

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI - UFVJM**

FERNANDA DE FÁTIMA SOUZA DE OLIVEIRA

**PESQUISA DE DADOS BOTÂNICOS DE PLANTAS ÚTEIS
COLETADAS POR NATURALISTAS EUROPEUS NO SÉCULO XIX NO
NORTE/NORDESTE DE MINAS GERAIS - Dados botânicos, químicos e
ensaios antioxidantes de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil
(Erythroxylaceae)**

**Diamantina – MG
2014**

FERNANDA DE FÁTIMA SOUZA DE OLIVEIRA

**PESQUISA DE DADOS BOTÂNICOS DE PLANTAS ÚTEIS
COLETADAS POR NATURALISTAS EUROPEUS NO SÉCULO XIX NO
NORTE/NORDESTE DE MINAS GERAIS - Dados botânicos, químicos e
ensaios antioxidantes de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil
(Erythroxylaceae)**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,
nível de Mestrado, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre.**

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Fernanda Fuzer Grael

**Diamantina – MG
2014**

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária Nathália Machado Laponez Maia – CRB6/3002

O48p 2014	<p>Oliveira, Fernanda de Fátima Souza de. Pesquisa de dados botânicos de plantas úteis coletadas por naturalistas europeus no século XIX no norte/nordeste de Minas Gerais : dados botânicos, químicos e ensaios antioxidantes de <i>Erythroxylum suberosum</i> A. St.-Hil (<i>Erythroxylaceae</i>) / Fernanda de Fátima Souza de Oliveira. – 2014. 143 p. : il., tabs.</p> <p>Orientadora: Prof^ª Dr^ª Cristiane Fernanda Fuzer Grael.</p> <p>Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, 2014.</p> <p>1. <i>Erythroxylum suberosum</i>. 2. Minas Gerais - Naturalistas europeus. 3. Fitoquímica. 4. Atividade antioxidante. I. Grael, Cristiane Fernanda Fuzer. II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 572.2098151</p>
--------------	---

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

**PESQUISA DE DADOS BOTÂNICOS DE PLANTAS ÚTEIS COLETADAS POR
NATURALISTAS EUROPEUS NO SÉCULO XIX NO NORTE/NORDESTE DE
MINAS GERAIS - Dados botânicos, químicos e ensaios antioxidantes de *Erythroxylum
suberosum* A. St.-Hil (Erythroxylaceae)**

Fernanda de Fátima Souza de Oliveira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível de Mestrado, como parte dos requisitos para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA EM 20/03/2014

Prof^ª. Dra. Adriana Akemi Okuma – Centro Federal de Educação
Tecnológica de Minas Gerais

Prof^ª. Dra. Nísia Andrade Villela Dessimoni Pinto - UFVJM

Profa. Dra. Cristiane Fernanda Fuzer Graef – UFVJM
Presidente

DIAMANTINA – MG
2014

Ao meu Pai e ao meu avô Alfredo, sempre presentes nas lembranças e na saudade...

Ao meu irmão, Felipe, por rir de mim e sempre me fazer sorrir!

Às minhas primas Duda, Ceci e Esther, por tornarem minha vida mais colorida, recheada de sorrisos e brincadeiras de criança;

À minha Mãe, por sempre me dar tudo que eu preciso: AMOR!

AGRADECIMENTOS

À DEUS, “*meu refúgio, minha fortaleza*”, que a cada dia aumenta a minha fé e sabedoria, para que eu perceba, em todos os momentos, Sua presença em minha vida. Obrigada Senhor, pela força diante das dificuldades, proteção a toda hora, por atender meus pedidos...

À minha mãe, Ivete, pelo amor incondicional, pela dedicação, pelo apoio, pela amizade, pelos conselhos, pelas orações... Obrigada por tudo!

A toda a minha família, especialmente Tia Nete, Tia Dilza e Lirinha, pelo carinho, apoio e incentivo.

À Prof. Dra. Cristiane Fernanda Fuzer Graef pela orientação na realização deste trabalho. Obrigada pela oportunidade de participar deste projeto. Obrigada pela paciência, dedicação, confiança e compreensão; pelos conhecimentos e experiências divididos, enfim, obrigada pela imensa contribuição para minha formação profissional.

Aos Professores Luíz Elídio Gregório e Carlos Victor Mendonça Filho e aos alunos Larissa Borges, Dalila Malaquias e Giovane Ribeiro pela colaboração na realização das coletas botânicas.

Ao Prof. Dr. Norberto Pepporine Lopes e a Izabel Cristina Casanova Turatti (FCFRP/USP) pela realização das análises em CG/EM.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Verly e a Héber Victor pelas análises em CLAE/DAD.

À Patrícia Santos Guimarães e Rúbia Regina Gonçalves Sivieri pela grande ajuda no ensaio de determinação de fenólicos.

Ao Prof. Dr. Wallans Tores Pio dos Santos e a Priscila Coelho pela realização dos ensaios de voltametria cíclica.

À Mércia Amorim, que sempre esteve disposta a me ajudar, esclarecendo dúvidas e dando boas sugestões.

Às colegas do Laboratório de Fitoquímica, Viviane e Athane, pelo companheirismo, por toda ajuda e pelos momentos de descontração em meio a frascos e colunas cromatográficas.

À Profa Dra Maria das Graças Lins Brandão (UFMG) coordenadora do Projeto *“Pesquisa, recuperação e disponibilização de dados, imagens e amostras de espécies coletadas por naturalistas franceses e ingleses em Minas Gerais e Goiás no século XIX”*, inserido no Programa REFLORA, pela oportunidade de participação no trabalho, tão importante na valorização da flora nativa brasileira.

Aos meus colegas de mestrado, especialmente os que me acompanham desde a graduação, pelo companheirismo e pelo apoio. A presença de vocês tornou essa caminhada, que não é fácil, muito mais leve e prazerosa. Não mentiu quem disse que *“o sofrimento quando é dividido é reduzido à metade, mas a alegria compartilhada é alegria dobrada”*.

À Debora e Marcos, amigos de toda hora, pelo apoio e pela amizade, *“todo amigo é uma joia, um tesouro que devemos guardar no precioso cofre chamado coração”*.

Aos professores do Departamento de Farmácia, pela contribuição para minha formação profissional.

À CAPES pela bolsa de estudos.

“Infalível Criador, que dos tesouros da Vossa sabedoria, tiraste as hierarquias dos Anjos colocando-as com ordem admirável no céu; distribuístes o universo com encantável harmonia, Vós que sois a verdadeira fonte da luz e o princípio supremo da sabedoria, difundi sobre as trevas da minha mente o raio do esplendor, removendo as duplas trevas nas quais nasci: o pecado e a ignorância.

Vós que tornaste fecunda a língua das crianças, tornai erudita a minha língua e espalhai sobre os meus lábios a vossa bênção. Concede-me a acuracidade para entender, a capacidade de reter, a sutileza de relevar, a facilidade de aprender, a graça abundante de falar e de escrever. Ensina-me a começar, rege-me a continuar e perseverar até o término. Vós que sois verdadeiro Deus e verdadeiro homem, que vive e reina pelos séculos dos séculos. Amém”.

São Tomás de Aquino

RESUMO

No século XIX o Brasil foi visitado por naturalistas europeus, atraídos pelas riquezas naturais do país. O francês Saint-Hilaire, em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros* descreveu plantas que eram usadas pelos habitantes da região norte/nordeste de Minas Gerais. Dentre estas, encontra-se a *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae), conhecida popularmente como “galinha-choca” e “mercúrio do campo”, abundante nas proximidades da cidade de Diamantina (MG). Os objetivos do presente trabalho foram o resgate de informações sobre as espécies botânicas descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, no século XIX, incluídas em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros* e a realização de estudo fitoquímico e determinação da atividade antioxidante de extratos das folhas de *E. suberosum*. Foram realizadas pesquisas em herbários virtuais para detecção de coletas, nos séculos XIX, XX e XXI, de quinze espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, em sua obra. Estas informações foram usadas no direcionamento de coletas destas espécies na região de Diamantina e na verificação da ocorrência atual de tais plantas. Algumas espécies são encontradas, ainda na atualidade, nos locais citados pelo naturalista ou em localidades muito próximas: quatro, das quinze espécies encontradas por Saint-Hilaire, foram coletadas e georreferenciadas nas proximidades de Diamantina. Para realização de estudo fitoquímico e determinação de atividade antioxidante, as folhas de *E. suberosum* foram coletadas em Diamantina-MG. O material, seco e pulverizado, foi usado para maceração com os solventes hexano, acetato de etila e etanol e extração pelo Método Stas-Otto, para pesquisa de alcaloides. A triagem fitoquímica dos extratos sugeriu a presença de alcalóides, cumarinas, flavonoides (incluindo antocianidinas), taninos condensados e triterpenos/esteroides e análises por CLAE/DAD sugeriram a presença de compostos fenólicos nas amostras. Os extratos preparados pelo Método Stas-Otto foram analisados por CG/EM, sendo sugerida a presença de 23 substâncias, dentre as quais encontra-se o alcaloide tropânico tropacocaína. Quanto à atividade antioxidante os extratos de *E. suberosum*, quando comparados ao padrão (ácido gálico), não apresentaram pronunciada atividade de retirada de radical DPPH; no entanto, o extrato etanólico apresentou uma maior quantidade de fenólicos totais, maior poder de redução do íon metálico Fe^{3+} e maior capacidade antioxidante pela análise por voltametria cíclica. Assim este trabalho contribuiu para a recuperação e disponibilização de informações sobre plantas úteis coletadas por naturalistas europeus no norte/nordeste de Minas Gerais e para o conhecimento sobre a composição química e atividade antioxidante da espécie *E. suberosum*.

Palavras-chave: *Erythroxylum suberosum*, naturalistas europeus em Minas Gerais, fitoquímica, atividade antioxidante.

ABSTRACT

In 19th century the Brazil was visited by European naturalists, attracted by the country's natural resources. The French Saint-Hilaire, in his book *Useful Brazilian plants* described plants that were used by the residents of the north /northeast region of Minas Gerais. Among these is *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae), popularly known as "galinha choca" and "mercúrio do campo" abundant near the city of Diamantina (MG). The objectives of this study were the rescue of the information about botanical species described by Saint-Hilaire in the north/northeast of Minas Gerais, in the 19th century, included in his *Useful Brazilian plants* and realization of phytochemical study and determination of the activity antioxidant of the extracts of the leaves of *E. suberosum*. Researches were conducted in virtual herbarium for detection of collections in 19th, 20th and 21th centuries of fifteen species described by Saint-Hilaire in the north/northeast of Minas Gerais, in his book. This information was used in targeting these species collected in the region of Diamantina and verify the actual occurrence of this plants. Some species are found, even today, in the places cited by the naturalist or very nearby localities. Four species found near Diamantina were collected and georeferenced. To perform phytochemical study and determination of antioxidant activity, the leaves of *E. suberosum* were collected in Diamantina-MG. The material, dried and pulverized, was used for maceration with the solvents hexane, ethyl acetate and ethanol and extraction by Stas-Otto method, for the detection of alkaloids. The phytochemical screening of the extracts suggested the presence of alkaloids, coumarins, flavonoids (including anthocyanins), condensed tannins and triterpenes/steroids. The extracts prepared by Stas-Otto method were analyzed by GC/MS, being suggested the presence of 23 substances, among which is the tropane alkaloid tropacocaine. As for antioxidant activity the extracts of *E. suberosum*, when compared to standard (galic acid), showed no pronounced activity withdrawing DPPH radical; however, the ethanolic extract showed a higher content of phenolic compounds and greater power reduction of Fe^{3+} metal ion and greater antioxidant potential in assay performed by cyclic voltammetry. Thus this work contributed to the recovery and availability of information on useful plants collected by European naturalists in the north /northeast of Minas Gerais and the knowledge of the chemical composition and antioxidant activity of the species *E. suberosum*.

Keywords: *Erythroxylum suberosum*, European naturalists in Minas Gerais, phytochemical, antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Pintura de Cândido Portinari (1952) sobre a chegada de D. João VI em Salvador.....	31
FIGURA 2.	Santo Antônio do Deserto, província de Minas (Martius).....	32
FIGURA 3.	Alguns naturalistas que estiveram em Minas Gerais: Johan B. E. Pohl (a). Karl Friedrich Philipp von Martius (b). Auguste François César Provençal de Saint-Hilaire (c).....	36
FIGURA 4.	Estrutura da cocaína, um alcaloide tropânico.....	39
FIGURA 5.	<i>Erythroxylum suberosum</i> A. St.-Hil. (S18°13.890' e W 043°35.282', 1.297,7 m de altitude).....	42
FIGURA 6.	Estrutura dos flavonoides canferol e quercetina, encontrados em <i>E. suberosum</i>	43
FIGURA 7.	Diterpenos isolados das folhas de <i>E. suberosum</i>	44
FIGURA 8.	Complexação de ions metálicos (a) e captura do radical DPPH (b) pela quercetina.....	50
FIGURA 9.	Reação de redução do DPPH.....	51
FIGURA 10.	Reação de formação do Azul da Prússia através de compostos redutores.....	52
FIGURA 11.	Exemplo de voltamograma cíclico.....	53
FIGURA 12.	Esquema de preparo dos extratos orgânicos das folhas de <i>E. suberosum</i>	60
FIGURA 13.	Extração das folhas de <i>E. suberosum</i> pelo método Stas-Otto.....	63
FIGURA 14.	Distribuição das coletas de <i>E. suberosum</i> por estado brasileiro, do século XIX ao XXI.....	74
FIGURA 15.	Mapa de distribuição de <i>E. suberosum</i> nas Microrregiões de Minas Gerais, do acordo com dados de coletas disponíveis no HVFF.....	75
FIGURA 16.	Rendimento dos extratos orgânicos das folhas de <i>E. suberosum</i>	80
FIGURA 17.	Fracionamento do EH em CCC e obtenção de frações reunidas.....	82
FIGURA 18.	Fracionamento do EAc em CCC e obtenção de frações reunidas.....	83
FIGURA 19.	Cromatograma da Fração 11a- EAc obtido por CLAE/DAD.....	84
FIGURA 20.	Cromatograma de F11b – EAc obtido por CLAE/DAD.....	84
FIGURA 21.	Fracionamento do EE em CCC e obtenção de frações reunidas.....	85
FIGURA 22.	Cromatograma de F6Ac – EE obtido por CLAE/DAD.....	86

FIGURA 23.	Exemplo de um tanino condensado, a delphinidina.....	87
FIGURA 24.	Cromatogramas de FM-E (a) e FC-E (b) obtidos por CG/EM.....	89
FIGURA 25.	Cromatogramas de FM-D (a) e FC-D (b) obtidos por CG/EM.....	90
FIGURA 26.	Espectro de massas e estrutura do ácido láurico.....	92
FIGURA 27.	Espectro de massas e estrutura do ácido mirístico.....	92
FIGURA 28.	Espectro de massas e estrutura do ácido palmítico.....	92
FIGURA 29.	Espectro de massas e estrutura do ácido esteárico.....	92
FIGURA 30.	Esquema apresentando fragmentos do ácido hexadecanóico obtidos por impacto de elétrons (a) e rearranjo McLafferty em ácidos alifáticos (b).....	93
FIGURA 31.	Espectro de massas e estrutura do miristato de isopropila.....	94
FIGURA 32.	Espectro de massas e estrutura do palmitato de etila.....	94
FIGURA 33.	Espectro de massas e estrutura do linolenato de metila.....	94
FIGURA 34.	Espectro de massas e estrutura do estearato de etila.....	94
FIGURA 35.	Proposta de fragmentação do palmitato de etila mostrando o fragmento oriundo do rearranjo de McLafferty.....	95
FIGURA 36.	Espectro de massas e estrutura do coniferol.....	96
FIGURA 37.	Proposta de fragmentação do coniferol obtida por impacto de elétrons.....	97
FIGURA 38.	Espectro de massas e estrutura do pentadecano.....	98
FIGURA 39.	Espectro de massas e estrutura do heneicosano.....	98
FIGURA 40.	Proposta de fragmentos do pentadecano obtidos por impacto de elétrons.....	99
FIGURA 41.	Espectro de massas e estrutura da benzamida.....	99
FIGURA 42.	Fragmentos da benzamida obtidos por impacto de elétrons.....	100
FIGURA 43.	Espectro de massas e estrutura da 3-etil-4-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2,5-diona....	100
FIGURA 44.	Fragmentos da 3-etil-4-metil-1 <i>H</i> -pirrol-2,5-diona obtidos por impacto de elétrons.....	101
FIGURA 45.	Espectro de massas e estrutura da diidroactinidiolida.....	101
FIGURA 46.	Proposta de fragmentação da diidroactinidiolida com formação do fragmento que origina o pico base.....	102
FIGURA 47.	Espectro de massas e estrutura da megastigmatrienona.....	102
FIGURA 48.	Proposta de fragmentos da megastigmatrienona obtidos por impacto	

	de elétrons.....	103
FIGURA 49.	Espectro de massas e estruturado blumenol C.....	104
FIGURA 50.	Proposta de fragmentos do blumenol C obtidos por impacto de elétrons.....	104
FIGURA 51.	Espectro de massas e estrutura do 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno...	105
FIGURA 52.	Espectro de massas e estrutura do fitol.....	105
FIGURA 53.	Proposta de fragmentos do fitol obtidos por impacto de elétrons.....	106
FIGURA 54.	Espectro de massas e estrutura do α -tocoferol.....	107
FIGURA 55.	Esquema de fragmentos do α -tocoferol (a) e mecanismo da reação retro Diels-Alder (b).....	107
FIGURA 56	Espectro de massas e estrutura do β -sitosterol.....	108
FIGURA 57	Proposta de fragmentos do β -sitosterol obtidos por impacto de elétrons	109
FIGURA 58	Espectro de massas e estrutura da β -amirina.....	109
FIGURA 59	Proposta de fragmentos da β -amirina originados por impacto de elétrons.....	110
FIGURA 60	Espectro de massas e estrutura do lupeol.....	111
FIGURA 61	Proposta de fragmentos do lupeol obtidos por impacto de elétrons.....	111
FIGURA 62	Estrutura do anel tropano.....	112
FIGURA 63	Espectro de massas e estrutura da tropacocaína.....	112
FIGURA 64	Proposta de fragmentos da tropacocaína obtidos por impacto de elétrons.....	113
FIGURA 65	Formação de fragmentos do núcleo tropânico.....	114
FIGURA 66	Curva analítica do ácido gálico.....	115
FIGURA 67	Gráficos da concentração <i>versus</i> ARR do ácido gálico e dos extratos etanólico e acetato de etila das folhas de <i>E. suberosum</i>	118
FIGURA 68	Poder redutor dos extratos das folhas de <i>E. suberosum</i> e do padrão ácido gálico.....	119
FIGURA 69	Voltamogramas cíclicos do extrato etanólico e em acetato de etila de <i>E. suberosum</i> sobre eletrodo de diamante dopado com boro em meio de uma solução de etanol: H ₂ SO ₄ 0,1 mol L ⁻¹ (1:1). Velocidade Varredura: 50 mV/s.....	120

