uma velocidade de 2,0 varredura.s⁻¹, com um intervalo de massas de 45-500 *m/z*.

Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos espectros de massas obtidos, com os registros da biblioteca computacional Wiley e FFNSC 1.2 e também pela determinação dos índices de retenção (IR), ²¹ relativo a série de n-alcanos de (C₈-C₄₀), nas mesmas condições cromatográficas empregadas os óleos essenciais. Os valores assim obtidos foram então comparados com os índices de Kovats disponíveis na literatura.²²

Análise estatística

Para a determinação do teor e da composição química do óleo essencial das folhas e ramos novos de *A. cymbifera*, o delineamento utilizado foi blocos ao acaso em esquema fatorial 12 x 3, com três repetições, sendo 12 épocas e 3 horários de coletas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas a 5% de probabilidade utilizando o Sistema para Análise de Variância (SISVAR).²³

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo dos 12 meses estudados, maiores quantidades de folhas e ramos novos (Figura 1A, B e C), foram observadas entre os meses de agosto a outubro, coincidindo com os meses em que a precipitação, a umidade relativa do ar e a umidade do solo foram menores (Figura 2). A maior floração (Figura 1 D) ocorreu entre os meses de dezembro a março. Porém, flores esporádicas foram encontradas nos meses de agosto e junho. Maior frutificação (Figura 1 E) ocorreu entre os meses de março a maio. No mês de abril, ocorreu a maior maturação e deiscência dos frutos, quando aumentou a senescência e presença de folhas necrosadas (Figura 1 F), depois da alta precipitação do mês de março (Figura 2 C).

Teor de óleo essencial

Os óleos essenciais de *A. cymbifera* se caracterizaram por um líquido levemente amarelado, de baixa viscosidade e odor nauseobundo, com teores variando de 0,019% a 0,240%. A variação sazonal e circadiana influenciou o teor de óleo extraído das folhas e ramos de *A. cymbifera*, com interação significativa entre estes fatores (Tabela 1). Plantas coletadas às 6h, 12h e 18h, não tiveram diferenças no teor de óleo

essencial, exceto para os meses de outubro às 6h (0,058%) e novembro às 12h (0,066%). A escassa produção de óleo essencial às 6h da manhã no mês de outubro pode estar relacionada com a menor temperatura pela manhã, como resposta do metabolismo secundário às flutuações climáticas diárias, que normalmente determinam modificações menores e mais rápidas, além de variação da intensidade luminosa e da menor atividade fotossintética. As 12h o conteúdo de óleo essencial pode ser menor pelo calor excessivo e alta incidência de luz que podem causar volatilização do óleo essencial.

Para os demais meses, não houve influência dos horários sobre os teores de óleo essencial de *A. cymbifera*, nas condições do município de Rio Verde-GO indicando que a coleta pode ser realizada em qualquer horário analisado. Os maiores valores de teores de óleos essenciais foram observados no mês de setembro, independente do horário de coleta, com teores variando de 0,24; 0,23 e 0,19% respectivamente para os horários de 6h, 12h e 18h. Neste mês, as plantas estavam em intenso crescimento vegetativo. Os menores teores foram constatados em plantas coletadas às 6h, nos meses de janeiro a abril, junho a agosto e outubro, às 12h, nos meses de junho a agosto e novembro, enquanto que às 18h, os menores teores foram obtidos nos meses de março a agosto e outubro (Tabela 1).

No decorrer do dia ocorrem variações da intensidade luminosa e da temperatura atuando diretamente em processos primários, como fotossíntese e respiração, que pode influenciar indiretamente a produção de metabólitos secundários e os constituintes do óleo essencial, cuja síntese depende de produtos do metabolismo primário. A intensidade da luz pode, também, alterar a produção de óleo essencial por meio de ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na rota do ácido mevalônico, precursor dos terpenos que são constituintes químicos das essências.²⁷ Estes fatores contribuem indiretamente para a variação circadiana e sazonal, visto que a temperatura e a intensidade luminosa se alteram no decorrer do dia e durante as épocas do ano.

Análise química

Os principais componentes encontrados nos óleos essenciais das folhas de *A.cymbifera* estão relacionados na ordem de eluição em coluna DB-5 (Tabela 2). A composição química qualitativa e quantitativa do óleo essencial da parte aérea de *A. cymbifera* foi altamente influenciada pela variação sazonal (Tabela 2). Do ponto de vista qualitativo, observou-se que os compostos aromadendreno, β-selineno,

biciclogermacreno, germacreno-B, (E)-nerolidol, espatulenol e viridiflorol, foram presentes em todos os meses avaliados, enquanto algumas substâncias como limoneno, linalol, geraniol, α -copaeno, β -borboneno e outras não foram detectadas em todos os meses. Em um estudo do óleo essencial de folhas frescas desta mesma espécie, foram identificadas as substâncias α -cubebeno, β -cariofileno, t- α -bergamopteno, germacreno A, α -farneseno, α -copaeno e β -borboneno, α -sendo que as duas últimas também foram encontradas no presente trabalho.

Dentro do período avaliado foram identificados 53 constituintes químicos, os quais se caracterizaram por apresentar uma faixa de concentração de 0,00% a 7,86% de monoterpenos oxigenados, 0,11% a 11,16% de monoterpenos hidrocarbonados, 17,18% a 36,51% de sesquiterpenos oxigenados, 24,00% a 62,3% de sesquiterpenos hidrocarbonados e 0,00% a 10,91% das substâncias foram identificadas como álcoois, ácidos, hidrocarbonetos e aldeídos, demonstrando a expressiva variação quantitativa e qualitativa observada nas amostras analisadas.

No óleo essencial das folhas e ramos novos de *A. cymbifera* houve um predomínio de sesquiterpenos. Para a classe dos monoterpenos hidrocarbonados houve interação entre os fatores, época e horário de coleta, indicando que um fator exerceu influência sobre o outro. Desta forma, a maior porcentagem deste grupo foi observada em janeiro de 2011 às 12h (19,59%), quando comparada às demais épocas e horários (Tabela 1). Neste mês a precipitação média foi maior que 250 mm, umidade relativa do ar maior que 80%, com média de temperatura de 24°C, chegando a atingir acima de 30°C durante o dia. Dias excessivamente quentes podem levar a perda de alguns metabólitos, mas geralmente a formação de óleos voláteis pode aumentar em temperaturas mais elevadas.^{4,29}

Para demais classes, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos as hidrocarbonados e sesquiterpenos oxigenados, não houve interação entre os fatores. Os monoterpenos oxigenados não foram detectados nas amostras de óleo essencial no mês de março de 2011. De agosto a outubro de 2010 e março a julho de 2011, não houve diferença nas porcentagens de áreas para esta classe sendo que durante este período, foram observadas as menores porcentagens (Tabela 3), coincidindo com um período de ausência de chuvas. As maiores porcentagens foram observadas no período de novembro de 2010 (3,91%) a fevereiro de 2011 (7,86%), demonstrando a influência da sazonalidade, principalmente relacionada à ocorrência de maiores índices pluviométricos.

Com exceção do mês de fevereiro de 2011 (24,00%), não houve diferenças estatisticamente significativas para as concentrações de sesquiterpenos hidrocarbonados no período estudado, sendo que este mês foi marcado pela floração, fase em que houve aumento nos teores de monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados, talvez associado atração de polinizadores. Menores porcentagens de áreas para os sesquiterpenos oxigenados foram observadas nos meses de setembro (17,82%), outubro (18,52%) e dezembro de 2010 (23,42%) (Tabela 3). Óleos essenciais de diferentes partes vegetais de dez espécies de *Aristolochia* tiveram elevada concentração de monoterpenos (60,9-100,0%) nos óleos de *A. malmeana*, *A. arcuata*, *A. gigantea*, *A. galeata* e *A. melastoma*, enquanto o óleo de *A. pubescens* apresentou uma predominância de monoterpenos oxigenados (59,9%). O óleo de *A. esperanzae* teve somente sesquiterpenos oxigenados (100,0%) e aqueles de *A. hamissonis*, *A. elegans* e *A. lagesiana* mostraram uma alta concentração de sesquiterpenos oxigenados (41,4-72,2%).

Não houve diferença entre os horários de coletas para os monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e sesquiterpenos oxigenados.