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1	Espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais em sua obra <i>Plantas usuais dos brasileiros</i>	38
QUADRO 2	Estudos realizados com espécies do gênero <i>Erythroxylum</i>	40
QUADRO 3	Taxonomia de <i>Erythroxylum suberosum</i>	42
QUADRO 4	Uso tradicional de <i>E. suberosum</i> : do século XIX ao século XXI.....	45
QUADRO 5	Uso tradicional de espécies do gênero <i>Erythroxylum</i>	47
QUADRO 6	Triagem fitoquímica dos extratos das folhas de <i>E. suberosum</i>	61
QUADRO 7	Locais de ocorrência nos séculos XIX, XX e XXI, usos e pesquisas sobre atividades biológicas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais.....	68
QUADRO 8	Dados das coletas de <i>E. suberosum</i> realizadas no século XIX.....	74
QUADRO 9	Coletas de <i>E. suberosum</i> no norte/nordeste de Minas Gerais.....	76
QUADRO 10	Dados das coletas realizadas na região de Diamantina – MG.....	78
QUADRO 11	Resultado da Triagem Fitoquímica dos extratos das folhas de <i>E. suberosum</i>	81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Substâncias com presença proposta pela análise por CG/EM das frações FM-E e FC-E (EEt) e FM-D e FC-D (ED).....	91
TABELA 2	Quantidade de fenólicos totais presentes nos extratos de <i>E. suberosum</i>	116
TABELA 3	Atividade de retirada de radical dos extratos de <i>E. suberosum</i> e do ácido gálico em diferentes concentrações.....	116
TABELA 4	Poder redutor dos extratos das folhas de <i>E. suberosum</i> sobre o íon metálico Fe ³⁺	119

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Abs	Absorbância
AG	Ácido gálico
ARR	Atividade de retirada de radical
BHCB	Herbário da Universidade Federal de Minas Gerais
CCC	Cromatografia em Coluna Clássica
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG	Cromatografia Gasosa
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectometria de Massas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE/DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos
CLAE/RMN	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Ressonância Magnética Nuclear
CLAE/UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Ultravioleta-visível
CRIA	Centro de Referência em Informação Ambiental
di	Diâmetro interno da coluna
DIAM	Herbário de Diamantina – Universidade Federal dos Vales do Jequinhonha e Mucuri
DP	Desvio-Padrão
DPPH	2,2- difenil-1-picrilhidrazila
EAC	Herbário Prisco Bezerra – Universidade Federal do Ceará
EAc	Extrato em Acetato de etila
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
ED	Extrato Diclorometânico
EE	Extrato Etanólico
EEt	Extrato Etéreo
EH	Extrato Hexânico
F	Field Museum of Natural History
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FC-D	Fase Clorofórmica do Extrato Extrato Diclorometânico
FC-E	Fase Clorofórmica do Extrato Etéreo
FCFRP/USP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo
FM-D	Fase Metanólica do Extrato Extrato Diclorometânico
FM-E	Fase Metanólica do Extrato Extrato Etéreo
GPS	Global Positioning System – Sistema de Posicionamento Global
h	Altura da coluna
HDJF	Herbário Dendrológico Jeanini Felfili - Universidade Federal dos Vales do Jequinhonha e Mucuri
HVFF	Herbário Virtual da Flora e dos Fungos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INCT	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia
IPA	Herbário – IPA Dárdano de Andrade Lima - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária
KEW	Royal Botanic Gardens
MBM	Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba
MNHN	Muséum National d’Histoire Naturelle de Paris
MOBOT	Missouri Botanical Garden (Estados Unidos)
nm	nanômetro
NYBG	The New York Botanical Garden
ppm	Partes por milhão
R	Herbário do Museu Nacional (Brasil)
RB	Herbário Dimitri Sucre Beijamin - Jardim Botânico do Rio de Janeiro
SP	Herbário do Estado “Maria Eneyda P. Kaufmann Fidalgo”
UEC	Herbário da Universidade Estadual de Campinas
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
UPCB	Herbário do Departamento de Botânica (Universidade Federal do Paraná)
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-Visível
VC	Voltametria cíclica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	27
2	OBJETIVOS.....	29
2.1	Objetivos gerais.....	29
2.2	Objetivos específicos.....	29
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
3.1	O BRASIL NO SÉCULO XIX.....	31
3.2	NATURALISTAS EUROPEUS EM MINAS GERAIS.....	32
3.3	O USO DE PLANTAS NATIVAS.....	36
3.4	O GÊNERO <i>Erythroxylum</i>	39
3.5	<i>Erythroxylum suberosum</i> A. ST.-Hil	42
3.5.1	Uso tradicional de <i>E. suberosum</i>	44
3.6	ESTUDO FITOQUÍMICO.....	48
3.7	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	48
4	MATERIAL E MÉTODOS	55
	ESTUDO DAS ESPÉCIES DESCRITAS POR SAINT-HILAIRE	
4.1	NO NORTE/NORDESTE DE MINAS GERAIS EM SUA OBRA	
	<i>PLANTAS USUAIS DOS BRASILEIROS</i>.....	55
4.1.1	Pesquisas em Herbários Virtuais.....	55
4.1.2	Coleta na região de Diamantina das espécies descritas por A. Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais.....	55
	MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS UTILIZADAS	
4.2	NOS ESTUDOS FITOQUÍMICOS E NOS ENSAIOS DE	
	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	56
4.2.1	Solventes e reagentes.....	56
4.2.2	Concentração dos extratos, fases e frações.....	56
4.2.3	Balança.....	56

4.2.4	Cromatografia em coluna clássica (CCC).....	57
4.2.5	Cromatografia em camada delgada (CCD).....	57
4.2.6	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM).....	57
4.2.6.1	Coluna e condições de análise em CG/EM.....	57
4.2.7	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	58
4.2.7.1	Coluna e condições de análise em CLAE.....	58
4.2.8	Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	58
4.2.9	Potenciostato.....	59
4.3	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS.....	59
4.4	ESTUDO FITOQUÍMICO.....	59
4.4.1	Preparo dos extratos orgânicos.....	59
4.4.2	Triagem fitoquímica.....	60
4.4.3	Fracionamento dos extratos.....	62
4.4.3.1	Cromatografia em Coluna Clássica (CCC).....	62
4.4.3.2	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	62
4.4.3.3	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD).....	62
4.4.4	Extração e identificação de alcaloides de <i>E. suberosum</i>	63
4.4.4.1	Extração pelo Método Stas-Otto.....	63
4.4.4.2	Identificação de substâncias extraídas pelo Método Stas-Otto.....	64
4.5	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	64
4.5.1	Determinação de fenólicos totais.....	64
4.5.2	Atividade de retirada de radical usando o método DPPH.....	64
4.5.3	Poder redutor de íon metálico.....	65
4.5.4	Análise Estatística.....	66
4.5.5	Voltametria cíclica para avaliação do potencial antioxidante.....	66

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
	ESTUDO DAS ESPÉCIES DESCRITAS POR SAINT-HILAIRE	
5.1	NO NORTE/NORDESTE DE MINAS GERAIS EM SUA OBRA	
	<i>PLANTAS USUAIS DOS BRASILEIROS</i>.....	67
5.1.1	Pesquisa em Herbários Virtuais.....	67
5.1.2	Coletas na região de Diamantina das espécies descritas por A. Saint Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais.....	77
5.2	ESTUDO FITOQUÍMICO.....	80
5.2.1	Preparo dos extratos orgânicos.....	80
5.2.2	Triagem fitoquímica.....	80
5.2.3	Fracionamento dos extratos.....	81
5.2.3.1	Extrato Hexânico.....	81
5.2.3.2	Extrato em Acetato de etila.....	82
5.2.3.3	Extrato Etanólico.....	85
5.2.4	Extração e identificação de alcaloides de <i>E. suberosum</i>	87
5.2.4.1	Extração pelo Método Stas-Otto.....	87
5.2.4.2	Identificação de substâncias obtidas pelo Método Stas-Otto.....	88
5.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	114
5.3.1	Determinação de fenólicos totais.....	115
5.3.2	Atividade de retirada de radical usando o método DPPH.....	116
5.3.3	Poder redutor de íon metálico.....	117
5.3.4	Voltametria cíclica para avaliação do potencial antioxidante.....	120
6	CONCLUSÃO.....	123
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125

1 INTRODUÇÃO

O território brasileiro possui uma das maiores biodiversidades do planeta, correspondendo aproximadamente a 20% do total mundial (CALIXTO, 2003). Esta riqueza natural, associada a sua grande diversidade étnica e cultural, faz com que o país seja detentor de um valioso conhecimento tradicional associado ao uso de plantas medicinais nativas (BRASIL, 2006). As florestas e outras formações vegetais brasileiras possuem uma alta quantidade de espécies com fins terapêuticos, estima-se que o patrimônio vegetal do Brasil represente aproximadamente 16,5 bilhões de genes (RAMOS, 2000).

O interesse pela flora nativa do Brasil remonta ao século XVII, quando vários naturalistas europeus visitaram o país. Estes naturalistas estiveram no Brasil até o final do século XIX, para estudar as paisagens e a flora brasileira. Praticamente todas as coleções vegetais feitas por estes naturalistas foram depositadas em herbários europeus (GIULIETTI et al., 2005).

Entre os naturalistas europeus que excursionaram pelo estado de Minas Gerais no século XIX, Auguste de Saint-Hilaire foi o que percorreu maiores extensões territoriais e registrou o uso das plantas pela população da época. O aproveitamento de várias espécies do Cerrado e da Caatinga foi registrado por este naturalista e estão descritos em suas obras, como o livro *Plantas Usuais dos Brasileiros* (BRANDÃO, 2010; SAINT-HILAIRE, 2009).

Apesar de possuírem grande importância econômica, as plantas nativas brasileiras são ainda bastante desconhecidas sobre o ponto de vista taxonômico e essas lacunas sobre o conhecimento das plantas dificultam o avanço científico da área farmacêutica, que necessita da confiabilidade do nome e da ocorrência correta das espécies. Assim, as informações sobre as plantas medicinais nativas do Brasil precisam ser revistas, pois são imprescindíveis para o sucesso de pesquisas de valoração e melhor aproveitamento da flora brasileira. Recuperar, valorizar e valorar as plantas úteis nativas do Brasil é, portanto, urgente e necessário (BRANDÃO, 2010).

O Cerrado é o segundo maior bioma em área do Brasil, ocupa um território de aproximadamente dois milhões de Km² (23% do território brasileiro) (RATTER et al., 1997). Este bioma apresenta, aproximadamente, 6.671 espécies vegetais nativas, distribuídas em 170 famílias e 1.140 gêneros. Sua flora é considerada a mais rica entre as savanas do mundo (MENDONÇA et al., 1998a).

São poucos os estudos envolvidos na identificação de plantas do Cerrado utilizadas com fins terapêuticos, principalmente quando comparada à diversidade e à área ocupada (GUARIM NETO & MORAIS, 2003). A carência de conhecimento sobre sua riqueza é preocupante quando já se estima que quase 55,0% deste bioma já tenha sido devastado e apenas 2,2% da área do Cerrado se encontra legalmente protegida, sendo considerada atualmente a vegetação em maior risco no país (KLINK & MACHADO, 2005; MACHADO et al., 2004).

É de grande importância a recuperação de informações sobre as plantas úteis brasileiras descritas por naturalistas europeus. Muitas destas espécies são usadas tradicionalmente a mais de dois séculos pela população brasileira e carecem de estudos em diversas áreas (Química, Farmacologia, Botânica, Toxicologia, entre outras). Como exemplo pode ser citada a espécie *Erythroxylum suberosum* A. St-Hil. (Erythroxylaceae), comumente encontrada no Cerrado brasileiro, que foi descrita por naturalistas europeus em suas obras sobre a flora brasileira. Entretanto, poucas referências são encontradas quanto à composição química e atividades biológicas desta espécie e de outras do gênero *Erythroxylum* (LUCAS FILHO, 2009).

Este trabalho é uma contribuição ao projeto “*Pesquisa, recuperação e disponibilização de dados, imagens e amostras de espécies coletadas por naturalistas franceses e ingleses em Minas Gerais e Goiás no século XIX*” (Coordenação: Prof^a Dr^a Maria das Graças Lins Brandão – UFMG) que faz parte do Programa REFLORA (Edital MCT/CNPq/FNDCT/MEC/CAPES/FAP’s No 56/2010). Auguste de Saint-Hilaire escreveu várias obras como fruto de suas viagens pelo Brasil, dando ênfase em plantas úteis e medicinais. Ele esteve na região da atual Diamantina e em sua obra “*Plantas usuais dos brasileiros*” descreveu plantas desta região. Assim, neste trabalho são relatadas pesquisas sobre essas plantas em herbários virtuais, foram refeitas coletas de algumas destas espécies encontradas atualmente na região de Diamantina e, uma destas plantas, a *Erythroxylum suberosum*, abundante na região, foi selecionada para realização de estudos fitoquímicos e ensaios para detecção de atividade.

2 OBJETIVOS:

2.1 OBJETIVOS GERAIS:

O presente trabalho teve como objetivos gerais:

- ❖ Resgatar informações sobre as espécies botânicas descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, no século XIX, incluídas em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros*;
- ❖ Realizar estudo fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante de extratos das folhas de uma dessas espécies, a *Erythroxylum suberosum* A. Sil.-Hil. (Erythroxylaceae).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

O presente trabalho teve como objetivos específicos:

- ❖ Pesquisar em herbários virtuais dados sobre coletas realizadas no século XIX, em Minas Gerais, de plantas úteis indicadas por Saint-Hilaire;
- ❖ Pesquisar em herbários virtuais dados sobre coletas dessas plantas nos séculos XX e XXI em Minas Gerais. A partir desses dados, ter uma localização atual dessas plantas para realizar nova coleta, em especial na região de Diamantina (MG);
- ❖ Verificar quais dessas plantas ainda ocorrem, na atualidade, na região de Diamantina, conforme indicado por Saint-Hilaire na obra *Plantas usuais dos brasileiros*;
- ❖ Realizar pesquisa específica com uma das plantas descritas por Saint-Hilaire na sua obra e, atualmente, abundante na região de Diamantina:
 - Resgatar informações botânicas de coletas de *E. suberosum* nos séculos XIX a XXI, em Minas Gerais;
 - Realizar estudos fitoquímicos com extratos das folhas de *E. suberosum*, evidenciando a presença de alcaloides;
 - Avaliar o potencial antioxidante de extratos das folhas de *E. suberosum* por meio de diferentes metodologias.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O BRASIL NO SÉCULO XIX

O Brasil foi uma colônia portuguesa de 1500 a 1822. Até o início do século XIX, o país permaneceu sob controle rígido de Portugal. Assim a exploração científica estrangeira era dificultada, pois o governo português queria manter o monopólio de exploração e comércio na colônia. Esta política visava resguardar os recursos naturais exploráveis brasileiros e potencialidades econômicas de outras nações européias (ANDRADE & BASTIAN, 2012; BRANDÃO et al., 2011; CALAES & FERREIRA, 2009).

Em 1808, a invasão de Portugal pelo exército de Napoleão Bonaparte fez com que a família real portuguesa fugisse para a colônia luso-americana e a sede do governo português se instalasse no Rio de Janeiro (ANDRADE & BASTIAN, 2012; BRANDÃO et al., 2012; HENRIQUES, 2008). A vinda da corte portuguesa (Figura 1) resultou na abertura dos portos brasileiros às “nações amigas” e os estrangeiros ganharam permissão para entrar no país. Isto trouxe um grande progresso para a economia, a cultura e a ciência no Brasil (BRANDÃO et al., 2011; SALLAS, 2010).



Figura 1. Pintura de Cândido Portinari (1952) sobre a chegada de D. João VI em Salvador.
Fonte: Goulart (2010).

O século XIX é marcado na história brasileira pela vinda de vários naturalistas, que foram atraídos pela grande biodiversidade do país e inúmeras possibilidades de pesquisas e descobertas que poderiam ser realizadas no Brasil. Estes naturalistas, artistas e cientistas viajaram pelos territórios brasileiros, registrando os recursos naturais (minerais, animais e vegetais), bem como os costumes dos habitantes da colônia. Iniciou-se assim, um ciclo de expedições científicas patrocinadas por diferentes países e uma vasta produção de obras sobre as riquezas naturais brasileiras (ANDRADE & BASTIAN, 2012; BRANDÃO et al., 2011), como por exemplo, a ilustração da província de Minas retratada por Martius (Figura 2).



Figura 2. Santo Antônio do Deserto, província de Minas (Martius).
Fonte: Kury (2001).

3.2 NATURALISTAS EUROPEUS EM MINAS GERAIS

Os naturalistas europeus vieram ao Brasil interessados em estudar os recursos naturais e avaliar seu potencial uso pela sociedade. Estes chegavam primeiro ao Rio de Janeiro e após explorarem a zona costeira, viajavam para outros locais. A província de Minas Gerais foi muito visitada pelos naturalistas durante o século XIX. Em suas obras eles documentavam suas observações sobre vários aspectos da vida dos habitantes, incluindo o uso de plantas medicinais (BRANDÃO et al., 2011).

Entre os naturalistas europeus que estiveram no estado de Minas Gerais, destacam-se Auguste François César Provençal de Saint-Hilaire, Johann Baptist Emmanuel Pohl, Karl

Friedrich Philipp von Martius, Johann Baptiste von Spix, John Mawe, Charles Fox Bunbury, George Gardner, Richard Burton e Francis Castelnau. (ANDRADE & BASTIAN, 2012).

O austríaco Johan B. E. Pohl (1782–1834) médico, geólogo e botânico, permaneceu no Brasil de 1817 a 1821. Este naturalista fez parte da delegação austríaca que veio ao Brasil por ocasião do casamento da arquiduquesa austríaca, Leopoldina, com Dom Pedro I, herdeiro da coroa portuguesa. Pohl visitou várias regiões (Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Pará) e coletou grande quantidade de material mineralógico e cerca de 4.000 espécies de plantas, levando esse material científico para Viena em 1821 (ANDRADE & BASTIAN, 2012; BRANDÃO et al., 2011). Suas observações sobre a flora brasileira foram documentadas na obra *Plantarum Brasiliae Icones et Descriptions* editada em 1827 (POHL, 1827).

O naturalista alemão Karl F. P. von Martius (1794–1868) e o zoólogo Johann Baptiste von Spix (1781-1826), também vieram ao Brasil com a comitiva da arquiduquesa da Áustria. Eles percorreram aproximadamente 10 mil quilômetros pelo interior do Brasil, entre 1817 e 1820, viajando por São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Piauí, Maranhão, Pará e Amazonas (BRANDÃO et al., 2011; HENRIQUES, 2008).

O encanto de Martius diante da diversidade tropical está evidente em seu primeiro relatório de viagem enviado ao rei da Baviera:

“Diante de tanta riqueza de formas, não temos mãos e olhos suficientes para realizar nosso trabalho. Cada um de nós teria que ser pintor, empalhador, caçador e herborista para poder representar e reunir toda esta riqueza” (HENRIQUES, 2008).

Ao retornar à Alemanha, Martius levou milhares de amostras de plantas e, a partir de 1823, começou a publicar os resultados botânicos das coletas realizadas na viagem. Ele dedicou-se, especialmente, à descrição de novas famílias, gêneros e espécies. Entre as espécies descobertas estão o açaí (*Euterpe oleracea*), o palmito (*Euterpe edulis*) e o babaçu (*Orbygnia speciosa*) (HENRIQUES, 2008). Martius publicou muitas obras importantes, juntamente com Spix, escreveu *Viagem pelo Brasil*, mas, certamente, a mais grandiosa de suas obras foi a *Flora brasiliensis*, produzida entre 1840 e 1906, juntamente com August Wilhelm Eichler e Ignatz Urban, com a participação de 65 especialistas de vários países. O trabalho contém descrição taxonômica de 22.767 espécies, a maioria, angiospermas brasileiras, reunidas em 15 volumes, divididos em 40 partes, com um total de 10.367 páginas. Atualmente esta obra encontra-se digitalizada e disponível on-line (Centro de Referência em Informação Ambiental – Flora Brasiliensis).

O naturalista inglês John Mawe (1764-1829) foi o primeiro a obter permissão para viajar por Minas Gerais. Ele permaneceu no Brasil entre 1807 e 1811, e, apesar de não ser um especialista em botânica, sua obra *Viagens ao Interior do Brasil*, descreve o uso de plantas medicinais pela população (BRANDÃO et al., 2011).

Charles James Fox Bunbury, naturalista inglês, chegou ao Brasil em 1833, visitou o Rio de Janeiro e Minas Gerais e também esteve na região do Rio da Prata, em Buenos Aires e Montevideo, retornando para Europa em 1835. Em sua obra *Viagem de um naturalista inglês ao Rio de Janeiro e Minas Gerais*, Bunbury descreve os lugares que visitou e faz notas botânicas sobre plantas que encontrou pelo caminho (BUNBURY, 1942).

A respeito de sua volta à Inglaterra, Bunbury escreve:

“Não foi sem pesar que olhei pela última vez para o belo cenário da baía do Rio e que, finalmente, me despedi deste interessante país em que tinha passado mais de ano e meio, com tanto prazer, e guardado em minha mente, tantas imagens agradáveis, que dificilmente se desvanecerão” (BUNBURY, 1942).

O botânico George Gardner (1812–1849) que chegou ao Brasil em 1838 viajou pelo Rio de Janeiro, Bahia, Alagoas, Pernambuco, Ceará, Piauí, Goiás e Minas Gerais, retornando à Europa em 1841. Em 1846 publicou a obra *Viagens ao interior do Brasil, principalmente às províncias do Nordeste e aos distritos do ouro e dos diamantes* (BRANDÃO et al., 2011; GARDNER, 1846). Richard Francis Burton (1821–1890) também esteve em Minas Gerais. Ele se interessou pelo grande potencial da natureza do Brasil, incluindo o uso de plantas medicinais (BRANDÃO et al., 2011).

O francês Francis de la Porte, conde de Castelnau, foi o chefe de uma expedição francesa enviada ao Brasil. Ele permaneceu no país de 1843 a 1847. Sua expedição percorreu o Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso. Este naturalista fez descrições sobre a formação geológica e sobre a vegetação das regiões que visitou (ANDRADE & BASTIAN, 2012).

O naturalista francês Auguste de Saint-Hilaire (1779-1853) chegou ao Brasil em 1816, acompanhando a missão do Duque de Luxemburgo. Esta missão tinha o objetivo de resolver o conflito entre Portugal e França em relação à posse da Guiana, após o fim do período napoleônico (BRANDÃO et al., 2011). Saint-Hilaire permaneceu no Brasil até 1822. Em suas viagens explorou as regiões de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Goiás, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Uruguai (ANDRADE & BASTIAN,

2012; BRANDÃO et al., 2011; BRANDÃO et al., 2012; LICCARDO & MENDES, 2001). A viagem deste naturalista foi patrocinada pelo governo francês, tendo como objetivo oficial enviar pesquisas e coleções ao Museu de História Natural de Paris (SOALHEIRO, 2008).

O principal interesse desse viajante era a realização de estudos botânicos, chegando a reunir um herbário de 30.000 espécimes, que abrangia 7.000 espécies de plantas, muitas das quais até então avaliadas como desconhecidas (ANDRADE & BASTIAN, 2012; BRANDÃO et al., 2012). Saint-Hilaire foi um modelo em relação à forma como os cientistas europeus deveriam se relacionar com os demais países. Além de observações sobre a biodiversidade brasileira, ele registrou os hábitos e costumes locais. Mostrou-se muito preocupado com a destruição da flora nativa para pastagens e outras atividades humanas e econômicas. É grandiosa a contribuição deste naturalista para o conhecimento sobre a diversidade vegetal brasileira (BRANDÃO et al., 2011; BRANDÃO et al., 2012).

Em 1824, Saint-Hilaire publicou a obra *Plantas usuais dos brasileiros* onde são apresentadas descrições botânicas, locais de ocorrência e usos de espécies nativas do Brasil (SAINT-HILAIRE, 2009). Em *Viagem pelo distrito dos Diamantes e litoral do Brasil* publicado em Paris em 1833, Saint-Hilaire escreveu sobre o distrito dos Diamantes (atual cidade de Diamantina – MG):

“O Distrito dos Diamantes é um dos mais elevados da Província de Minas Gerais, está encravado na comarca do Serro Frio; ele faz parte da grande cadeia ocidental...rochedos sobranceiros, altas montanhas, terrenos arenosos e estéreis, irrigados por um grande número de riachos, sítios os mais bucólicos, uma vegetação tão curiosa quão variada, eis o que se nos apresenta no Distrito dos Diamantes; e é nesses lugares selvagens que a natureza se contenta em esconder a preciosa pedra que constitui para Portugal a fonte de tantas riquezas”.

Outras obras produzidas pelo naturalista foram: *Viagem pelas províncias do Rio de Janeiro e Minas Gerais*, *Viagem às nascentes do Rio São Francisco*, *Segunda viagem do Rio de Janeiro a Minas Gerais e a São Paulo*, entre outras. Uma obra de grande importância é o *Flora Brasiliae Meriudionalis*.

Saint-Hilaire destacava as possibilidades de aproveitamento econômico de diversas espécies nativas. Atualmente o Herbário Virtual A. de Saint-Hilaire e suas obras encontram-se disponíveis on-line (Herbário Virtual A. de Saint-Hilaire - CRIA).

A Figura 3 (p. 36) apresenta ilustrações de alguns naturalistas europeus que excursionaram pelo estado de Minas Gerais no século XIX.



Figura 3. Alguns naturalistas que estiveram em Minas Gerais: Johan B. E. Pohl (a). Karl Friedrich Philipp von Martius (b). Auguste François César Provençal de Saint-Hilaire (c).

Fonte: Wilkie (2009) (a), FAPESP - Flora Brasiliensis on-line (b), Dataplant (c).

3.3 O USO DE PLANTAS NATIVAS

Os naturalistas europeus, em seus trabalhos, descreveram diferentes aspectos da vegetação brasileira, incluindo o uso de plantas medicinais nativas e a preocupação com a destruição da flora nativa para dar lugar a variadas atividades econômicas e para a ocupação humana do espaço (ANDRADE & BASTIAN, 2012; BRANDÃO et al., 2011).

K. F. P. von Martius em *Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis* (1843) escreveu que desejava formar uma relação completa das plantas medicinais brasileiras e que seu livro fosse uma fonte de informação sobre as inúmeras riquezas farmacêuticas do Brasil. Esta obra foi traduzida para o português em 1854 por Henrique Velloso d'Oliveira. Segundo Martius, nem todos os remédios mencionados em sua obra possuíam a eficácia comprovada. As propriedades medicinais de alguns eram confirmadas pelo uso consagrado e composição conhecida. Mas para a maioria, o efeito não era, ainda, evidente. Sendo que a comprovação de sua eficácia dependeria da experiência clínica e da continuação de seu uso pelos habitantes locais (MARTIUS, 1854).

Um grande número de plantas medicinais brasileiras já eram conhecidas e usadas pelos indígenas, mas, ele advertiu que estava enganado aquele que pensasse que todas as plantas úteis tivessem sido indicadas aos colonos pelos índios. Ele acreditava que, pelo menos

a metade das plantas medicinais teriam sido descobertas pelos negros e brancos que viviam na colônia (MARTIUS, 1854).

A obra de Martius é dividida em classes, de acordo com as propriedades químicas dos vegetais. Por exemplo, Classe Primeira: Amiláceas, Classe Segunda: Mucilaginosas, Classe Terceira: Gordurentas e oleosas e etc. Em seu texto, ele cita o nome científico e popular da espécie, as indicações de uso e, muitas vezes, o modo de preparo dos remédios (MARTIUS, 1854).

Saint-Hilaire descreveu o uso de setenta espécies nativas do Brasil em *Plantas Usuais dos Brasileiros*. Nesta obra, foram mencionados diversos usos que os colonos faziam das plantas, não somente o medicinal. Além disso, o livro contém a descrição botânica das espécies com desenhos explicativos, citações sobre as localidades onde a planta foi encontrada e o nome popular dado pelos habitantes. Saint-Hilaire falava da necessidade de realização de estudos que confirmassem a eficácia das plantas medicinais usadas no Brasil (SAINT-HILAIRE, 2009). Este pensamento do naturalista continua atual e está evidente neste trecho retirado do livro *Viagem pelas províncias do Rio de Janeiro e Minas Gerais* (1830):

“Seja como for, sente-se que a matéria médica dos brasileiros, baseada unicamente no empirismo, deve ser muito imperfeita. Todavia entre tantas plantas às quais se atribuem falsamente propriedades maravilhosas, algumas existem que realmente fornecem remédios eficacíssimos. Se existisse no Brasil maior número de homens instruídos, o governo desse país faria obra de grande utilidade, nomeando em cada província uma comissão que se encarregasse de submeter a exame minucioso todas as plantas de que se utilizam os colonos para aliviar seus males. Por esse meio, poder-se-ia chegar a constituir, para os vegetais, uma matéria médica brasileira, que elucidaria os colonos a respeito de remédios ineficazes ou perigosos, e, ao mesmo tempo, daria a conhecer, aos nacionais e estrangeiros, grande número de plantas benéficas. Trabalho de tal envergadura não se poderá fazer, sem dúvida, senão daqui a longos anos. Possa ao esperar a que vier, a obra que publiquei sobre as Plantas Usuais do Brasil tomar o lugar, tanto quanto possível, de uma matéria médica mais aprofundada, e provar aos brasileiros o desejo que tenho de lhes demonstrar meu profundo reconhecimento mediante um trabalho que lhes seja útil!” (SAINT-HILAIRE, 1975).

Burton e Saint-Hilaire sugeriram melhores usos dos recursos naturais, criticando a forma destrutiva utilizada pelos portugueses e brasileiros. Saint-Hilaire e Mawe, em seus relatos, se mostraram preocupados com a substituição da vegetação nativa por plantações de cana-de-açúcar, café e pastagens de gado. Sendo que, esta destruição contribuiu para a perda gradual de conhecimento sobre plantas nativas utilizadas na medicina tradicional (BRANDÃO et al., 2008a; BRANDÃO et al., 2008b; BRANDÃO et al., 2011). Espécies medicinais e seus usos estão descritos em obras desses naturalistas europeus que viajaram

pelo Brasil no Século XIX, sendo assim, fontes importantes para o conhecimento sobre as plantas nativas brasileiras (BRANDÃO et al., 2008a; BRANDÃO et al., 2011).

Um destaque especial é dado à obra *Plantas usuais dos brasileiros* de Saint-Hilaire, na qual ele descreve 15 espécies na região norte/nordeste de Minas Gerais (inclusive a região da atual Diamantina), que são apresentadas no Quadro 1. Dentre estas espécies de ocorrência no norte/nordeste de Minas Gerais, a *Erythroxylum suberosum* A. St-Hil. (Erythroxylaceae) é uma das mais frequentes nos arredores da atual Diamantina.

Quadro 1. Espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros*

Família	Nome científico	Nome popular
Bixaceae	<i>Cochlospermum regium</i> (Schrank) Pilg.	butua do curvo
Dilleniaceae	<i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil.	sambaibinha
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum suberosum</i> A.St.-Hil.	galinha choca, mercurio do campo
Rutaceae	<i>Esenbeckia febrifuga</i> (A.St.-Hil.) A. Juss. ex Mart.	três folhas vermelhas, laranjeira do mato
Malvaceae	<i>Helicteres sacarolha</i> A.St.-Hil., A. Juss. & Cambess.	sacarolha, rosea paras malas
Hypericaceae	<i>Hypericum laxiusculum</i> A.St.-Hil.	alecrim bravo
Verbenaceae	<i>Lippia pseudo-thea</i> Schauer	capitão do mato, chá de pedestre
Euphorbiaceae	<i>Maprounea brasiliensis</i> A.St.-Hil.	marmeleiro do campo
Ochnaceae	<i>Ouratea hexasperma</i> (A.St.-Hil.) Baill.	-
Oxalidaceae	<i>Oxalis repens</i> Thunb.	azedinha, frero
	<i>Oxalis hirsutissima</i> Mart. ex Zucc.	-
Rubiaceae	<i>Remijia ferruginea</i> (A.St.-Hil.) DC.	quina da Serra, quina de Remijo
Annonaceae	<i>Rollinia sylvatica</i> (A.St.-Hil.) Martius	araticu do mato
Malvaceae	<i>Sidastrum micranthum</i> (A.St.Hil.) Fryxell	malvalistro
Loganiaceae	<i>Strychnos pseudoquina</i> A.St.-Hil.	quina do campo

Os naturalistas contribuíram grandiosamente para o conhecimento sobre a flora nativa do Brasil, centenas de novas espécies foram descobertas e diversos novos gêneros foram descritos, baseados em seus trabalhos. A pesquisa nas obras destes viajantes desempenha um papel importante na recuperação de informações relacionadas à utilização de plantas medicinais brasileiras (BRANDÃO et al., 2008b; BRANDÃO et al., 2011). E tais plantas merecem ser estudadas sob diversos aspectos, tais como químico, farmacológico e toxicológico, com o objetivo de desenvolvimento de novos medicamentos (em especial fitoterápicos), além de validar e dar segurança ao seu uso popular.

3.4 O GÊNERO *Erythroxylum*

A família Erythroxylaceae compreende quatro gêneros e cerca de 240 espécies com distribuição pantropical. Os gêneros, *Aneulophus* Benth., *Nectaropetalum* Engl. e *Pinacopodium* Exell & Mendonça, possuem poucas espécies e estão presentes exclusivamente na África. O gênero *Erythroxylum* P. Browne, é o mais representativo, possui aproximadamente 230 espécies que são encontradas na América do Sul, África e Madagascar (BRACHET et al., 1997; LOIOLA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011). O Brasil é considerado um centro de endemismo e diversidade deste gênero, das 187 espécies de *Erythroxylum* da América tropical, 114 são encontradas no país (PLOWMAN & HENSOLD, 2004).

Quimicamente, o gênero caracteriza-se pela presença de alcaloides tropânicos (BRACHET et al., 1997; ZUANAZZI et al., 2001), dentre os quais destaca-se a cocaína (Figura 4), um alcaloide natural produzido por *E. coca* e *E. novogranatense* (BIERI et al., 2006; LOIOLA et al., 2007). Pesquisas sobre a composição química do gênero *Erythroxylum* indicam também a ocorrência de diterpenos (ANSELL et al., 1993; SANTOS et al., 2006), flavonoides e triterpenos (CHAVEZ et al., 1996; NASCIMENTO, 2008). No Quadro 2 (p. 40) são apresentados alguns estudos realizados com espécies do gênero, evidenciando as substâncias identificadas e atividades biológicas detectadas.

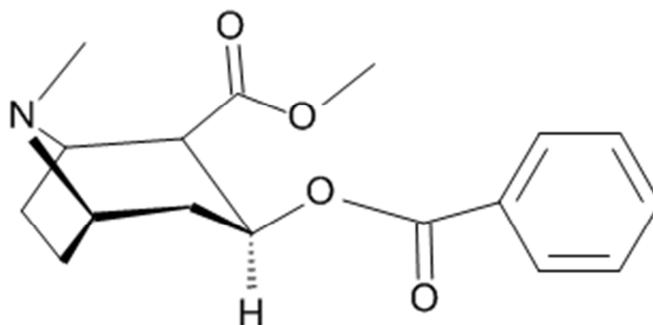


Figura 4. Estrutura da cocaína, um alcaloide tropânico.
Fonte: Simões e colaboradores (2007).