O componente majoritário do óleo essencial da parte aérea de *A. cymbifera* foi o sesquiterpeno hidrocarbonado biciclogermacreno. Houve interação dos fatores estudados (Tabela 4), e desta forma, para o biciclogermacreno, plantas coletadas em março de 2011 em qualquer dos três horários, foi a época com maior concentração relativa (28,06%; 44,12% e 28,75%) e maior índice pluviométrico (400mm) mensais. Possivelmente pode ter ocorrido menor diluição deste composto durante este período de chuvas excessivas. Inversamente, em fevereiro de 2011 foi o mês de menor concentração, independente do horário de coleta, e apesar de alto índice pluviométrico, pode ter ocorrido interação de fatores, já que esta época antecede a frutificação. Com exceção dos meses de março e maio às 6h e 18h, não houve diferenças estatísticas para as demais amostras analisadas. O sesquiterpeno biciclogermacreno, também foi o principal constituinte do óleo de *Aristolochia argentina* Gris. ³⁰ Outros trabalhos identificaram a presença do biciclogermacreno no óleo essencial de *Piper cernuum e P. regnellii*, ³¹⁻³² sendo que em *Cissus verticillata* L. (Vitaceae), foi constatado efeito antifúngico. ³³

Apesar de não se caracterizarem como majoritários, outros compostos se destacaram pelos teores obtidos: β -elemeno (4,22% a 11,60%), óxido de cariofileno (2,04% a 20,7%), α -himachaleno (0,58% a 10,45%), (E)-Nerolidol (0,58% a 12,45%) e espatulenol (1,02% a 11,06%), conforme Tabela 2. Assim como em *A. cymbifera*, os

constituintes α -copaeno, β -elemeno e α -humuleno foram identificados em A. gigantea e A. macroura. $^{34-35}$

Existem diversos trabalhos que relacionam a variação da composição química de óleos essenciais em função da variação sazonal. Os sesquiterpenos, (E)-cariofileno, biciclogermacreno, espatulenol e óxido de cariofileno foram os principais constituintes identificados no óleo essencial de *Elyunurus muticus* (Sprengel) O. Kuntze (Gramineae) e suas concentrações variaram de acordo com o período de coleta das plantas. ³⁶

Em *Hyptis marrubioides*, foi verificado que na estação do verão, o teor foliar de óleo essencial foi maior. Nas demais estações, os teores foram semelhantes entre si. Os componentes majoritários no óleo essencial foram os monoterpenoides α-tujona e β-tujona. Os sesquiterpenoides oxigenados (cedrol e cariofilenol) e não oxigenados (α-copaeno, α-cariofileno, germacreno D e cadaleno) foram encontrados em menores quantidades no óleo essencial, entretanto, observam-se diferenças quantitativas ao longo das estações.³⁷ Variação da composição do óleo essencial das folhas e também das flores colhidas em diferentes meses dos anos de 2001 e 2003 em dois espécimes de *Myrcia salzmannii* Berg. presentes no Parque Metropolitano da Lagoa do Abaeté, Salvador, também foi constatada.³⁸

CONCLUSÕES

O óleo essencial das folhas e ramos novos de *Aristolochia cymbifera* Mart & Zucc é constituído por monoterpenos hidrocarbonados e oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados, sendo a maior parte sesquiterpenos hidrocarbonados e a menor, monoterpenos oxigenados. A fração sesquiterpênica predominou, apresentando como componente majoritário do óleo essencial, o biciclogermacreno (13,66%).

Houve interação entre a variação sazonal e circadiana, no teor de óleo essencial e nas concentrações relativas de monoterpenos hidrocarbonados, sendo que ocorreu maior influência entre épocas e pouca influência entre horários de coleta. Para os demais, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados, houve influência apenas de sazonalidade. Para o constituinte majoritário, biciclogermacreno ocorreu interação entre sazonalidade e variação circadiana, entretanto houve maior influência sazonal e pouca variação circadiana.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os apoios recebidos de FAPEG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa e auxílio financeiro e ao Instituto Federal Goiano - Câmpus Rio Verde, GO pela infraestrutura.

REFERÊNCIAS

- 1. Lourenzani, A. E. B. S.; Lourenzani, W. L.; Batalha, M.O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar.; *Informações Econômicas.* **2004**, 34, 15.
- 2. Zaroni, M.; Pontarolo, R.; Abrahão, W. S. M.; Favero, M. L. D.; Correia Júnior, C.; Stremel, D. P.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2004**, 14, 29.
- 3. Simões, C. M.; Epgosman, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; Farmacognosia: da planta ao medicamento. Ed. da UFSC: Porto Alegre, **2004**.
- 4. Gobbo-Neto, L.; Lopes, N. P.; Quim. Nova. 2007, 30, 374.
- 5. Angelopoulou, D.; Demetzos, C.; Perdetzoglou, D.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2002**, 30, 198.
- 6. Itenov, K.; Molgaard, P.; Nyman, U.; *Phytochem.* **1999**, 52, 1229.
- 7. Fonseca, M.C.M.; Casali, V.W.D.; Barbosa, L.C.A.; *Rev. Bras. Plant. Med.* **2007**, 9,75.
- 8. Wu, T.; Damu, A.G.; Su, C.; Kuo, P.; Nat. Prod. Rep. 2004, 21, 594.
- 9. Francisco, C.S.; Messiano, G.B.; Lopes, L.M.X.; Tininis, A.G.; Oliveira, J.E.; Capellari Jr, L.; *Phytochem.* **2008**, 69,168.
- 10. Wu, T.; Chan, Y.Y.; Leu, Y.L.; J. Nat. Prod. 2001, 64, 71.
- 11. Yu, J.Q.; Liao, Z. X.; Cai, X.Q.; Lei, J.C.; Zouc, G.L.; Environmental Toxicology and Pharmacology. 2007, 23, 162.
- 12. Kelly, L.M.; González, F.; Syst. Bot. 2003, 28, 236.
- 13. Leitão, G.G.; Kaplan, M.A.C.; Rev. Bras. Farm. 1992, 73, 65.
- 14. Mengue, S. S.; Mentz, L. A.; Schenkel, E. P.; Rev. Bras. Farmacogn. 2001, 11, 21.
- 15. Lopes, L.M.X.; Nascimento, I.R.; Silva, T.; Rec. Adv in Phytochem. 2001, 2, 19.
- 16. Lorenzi, H.; Matos, F. J. A.; *Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas.* Nova Odessa: **2002**.
- 17. Ioset, J.-R.; Raoelison, G.E.; Hostettmann, K.; Food Chem. Toxicol. 2003,41, 29.
- 18. Francisco, M.C.; Nasser, A.L.M.; Lopes, L.M.X. Phytochem. 2003, 62, 1265.

- 19. Kumar, V.; Poonam; Prasad, A.K.; Parmar, V.S.; Nat. Prod. Rep. 2003, 20, 565.
- 20. Silva-Brandão, K.L.; Solferini, V.N.; Trigo, J.R.; *Biochemical Systematics and Ecology*. **2006**, 34, 291.
- 21. Van Den Dool, H.; Kratz, D. J.; J. of chromatography. 1963, 11,463.
- 22. Adams, R.P; *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. Carol Stream, Illinois, USA. Allured, **2007**.
- 23. Ferreira, D.F. Sisvar: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão
- 5.1 Build 72. Lavras: DEX/ UFLA, 2007.
- 24. Souza, M. F.; Nery, P. S.; Manganotti, S. A.; Matos, C. C.; Martins, E. R.; *Rev. Bras. de Agroecologia.* **2009**, 4.
- 25. Leal, T.C.A.B.; Freitas, S.P.; Silva, J.F.; Carvalho, A.J.C. Rev. Ceres, 2001, 48, 455.
- 26. Silva, S. R. S.; Demuner, A. J.; Barbosa, L. C. A.; Andrade, N. J.; Nascimento, E. A.; Pinheiro, A. L.; *Rev. Bras. Plant. Med.* **2003**, 6, 63.
- 27. Santos, M. R. A.; Inneco, R.; Rev. Ciên. Agronomy. 2003, 34,5.
- 28. Leitão, G. G.; Lopes, D.; Menezes, F. S.; Kaplan, M. A. C.; Craveiro, A. A.; Alencar, J. W. *J. Ess. Oil. Res.* **1991**, *3*, 403.
- 29. Evans, W. C.; *Trease and Evans' Pharmacognosy*, 14th ed., WB Saunders Company: London, **1996**.
- 30. Priestap, H. A.; Van Baren, C. M.; Lira, P. L.; Coussio, J. D.; Bandoni, A. L.; *Phytochem.* **2003**, 63, 221.
- 31. Constantin, M.B.; Sartorelli, P.; Limberger, R.; Henriques, A.T.; Steppe, M.; Ferreira, M.J.P.; Ohara, M.T.; Emerenciano, V.P.; Kato, M.J.; *Planta Med.* **2001**, *63*, 771.
- 32. Cysne, J.B.; Canuto, K.M.; Pessoa, O.D.L.; Nunes, E.P.; Silveira, E.R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, 16, 1378.
- 33. Silva, L.; Oniki, G.H.; Agripino, D.G.; Moreno, P.R.H.; Young, M.C.M.; Mayworm, M.A.S.; Ladeira, A.M.; *Rev. Bras. Farmacog.* **2007**, 7, 361.
- 34. Leitão, G. G. et al. Resumos do 39º Congresso Nacional de Botânica, Belém, 1988.
- 35. Wu, T. S.; Ou, L. F.; Teng, C. M.; Phytochem. 1994, 36,1063.
- 36. Hess, S. C.; Peres, M. T. L. P.; Batista, A. L; Rodrigues, J. P.; Tiviroli, S. C.; Oliveira, L. G. L.; Santos, C. W. C.; Fedel, L. E. S.; *Quim. Nova.* **2007**, 30, 370.
- 37. Botrel, P. P.; Pinto, J. E. B. P.; Ferraz, V.; Bertolucci, S. K. V. B; Figueiredo, F. C.; *Acta Scient. Agronomy.* **2010**, 32, 533.
- 38. Cerqueira, M. D.; Marques, E. J.; Martins, D.; Roque, N. F.; Cruz, F. G.; Guedes, M. L. S.; *Quim. Nova.* **2009**, 32, 1544.