Quadro 2. Estudos realizados com espécies do gênero *Erythroxylum*

Espécie	Extrato estudado	Classe de metabólitos secundários	Substâncias identificadas	Atividade biológica	Referências
<i>E. argentinum</i> O.E. Schulz	Extrato de alcaloides* (folhas)	Alcaloides tropânicos e pirrolidínicos	ácido 4-hidroxiigrínico, tropacocaina, metilecgonidina, 3β,6β-ditigloiloxi nortropano	Não analisada	ZUANAZZI et al., 2001
<i>E. pelleterianum</i> A. St.-Hil.			tropacocaína		
<i>E. microphyllum</i> A. St.-Hil.			metilecgonidina		
<i>E. alaternifolium</i> A. Rich.	Extrato de alcaloides* (folhas)	Alcaloides tropânicos	3α,7β-dibenzoiloxi,6β-hidroxi-tropano (alaternifolina)	Não analisada	PAYO-HILL et al., 2000
<i>E. rotundifolium</i> Lunan			erythrorotundina	Não analisada	
<i>E. leal-costae</i> Plowman	Extrato hexânico (folhas)	Triterpenos	palmitato de β-amirila, palmitato de lupenila, acetato de lupenila	Não analisada	CHAVEZ et al., 1996
	Extrato acetato de etila (folhas)	Flavonóides	8-hidroxiluteolina 8-ramnosídeo, 6-hidroxiluteolina 6-ramnosídeo, epicatequina, quercetina 3-ramnosídeo		
<i>E. caatingae</i> Plowman	Extrato de alcaloides* (caule)	Alcaloides tropânicos	6β-benzoiloxi-3α-(4-hidroxi-3,5 dimetóxi benzoilóxi) tropano, 3α,6β-dibenzoiloxitropano, catuabina B	Citotóxica de contra linhagens de células tumorais humanas	OLIVEIRA et al., 2011
<i>E. gonocladum</i> (Mart.) O.E. Schulz	Extrato etanólico (partes aéreas)	Flavonoide	astilbina	Inibição da ECA	LUCAS FILHO et al., 2010
		Ácidos graxos	ácidos palmítico, esteárico e linolênico		
		Triterpeno	β-sitosterol		
<i>E. alaternifolium</i> A. Rich.	Extrato <i>n</i> -butanólico (folhas)	Flavonoides	quercetina, miricetina, kaempferol, quercetin-3- <i>O</i> -rutinosídeo, ombuina-3- <i>O</i> -rutinosídeo	Atividade antioxidante	CÓRDOVA et al., 2012
<i>E. barbatum</i> O.E. Schulz	Extrato etanólico (raízes e cerne do tronco)	Diterpenos	<i>ent</i> -rosan-1-ona-5α,15,16-triol, <i>ent</i> -11α-acetoxi devadarano-15,16-diol, erythroxiol X, procesterol, erythroxiol Q, hidroxidevadarool	Não analisada	SANTOS et al., 2006
		Triterpeno	β-sitosterol		
<i>E. moonii</i> (Moon) Hochr.	Extrato metanólico (folhas)	Alcaloides tropânicos	3α-hidroxi-7β-fenilacetóxi nortropano, 3α- <i>cis</i> cinamoil oxitropano, 3α-hidroxi-6β-(3-hidroxi-2-metil-3-fenilpropionilóxi)-7β-hidroxi tropano	Não analisada	KHATTAK et al., 2002
<i>E. minutifolium</i> Griseb.	Extrato etanólico (folhas)	Flavonoides glicosilados	ombuina-3-rutinosídeo-5-glucosídeo, quercetina-3-rutinosídeo	Não analisada	GONZÁLEZ-GUEVARA et al., 2006

Continuação: Quadro 2. Estudos realizados com espécies do gênero *Erythroxylum*

<i>E. pungens</i> O.E. Schulz	Extrato etanólico (raízes)	Alcaloide tropânico	pungencina	Hipotensor (diminuição da resistência vascular periférica)	OLIVEIRA et al., 2012
<i>E. argentinum</i>	Extrato etanólico (folhas)	-	-	Atividade antiinflamatória	CHAVES et al., 1988
<i>E. monogynum</i> Roxb.	Extrato de alcaloides* (casca da raiz)	Alcaloides	higrina, tropinona, tropina, 3 α -isobutiriloxitropano (butropina), 3-(2-Metilbutiriloxi) nortropano (isoporoidine), cuscohigrina, 3 β -benzoiloxitropano (tropacocaina)	Não analisada	CHRISTEN et al., 1995
<i>E. zambesiicum</i> N. Robson	Extrato de alcaloides* (casca do caule)	Alcaloides	higrina, tropinona, tropina, tropan-6 β -ol-3-ona, nicotina, valeroidina, 6-isovaleriloxitropan-3-ol	Não analisada	CHRISTEN et al., 1993
<i>E. vacciniifolium</i> Mart.	Extrato clorofórmico (casca do caule)	Alcaloides tropânicos	catuabina D, 7 β -hidroxicatuabina D, catuabina E, 7 β -hidroxicatuabina D, 7 β -acetilcatuabina E, catuabina F, 7 β -hidroxicatuabina F	Não analisada	ZANOLARI et al., 2003
<i>E. coca</i> Lam.	Extrato de alcaloides* (folhas)	Alcaloides tropânicos	cocaína, <i>cis</i> - cinamoil cocaína <i>trans</i> -cinamoil cocaína	Não analisada	SAUVAIN et al., 1997

* Extrato obtido por extração ácido-base, da qual se obtém fração concentrada em alcaloides.

Na medicina popular, espécies deste gênero têm sido usadas como antiinflamatório, antibacteriano, tônico e estimulante, para problemas renais, hepáticos e vesiculares, doenças venéreas e respiratórias (pneumonia, bronquite, asma), diurético e no tratamento de reumatismo e artroses (CANO & VOLPATO, 2004; GONZÁLEZ-GUEVARA et al., 2006). Apesar disso e do grande número de espécies conhecidas, estas são, proporcionalmente, ainda pouco estudadas, excetuando-se as produtoras de cocaína. Poucas referências são encontradas quanto à composição química e atividade biológica do gênero *Erythroxylum* (BRACHET et al., 1997; LUCAS FILHO et al., 2010).

3.5 *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil.

A espécie *E. suberosum*, comumente encontrada no Cerrado brasileiro, foi descrita por naturalistas europeus em suas obras sobre a flora brasileira. No Quadro 3 é apresentada a taxonomia desta espécie e na Figura 5 se observa imagens de um exemplar, nos arredores de Diamantina - MG.

Quadro 3. Taxonomia de *Erythroxylum suberosum*

Táxons	
Reino	<i>Plantae</i>
Filo	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Equisetopsida</i>
Ordem	<i>Malpighiales</i>
Família	<i>Erythroxylaceae</i>
Gênero	<i>Erythroxylum</i>
Espécie	<i>E. suberosum</i>

Fonte: TROPICOS



Figura 5. *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (S18°13.890' e W 043°35.282', 1.297,7 m de altitude).

Fonte: Próprio Autor.

O naturalista Auguste de Saint-Hilaire em *Plantas usuais dos brasileiros* relata a utilização das cascas desta planta para obtenção de pigmento (SAINT-HILAIRE, 2009). Martius, em *Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis* descreve que a casca desta espécie é abundante em “*stryphno*” que precipita em presença de ferro, obtendo-se uma cor azul, pode ser usada para “*fomentações corroborantes*” e para tingir tecidos de cor preta (MARTIUS, 1854).

A espécie floresce de agosto a dezembro e frutifica de setembro a janeiro. Dentre os locais de distribuição estão Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Goiás, Bahia, Alagoas, Amazonas, Acre, Paraguai, Bolívia e Venezuela (MENDONÇA et al., 1998b).

E. suberosum é conhecida, popularmente, como “galinha choca” e “mercúrio do campo” (SAINT-HILAIRE, 2009). Esta espécie foi citada pelos índios Krahô (região central do Brasil) como uma das plantas usadas em seus rituais, com possível ação sobre o sistema nervoso central (RODRIGUES & CARLINI, 2005). Os índios Kayapó (Pará) também fazem uso desta espécie, para tratamento de má digestão, como anestésico e anti-reumático (BARBOSA & PINTO, 2003). As raízes de *E. suberosum* são usadas na medicina popular como adstringente (BARBOSA, 2010).

Uma pesquisa fitoquímica anterior do extrato etanólico de *E. suberosum* revelou por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) a presença de flavonoides, triterpenos, esteroides, taninos, heterosídeos cardiotônicos, saponinas, proantocianidinas e alcaloides (LUCAS FILHO, 2009). Em estudo realizado por Violante e colaboradores (2012), *E. suberosum* apresentou ação antimicrobiana e significativa atividade citotóxica. Bohm e colaboradores (1988) detectaram a presença de canferol e quercetina (Figura 6), tanto na forma de genina livre quanto derivados glicosilados nesta espécie.

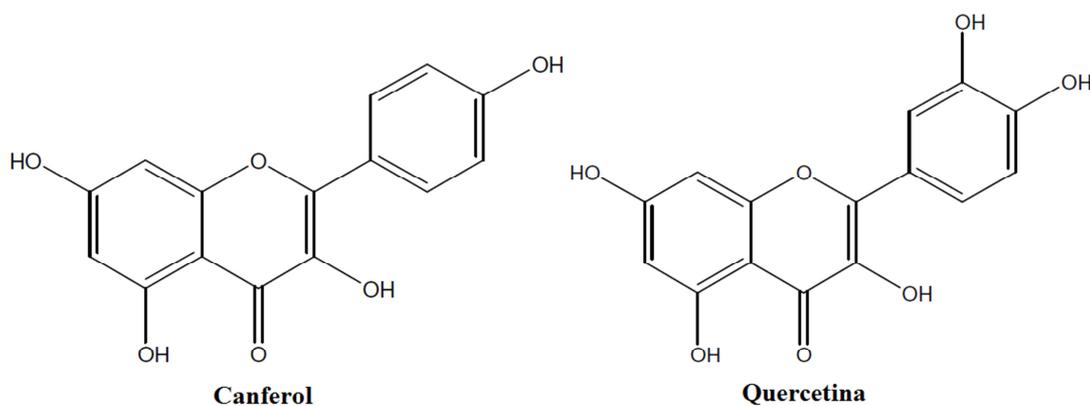


Figura 6. Estrutura dos flavonoides canferol e quercetina, encontrados em *E. suberosum*.
Fonte: Bohm e colaboradores (1988).

Em estudo realizado por Nascimento e colaboradores (2012), uma fração do extrato etanólico de *E. suberosum* apresentou toxicidade sobre a larva *Artemia salina*. Foram isolados cinco diterpenos desta fração bioativa, estes compostos são apresentados na Figura 7. O flavonoide ombuína-3-rutinosídeo foi isolado de uma fração inativa e a rutina (quercetina-3-rutinosídeo) foi detectada no extrato etanólico das folhas de *E. suberosum* (NASCIMENTO et al., 2012).

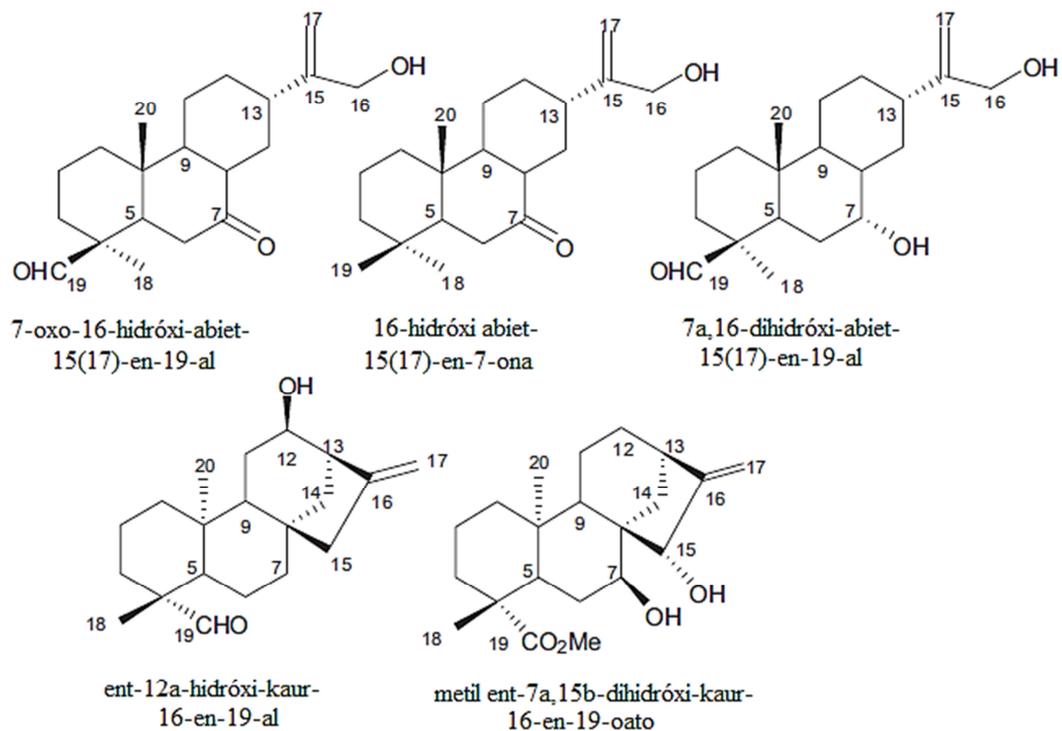


Figura 7. Diterpenos isolados das folhas de *E. suberosum*.
Fonte: Nascimento e colaboradores (2012).

3.5.1 Uso tradicional de *E. suberosum*

A espécie *E. suberosum* é usada na medicina tradicional brasileira há mais de dois séculos. Foram encontrados registros sobre esta espécie em obras publicadas no século XIX, como em *Indicador de Madeiras e Plantas Úteis do Brasil* (FONSECA, 1822), *Plantas Usuais dos Brasileiros* (SAINT-HILAIRE, 2009), *Systema de materia medica vegetal Brasileira* (MARTIUS, 1854) e *Histoire des Plantes* (BAILLON, 1874).

Esta planta é conhecida popularmente como galinha-choca, mercúrio-do-campo, fruta de pomba, cabelo de negro e sessenta e dois. O nome popular galinha-choca, provavelmente, se deve ao fato de seus frutos serem indicados para impedir o choco das galinhas (FONSECA, 1822; CORRÊA, 1931) e o nome mercúrio-do-campo, devido ao pigmento avermelhado que se obtém da casca do caule (BAILLON, 1874; FONSECA, 1822; SAINT-HILAIRE, 2009).

Em relação ao uso tradicional, as obras do século XIX, citam que esta planta é utilizada como adstringente e fortificante (BAILLON, 1874; FONSECA, 1822; MARTIUS, 1854). Esta mesma utilização é indicada em outras obras do século XX (BRANDÃO, 1993; CORRÊA, 1931; SIQUEIRA, 1988) e em trabalho publicado no século XXI (BARBOSA, 2010).

No Quadro 4 são apresentadas informações sobre a espécie *E. suberosum*, como nome popular, indicações de uso e parte da planta utilizada, coletadas em trabalhos que datam do século XIX ao século XXI. Foram realizadas pesquisas em livros históricos, principalmente publicações do século XIX, para obtenção de informações sobre o uso tradicional de *E. suberosum* e outras espécies do gênero *Erythroxylum*.

Quadro 4. Uso tradicional de *E. suberosum*: do século XIX ao século XXI.

Ano	Nome popular	Uso tradicional	Parte utilizada	Referência
1822	Galinha-choca, Mercúrio-do-campo, Sessenta e dois	Marcenaria e carpintaria	Madeira	FONSECA, 1822
		Fornece matéria tintorial vermelha, útil para curtume, adstringente, usos medicinais	Casca do caule	
		Impedem o choco das galinhas	Fruto	
1824	Galinha-choca; Mercúrio-do-campo	Obtenção de pigmento	Casca do caule	SAINT-HILAIRE, 2009
1843	Fruta de pomba	Tingir tecidos de cor preta; fortificante	Casca do caule	MARTIUS, 1854
1862	Galinha-choca; Mercúrio-do-campo	Fornece pigmento avermelhado	-	BARIL, 1862
1874	Galinha-choca, Mercúrio-do-campo	Adstringente, produz pigmento castanho-avermelhado	Casca do caule	BAILLON, 1874
1875	Galinha-choca, Mercúrio-do-campo	Adstringente, fornece tintura castanho-avermelhada	Casca do caule	DECHAMBRE, 1875

Continuação: Quadro 4. Uso tradicional de *E. suberosum*: do século XIX ao século XXI

1889	Galinha-choca, Mercúrio-do-campo	Adstringente, produz pigmento castanho-avermelhado	Casca do caule	EGASSE & DUJARDIN-BEAUMETZ, 1889
1931	Galinha-choca, Fruta de pomba, azogue-do-campo, cabelo de negro, mercúrio-do-campo, sessenta e dois	Marcenaria e carpintaria	Madeira	CORRÊA, 1931
		Adstringente, fortificante, produz pigmento castanho-avermelhado, usada para curtume	Casca do caule	
		Evitar o choco das galinhas	Frutos	
1939	Galinha-choca	Usado como adstringente nas disenterias graves	-	HOEHNE, 1939
1988	Galinha-choca, Cabelo de negro, Mercureiro	Adstringente	Casca do caule	SIQUEIRA, 1988
1993	Galinha-choca, Cabelo de negro	Adstringente, antidiarreico	Raízes	BRANDÃO, 1993
		Purgativo	Casca do caule e folhas	
1998	-	Antidiarreico	Raízes	GAVILANES & BRANDÃO, 1998
2003	-	Tratamento de má digestão, anestésico e antirreumático	-	BARBOSA & PINTO, 2003
2005	-	Usada em rituais indígenas, com possível ação sobre o Sistema Nervoso Central	-	RODRIGUES & CARLINI, 2005
2009	Mercúrio-do-campo	Uso medicinal	-	GUARIM NETO & PASA, 2009
2009	Azogue-do-campo	Antidiarreico	-	OLIVEIRA, 2009
2010	-	Adstringente	-	BARBOSA, 2010

Outras espécies do gênero *Erythroxylum* também são usadas tradicionalmente a mais de dois séculos, como *E. anguifugum*, *E. areolatum*, *E. campestre* e *E. tortuosum* que foram descritas pelo naturalista Martius em *Systema de materia medica vegetal Brasileira* (MARTIUS, 1854). O Quadro 5 (p. 47) apresenta informações sobre o uso tradicional de outras espécies do gênero *Erythroxylum*, encontradas, principalmente em publicações do século XIX.

Quadro 5. Uso tradicional de espécies do gênero *Erythroxylum*.

Espécie	Nome popular	Uso tradicional	Parte utilizada	Referência
<i>E. anguifugum</i> Mart.	Fruta de pomba	Ação antiofídica	Raízes	MARTIUS, 1854
	Fruta de pomba	Ação antiofídica	-	HOEHNE, 1939
<i>E. areolatum</i> L.	Fruta de pomba	Fortificante, Tingir tecidos de cor preta;	Casca do caule	MARTIUS, 1854
	-	Fortificante,	Casca do caule	LE MAOUT & DECAISNE, 1868
		Tratamento de herpes	Folhas	
<i>E. argentinum</i> O.E. Schulz	Rebenque	Aliviar a tosse e a bronquite	-	MENDIETA et al., 2012
<i>E. campestre</i> A. St.-Hil.	Cabelo de negro	Purgativo	Raízes	MARTIUS, 1854
	-	Purgativo	Cascas	BARIL, 1862
	-	Antidiarreico	Raízes	GAVILANES & BRANDÃO, 1998
		Purgativo	Cascas e folhas	
	Cabelo de negro, galinha-choca	Adstringente, antidiarreico	Raízes	BRANDÃO, 1993
		Purgativo	Cascas e folhas	
	Cabelo de negro	Purgativo	-	HOEHNE, 1939
	Cabelo de negro	Purgativo	Raízes	DECHAMBRE, 1875
Cabelo de negro	Purgativo	Raízes	EGASSE & DUJARDIN-BEAUMETZ, 1889	
<i>E. coca</i> Lam.	Coca	Efeito sobre o SNC	Folhas	MARTIUS, 1854
	-	Estimulação do SNC	Folhas	LE MAOUT & DECAISNE, 1868
<i>E. deciduum</i> A. St.-Hil.	Galinha-choca	Usado como adstringente nas disenterias graves	-	HOEHNE, 1939
	-	Purgativo	Cascas e folhas	GAVILANES & BRANDÃO, 1998
<i>E. tortuosum</i> Mart.	Fruta de pomba	Fortificante, Tingir tecidos de cor preta;	Casca do caule	MARTIUS, 1854
	Cabelo de negro, mercureiro	Fornece matéria tintorial vermelha, adstringente	Casca do caule	CORRÊA, 1931
	Fruta de pomba	Adstringente	-	DECHAMBRE, 1875
	Fruta de pomba	Adstringente, produz pigmento castanho-avermelhado	Casca do caule	EGASSE & DUJARDIN-BEAUMETZ, 1889
<i>E. vacciniifolium</i> Mart.	Catuaba	Afrodisíaco	Casca do caule	SILVA et al., 2012
	Catuaba	Doenças do sistema nervoso	Casca do caule	MONTELES & PINHEIRO, 2007

3.6 ESTUDO FITOQUÍMICO

A pesquisa fitoquímica pode servir a vários propósitos, tais como: obtenção de moléculas bioativas; estudos quimiotaxonômicos; determinação de marcadores químicos e princípios ativos (importantes para controle de qualidade de matéria-prima vegetal empregada em fitoterápicos); determinação de substâncias tóxicas em plantas de uso popular, o que pode ser uma informação importante, regulando e recomendando a não utilização da planta além de fornecer maiores informações sobre a composição química de plantas tradicionalmente empregadas no tratamento de doenças.

Após o preparo de extratos a partir do material vegetal, os mesmos podem ser submetidos a análises para a detecção de classes específicas de metabólitos secundários. Essas análises podem ser reações cromogênicas e de formação de complexos que precipitam no meio reacional, como também, análises cromatográficas (CCD, CG, CLAE). Algumas técnicas hífenadas (CG/EM, CLAE/EM, CLAE/UV, CLAE/RMN) são empregadas com intuito analítico e podem fornecer informações sobre a estrutura molecular do analito, servindo à identificação estrutural. Processos cromatográficos preparativos (CCC, CLAE) são empregados com a finalidade de isolamento e purificação de produtos naturais, que são identificados por técnicas espectrométricas e podem ser utilizados em ensaios biológicos, assim como os extratos dos quais derivaram (HOSTETTMANN et al., 2008; MATOS, 1997; SIMÕES et al., 2007).

3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O estresse oxidativo, consequência do desequilíbrio entre fatores pró-oxidantes e antioxidantes no organismo, desempenha um papel muito importante na patogênese de diversas doenças, como diabetes, doenças cardiovasculares, câncer, aterosclerose (DROGE, 2002).

Os radicais, tais como hidroxila, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio, ânion superóxido, são gerados continuamente na célula como resultado do metabolismo normal. No entanto, estas e outras espécies reativas (espécies reativas de nitrogênio, radicais derivados de tióis, espécies reativas de cloro, espécies reativas de carbono e complexos de metais de

transição, principalmente Fe, Cu, Mn e Cr) podem ser prejudiciais quando estão em excesso no organismo. (DROGE, 2002; RAMALHO & JORGE, 2006).

Os radicais podem causar diversos efeitos patológicos, como carcinogênese, danos ao DNA, inativação enzimática e envelhecimento, por reagirem com macromoléculas biológicas (DROGE, 2002).

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, por meio de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais e complexação de metais (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, pesquisas têm sido dirigidas no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associações entre eles, com intuito de diminuir sua quantidade nos produtos consumidos diariamente pela sociedade (RAMALHO & JORGE, 2006). Além disso, produtos naturais com atividade antioxidante podem ter emprego cosmético, preventivo de doenças e do envelhecimento precoce, além de poderem atuar como coadjuvantes em algumas doenças nas quais o processo patológico gera radicais que potencializam sintomas ou agravam o quadro geral do paciente.

Os compostos fenólicos de origem vegetal, como os fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), flavonoides, cumarinas, taninos e lignanas, possuem atividade antioxidante. Estes metabólitos secundários atuam na captura e neutralização de espécies reativas de oxigênio. Além de serem capazes de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais (SOUSA et al., 2007; ZUANAZZI & MONTANHA, 2007). Alguns requisitos estruturais são importantes para uma melhor atividade antioxidante de compostos fenólicos, como por exemplo, a presença de hidroxilas fenólicas vicinais (RICE-EVANS et al., 1996). A relação entre estrutura e atividade antioxidante dos compostos fenólicos está apresentada na Figura 8 (p. 50), que evidencia a complexação de íons metálicos (a) e a captura do radical DPPH e estabilização e deslocalização do elétron desemparelhado pela quercetina (b)

A determinação de compostos fenólicos em extratos vegetais é realizada, na maioria das vezes, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Este reagente consiste na mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstíco que, na presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, são reduzidos a molibdênio azul e tungstênio azul, cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (SOUSA et al., 2007).

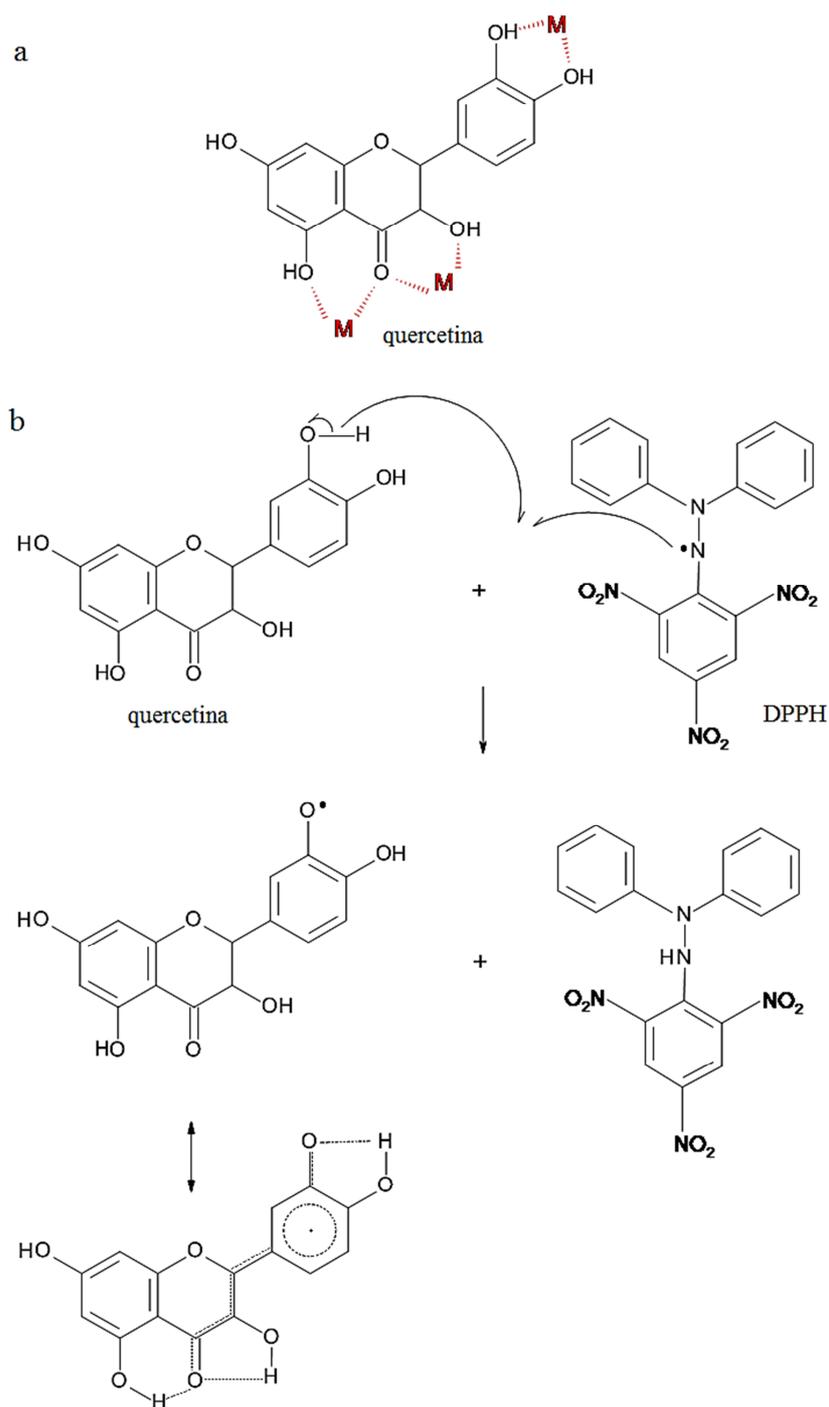


Figura 8. Complexação de íons metálicos (a) e captura do radical DPPH (b) pela quercetina.
Fonte: Teixeira & Silva (www.qnint.sbg.org.br).

Vários métodos têm sido utilizados para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de extratos e substâncias isoladas. Um dos mais usados é o método de sequestro de radicais, como o 2,2- difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; SOUSA et al., 2007).

O DPPH• é um radical estável, solúvel em metanol ou etanol, que possui uma coloração violeta e apresenta um pico de absorção com λ máxima a 517 nm. A ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar ($R\bullet$) provoca a redução do DPPH• formando o difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, o que diminui a absorbância a 517 nm (Figura 9) (DENG et al., 2011; LI et al., 2009; SOUSA et al., 2007). Os resultados do ensaio de sequestro do DPPH tem sido apresentados de diversas formas. A maioria dos estudos apresenta os resultados como o valor de IC_{50} , que representa a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50%. Este valor é calculado plotando a porcentagem de inibição contra a concentração do extrato ou substância. Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será sua IC_{50} e, conseqüentemente, maior a sua atividade antioxidante (DENG et al., 2011; SOUSA et al., 2007).

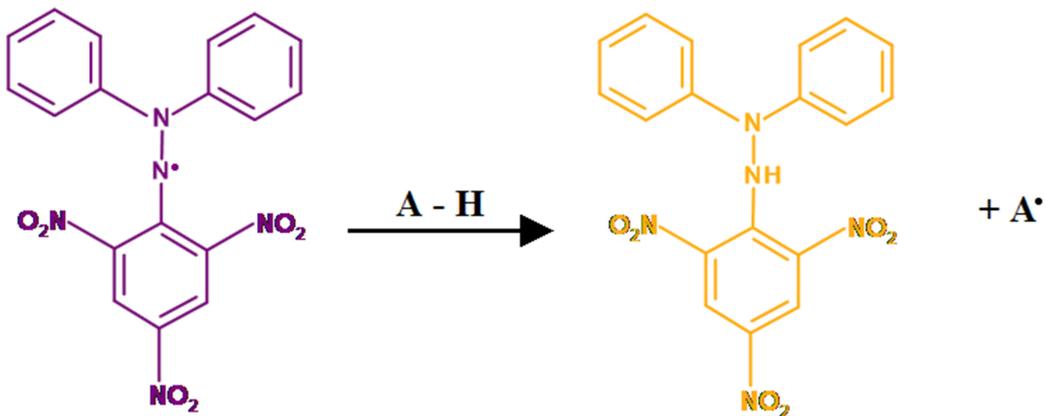


Figura 9. Reação de redução do DPPH.
Fonte: Teixeira & Silva (www.qnint.sbq.org.br).

Os métodos que determinam o poder dos extratos ou substâncias isoladas de reduzir íons metálicos são também utilizados para avaliação do potencial antioxidante. Estes são baseados na redução do Fe^{3+} e formação de um complexo colorido com Fe^{2+} (LIM & QUAH, 2007; ROGINSKY & LISSI, 2005). As substâncias fenólicas reagem com o íon ferricianeto $[Fe(CN)_6]^{3-}$ e são oxidadas, enquanto o $[Fe(CN)_6]^{3-}$ é reduzido a íon ferrocianeto $[Fe(CN)_6]^{4-}$. Este então reage com o íon férrico (Fe^{3+}) formando o ferrocianeto férrico ou hexacianeto de ferro III ($Fe_4[Fe(CN)_6]_3$), também conhecido como Azul da Prússia (Figura 10, p. 52). Assim, a formação de coloração azul medida a 700 nm pode ser usada para monitorar a concentração de Fe^{2+} (GRAHAM, 1992).

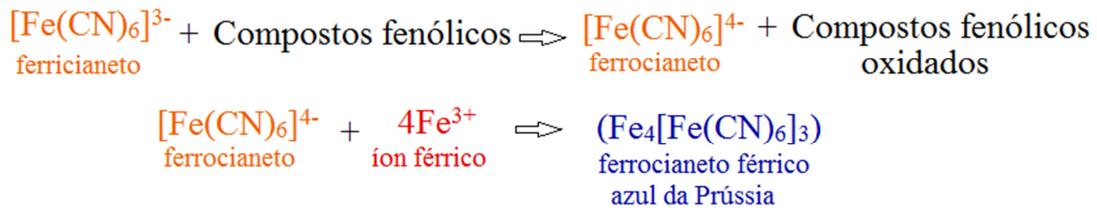


Figura 10. Reação de formação do Azul da Prússia por ação de compostos redutores.
Fonte: Graham (1992).

Outra técnica que vem sendo utilizada para avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais é a voltametria cíclica (CHEVION et al., 2000; LÚCIO & GIL, 2007). Em associação com métodos mais tradicionais como os métodos que avaliam sequestro de radical ou redução de íons metálicos, a voltametria cíclica pode confirmar a atividade antioxidante de produtos naturais.

Os métodos voltamétricos dependem da medida da corrente, em função do potencial aplicado. A voltametria é uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante a eletrólise dessa espécie em uma célula eletroquímica. As células eletroquímicas utilizadas em voltametria podem ter dois ou três eletrodos (ALEIXO, 2003).

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica eletroanalítica importante e amplamente empregada. Na VC, a varredura de potencial é feita em uma direção e, em seguida, na outra, enquanto a corrente é medida. Um experimento envolvendo VC pode empregar um ciclo inteiro, um ciclo parcial ou ainda vários ciclos. O potencial é aplicado entre os dois eletrodos em forma de varredura, isto é, variando-o a uma velocidade constante em função do tempo. O potencial e a corrente resultante são registrados simultaneamente. A curva corrente *versus* potencial obtida é chamada de voltamograma (ALEIXO, 2003; SKOOG et al., 2006).

Os compostos orgânicos antioxidantes são agentes redutores, que diminuem a atividade de espécies oxidantes pela doação de elétrons. Sendo assim, a avaliação do poder redutor de um composto ou grupo de compostos pela VC reflete sua atividade antioxidante (ALVES et al., 2010; CHEVION et al., 2000). Neste contexto, a VC tem sido relatada na literatura como uma ferramenta simples e rápida para avaliar a capacidade antioxidante total de diferentes amostras.

As informações mais importantes fornecidas pela voltametria cíclica são *ipa* e *ipc* (correntes de picos anódico e catódico) e *Epa* e *Epc*, potenciais de picos anódico (relativo ao processo de oxidação) e catódico (relativo ao processo de redução). Quanto maior o valor de

E_{pa} , menor é o poder doador de elétron da espécie em estudo e, portanto, teoricamente, menor seu poder antioxidante. Já o valor da corrente de pico anódica (i_{pa}), está relacionado com a concentração de antioxidantes presentes na amostra analisada (ALVES et al., 2010; GANDRA et al., 2004). Um exemplo de voltamograma cíclico é apresentado na Figura 11.

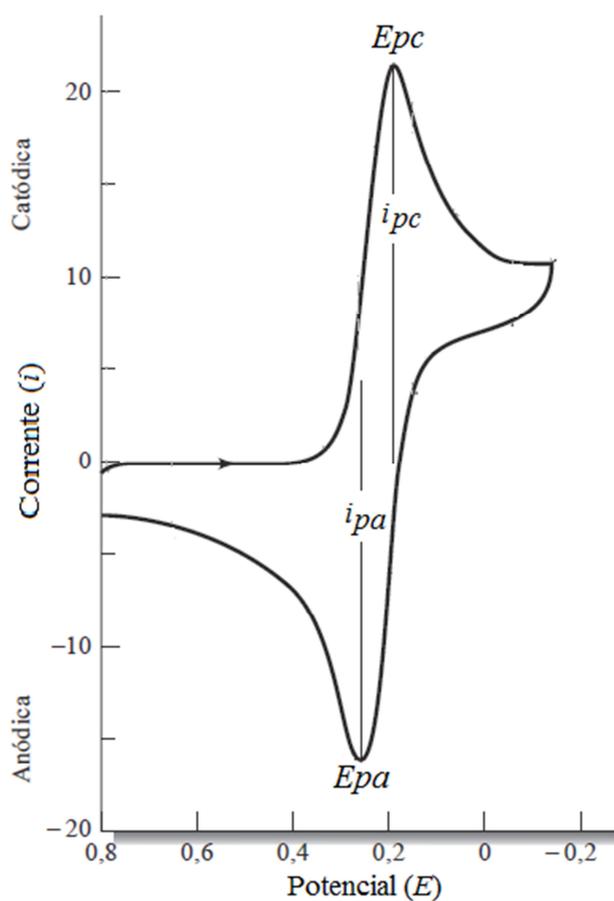


Figura 11. Exemplo de voltamograma cíclico.
Fonte: Adaptado de Skoog e colaboradores (2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTUDO DAS ESPÉCIES DESCRITAS POR SAINT-HILAIRE NO NORTE/NORDESTE DE MINAS GERAIS EM SUA OBRA *PLANTAS USUAIS DOS BRASILEIROS*

4.1.1 Pesquisas em Herbários Virtuais

Foram realizadas pesquisas em herbários virtuais para detectar as coletas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, principalmente de *E. suberosum*. Este levantamento foi feito nas páginas eletrônicas de herbários como o *Royal Botanic Gardens* (KEW), o *Muséum national d'histoire naturelle de Paris* (MNHN) e do Herbário Virtual A. de Saint-Hilaire, Herbário Virtual REFLORA e Herbário Virtual da Flora e dos Fungos (HVFF), que é um banco de dados contendo coleções de diversos herbários nacionais e internacionais.

4.1.2 Coleta na região de Diamantina das espécies descritas por A. Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais

As espécies encontradas na região de Diamantina foram coletadas (ramos floridos) para confecção das exsicatas e identificação. Os locais de coleta foram georreferenciados por GPS (Global Positioning System). As coletas foram realizadas juntamente com o botânico Prof. Dr. Carlos Victor Mendonça Filho (UFVJM), e as exsicatas produzidas a partir dos materiais coletados foram depositadas no Herbário DIAM/UFVJM e no Herbário Dendrológico Jeanine Felfili HDJF/UFVJM, devendo ser disponibilizadas para o programa REFLORA, juntamente com as imagens (fotos) produzidas durante as coletas.