Figura 1. Plantas de *Aristolochia cymbifera* Mart & Zucc. A, B e C - Surgimento de folhas e ramos novos em agosto, setembro e outubro, respectivamente. D - Florescimento iniciado em dezembro. E - Início da frutificação em março. F - Maturação e abertura dos frutos deiscentes, aumento da senescência e presença de folhas necrosadas após elevada precipitação do mês de março. Fotos: Henrique Antonio de Oliveira Lourenço

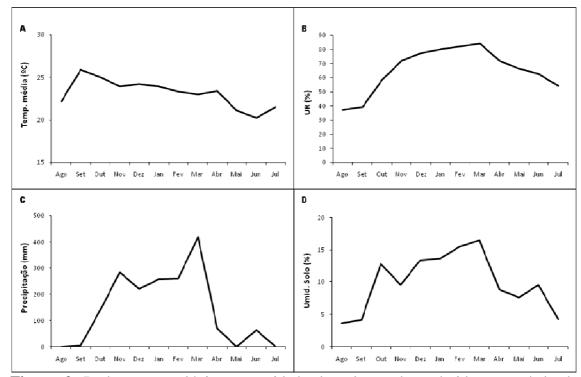


Figura 2. Dados meteorológicos e umidade do solo em base úmida no período de agosto de 2010 a julho de 2011, no município de Rio Verde-GO. A - Temperatura média (°C). B - Umidade relativa do ar (%). C - Precipitação (mm). D - Umidade do solo (%). Fonte: INMET/Universidade de Rio Verde.

Tabela 1. Teor de óleo essencial (TOE) e concentrações relativas de monoterpenos hidrocarbonados (MH) no óleo essencial das folhas e ramos novos de *Aristolochia cymbifera*, coletadas em diferentes horários do dia e épocas do ano. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011.

	Horário de coleta							
Época do	06:	06:00		:00	18:00			
ano	TOE	MH	TOE	MH	TOE	MH		
Agosto	$0,075 \text{ Ca}^{Z}$	4,13 Ba	0,019 Ba	0,00 Ca	0,089 Ba	0.56 Ba		
Setembro	0,240 Aa	3,18 Ba	0,231 Aa	2,84 Ca	0,191 Aa	6,73 Aa		
Outubro	0,058 Cb	1,17 Ba	0,160 Aa	2,66 Ca	0,111 Ba	2,24 Ba		
Novembro	0,161 Ba	0,34 Ba	0,066 Bb	0,00 Ca	0,185 Aa	1,64 Ba		
Dezembro	0,162 Ba	9,68 Aa	0,191 Aa	9,68 Ba	0,181 Aa	3,28 Bb		
Janeiro	0,122 Ca	4,00 Bb	0,188 Aa	19,59 Aa	0,153 Aa	9,90 Ab		
Fevereiro	0,120 Ca	10,84 Aa	0,167 Aa	3,92 Cb	0,179 Aa	0,31 Bb		
Março	0,120 Ca	0,00 Ba	0,130 Aa	0,00 Ca	0,131 Ba	1,65 Ba		
Abril	0,111 Ca	0,05 Ba	0,169 Aa	0,41 Ca	0,088 Ba	0,07 Ba		
Maio	0,147 Ba	0,30 Ba	0,127 Aa	0,00 Ca	0,132 Ba	0,25 Ba		
Junho	0,118 Ca	0,00 Ba	0,044 Ba	0,00 Ca	0,055 Ba	0,37 Ba		
Julho	0,132 Ca	0,00 Ba	0,081 Ba	0,00 Ca	0,094 Ba	0,32 Ba		

^ZMédias seguidas pela mesma letra maiúscula entre época do ano, minúscula entre horário não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial das folhas e ramos novos de *Aristolochia cymbifera*, coletadas entre agosto/2010 e julho/2011. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011.