4.2 MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS UTILIZADAS NOS ESTUDOS FITOQUÍMICOS E NOS ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.2.1 Solventes e reagentes

Foram utilizados solventes orgânicos de grau comercial para o preparo dos extratos, fracionamento por Cromatografia em Coluna Clássica (CCC), análise por Cromatografia em camada Delgada (CCD), partição e reunião das frações e ensaios antioxidantes. Os solventes eram das marcas Dinâmica ®, Neon®, Anidrol®, Isofar®, Cromoline®, Proquimios® e Vetec ®. A água foi destilada em Destilador Quimis®. Na realização dos testes de atividade antioxidantes foram utilizados os reagentes Folin-Ciocalteu (Dinâmica®), ácido gálico (Impex®), carbonato de sódio (Dinâmica®), ferricianeto de potássio (Synth®), cloreto férrico (Vetec®), ácido tricloroacético (Synth®), DPPH (Aldrich®).

4.2.2 Concentração dos extratos, fases e frações

Os solventes contidos nos extratos, fases e frações foram concentrados em evaporador rotativo Fisatom ® 802 a 40-50°C sob pressão reduzida, e/ou secagem por exposição à temperatura ambiente.

4.2.3 Balança

Para pesagem de todos os reagentes (inclusive os utilizados nos ensaios antioxidantes), materiais, frascos e extratos deste trabalho, utilizou-se balança analítica Shimadzu® AY220.

4.2.4 Cromatografia em Coluna Clássica (CCC)

Nos fracionamentos em CCC foi usada a fase estacionária Sílica Gel 60 0,060 – 0,200 mm (Acros-Organics®). Como fase móvel utilizou-se os solventes hexano, acetato de etila e etanol, e misturas dos mesmos, em gradiente crescente de polaridade (COLLINS et al., 2006).

4.2.5 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para a CCD foram empregadas placas de Sílica Gel 60 WhatmanR 20 x 20 cm, espessura 250 µm. Como agentes reveladores foram usadas luz UV ($\lambda = 254$ e 366 nm) (lâmpadas Sankyo Denk ®), vanilina sulfúrica seguida de aquecimento da placa a 100-110°C, solução metanólica de ácido sulfúrico a 50%, cloreto férrico 2%, ferricianeto de potássio 1% e hidróxido de potássio 5%.

4.2.6 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM)

Fases resultantes da extração de Método Stas-Otto foram analisadas no Cromatógrafo a Gás acoplado a Espectrômetro de Massas (CG/EM) Shimadzu ® CGEM- QP2010 do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos da FCFRP/USP.

4.2.6.1 Coluna e condições de análise em CG/EM

A análise foi realizada em uma coluna capilar de sílica fundida DB5-MS (30m × 0,25 mm x 0,25 µm). O hélio foi usado como gás de arraste a uma vazão de 1,2 mL.min⁻¹. As temperaturas do injetor e do detector foram 260°C e 300°C, respectivamente. Utilizou-se para análise o seguinte programa de temperatura: 60 °C por 2 min, 60-120°C (30°C/min), 120-

220°C (10°C/min), 220-300 °C (5°C/min), 300 °C por 20 min. O tempo total da análise cromatográfica foi 50 minutos (BRACHET et al., 1997; ZUANAZZI et al., 2001).

4.2.7 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Frações das CCC dos extratos em acetato de etila e etanólico foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência no Cromatógrafo Varian ProStar com Detector UV-DAD e degaseificador Degassit 6341.

4.2.7.1 Coluna e condições de análise em CLAE

A análise foi realizada em coluna analítica Supelcosil™ LC-18 (25 cm x 4,6 mm) com filme de revestimento de 5 µm de espessura. Sistema equipado com pré-coluna Varian C18. A fase móvel utilizada foi metanol (0,1% de ácido trifluoroacético) e água (0,1% de ácido trifluoroacético) em um gradiente que variou de 20 a 100% de metanol. A água utilizada foi purificada em Ultra Purificador Gehaka®. Antes da análise os solventes foram degaseificados em sonicador Alt Sonic Clean®.

4.2.8 Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Nos ensaios de atividade antioxidante dos extratos (Determinação de fenólicos totais, Atividade de retirada do radical DPPH e Determinação do poder redutor de íons metálicos), foi utilizado espectrofotômetro UV-Vis Femto® Espectro 600.

4.2.9 Potenciostato

Os experimentos voltamétricos, para avaliação do poder antioxidante dos extratos, foram realizados utilizando o Potenciostato Autolab (modelo 128N) conectado ao software GPES para a aquisição dos dados. As análises foram realizadas em uma célula eletroquímica de 10 mL com sistema de três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar). O eletrodo de trabalho utilizado foi o eletrodo de diamante dopado com boro (8.000 ppm de dopagem e área de 3,14 mm²), da empresa Adamant Technologies SA, La Chaux-de-Fonds, Suíça. O eletrodo de referência foi o Ag/AgCl (KCl saturado) e o eletrodo auxiliar usado foi o fio de Platina.

4.3 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS

Amostras de *E. suberosum* foram coletadas no dia 20 de abril de 2012, às 9:30 horas nas proximidades do Campus JK da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) em Diamantina, Minas Gerais. As coordenadas do local de coleta são S18°13.890' e W 043°35.282' que está a uma altitude de 1.297,7 metros.

Uma exsicata do material foi depositada no Herbário Dendrológico Jeanine Felfili (HDJF/UFVJM), sob o número de registro 1189.

4.4 ESTUDO FITOQUÍMICO

4.4.1 Preparo dos extratos orgânicos

As folhas foram dessecadas em estufa de ar circulante a 35°C até peso constante e, posteriormente, foram pulverizadas em moinho de facas (ANVISA, 2010). Após a pulverização obteve-se 482,0 g de material vegetal. Os extratos foram preparados por maceração e os solventes utilizados foram hexano, acetato de etila e etanol (Figura 12, p. 60).

A extração foi realizada três vezes com cada um dos solventes, sendo que em cada extração o material vegetal foi deixado em contato com o solvente por 72 horas. Ao final do processo os extratos obtidos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo a 40°C sob pressão reduzida.

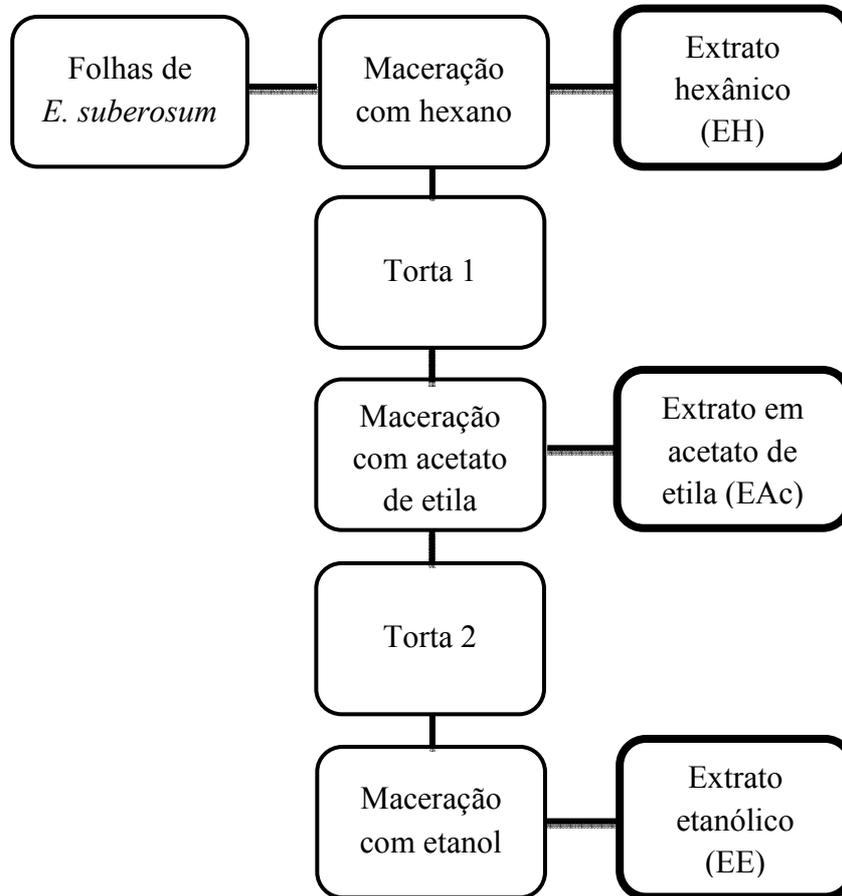


Figura 12. Esquema de preparo dos extratos orgânicos das folhas de *E. suberosum*.

4.4.2 Triagem fitoquímica

Foram pesquisados, por triagem fitoquímica, os principais grupos de metabólitos secundários presentes nos extratos da planta. Estes ensaios foram realizados por reações cromogênicas, de precipitação e CCD. Os testes foram baseados nas metodologias de Costa (2002) e Matos (1997), conforme a polaridade de cada extrato.

O Quadro 6 (p. 61) apresenta os procedimentos da análise fitoquímica realizados com cada extrato e o resultado em caso de reação positiva para cada classe de metabólito secundário. A triagem fitoquímica não foi realizada com o extrato hexânico, pois este

normalmente apresenta em sua constituição substâncias graxas, esteroides e terpenos e em geral não são encontradas substâncias fenólicas (MATOS, 1997; SIMÕES et al., 2007).

Quadro 6. Triagem fitoquímica dos extratos das folhas de *E. suberosum*

Extrato analisado	Metabólito secundário	Procedimento realizado com o extrato	Resultado positivo
Extrato em acetato de etila	Alcaloides	3 mL de HCl 2% + Reativo de Mayer	Formação de precipitado ou turvação
	Cumarinas	1 mL de água em ebulição. CCD: Fase estacionária sílica gel, fase móvel hexano:acetato de etila 1:1, revelador KOH 0,5mol.L ⁻¹ . Leitura a 366 nm	Mancha esverdeada ou azul fluorescente
	Derivados antracênicos	1 mL de NH ₄ OH 25%	Coloração vermelha
	Flavonoides	2 mL de metanol + Mg metálico + 1 mL de HCl concentrado (Reação de Shinoda).	Cor avermelhada
	Triterpenos/ esteróides	1 mL de CHCl ₃ + Reativo de Liebermann Burchard	Coloração verde-escuro
Extrato etanólico	Alcaloides	20 mL de HCl 10% + alcalinização até pH 9 + extração com éter etílico + evaporação da fração etérea + 3 mL de HCl 10% + Reativo de Mayer	Formação de precipitado ou turvação
	Taninos	2 mL de água destilada + 5 gotas de FeCl ₃ 1%	Cor verde= taninos condensados; Cor azul= taninos hidrolisáveis
	20 mL de HCl 20% + refluxo por 30 min + 20 mL de água + evaporação + extração com 3x20 mL de éter etílico + separação das fases aquosa e etérea		
	Fase aquosa		
	Antocianinas	Elevação a pH 9 - 10	Coloração verde-acastanhado a azul
	Fase Etérea		
	Cumarinas	CCD: Fase estacionária sílica gel, fase móvel hexano:acetato de etila 1:1, revelador KOH 0,5M. Observação a 366 nm	Mancha esverdeada ou azul fluorescente
	Derivados antracênicos	3 mL de NH ₄ OH 25%	Coloração vermelha
Flavonoides	2 mL de metanol 50% + Mg metálico + 1 mL de HCl concentrado (Reação de Shinoda).	Cor avermelhada	
Triterpenos/ esteróides	1 mL de CHCl ₃ + Reativo de Liebermann Burchard	Coloração verde-escuro	

4.4.3 Fracionamento dos extratos

Os extratos foram fracionados através de cromatografia preparativa e técnicas cromatográficas analíticas foram empregadas (CG e CLAE).

4.4.3.1 Cromatografia em Coluna Clássica (CCC)

Os extratos hexânico, acetato de etila e etanólico foram fracionados através de CCC, utilizando como fase estacionária a sílica gel e fase móvel hexano, acetato de etila, etanol e misturas desses solventes em gradiente crescente de polaridade.

4.4.3.2 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As frações obtidas pela CCC foram analisadas por CCD e as que apresentaram perfil cromatográfico semelhante foram reunidas.

4.4.3.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (CLAE-DAD)

Frações obtidas a partir dos extratos em acetato de etila e etanólico foram analisadas por CCD. As placas que apresentaram cromatogramas com uma ou duas manchas nas cromatoplasmas após revelação, foram submetidas a análise por CLAE-DAD.

4.4.4 Extração e identificação de alcaloides de *E. suberosum*

A pesquisa de alcaloides nos extratos das folhas de *E. suberosum* foi realizada devido a estes metabólitos já terem sido relatados em outras espécies do gênero *Erythroxylum* (CHRISTEN et al., 1995; KHATTAK et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2011; ZUANAZZI et al., 2001).

4.4.4.1 Extração pelo Método Stas-Otto

Foi preparado um extrato pelo Método de extração descrito por Stas-Otto (Extração ácido/base) (OLIVEIRA et al., 2011; ZUANAZZI et al., 2001). O procedimento desta extração é apresentado na Figura 13, a seguir.

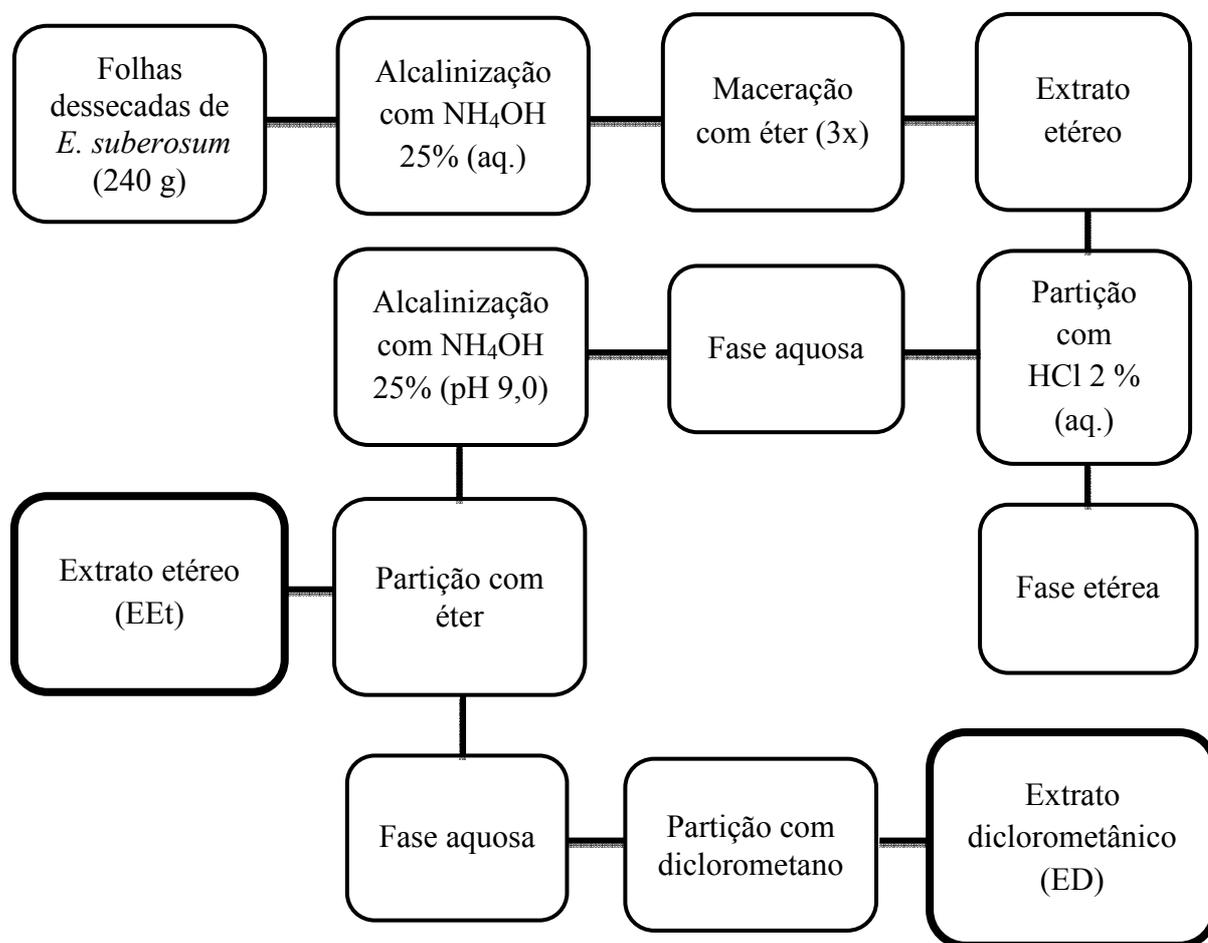


Figura 13. Extração das folhas de *E. suberosum* pelo método Stas-Otto.

4.4.4.2 Identificação de substâncias extraídas pelo Método Stas-Otto

Os constituintes dos extratos etéreo e diclorometânico obtidos pelo método Stas-Otto foram identificados por espectros obtidos a partir de análises por CG/EM.

4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.5.1 Determinação de fenólicos totais

A dosagem de fenólicos totais presentes nos extratos de *E. suberosum* foi realizada usando o reagente de Folin Ciocalteu segundo metodologia de Singleton e colaboradores (1999) com modificações. Os extratos foram analisados na concentração de 100 ppm, preparados solubilizando 10 mg de extrato em 100 mL de metanol.

Alíquotas de 100 μL das amostras foram misturadas a 100 μL de reagente de Folin Ciocalteu e 0,8 mL de água destilada. Esta mistura foi agitada vigorosamente e deixada em repouso por 5 minutos. Em seguida foi adicionado 1,0 mL de solução de carbonato de sódio 1mol.L^{-1} ; a solução foi agitada e deixada em repouso por 90 minutos. Os valores das absorvâncias das amostras foram medidas a 750 nm.

O ácido gálico (AG) foi usado como padrão, nas concentrações de 0, 20, 40, 60, 80 e 100 ppm, para construção da curva analítica. O ensaio foi realizado em triplicata e a quantidade de fenólicos totais, em mg por grama de extrato, foi expressa em equivalentes de ácido gálico, de acordo com equações previamente descritas na literatura (IGBINOSA et al., 2011; SOUSA et al., 2007).