COMPOSTO	IR*	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	$\bar{\bar{\mathbf{x}}}$
Hexanal	799	_	0,91	0,09-	-	-	0,55	0,53	_	-	-	-	_	0,17 d
(E)-2-Hexenal	839	_	_	0,06	_	_	-	1,48	_	_	_	_	_	0,13 d
Santolinatrieno	900	_	0,45	1,16	0,66	1,55	11,16	1,07	-	-	-	-	_	1,34 c
Ácido butanoico butil>éster	984	1,53	5,20	0,64	2,08	-	0,31	_	_	_	_	_	_	0,81 d
Limoneno	1021	1,56	3,80	0,86	_	6,00	-	3,95	0,55	0,18	0,18	0,12	0,13	1,44 d
(E)-3-Hexenol	1035	_	0,46	0,19	_	-	_	1,02	_	-	-	_	-	0,14 d
Óxido de (E)-Linalol	1090	0,18	0,09	-	1,22	-	0,85	-	_	-	-	-	-	0,20 d
Linalol	1098	-	0,19	-	0,72	0,24	_	-	_	-	-	-	-	0,10 d
Óxido de (Z)-Limoneno	1137	1,45	0,86	1,20	4,33	5,44	1,50	7,14	-	0,05	0,18	0,07	0,08	1,86 c
Non-6(Z)-enol	1170	-	-	-	1,51	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13 d
α-Terpineol	1190	-	0,17	0,61	-	1,23	0,14	0,40	-	0,01	-	-	-	0,21 d
Octano<3,7-dimethyl->	1194	-	1,82	-	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-	0,16 d
Geraniol	1270	-	-	-	-	-	1,43	0,32	-	-	-	-	-	0,15 d
Undec-10-enal	1301	0,03	0,66	0,42	-	0,47	0,17	0,42	-	-	0,04	-	-	0,18 d
Tridec-2(E)-enal	1309	-	0,61	0,15	-	1,44	-	-	-	-	-	-	-	0,18 d
α-Copaeno	1360	1,47	0,18	1,34	0,64	5,29	-	3,10	0,16	1,05	1,34	0,51	0,50	1,30 c
Ciclosativeno	1368	2,34	0,81	2,64	-	0,27	0,75	1,34	3,71	1,79	1,24	0,87	0,87	1,39 c
β-Bourbureno	1381	5,74	4,36	4,07	4,70	4,45	-	-	0,72	1,86	2,28	1,42	1,44	2,59 c
β-Elemeno	1390	11,44	11,60	8,82	7,02	4,22	-	4,36	4,99	6,68	9,76	7,02	6,82	6,89 b
Dodecanal	1403	-	-	-	0,64	-	-	1,32	-	-	-	-	-	0,16 d
(E)-β-Farneseno	1416	0,26	2,22	0,34	1,65	0,34	5,99	-	-	-	0,17	-	-	0,91 d
α-Santeleno	1428	-	0,80	-	0,82	1,32	-	-	-	-	-	-	-	0,25 d
Octe-6-enol<3,7dimetil>	1429	-	0,69	-	-	2,13	-	0,71	-	-	-	-	-	0,29 d
α-Himachaleno	1442	0,98	0,58	3,09	-	1,66	3,39	-	10,45	7,99	10,65	9,07	8,91	4,73 c
α-Humuleno	1452	1,89	4,09	2,35	3,63	3,84	3,41	4,93	-	1,09	1,13	1,04	1,04	2,37 с
γ-Gurjuneno	1460	0,24	0,05	1,24	1,40	2,07	-	1,36	-	1,51	1,65	1,80	1,78	1,09 d
Alloaromadendreno	1461	0,43	-	0,72	-	-	0,26	0,56	-	1,37	0,16	1,03	0,97	0,46 d
Germacreno D	1464	1,62	1,44	2,56	4,62	3,85	4,66	1,51	-	-	0,70	-	-	1,75 c
Aromadendreno	1470	6,31	6,25	1,90	4,70	4,28	3,80	2,79	1,92	1,76	2,22	2,71	2,54	3,43 c
β-Chamigreno	1476	1,21	0,10	0,21	0,37	- 0.05	-	-	-	0,19	0,11	- 0.47	- 0.46	0,18 d
Viridifloreno	1478	0,09	0,11	0,13	0,06	0,95	2.64	- 0.20	2.06	0,58	0,26	0,47	0,46	0,26 d
β-Selineno	1478	4,57	1,77 0,14	0,64	0,66	1,05	2,64	0,20	2,06	1,63	0,87	1,96	1,99	1,67 c
α-Curcumeno	1480	0,48	0,14	0,32	-	-	-	-		0,07 0,67	0,31	0,09	0,12	0,13 d
α-Muuroleno	1487 1489	0,16 2,25	4,65	0,11	16,24	7,23	5,25	1,19	33,64	,	0,94 12,12	0,52 23,54	0,51 22,91	0,24 d 13,66 a
Biciclogermacreno Valenceno	1492	2,23	4,03	14,24	10,24	1,23	3,23	1,19	33,04	20,67	12,12	0,28	0,28	0,24 d
β-Bisaboleno	1500	8,71	4,56	5,36	5,45	4,26	8,15	1,31	_	2,34	0,08	0,26	0,26	3,16 c
α-Bulneseno	1509	0,72	0,14	0,34		,20	- 0,13	0,23	0,59	_	0,03	-	-	0,17 d
Elemol	1542	0,07	0,40	0,36	1,68	1,09	3,57	2,00	-	1,09	0,37	0,72	0,73	1,01 d
Germacreno B	1547	0,39	0,69	1,51	2,25	1,91	3,13	0,83	4,06	5,13	4,47	4,10	4,11	2,72 c
(E)-Nerolidol	1553	8,78	4,47	5,02	7,65	7,22	0,58	0,97	12,45	11,65	12,89	14,33	14,19	8,35 b
Não identificado	1567	-	-	-,	0,94	-,	0,31	-,,,,		,	,	0,16	0,14	0,13 d
Espatulenol	1573	4,34	2,82	3,21	5,16	1,02	4,23	2,10	13,32	10,88	9,07	11,06	10,88	6,51 b
Óxido de cariofileno	1575	20,07	8,17	6,67	5,91	10,01	6,80	9,07	-	2,04	2,44	2,18	2,17	6,29 b
Viridiflorol	1579	1,39	0,54	0,74	2,78	0,78	2,90	3,87	0,85	4,63	8,43	3,78	3,76	2,87 c
Cedrol	1590	0,89	0,83	0,89	0,50	0,47	_	2,37	_	0,08	0,46	0,13	0,14	0,56 d
(Z)-α-trans-Bergamotol	1598	0,34	0,12	0,65	1,20	0,79	_	0,29	_	-	0,07	_	-	0,29 d
α-Muurolol	1641	0,15	0,21	1,02	0,48	0,42	3,14	_	_	0,94	0,45	0,51	0,51	0,65 d
β-Eudesmol	1645	0,11	0,18	0,52	-	0,46	0,61	0,48	-	-	-	0,02	0,13	0,21 d
(Z,Z)-Farnesol	1711	0,60	0,20	-	4,05	1,34	10,17	14,89	_	0,09	_	0,49	0,49	2,69 c
(Z)-Lanceol	1752	-	-	-	0,08	0,27	0,61	-	0,76	-	0,13	0,20	0,21	0,19 d
Nonadecano	1898	-	0,32	-	-	-	-	0,95	-	-	-	-	-	0,11 d
Eicosano	1995	-	0,24	0,05	-	-	0,14	1,10	-	-	-	-	-	0,13 d
Total identificado		92,79	78,96	76,55	94,47	91,20	90,08	80,92	89,47	88,14	85,05	90,20	87,07	87,08
Monoterpenos hidrocarbonados		1,56	4,25	2,02	0,66	7,55	11,16	5,03	0,55	0,18	0,18	0,12	0,11	2,78
Monoterpenos oxigenados		1,64	1,31	1,81	6,27	6,90	3,91	7,86	-	0,06	0,18	0,07	0,08	2,51
Sesquiterpenos hidrocarbonados		51,63	44,68	52,60	55,41	47,78	41,42	24,00	63,20	56,38	50,55	56,42	54,70	49,90
Sesquiterpenos oxigenados		36,40	17,82	18,52	28,48	23,42	32,00	36,51	26,62	31,52	34,10	33,42	32,04	29,24
			10.01	1.50	2.72	5 5 5	1 27	7.50			0.04			2.00
Outros (aldeídos, álcool, etc) Não identificado		1,56	10,91	1,59	2,72 0,94	5,55	1,27 0,31	7,52	-	-	0,04	-	0,14	2,60 0,13

IR*: índice de retenção experimental usando coluna DB-5. -: constituinte não detectado. Número de injeções por época: 9. Desvio padrão: ± 0,32.

Tabela 3. Concentrações relativas de monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e de sesquiterpenos oxigenados no óleo essencial das folhas e ramos novos de *Aristolochia cymbifera*, coletadas em diferentes épocas do ano. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011.

	Classes de terpenos						
Época do ano	Monoterpenos oxigenados	Sesquiterpenos hidrocarbonados	Sesquiterpenos oxigenados				
Agosto	1,63 B ^Z	51,63 A	36,40 A				
Setembro	1,31 B	44,68 A	17,82 B				
Outubro	1,81 B	52,60 A	18,52 B				
Novembro	3,91 A	55,41 A	28,48 A				
Dezembro	6,90 A	47,78 A	23,42 B				
Janeiro	3,91 A	41,42 A	31,99 A				
Fevereiro	7,86 A	24,00 B	36,51 A				
Março	0,00 B	62,29 A	26,62 A				
Abril	0,06 B	56,38 A	31,52 A				
Maio	0,18 B	50,55 A	34,09 A				
Junho	0,07 B	56,42 A	33,42 A				
Julho	0,08 B	54,69 A	32,04 A				

^ZMédias seguidas pela mesma letra maiúscula entre época do ano de colheita, não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Concentrações relativas de biciclogermacreno no óleo essencial das folhas e ramos novos de *Aristolochia cymbifera*, coletadas em diferentes horários do dia e épocas. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2011.