4.5.2 Atividade de retirada de radical usando o método DPPH

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada mediante avaliação da capacidade das substâncias presentes em sequestrar o radical estável DPPH, de acordo com

Singh e colaboradores (2002) e Blois (1958). Foram utilizadas cinco concentrações diferentes do padrão (ácido gálico Impex®) e dos extratos para determinação do IC₅₀. Aliquotas de 100 µL dos extratos e do padrão dissolvidos em metanol foram colocadas em tubos de ensaio separadamente. Foram adicionados aos tubos 5,0 mL de solução metanólica de DPPH (Aldrich®) 0,1mmol.L⁻¹, e estes foram agitados vigorosamente. Os tubos foram deixados em repouso a 27°C por 20 min. Três tubos controle contendo metanol e DPPH, sem os extratos, foram usados como brancos. As absorvâncias foram medidas a 517 nm em espectrofotômetro UV-Vis. Todos os testes foram realizados em triplicata e a atividade de retirada de radical (ARR) foi expressa como a porcentagem de inibição e calculada usando a fórmula:

$$\% \text{ ARR} = (\text{Abs. branco} - \text{Abs. amostra}) / \text{Abs. branco} \times 100$$

Foi construído um gráfico relacionando a concentração da amostra (Eixo x) e a porcentagem de inibição (Eixo y) e a partir da equação da reta calculou-se o IC₅₀ do padrão e dos extratos.

4.5.3 Poder redutor de íon metálico

O poder redutor dos extratos foi avaliado de acordo com a metodologia descrita por Yildirim e colaboradores (2001). Foram utilizadas alíquotas de 1 mL dos extratos a 50, 100, 200 e 300 ppm em etanol, separadamente. Foi usado como padrão 1 mL de solução de ácido gálico nas mesmas concentrações dos extratos. Acrescentaram-se as alíquotas, 1,0 mL de tampão fosfato 0,2 mol.L⁻¹ (pH 6,6) e 1,5 mL de ferricianeto de potássio 1%. Em seguida, as amostras foram incubadas a 50 °C por 30 min. Após este período adicionou-se 1,5 mL de ácido tricloroacético 10% e as misturas foram centrifugadas separadamente a 2500 rpm por 8 min. Retirou-se 2,0 mL da camada superior, que foram acrescidos de 2,0 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico 0,1 %. A absorvância foi medida a 700 nm em espectrofotômetro UV-Vis. Os testes foram realizados em triplicata, e o poder redutor foi considerado maior ou menor dependendo da maior ou menor absorvância observada, respectivamente.

4.5.4 Análise Estatística

Os resultados apresentados correspondem à média \pm desvio-padrão de três repetições e foram comparados por análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey para identificar as diferenças significativas entre as médias, nos testes de Atividade de Retirada de Radical (ARR) e Poder Redutor. Foi utilizando o programa GraphPad Prism 3, onde as médias em nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significantes (SOARES & SIQUEIRA, 1999).

4.5.5 Voltametria cíclica para avaliação do potencial antioxidante

Os experimentos voltamétricos foram realizados de acordo com metodologia descrita por Kilmartin (2001) com modificações. Os extratos foram dissolvidos em 10 mL de solução de etanol: H_2SO_4 $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (1:1) e deixados em repouso por, aproximadamente 12 horas. Para realização dos experimentos foram utilizados 500 μL de cada solução dos extratos e 4,5 mL de tampão Brintton-Robson. Realizou-se também a leitura do branco, que consistia em 500 μL de solução de etanol: H_2SO_4 $0,1\text{mol.L}^{-1}$ (1:1) e 4,8 mL de tampão Brintton-Robson, para comparação com os resultados das amostras.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DAS ESPÉCIES DESCRITAS POR SAINT-HILAIRE NO NORTE/NORDESTE DE MINAS GERAIS EM SUA OBRA *PLANTAS USUAIS DOS BRASILEIROS*

5.1.1 Pesquisa em Herbários Virtuais

As espécies botânicas descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais no século XIX e registradas em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros* estão citadas no Quadro 7 (p. 68). Este Quadro apresenta os locais de coleta no século XIX e os usos de cada planta citados pelo naturalista, bem como dados sobre a ocorrência atual das espécies e pesquisas sobre suas atividades biológicas.

Os locais de coleta, nos séculos XIX a XXI, foram detectados por meio de levantamento realizado na página do Herbário Virtual da Flora e dos Fungos (HVFF), Herbário virtual A. de Saint-Hilaire e Herbário Virtual REFLORA. Para algumas plantas foram encontradas coletas realizadas nos mesmos locais citados por Saint-Hilaire ou em localidades muito próximas, tais como: a espécie *Strychnos pseudoquina*, encontrada pelo naturalista nos “*distritos de Minas Novas e dos Diamantes*”, que apresenta coletas mais atuais nas cidades de Diamantina e Turmalina (próximo a Minas Novas); *Davilla elliptica* relatada por Saint-Hilaire no “*distrito de Minas Novas*” possui registros de coletas em cidades do norte de Minas como Araçuaí, Cristália, Montes Claros, Grão Mogol, Diamantina e Couto Magalhães de Minas; a espécie *Remijia ferruginea* foi encontrada por Saint-Hilaire “*em São João del Rei, nos arredores de Villa- Rica e em Minas Novas*” e as pesquisas em herbários virtuais revelaram coletas em São João del Rei, Ouro Preto e cidades do norte de Minas (Virgem da Lapa, Grão Mogol, Turmalina); para a espécie *Helicteres sacarolha* foram descritos pelo naturalista como locais de ocorrência, “*Paracatu, Minas Novas, Olho d’Água*” e foram encontradas coletas atuais em Paracatu e cidades próximas a Olhos d’Água, como Bocaiúva, Joaquim Felício e Montes Claros; *Lippia pseudothea*, encontrada por Saint-Hilaire na “*Serra de Cadonga, perto do vilarejo de Tapanhoacanga*”, apresenta a grande maioria das coletas em Diamantina e regiões próximas, como Serro, São Gonçalo do Rio Preto, Joaquim Felício, Felício dos Santos, Itapanhoacanga, Presidente Kubitschek e Gouveia.

Quadro 7. Locais de ocorrência nos séculos XIX, XX e XXI, usos e pesquisas sobre atividades biológicas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais.

Espécie	Local de ocorrência citado em <i>Plantas Usuais dos Brasileiros</i>	Coletas no século XIX	Coletas atuais em Minas Gerais	Uso citado em <i>Plantas Usuais dos Brasileiros</i>	Pesquisas sobre atividades biológicas
<p><i>Cochlospermum regium</i> (butua do curvo)</p>	<p>Campos do <i>Certão</i>, perto de <i>Paracatu</i>, <i>Riachara</i>, <i>Formigas</i>, etc; <i>Caatingas</i>, perto do posto militar, dito <i>Quartel de Teixeira</i>, <i>Minas Novas</i>.</p>	<p>1840: - (NYBG - J. S. Blanchet) 1855: São Paulo (R - A. F. Regnell) 1883: Minas Gerais- Jequitinhonha (R- Glaziou, A.F.M.)</p>	<p>Itaobim, Joaquim Felício, Porteirinha, Várzea da Palma, Virgem da Lapa, Araxá, Paraopeba, Januária, Patos de Minas, Montes Claros, Brasilândia de Minas, Prudente de Moraes, Uberlândia, Arcos, Curvelo, Bocaiúva, Três Marias, Perdizes.</p>	<p>As raízes são usadas para tratamento de dores internas provocadas por quedas e acidentes</p>	<p>Extrato aquoso das raízes apresentou citotoxicidade por indução de apoptose em células ovarianas de hamsters (CESCHINI & CAMPOS, 2006)</p>
<p><i>Davilla elliptica</i> (sambaibinha)</p>	<p>Distrito de <i>Minas Novas</i>, no meio de tipos de arbustos chamados <i>carrascos</i>.</p>	<p>1816: São Paulo (MNHN- A. de Saint-Hilaire) 1838: Minas Gerais (NYBG- P. Clausen) 1888: São Paulo (SP- Loeffgren, A.) 1892: Minas Gerais (R- Glaziou, A.F.M.)</p>	<p>Paracatu, Gouveia, Grão Mogol, São João da Chapada, Sete Lagoas, São Gonçalo do Rio Preto, Cristália, Sabará, Lagoa Santa, Brumadinho, Belo Horizonte, Várzea da Palma, Conceição do Mato Dentro, Corinto, Montes Claros, Capitólio, Congonhas do Norte, Diamantina, Formiga, Paracatu, Araçuaí, Couto Magalhães.</p>	<p>É adstringente, usada como vulnerária (para tratamento de úlceras e feridas)</p>	<p>Extrato hidroalcoólico das partes aéreas reduziu alguns sintomas da reação inflamatória (AZEVEDO et al., 2007) Extrato clorofórmico das folhas apresentou potencial atividade imunológica e microbiológica contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (LOPES et al., 2007) Extrato metanólico das folhas apresentou efeito gastroprotetor (KUSHIMA et al., 2009)</p>

Continuação: Quadro 7. Locais de ocorrência nos séculos XIX, XX e XXI, usos e pesquisas sobre atividades biológicas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais

<p><i>Esenbeckia febrifuga</i></p> <p>(três folhas vermelhas, laranjeira do mato)</p>	<p>Província de Minas, e em particular perto de <i>Itabira do Mato Dentro</i>.</p>	<p>1824: - (NYBG- L. Riedel) 1887: São Paulo- Itapetininga (SP- Loeffgren, A.) 1896: São Paulo- Botucatu (SP- Edwall, G.)</p>	<p>Santa Bárbara, Belmiro Braga, Santa Rita de Jacutinga, Januária, São Gonçalo do Rio Abaixo, Nova Lima, Belo Horizonte, Francisco Sá, Santa Luzia, Sabará, Caratinga, São Roque de Minas.</p>	<p>O caule e a casca são usados como febrifugos</p>	<p>Extrato etanólico do caule demonstrou atividade antiplasmódica contra <i>Plasmodium falciparum</i> (DOLABELA et al., 2008)</p>
<p><i>Helicteres sacarolha</i></p> <p>(sacarolha, rósea para malas)</p>	<p>Província de Minas, a saber: nos campos perto da cidade de <i>Paracatu</i>, nos campos de <i>Taracambi</i>, perto de <i>Nossa Senhora da Penha de Minas Novas</i>, perto do povoado de <i>Contendas e Olho d'Água</i>, na sua parte ocidental e deserta chamada <i>Certão</i>, perto de <i>Formiga</i>.</p>	<p>- Minas Gerais- Olho d'Água (MNHN- A. de Saint-Hilaire) - Minas Gerais - Paracatu (MNHN- A. de Saint-Hilaire) - Minas Gerais- Formigas (HVFB- Saint-Hilaire, A.). 1816: Minas Gerais- Contendas (MNHN- A. de Saint-Hilaire) 1830: Minas Gerais (NYBG- P. Clausen) 1836: Goiás (NYBG- G. Gardner)</p>	<p>Januária, Corinto, Paracatu, Paraopeba, Várzea de Palma, São Gonçalo do Abaeté, Pedro Leopoldo, Brasilândia de Minas, Belo Horizonte, Uberlândia, Perdizes, Ituiutaba, Monte Alegre, Curvelo, Montes Claros, Carmópolis de Minas, Bocaiúva, Várzea da Palma, Joaquim Felício, Unai.</p>	<p>As raízes são usadas nas afecções venéreas</p>	<p>-</p>
<p><i>Hipericum laxiusculum</i></p> <p>(alecrim bravo)</p>	<p>Encontrada na província de <i>Minas Gerais</i></p>	<p>- (MOBOT- Martius) - (MOBOT-Gardner)</p>	<p>Maria da Fé, Ouro Preto.</p>	<p>As folhas são usadas contra mordida de cobra. Possui propriedades antiespasmódicas e vulnerárias.</p>	<p>-</p>

Continuação: Quadro 7. Locais de ocorrência nos séculos XIX, XX e XXI, usos e pesquisas sobre atividades biológicas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais

<p><i>Lippia pseudothea</i> (capitão do mato, chá de pedestre)</p>	<p><i>Serra de Cadonga</i>, perto do vilarejo de <i>Tapanhoacanga</i>, na província de <i>Minas Gerais</i>.</p>	<p>- (MNHN- A. de Saint-Hilaire) 1892: Minas Gerais (R- Glaziou, A.F.M.)</p>	<p>Diamantina, Serro, São Gonçalo do Rio Preto, Joaquim Felício, Juiz de Fora, Felício dos Santos, Itapanhoacanga, Conceição do Mato Dentro, Presidente Kubitschek, Gouveia.</p>	<p>As folhas são usadas para preparo de chá.</p>	<p>-</p>
<p><i>Maprounea brasiliensis</i> (marmeleiro do campo)</p>	<p>Vizinhanças de <i>Porto de Quebra Anzol</i>, na província de <i>Minas Gerais</i>, e em <i>Minas Novas</i>, perto da <i>Fazenda de Culão</i> onde cresce, em geral, no meio das pequenas matas chamadas vulgarmente de <i>Carascos</i>.</p>	<p>1816: Minas Gerais : Porto de Quebra Anzal (MNHN- A. de Saint-Hilaire) 1834: (F- P. W. Lund)</p>	<p>Virgem da Lapa, Diamantina, Belo Horizonte, Chapada do Norte, Paraopeba, Uberaba, Diamantina, Lagoa Santa, São Gonçalo do Rio Preto, Datas, São João da Chapada, Montes Claros, Grão Mogol.</p>	<p>Das folhas obtém-se uma tinta de coloração preta usada para tingir tecidos de algodão. Usada em desordens estomacais</p>	<p>-</p>
<p><i>Ouratea hexasperma</i></p>	<p>Distrito de <i>Minas-Novas</i>, e na parte da província de Minas chamada de deserto do São Francisco. (<i>tabuleiros cobertos</i>)</p>	<p>1816: Minas Gerais (MNHN- A. de Saint-Hilaire) 1837: Pernambuco (NYBG- G. Gardner) 1841: Piauí (NYBG- G. Gardner)</p>	<p>Buritizeiro, Patrocínio, Gouveia, João Pinheiro, Paraopeba, Perdizes, Três Marias, Caratinga, Novo Cruzeiro, Conceição do Mato Dentro, Januária, Uberlândia, Curvelo.</p>	<p>A casca é adstringente usada para curar feridas dos animais provocadas por picadas de insetos</p>	<p>-</p>

Continuação: Quadro 7. Locais de ocorrência nos séculos XIX, XX e XXI, usos e pesquisas sobre atividades biológicas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais

<p><i>Oxalis hirsutissima</i></p>	<p>Essa planta é comum nas pastagens da província de Minas Gerais.</p>	<p>1816: Minas Gerais (NYBG- A. F. C. P. Saint-Hilaire) 1844: Minas Gerais (NYBG- P. Clausen) 1887: São Paulo- Itapetininga (SP- Loefgren, A.) 1892: Minas Gerais (R- Glaziou, A.F.M.)</p>	<p>Uberaba, Curvelo, Diamantina, Arinos, Montes Claros, Paraopeba, Sete Lagoas, São Gonçalo do Rio Preto, Jaboticatubas, Brasilândia de Minas, Uberaba, São Thomé das Letras, Brumadinho, Grão Mogol, São Sebastião do Paraíso, Serro.</p>	<p>Usada para tratamento de febres atáxicas (malignas)</p>	<p>-</p>
<p><i>Oxalis repens</i> (azedinha, frero)</p>	<p>Essa planta cresce no Rio de Janeiro, no distrito dos Diamantes, e provavelmente em outros lugares.</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	<p>Usada para tratamento de febres atáxicas (malignas)</p>	<p>-</p>
<p><i>Remijia ferruginea</i> (quina da serra, quina de remijo)</p>	<p>Vizinhança de S. João del Rei, nos arredores de Villa- Rica, na Serra dos Pilões perto de S. Miguel do Mato Dentro, Penha, com o nome de Minas Novas, etc.</p>	<p>- Minas Gerais- Minas Novas (MNHN- A. de Saint-Hilaire) - Minas Gerais- Serra da Carassa (MNHN- A. de Saint-Hilaire) - Minas Gerais (NYBG- J. B. E. Pohl) - Lagoa Dourada (HVFB- Martius, C.F.P.)</p>	<p>Lima Duarte, Diamantina, Couto Magalhães, Santana do Riacho, Berilo, Ouro Preto, Lagoa Santa, Nova Lima, Itabirito, Congonhas do Norte, Belo Horizonte, Barão de Cocais, Conceição do Mato Dentro, Matozinhos, Brumadinho, Presidente Juscelino, Paraopeba, São João da Chapada, Francisco Sá, Caeté, Virgem da Lapa, Grão Mogol, Pedra Azul, Turmalina, São Gonçalo do Rio Preto, São João del Rei, Serro.</p>	<p>A casca é usada no tratamento de febres intermitentes</p>	<p>Extrato etanólico das cascas apresentou atividade antimalárica (ANDRADE-NETO et al., 2003)</p>

Continuação: Quadro 7. Locais de ocorrência nos séculos XIX, XX e XXI, usos e pesquisas sobre atividades biológicas das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais

<p><i>Rollinia sylvatica</i> (araticu do mato)</p>	<p>Esta árvore cresce nas florestas da província de Minas.</p>	<p>1881: - (R- Glaziou, A.F.M.)</p>	<p>Matozinhos, Patos de Minas, Paraopeba, Curvelo, Lima Duarte, Cordisburgo, Viçosa, São Thomé das Letras, Caldas, Uberlândia, Taiobeiras, Carmópolis de Minas, Belo Horizonte, Ribeirão das Neves, Guarani, Carangola, Itatinga, Araguari, Sete Lagoas.</p>	<p>O fruto é comestível</p>	<p>Frutos ricos em Vitamina C possuem potencial atividade antioxidante (PEREIRA et al., 2013)</p>
<p><i>Sidastrum micranthum</i> (malvalistro)</p>	<p>Essa espécie é comum na província de <i>Minas Gerais</i>.</p>	<p>1838: Ceará (IPA- Gardner, G) 1838: Minas Gerais (NYBG- P. Clausen) 1872: Rio de Janeiro- Niterói (NYBG- A. F. M. Glaziou)</p>	<p>Monte Azul, Buritizeiro, Januária, Coronel Murta, Belo Horizonte, Salto da Divisa, São Gonçalo do Rio Abaixo, Prudente de Moraes, Viçosa, Diamantina, Cachoeira da Prata, Caeté.</p>	<p>O caule é usado como suporte para soltar fogos de artifício</p>	<p>-</p>
<p><i>Strychnos pseudoquina</i> (quina do campo)</p>	<p>Parte oriental da província de <i>Minas Gerais</i> (o <i>Certão</i> ou <i>deserto</i>), distrito de <i>Minas Novas</i> e no dos <i>Diamantes</i>, nos desertos de <i>Goiás</i>.</p>	<p>1816: Minas Gerais (MNHN-A. de Saint-Hilaire) 1834: São Paulo (NYBG- L. Riedel) 1842: Goiás (NYBG- G. Gardner) 1888: São Paulo - São Carlos (SP- Loefgren, A.) 1895: Goiás (NYBG- A. F. M. Glaziou)</p>	<p>Joaquim Felício, Buenópolis, Cordisburgo, Montes Claros, Turmalina, Paraopeba, São José de Cachoeira, Santana do Riacho, Paracatu, Três Marias, São Gonçalo do Rio Preto, Diamantina, Ribeirão das Neves, Uberlândia, Araguari, Buriti.</p>	<p>A casca do caule é usada como febrífuga</p>	<p>Extrato metanólico das folhas foi capaz de curar lesões da mucosa gástrica (BONAMIN et al., 2011) Extrato aquoso das cascas apresentou efeito hipoglicemiante (HONÓRIO-FRANÇA et al., 2008)</p>

Em relação à utilização das plantas indicada por Saint-Hilaire em sua obra, algumas atividades foram confirmadas por estudos biológicos (Quadro 7; p. 68). A espécie *Davilla elliptica* usada para tratamento de feridas e úlceras no século XIX, apresentou ação antiinflamatória (AZEVEDO et al., 2007) e efeito gastroprotetor (KUSHIMA et al., 2009). *Remijia ferruginea* e *Esenbeckia febrifuga*, usadas como febrífugas, tiveram a atividade antimalárica confirmadas pelos trabalhos de Andrade-Neto e colaboradores (2003) e de Dolabela e colaboradores (2008), respectivamente. O valor nutricional dos frutos de *Rollinia sylvatica* foi evidenciado por Pereira e colaboradores (2013).