		Horário de coleta	
Época do ano	06:00	12:00	18:00
		Biciclogermacreno	
Agosto	0,72 Ca ^Z	2,79 Ca	3,23 Ca
Setembro	2,86 Ca	8,43 Ca	2,66 Ca
Outubro	14,85 Ba	18,68 Ba	9,19 Ba
Novembro	20,88 Ba	15,16 Ba	12,69 Ba
Dezembro	9,03 Ca	4,89 Ca	7,77 Ba
Janeiro	4,71 Ca	5,11 Ca	5,92 Ba
Fevereiro	1,37 Ca	2,19 Ca	0,00 Ca
Março	28,06 Ab	44,12 Aa	28,75 Ab
Abril	18,64 Ba	21,81 Ba	21,58 Aa
Maio	8,81 Cb	18,74 Ba	8,83 Bb
Junho	24,76 Aa	23,62 Ba	22,23 Aa
Julho	23,51 Aa	23,33 Ba	21,90 Aa

^ZMédias seguidas pela mesma letra maiúscula entre época do ano de colheita, minúscula entre horário não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

CAPÍTULO III

TEOR E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss. EM DIFERENTES ESTAÇÕES E HORÁRIOS DE COLETA

RESUMO

Alguns fatores podem influenciar a produção dos metabólitos especiais pela planta. Os terpenos são os componentes de óleos voláteis mais encontrados em várias partes de plantas. Objetivou-se avaliar a variação circadiana e sazonal no teor e composição química do óleo essencial extraído de folhas de murici (Byrsonima verbascifolia Rich. ex A. Juss.). O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em Clevenger e analisado por CG/EM. As análises químicas indicaram preponderante concentração de sesquiterpenos oxigenados e menor de monoterpenos oxigenados. Os componentes majoritários do óleo essencial foram representados pelo pentacosano (2,747% a 9,613%), espatulenol (3,398% a 10,552%) e dietil éster do ácido benzeno-1,2dicarboxílico (3,861 a 15,307%). Não houve influência da variação sazonal e circadiana sobre o teor do óleo essencial. Por outro lado, a composição química do óleo essencial sofreu influência da variação sazonal, sendo que os monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos hidrocarbonados obtiveram maiores concentrações na primavera e no verão, enquanto para os sesquiterpenos oxigenados a maior concentração ocorreu no outono, sem ocorrência de variação circadiana. Dentre os constituintes majoritários, somente o espatulenol sofreu influência da variação sazonal, obtendo maior concentração no outono, entretanto também não ocorreu variação circadiana.

Palavras-chave: murici, monoterpenos, sesquiterpenos, sazonalidade, variação circadiana

CHAPTER III

CONTENT AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF Byrsonima verbascifolia Rich. Ex A. Juss. IN DIFFERENT SEASONS AND TIMES OF COLLECTION

ABSTRACT

Several factors can influence the production of special metabolites by plant. Terpenes are the components of volatile oils most found in many parts of plants. The objective was to evaluate the circadian seasonal variation content in the amount and chemical composition of essential oil extracted from leaves murici (Byrsonima verbascifolia Rich. Ex A. Juss.). The essential oil was obtained by hydrodistillation in Clevenger and analyzed by GC / MS. Chemical analysis showed predominant concentration of oxygenated sesquiterpenes and lower oxygenated monoterpenes. The major components of the essential oil are represented by Pentacosane (2.747% to 9.613%), spathulenol (3.398% and 10.552%) and diethyl ester of benzene-1, 2 dicarboxylic acid (3.861 to 15.307%). The essencial oil content was not influenced by circadian and seasonal variation. Moreover, the chemical composition of the essential oil suffered influenced of seasonal variation, and the oxygenated monoterpenes and sesquiterpene obtained higher hydrocarbon concentrations in spring and summer, while to the oxygenated sesquiterpenes the highest concentration occurred in autumm, without occurrence of circadian variation. .Only spathulenol was influenced by seasonal variation within the majority group, with higher concentration in autumm,, however there was also no circadian variation.

Key words: murici, monoterpenes, sesquiterpenes, seasonality, circadian variation

INTRODUÇÃO

O consumo de fitoterápicos no Brasil e no mundo tem crescido muito, não apenas devido ao incentivo da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2007), mas também pela busca de novas alternativas que aliem menor efeito colateral e baixo custo. O bioma Cerrado é considerado o segundo maior bioma brasileiro em diversidade, contando com mais de 7.000 mil espécies. Diante de tanta diversidade é possível que haja diversos compostos que contêm princípios ativos com atividade terapêutica, como os metabólitos secundários ou especiais, principalmente os óleos essenciais, entretanto alguns fatores ambientais e fisiológicos podem interferir não apenas nos teores, mas também na qualidade, dificultando o processamento nas indústrias de cosméticos, alimentícia e de fitoterápicos. Dos fatores que podem afetar a produção dos óleos podemos destacar especialmente o ritmo circadiano e a sazonalidade, visto que a natureza e a produção dos constituintes pode não ser constante durante o ano.

O gênero *Byrsonima* possui cerca de 150 espécies, sendo que 60 delas são encontradas no Brasil. Fencontra-se distribuído no Distrito Federal e nos Estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Bahia, Tocantins e Paraíba. É popularmente conhecido como "murici", "murici-pequeno", "murici-rasteiro", "orelha-de-veado", entre outros nomes, sendo empregados desde o preparo de alimentos como sucos, licores, picolés e geleias, até a utilização na medicina tradicional. O uso popular tem se estendido a atividades antiasmáticas, antitérmicas e no tratamento de infecções de pele, sendo que sua casca possui ainda efeito antidiarreico e adstringente. As folhas associadas aos ramos são antissifilíticas, diuréticas e eméticas. A indústria alimentícia e farmacêutica utiliza o óleo extraído da semente. Dentre vinte e quatro extratos de plantas tradicionalmente utilizadas na Colômbia para o tratamento de doenças de pele, o extrato metanólico de *B. verbascifolia* Rich. Ex A. Juss., foi o que demonstrou atividades antimicrobiana e antivirais mais potentes. 14

Estudos fitoquímicos realizados com *B. verbascifolia* identificaram presença de compostos fenólicos e terpênicos, entre eles taninos, flavonoides e triterpenos nas folhas e na casca. ¹⁵ Apesar de alguns derivados flavonoídicos terem sido isolados de *Byrsonima*, a classe de substâncias naturais de maior ocorrência neste gênero são os triterpenos. Na espécie *B. verbascifolia* foram isolados 7 constituintes triterpenoides, através de um extrato hexânico da casca do caule. ¹⁶ Já em *B. crassifolia*, *B. microphylla*

e *B.verbascifolia* foi relatada a ocorrência de sulfonoglicolipídios, esteroides, triterpenos, ésteres aromáticos, aminoácidos e proantocianidinas.¹⁷

O uso etnofarmacológico tem despertado um grande interesse em identificar a constituição química e o potencial farmacológico das espécies do gênero *Byrsonima*, entretanto dentre cerca de 150 espécies, apenas 13 foram extensivamente estudadas, sendo que em grande parte desses trabalhos não foi dado continuidade e ainda não se identificou o metabólito responsável pela atividade popularmente atribuída. Nesses estudos foram identificados principalmente compostos fenólicos através de cromatografia líquida de alta eficiência, enquanto os trabalhos relacionados à identificação de terpenoides, através de cromatografia gasosa acoplada a espectômetro de massas são pouco evidentes, principalmente quando se trata da extração de folhas da espécie *Byrsonima verbascifolia*. Nesse aspecto, o presente estudo teve como objetivo determinar a composição química do óleo essencial das folhas de *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss e avaliar a variabilidade circadiana e sazonal no teor e composição química do mesmo.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Folhas de *B. verbascifolia*, foram coletadas em plantas adultas, de uma população nativa, localizadas no município de Rio Verde-GO, cujas coordenadas são latitude (S) 18°02'02.6" e longitude (WO) 50°57'10.1" com altitude de 771 metros. A exsicata se encontra depositada no Herbarium Jataiense na Universidade Federal de Goiás, campus Jataí, sob o código HJ 5643.

Foram delimitados grupos de plantas de murici compostos por dois exemplares de cada bloco, separados entre si a uma distância de 50m. As coletas ocorreram em três blocos, em três horários diferentes (6h, 12h e 18h), foram mensais (dezembro de 2010 a novembro de 2011), agrupadas por estações do ano e realizadas sempre na primeira semana. As estações ficaram distribuídas da seguinte forma: primavera (outubro-dezembro), verão (janeiro-março), outono (abril-junho) e inverno (julho-setembro). A umidade do solo foi acompanhada pelo método gravimétrico, em cada uma das 12 coletas, sendo uma para cada bloco, em que as amostras foram coletadas na camada de 0 a 20 cm de profundidade, no dia das coletas de folhas, sempre às 12h.

Após as coletas o material vegetal foi levado para a Seção de Produtos Naturais do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal Goiano/Câmpus Rio Verde-GO e submetido à desidratação em estufa com circulação forçada à temperatura máxima de 35 °C até massa constante momentos antes da extração. O material vegetal foi pulverizado em moinho de facas tipo Willye Modelo-TE-650, sem utilização de peneiras, no momento da extração.

Extração dos óleos essenciais

Após a moagem, três amostras de 50 g de fitomassa foram tomadas para cada época de coleta, e três para cada horário, que foram transferidas para um balão volumétrico de 3000 mL e acrescentado um volume de 800 mL de água destilada. Para extração do óleo essencial o método utilizado foi o de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado por um período de 120 minutos. O óleo essencial foi separado do hidrolato por partição líquido-líquido, empregando três lavagens com diclorometano, e a fase orgânica retirada e seca com sulfato de sódio anidro. O sal foi removido por filtração simples, e posteriormente o solvente orgânico foi evaporado à temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases, até peso constante. O óleo foi conservado em geladeira até as análises químicas. O teor de óleo essencial foi expresso com base na matéria seca da amostra, calculado através da fórmula:

T% = massa de óleo (g) / $50g \times 100$

Análises químicas dos óleos essenciais

As análises químicas foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, em aparelho de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas quadrupular (CG-EM), Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão), nas seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida, modelo DB-5 (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro interno × 0,25 μm de espessura do filme) (Shimadzu, Japão), com fluxo de 1 mL.min⁻¹ de hélio como gás de arraste; a temperatura inicial do forno foi de 60°C, mantendo uma rampa de temperatura de 3°C.min⁻¹ até 240°C e, em seguida, uma rampa de 10°C.min⁻¹ até 270°C, mantendo uma isoterma de 7 min, totalizando 70 min. de corrida. A energia de ionização do detector foi de 70 eV, sendo o volume de injeção da amostra de 1,0 μL diluídas em diclorometano (grau ultrarresíduo, Baker, EUA) em uma razão de injeção de 1:20. As análises foram realizadas em triplicata. As temperaturas do injetor e do detector foram

mantidas em 220 e 240 °C, respectivamente. A análise foi conduzida no modo varredura, a uma velocidade de 2,0 varredura.s⁻¹, com um intervalo de massas de 45-500 m/z.

Os compostos voláteis foram identificados por comparação dos espectros de massas obtidos, com os registros da biblioteca computacional Wiley e FFNSC 1.2 e também pela determinação dos índices de retenção (IR), ¹⁹ relativo a série de n-alcanos de (C₈-C₄₀), nas mesmas condições cromatográficas empregadas os óleos essenciais. Os valores assim obtidos foram então comparados com os índices de Kovats disponíveis na literatura.²⁰

Análise estatística

Para a determinação do teor e da composição química do óleo essencial das folhas e ramos novos de *A. cymbifera*, o delineamento utilizado foi blocos ao acaso em esquema fatorial 4 x 3, com três repetições, sendo 12 épocas e 3 horários de coletas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas a 5% de probabilidade utilizando o Sistema para Análise de Variância (SISVAR).²¹

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teor de óleo essencial

O óleo essencial das folhas secas de *B. verbascifolia* caracterizou-se por um líquido levemente amarelado, de baixa viscosidade e odor pouco característico. Para o teor de óleo essencial não houve interação entre os fatores estações e horários. Também não houve diferença nos teores de óleo com relação às estações e horários, com teores variando de (0,003% a 0,005%), para ambos os fatores (Tabela 1). Em estudo avaliando o nível de irradiância na produção dos óleos essenciais de *Hyptis marrubiodes* Epl., o teor de óleo também não sofreu alteração.²²

Diante dos dados obtidos, nas condições do município de Rio Verde-GO, é possível afirmar que a coleta pode ser realizada em qualquer estação do ano, nos três horários analisados. Apesar da produção de fitomassa não ter sido analisada, observouse que durante a primavera e o verão ocorreu maior produção de folhas pela planta, o que pode aumentar o rendimento de óleo essencial nesse período.

Análise química

A composição química dos óleos essenciais da parte aérea de *B. verbascifolia* sofreu variação entre as estações estudadas (Tabela 2). Algumas substâncias (ácido isobutírico, β-bisaboleno e outras), não foram detectadas em todas as estações, possivelmente por causa da variação sazonal, mediante a influência de fatores abióticos, como exemplo a luz. Em estudo avaliando o nível de irradiância na composição química dos óleos essenciais de *Hyptis marrubiodes* Epl., a composição do óleo foi influenciada nos componentes iso-3-tujanol e δ-cadineno.²²

Os compostos nerolidol, dietil éster do ácido benzeno-1,2-dicarboxílico, espatulenol, (Z.Z)-farnesol e pentacosano, estiveram presentes em todas as estações avaliadas, com percentuais acima de 1%. Entre estes, o composto espatulenol foi encontrado na camada epicuticular de folhas de diversas espécies, tal como *B. linearis*, sendo-lhe atribuída atividade anti-inseticida, além de proteção contra dessecação pela dissipação do excesso de luz. ²³⁻²⁴ O composto nerolidol é citado por sua ação promotora de absorção, pela reorientação ao longo da bicamada lipídica da pele, conferindo-lhe reforço. ²⁵⁻²⁶

Foram identificados 48 constituintes químicos no óleo essencial de *B. verbascifolia*, nas diferentes estações do ano, sendo que as concentrações relativas variaram de (2,782% a 17,386%) para monoterpenos oxigenados, (22,496% a 45,646%) para sesquiterpenos oxigenados, (3,437% a 31,430%) para sesquiterpenos hidrocarbonados e (18,613% a 49,088%) para outros constituintes como álcoois, ácidos, hidrocarbonetos, hidrocarbonetos de cadeia longa e aldeídos (Tabelas 2 e 3).

Exceto para o inverno, houve predomínio de sesquiterpenos. No inverno foi de alcoóis, hidrocarbonetos, ésteres, etc. Para todas as classes não houve interação entre os fatores estação e horário de coleta. Com relação à estação, maior porcentagem de monoterpenos oxigenados foi observada na primavera e no verão (15,20 e 17,38%), conforme Tabela 3. Maior enfolhamento, início de formação de frutos (Figura 1 A), e frutos completamente formados ocorreram na primavera (Figura 1 B), quando a temperatura média estava acima de 23°C, umidade relativa do ar acima de 70%, precipitação média mensal maior que 200 mm e umidade do solo, maior que 10% (Figuras 2A, 2B, 2C e 2D). A umidade do solo permaneceu elevada da primavera até o verão, caindo abaixo de 5% no inverno, quando a precipitação foi quase ausente. A maturação dos frutos (Figura 1 C) ocorreu entre o final da primavera e o verão. Entre os horários (6h, 12h e 18h), não houve diferença nas concentrações relativas de monoterpenos oxigenados.

Para os sesquiterpenos hidrocarbonados os maiores teores foram obtidos na primavera (27,82%) e no verão (31,43%)(Tabela 3). Com a chegada das primeiras chuvas no início da primavera e consequente aumento de UR e umidade do solo, surgiram novas brotações (Figura 1 F) e as primeiras flores (Figura 1 G). Após a precipitação ultrapassar 250 mm mensais ocorreu o florescimento pleno até o fim da estação (Figura 1 H). Entre os horários não foram observadas diferenças (20,84; 16,75 e 14,32%) respectivamente. Já nos sesquiterpenos oxigenados, o maior percentual foi encontrado no outono (45,64%), quando ocorria diminuição da temperatura, enquanto para os horários não houve diferença entre os teores obtidos (29,31; 32,2 e 29,01%).

O somatório das demais classes (álcoois, ésteres, hidrocarbonetos e outros) foi maior no período seco do ano (inverno). Nesta estação a umidade relativa do ar estava abaixo de 50% e a umidade do solo abaixo de 5% (Figura 2 B e D), as folhas tinham aspecto amarelado ou completamente seco (Figura 1 E) provocando a senescência das mesmas. Também foi observado que algumas folhas tinham lesões castanho-avermelhadas, possivelmente relacionadas a algum tipo de resposta biológica/fisiológica da planta (Figura 1 D).

Os três componentes majoritários do óleo essencial das folhas de *B. verbascifolia* Rich. ex A. Juss foram o hidrocarboneto de cadeia longa (pentacosano), o éster (dietil éster do ácido benzeno-1,2-dicarboxílico) e o sesquiterpeno oxigenado (espatulenol). Não houve interação entre os fatores estação e horário de coleta, para nenhum destes compostos, entretanto maiores teores de espatulenol foram observados no outono (15,30%), quando a umidade no solo ainda não tinha diminuído muito, mas ocorreu redução da precipitação, temperatura média e umidade relativa do ar (Figura 2).

A variação da composição química de óleos essenciais em função da variação sazonal é citada em alguns estudos. Na espécie *Hyptis marrubioides* Epl., (Lamiaceae), foi constatado que os sesquiterpenos não oxigenados (cadaleno, germacreno D, α-copaeno e α-cariofileno) e oxigenados (cariofilenol e cedrol), apesar de encontrados em quantidades bem menores no óleo essencial, tiveram diferenças quantitativas ao longo das estações.²⁷ A concentração dos compostos majoritários (E)-cariofileno, espatulenol, biciclogermacreno e óxido de cariofileno do óleo essencial de *Elyunurus muticus* (Sprengel) O. Kuntze (Poaceae) sofreram variação conforme a época de coleta das plantas.²⁸

Para o pentacosano e o dietil éster do ácido benzeno-1,2-dicarboxílico, não houve diferenças entre as estações coletadas (Tabela 4). Também não foram observadas

variações nos teores de nenhum dos três compostos majoritários, nos três horários coletados (Tabela 5). Em estudos realizados com amostras obtidas de habitat natural, de plantas de espécie selvagem *Eremanthus seidelii* (Asteraceae), foi observado que os metabólitos secundários mantiveram em concentrações constantes, indicando que fatores ambientais nem sempre influenciam a produção destes compostos. ^{29,6}

CONCLUSÕES

O óleo essencial das folhas de *B. verbascifolia* Rich. ex A. Juss é constituído por monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos hidrocarbonados e sesquiterpenos oxigenados, sendo a maior parte sesquiterpenos oxigenados e a menor monoterpenos oxigenados. Os componentes majoritários do óleo essencial foram pentacosano (9,93%), espatulenol (7,46%) e dietil éster do ácido benzeno-1,2-dicarboxílico (6,92%).

Não houve influência da variação sazonal e circadiana sobre o teor de óleo essencial. A classe dos terpenos sofreu influência da variação sazonal, sendo que os monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos hidrocarbonados obtiveram maiores percentuais na primavera e verão, enquanto nos sesquiterpenos oxigenados o percentual foi maior no outono, entretanto a variação circadiana não ocorreu para esta classe. Nos compostos majoritários, somente o constituinte espatulenol sofreu influência da variação sazonal, obtendo maior concentração relativa no outono.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os apoios recebidos de FAPEG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa e auxílio financeiro e ao Instituto Federal Goiano - Câmpus Rio Verde, GO pela infraestrutura.

REFERÊNCIAS

- 1. World Health Organizatio. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with referente to contaminants and residues. Geneva: WHO, **2007**.
- 2. Yunes, R.A.; Calixto, J.B. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Argos: Chapecó, **2001**.

- 3. Almeida, S.P. de; Proença, C.E.B.; Sano, S.M.; Ribeiro, J.F. Cerrado: espécies vegetais úteis. EMBRAPA-CPAC: Planaltina, **1998**.
- 4. Zaroni, M.; Pontarolo, R.; Abrahão, W. S. M.; Favero, M. L. D.; Correia Júnior, C.; Stremel, D. P.; *Rev. Bras. Farmacog.* **2004**, 14, 29.
- 6. Gobbo-Neto, L.; Lopes, N. P.; Quim. Nova. 2007, 30, 374.
- 7. Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates: Sunderland-U.S., **1999**.
- 8. Castro, V. S.; Lorenzzi, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira. Instituto Plantarum: Nova Odessa-SP, **2005**.
- 9. Vieira, R.F. et al. Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Brasília, **2006**.
- 10. Camargos, J. A.; Coradin, V. T. R.; Czarneski, C. M.; Oliveira, D. de; Meguerditchan, I. Catálogo de árvores do Brasil, 2ª ed., IBAMA, Brasília: **2001**.
- 11. Caceres, A.; Lopez, B.; Juarez, X.; J.Ethnopharmacol. 1993, 40, 207.
- 12. Brandão, M. Plantas produtoras de tanino nos cerrados mineiros. Informe Agropecuário: Belo Horizonte, **1991**, 15, 168.
- 13. Faria, E. A. de; Leles, H. I. G.; Ionashiro, M.; Zuppa, T. O.; Antoniosi Filho, N. R.; Eclética Química. **2002**, 27.
- 14. Lopez, A.; Hudson, J. B.; Towers, G. H. N.; J. Ethnopharmacol. **2001**, 77,189.
- 15. Lorenzzi, H.; Matos, J. A.; Gomes, O.; Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Instituto Plantarum: Nova Odessa-SP, **2002**.
- 16. Gottlieb, O. R.; Mendes, P. H.; Magalhães, M. T.; Phytochemistry 1975, 14, 1456.
- 17. Sannomiya, M.; Fonseca, V. B.; Silva, M. A.; Rocha, L. R.; Santos, L. C.; Hiruma-Lima, C. A.; Souza Brito, A. R.; Vilegas, W.; *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *97*, 1.
- 18. Guilhon-Simplício, F.; Pereira, M. M.; *Quim. Nova*, **2011**, 34, 1032.
- 19. Van Den Dool, H.; Kratz, D. J.; *J. of chromatography.* **1963**, 11,463.
- 20. Adams, R.P; *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. Carol Stream, Illinois, USA. Allured, **2007**.
- 21. Ferreira, D.F. Sisvar: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão
- 5.1 Build 72. Lavras: DEX/ UFLA, 2007.
- 22. Sales, J.F.; Pinto, J.E.B.P., Ferri, P.H.; Silva, F.G.; Oliveira, C.B.A.; Botrel, P.P.; Semina: Ciências Agrárias, **2009**, 30,389.
- 23. Faini, F.; Labbe, C.; Coll, J.; *Biochem. Syst. Ecol.* **1999**, 27, 673.

- 24. Silva, F. G; Pinto, J. E. B. P; Cardoso, M. G; Nascimento, E. A; Nelson, D. L; Sales, J. F; Mol, D. J. S.; *Ciência e Agrotecnologia*. **2006**, 30, 52.
- 25. Marinho, R. O. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, **2008**.
- 26. Williams, A. C.; Barry, B. W. Adv. Drug Delivery Rev. 2004, 56, 603.
- 27. Botrel, P. P.; Pinto, J. E. B. P.; Ferraz, V.; Bertolucci, S. K. V. B; Figueiredo, F. C.; *Acta Scient. Agronomy.* **2010**, 32, 533.
- 28. Hess, S. C.; Peres, M. T. L. P.; Batista, A. L; Rodrigues, J. P.; Tiviroli, S. C.; Oliveira, L. G. L.; Santos, C. W. C.; Fedel, L. E. S.; *Quim. Nova.* **2007**, 30, 370. 50.
- 29. Sakamoto, H. T.; Gobbo-Neto, L.; Cavalheiro, A. J.; Lopes. N. P.; Lopes, J. L. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1396.

Tabela 1. Teor de óleo essencial (TOE) das folhas de Murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.), coletadas em diferentes estações do ano e horários do dia, IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2012.

Estações do ano	Primavera	Verão	Outono	Inverno
TOE (%)	0,003 a	0,005 a	0,004 a	0,005 a
Horários de coleta (h)	6h		12h	18h
TOE (%)	0,005 a		0,003 a	0,004 a

^ZMédias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial das folhas de Murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.), coletadas entre dezembro/2010 a novembro/2011. Compostos listados em ordem de eluição de uma coluna DB-5. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2012.

DB-5. IF Goiand	Classificação	IR*	PRIMAVERA	VERÃO	OUTONO	INVERNO	- X
Hex-3(Z)-enol	ÁLCOOL	849	2,243	5,880	0,755	-	2,220 c
Éster butílico do ácido butanóico	ÉSTER	948	3,327	0,785	-	0,004	1,029 c
Octen-3-ol	ÁLCOOL	981		0,143	_		0,036 c
Ácido butanoico (butil) Ester	ÉSTER	990	3,307	0,109	1,570	0,402	1,347 c
(Z)Óxido de linalol	MO	1064	1,040	7,431	0,220	0,008	2,175 c
Linalol	MO	1098	4,681	2,132	0,591	2,038	2,361 c
3,7-dimetil Octanol	ÁLCOOL	1189	0,196	2,339	5,961	5,758	3,564 b
α-Terpineol	MO	1190	0,639	0,652	0,192	0,316	0,450 c
Decanal	ALDEÍDO	1200	0,037	0,051	0,172		0,430 c
Àcido isobutírico	ÁCIDO	1211	_	0,031	_	1,046	0,262 c
Nerol	MO	1225	_	0,492	0,455	0,134	0,270 c
Geraniol	MO	1270	8,301	5,948	0,959	0,904	4,028 b
Eugenol	FP	1359	0,546	0,731	0,366	0,834	0,619 c
Ácido decanoico	ÁCIDO	1363	0,340	0,731	0,090	0,007	0,013 C
Undecanol	ÁLCOOL	1364	0,044	0,009	0,090	0,463	0,041 C
Ciclosativeno	SH	1368	0,138	0,287	0,202	0,006	0,127 C
β-Bourboneno	SH	1381	0,138	0,287	0,202	0,036	
β-Elemeno	SH	1390	2,881	1,566	0,021	0,030	0,293 c 1,166 c
α-Himachaleno	SH	1442	9,389	8,874	0,850		
α-Humulene	SH	1442	1,234	1,266	0,040	1,511	5,156 b
						0,008	0,637 c
(E)-β-farneseno	SH	1459	1,258	2,005	0,138	0,331	0,933 c
Germacrene D	SH	1464	0,853	0,216	0,054	0,073	0,299 c
Aromadendreno	SH	1471	1,133	1,805	0,796	1,633	1,341 c
Viridifloreno	SH	1478	0,366	0,167	0,210	0,067	0,202 c
β-Selineno	SH	1478	0,666	0,437	0,149	0,032	0,321 c
Biciclogermacreno	SH	1489	8,294	10,149	0,847	1,093	5,096 b
β-Bisaboleno	SH	1500	-	2,937	-	0,053	0,748 c
α-Bulneseno	SH	1509	-	0,434	0,041	1,514	0,497 c
δ-Cadineno	SH	1514	-	0,566	0,018	0,002	0,147 c
Nerolidol	SO	1530	7,306	6,898	5,000	3,509	5,678 b
α-Elemol	SO	1542	0,101	0,361	4,010	6,129	2,650 c
Germacrene B	SH	1547	0,638	0,584	0,036	0,009	0,317 c
Dietil éster do ácido Benzeno-1,2 dicarboxílico	ÉSTER	1557	3,401	5,797	10,552	7,925	6,919 a
Espatulenol	SO	1573	3,863	5,936	15,309	4,755	7,466 a
Òxido de cariofileno	SO	1573	3,722	5,650	3,201	2,666	3,810 b
Viridiflorol	SO	1579	0,724	-	1,201	1,069	0,748 c
α-Bisabolol	SO	1664	0,068	0,108	0,019	0,036	0,058 c
Heptadecano	HC	1691	-	0,061	0,161	0,175	0,099 c
Heptadecanol	ÁLCOOL	1698	1,983	0,138	3,057	8,459	3,409 b
(Z,Z) Farnesol	SO	1711	8,620	2,052	4,333	4,835	4,960 b
(Z) Lanceol	SO	1752	0,118	0,683	0,150	0,129	0,270 c
10-epi-γ- eudesmol	SO	1770	-	0,809	12,423	4,923	4,539 b
Octadecano	HC	1789	-	0,219	-	0,338	0,139 с
Hexadecanol	ÁLCOOL	1860	0,105	0,232	0,039	0,973	0,337 c
Ácido hexadecanoico (ácido palmítico)	ÁCIDO	1964	0,692	-	-	2,078	0,692 c
Eicosano	HCCL	1995	0,222	0,043	0,099	1,169	0,383 c
Tetracosano	HCCL	2389	0,140	0,000	-	1,336	0,369 с
Pentacosano	HCCL	2489	8,410	2,748	9,613	18,954	9,931 a
Total identificado			91,628	89,929	83,763	87,918	88,310
Monoterpenos oxigenados	(MO)		15,207	17,386	2,782	4,234	9,902
Sesquiterpenos hidrocarbona	dos (SH)		27,829	31,431	3,437	6,546	17,311
Sesquiterpenos oxigenado	s (SO)		24,522	22,498	45,646	28,050	30,179
Outros (aldeído, alcoóis	,etc)		24,071	18,614	31,898	49,088	30,918

IR*: índice de retenção experimental usando coluna DB-5. -: constituinte não detectado. Número de injeções por época: 9. Desvio padrão: ± 0,33. HC: hidrocarboneto; HCCL: hidrocarboneto de cadeia longa; FP: fenilpropanoide; MO: monoterpeno oxigenado; SH: sesquiterpeno hidrocarbonado; SO: sesquiterpeno oxigenado.

Tabela 3. Concentrações relativas de monoterpenos oxigenados (MO), sesquiterpenos hidrocarbonados (SH), sesquiterpenos oxigenados e outros, no óleo essencial das folhas de *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss., coletadas em diferentes estações do ano. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2012.

Estações do ano	Classe dos terpenos							
	MO	SH	SO	Outros				
Primavera	15,206 a	27,828 a	24,522 b	24,072 b				
Verão	17,386 a	31,430 a	22,496 b	18,613 b				
Outono	2,782 b	3,437 b	45,646 a	31,897 b				
Inverno	4,234 b	6,546 b	28,050 b	49,088 a				

^ZMédias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Concentrações relativas de Pentacosano, Dietil éster do ácido Benzeno-1,2-dicarboxílico e Espatulenol do óleo essencial das folhas de *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss., coletadas em diferentes estações do ano. IF Goiano- Câmpus Rio Verde, GO, 2012.

Estações do ano		Compostos majoritários	_
Estações do ano	Pentacosano	Dietil éster do ácido Benzeno-1,2- dicarboxílico	Espatulenol
Primavera	8,410 a	3,398 a	3,861 b
Verão	2,747 a	5,795 a	5,936 b
Outono	9,613 a	10,552 a	15,307 a
Inverno	18,953 a	7,924 a	4,754 b

^ZMédias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.



Figura 1. Planta de murici *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss. A - Maior enfolhamento e início de formação de frutos. B - Frutos formados na primavera. C - Frutos em amadurecimento no verão. D - Lesões castanho-avermelhadas no inverno. E - Folhas amareladas ou completamente secas no inverno. F - Início de brotação na primavera. G - Início de florada na primavera. H - Florescimento pleno na primavera. Fotos: Henrique Antonio de Oliveira Lourenço.

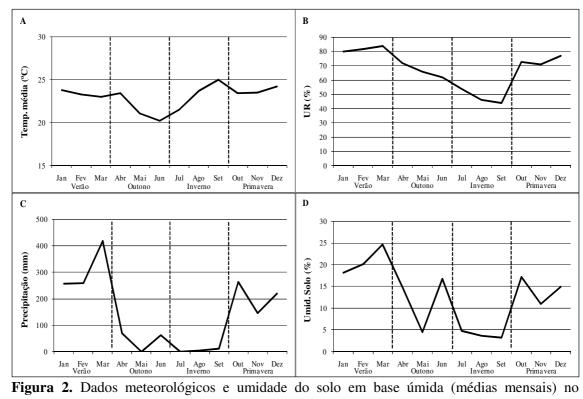


Figura 2. Dados meteorológicos e umidade do solo em base úmida (médias mensais) no período de dezembro de 2010 a novembro de 2011, no município de Rio Verde-GO. A - Temperatura média (°C). B - Umidade relativa do ar (%). C - Precipitação (mm). D - Umidade do solo (%). Fonte: INMET / Universidade de Rio Verde.

CONCLUSÃO GERAL

O óleo essencial das folhas e ramos novos de *Aristolochia cymbifera* Mart & Zucc, é constituído principalmente pela classe dos terpenos, sendo que houve predomínio dos sesquiterpenos e uma menor fração de monoterpenos oxigenados. Ocorreu maior influência sazonal e pouca influência da variação circadiana no teor de óleo essencial, sendo que apenas a sazonalidade influenciou o teor dos terpenos. Nos compostos majoritários houve interação entre os fatores, com maior influência sazonal e pouca variação circadiana, entretanto, para alguns dos compostos não houve interação, ocorrendo apenas influência sazonal sobre os mesmos.

O óleo essencial das folhas de *B. verbascifolia* Rich. ex A. Juss é constituído principalmente por sesquiterpenos oxigenados e uma menor fração de monoterpenos oxigenados. Não houve influência da variação sazonal e circadiana sobre o teor de óleo essencial. A classe dos terpenos sofreu influência da variação sazonal, os monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos hidrocarbonados obtiveram maiores percentuais na primavera e verão, enquanto nos sesquiterpenos oxigenados o percentual foi maior no outono, entretanto a variação circadiana não ocorreu para esta classe. Nos compostos majoritários, somente o constituinte espatulenol sofreu influência da variação sazonal, obtendo maior percentual de área no outono.