É possível observar que a maioria das plantas nativas utilizadas no século XIX ainda carece de estudos que comprovem sua atividade terapêutica. Neste sentido, estudos farmacológicos, toxicológicos e fitoquímicos de plantas de uso tradicional devem ser incentivados visando maior segurança para a população usuária e sedimentando as bases para o desenvolvimento de novos fitoterápicos.

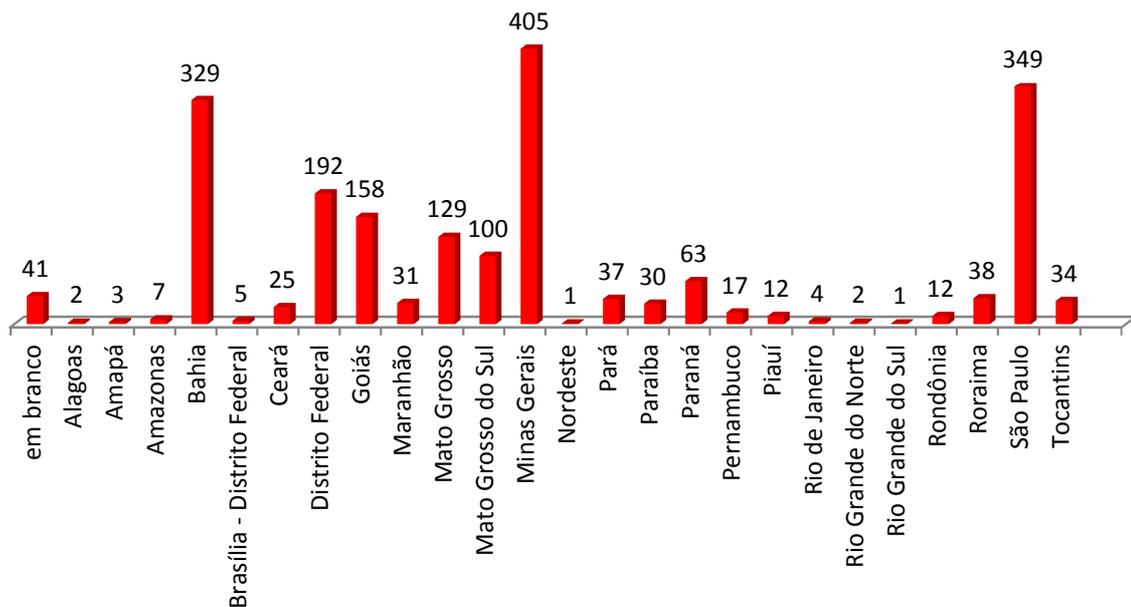
As pesquisas no banco de dados do HVFF e do Royal Botanic Gardens (Kew) revelaram coletas de *E. suberosum*, no Brasil, realizadas no século XIX. Todas as exsicatas referentes a essas coletas estão depositadas em herbários estrangeiros (Quadro 8, p. 74). Foram encontrados dados sobre coletas realizadas por naturalistas europeus como Saint-Hilaire, Martius, Pohl e Gardner, entre outros.

O HVFF apresenta 2027 registros de coletas de *E. suberosum* realizadas no Brasil e depositadas em herbários nacionais e estrangeiros. Sendo que 20% (405) destas coletas foram realizadas em Minas Gerais, 17,3% (350) em Goiás e no Distrito Federal, 16,2% (329) na Bahia, 17,2% (349) em São Paulo e 6,4% (129) no Mato Grosso do Sul, totalizando 75,6% das coletas. Isto confirma que esta é uma espécie comumente encontrada no cerrado brasileiro. Dentre os locais de distribuição de *E. suberosum* estão Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Bahia, Paraíba, Ceará, Pernambuco, Piauí, Alagoas, Amazonas, Acre, Paraguai, Bolívia e Venezuela, sendo uma espécie nativa do Brasil mas, não endêmica (MENDONÇA et al., 1998b; OLIVEIRA FILHO, 2006). A Figura 14 (p. 74) apresenta um gráfico com a distribuição das coletas de *E. suberosum* por estado brasileiro, baseado nos dados disponíveis no HVFF.

Dentre as Coleções que possuem registros de coletas de *E. suberosum* no HVFF, a que contém o maior número de exsicatas depositadas é o Field Museum of Natural History (FMNH) sediado em Chicago-EUA, com 439 registros. A segunda maior coleção é do Herbário da Universidade de Brasília (UB), com 187 registros.

Quadro 8. Dados das coletas de *E. suberosum* realizadas no século XIX

Herbário	Local de coleta	Ano	Coletor
Field Museum of Natural History	Corgo de Mathias, Minas Gerais	1816	A. F. C. P. de Saint-Hilaire
	Brasil	1824	L. Riedel
	Caminho de Chamonte, Pará	1828	W. J. Burchell
	Santarém, Pará	1849	R. Spruce
	Ouro Preto, Minas Gerais	1883	A. F. M. Glaziou
	Goiás	1893	A. F. M. Glaziou
	Maceió, Alagoas	1836	G. Gardner
	Goiás	1839	G. Gardner
	Brasil	-	C. F. P. Martius
	Brasil	-	J. B. E. Pohl
Royal Botanic Gardens	Brasil	1857	Gardner
	Brasil	1839	Gardner
	Goiás	1827	Burchell
The New York Botanical Garden	Pernambuco	1837	G. Gardner
	Brasil	1840	P. H. Claussen
	Mato Grosso	1891	S. L. M. Moore

**Figura 14.** Distribuição das coletas de *E. suberosum* por estado brasileiro, do século XIX ao XXI.

Fonte: Herbário Virtual da Flora e dos Fungos

Quadro 9. Coletas de *E. suberosum* no norte/nordeste de Minas Gerais.

Município	Localidade	Ano de coleta	Herbário	Coletor
Buritizeiro	Fazenda Nova Varginha, local conhecido como Areal. 17°14'50"S e 45°04'40"W. 690m.	2010	RB	Bovini, M.G.
Buritizeiro	BR-365, Chapada dos Parecis	1999	MBM	Hatschbach, G.
Couto Magalhães	Estrada Couto Magalhães-Senador Mourão km 551	2001	EAC	Assis, L.C.S.
Diamantina	Estrada para São João da Chapada.	-	MOBOT	J.R. Pirani, T.B. Cavalcanti, R. Mello Silva & W. Thomas
Diamantina	Estrada Diamantina-Biribiri, a 9 Km de Diamantina	-	F	A. M. Giulietti & et al.
Diamantina	Estrada Diamantina-Sopa, a 25 Km de Diamantina.	-	F	A. M. Giulietti & et al.
Diamantina	Estrada Diamantina-Biribiri, a 14 Km de Diamantina, proximo do Corrego Soberbo	-	F	A. M. Giulietti & et al.
Diamantina	Estrada Diamantina - Extração, 12 km	1981	UPCB	Giulietti, A.M.
Diamantina	Guinda, início da estrada para São João da Chapada.	2003	RB	Giordano, L.C.
Diamantina	Cachoeira da Sentinela.	2000	BHCB	Stehmann, J.R.; Franceschinelli, E. & Meinberg, A.C.S.
Diamantina	Estrada para São João da Chapada	1985	NYBG	J. R. Pirani
Grão Mogol	Estr. Grão Mogol-Virgem da Lapa. Margem do Rio Ventania	-	F	I. Cordeiro & et al.
Grão Mogol	Estrada Grão Mogol-Virgem da Lapa, margem do rio Ventania	1981	UPCB	Cordeiro, I.
Grão Mogol	Estrada Grão Mogol-Virgem da Lapa, margem do rio Ventania	1989	UPCB	Silva, T.R.S.
Montes Claros	Serra do Cattoni	-	F	G. F. J. Pabst et al.
Montes Claros	-	1938	RB	Mello Barreto, H.L.
Montes Claros	Serra do Cattoni.	1938	RB	Markgraf
Montes Claros	Fazenda Santa Cruz	1991	UB	Araújo, F.D.
Serro	Serro, Milho Verde, Margem direita do Rio do Lajeado.	1999	RB	C.G.R. de Paula
Serro	Estrada para Gouveia.	1996	UEC	Marcondes-Ferreira, W.; Simões, A.O.; Belinello, R.; Simões, A.O.; Belinello, R.

Herbários: BHCB= Herbário da Universidade Federal de Minas Gerais; EAC= Herbário Prisco Bezerra; F= The Field Museum of Natural History; MBM= Herbário do Museu Botânico Municipal; MOBOT= Missouri Botanical Garden; RB= Herbário Dimitri Sucre Benjamin; UB= Herbário da Universidade de Brasília; UEC= Herbário da Universidade Estadual de Campinas; UPCB= Herbário do Departamento de Botânica.

5.1.2 Coletas na região de Diamantina das espécies descritas por A. Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais

A partir dos dados de ocorrência das espécies apresentadas nos Quadros 7 (p. 68) e 9 (p. 76), foi possível realizar incursões nas proximidades de Diamantina com o intuito de recoletar essas espécies e verificar sua ocorrência na atualidade.

Foram realizadas coletas de material botânico no Parque Estadual do Biribiri, no Cruzeiro (Serra do Rio Grande) e no Campus JK/UFVJM em Diamantina, no distrito de Milho Verde (município do Serro) e na localidade de Itapanhoacanga, em Alvorada de Minas. Os locais de coleta foram georreferenciados e as exsicatas foram confeccionadas e incorporadas no Herbário DIAM/UFVJM. Os dados completos sobre estas coletas são apresentados no Quadro 10 (p. 78).

As alterações das paisagens brasileiras desde o século XIX, quando Saint-Hilaire esteve em Minas Gerais, provavelmente, levou à diminuição da ocorrência das espécies encontradas pelo naturalista. Assim, a maioria das 15 espécies citadas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, em *Plantas usuais dos brasileiros* não foi encontrada, pelo menos nos locais visitados. Mas, ainda na atualidade foi possível encontrar algumas dessas espécies, provavelmente, por alguns dos locais visitados serem áreas de preservação ambiental (Parque Estadual do Biribiri, APA Águas Vertentes). Assim, foram coletadas, na região de Diamantina, quatro espécies dentre as citadas pelo naturalista: *Davilla elliptica*, *Erythroxylum suberosum*, *Remijia ferruginea*, *Esenbeckia febrífuga*.

A destruição da flora nativa para o desenvolvimento de diversas atividades econômicas, criticada pelos naturalistas no século XIX, ainda é uma preocupação no século XXI. Pois a devastação da vegetação nativa causa uma redução na disponibilidade de plantas ou até mesmo pode levar a extinção de algumas espécies nativas. O que contribui para a perda gradual de conhecimento sobre plantas nativas utilizadas na medicina tradicional (AMOROZO, 2002; BRANDÃO et al., 2008a; BRANDÃO et al., 2011).

Quadro 10. Dados das coletas realizadas na região de Diamantina - MG

Família/ Espécie	Localidade	Coordenadas	Data	Coletor	Número
Dilleniaceae <i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil.	Milho Verde. Serro	18°27'48.98"S, 43°29'43.11"O, 1082 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2007 (Dav1)
Erythroxylaceae <i>Erythroxylum suberosum</i> A.St.-Hil.	Milho Verde. Serro	18°27'49.99"S, 43°29'43.30"O, 1086 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2005 (Ery 1)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Milho Verde. Serro	18°27'49.76"S, 43°29'43.27"O, 1084 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2006 (Ery 2)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Milho Verde. Serro	18°27'52.22" S e 43°29'43.43" W, altitude de 1106 m	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2008 (Ery 3)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Milho Verde. Serro	18°27'48.71"S, 43°29'43.04"O, 1078m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2009 (Ery4)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Acesso secundário do município para o Campus JK, passando pelo Bairro Rio Grande. Diamantina.	18°14'2.20"S, 43°35'12.95"O. 1284m alt.	12/12/2011	C. V. Mendonça, G. G. Ribeiro, D. P. Malaquias, C. F. C. Graef & L. E. Gregório	2013 (Ery5)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Campus da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina.	18°11'56.52"S 43°34'13.75"O 1363m alt.	12/12/2011	C. V. Mendonça, G. G. Ribeiro, D. P. Malaquias, C. F. C. Graef & L. E. Gregório	2014 (Ery6)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Parque Estadual do Biribiri. Cachoeira da Sentinela. Diamantina.	18°11'13.49"S 43°36'54.71"O 1153 m alt.	11/12/2012	L. B. Costa, C. V. M. Filho, G. J. G. Ribeiro & F. F. S. Oliveira	119 (Ery7)
<i>Erythroxylum suberosum</i>	Parque Estadual do Biribiri. Cachoeira da Sentinela. Diamantina.	18°11'13.49"S, 43°36'54.71"O 1153 m alt.	11/12/2012	L. B. Costa, C. V. M. Filho, G. J. G. Ribeiro & F. F. S. Oliveira	120 (Ery8)

Continuação: Quadro 10. Dados das coletas realizadas na região de Diamantina - MG

Rubiaceae 3. <i>Remijia ferruginea</i> DC.	Milho Verde. Serro	18°27'49.62"S, 43°29'42.79"O, 1090 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2003 (Rem1)
<i>Remijia ferruginea</i>	Milho Verde. Serro	18°27'49.92"S, 43°29'43.43" W, 1084 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2004 (Rem 2)
<i>Remijia ferruginea</i>	Milho Verde. Serro	18°27'49.36"S 43°29'42.01"O 1082 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2010) (Rem3)
<i>Remijia ferruginea</i>	Milho Verde. Serro	18°27'49.36"S, 43°29'42.28"O, 1083m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2011 (Rem4)
<i>Remijia ferruginea</i>	Milho Verde. Serro	18°27'49.52"S 43°29'42.35"O, 1084 m alt.	04/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2012 (Rem5)
<i>Remijia ferruginea</i>	Parque Estadual do Biribiri. Cachoeira da Sentinela. Diamantina.	18°11'5.98"S, 43°36'56.17"O, 1139 m alt.	11/12/2012	L. B. Costa, C. V. M. Filho, G. J. G. Ribeiro & F. F. S. Oliveira	132 (Rem6)
Rutaceae 4 <i>Esenbeckia febrifuga</i> (A.St.-Hil.) A.Juss. ex Mart.	Parque Estadual do Biribiri. Cachoeira da Sentinela. Diamantina.	18°14'22.47"S, 43°35'18.27"O 1268m alt.	03/12/2012	L. B. Costa, C. V. M. Filho, G. J. G. Ribeiro & F. F. S. Oliveira	
Verbenaceae 5. <i>Lippia</i>	Itaponhoacanga.	18°48'13.15"S, 43°24'24.11"O 687 m alt.	03/12/2011	C. V. Mendonça, G. J. G. Ribeiro & L. E. Gregório	2000 (Lip1)

5.2 ESTUDO FITOQUÍMICO

5.2.1 Preparo dos extratos orgânicos

A preparação dos extratos orgânicos por maceração a partir de 240 g de folhas dessecadas de *E. suberosum* levou a um rendimento de 1,07%, 1,56% e 17,3% dos extratos hexânico, em acetato de etila e etanólico, respectivamente, conforme ilustrado na Figura 16.

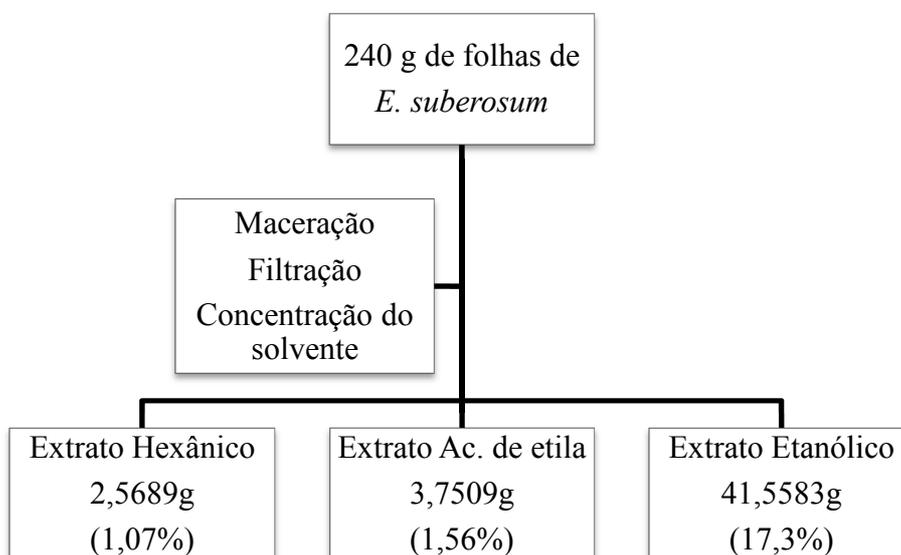


Figura 16. Rendimento dos extratos orgânicos das folhas de *E. suberosum*.

5.2.2 Triagem fitoquímica

Na análise fitoquímica, foram utilizados ensaios colorimétricos, de precipitação e CCD, para detecção das principais classes de metabólitos secundários nos extratos de *E. suberosum*. O resultado da triagem fitoquímica encontra-se no Quadro 11 (p. 81).

Os resultados destes testes sugeriram a presença de triterpenos/esteróides e flavonoides no extrato em acetato de etila. Na análise do extrato etanólico obteve-se resultado positivo para alcalóides, cumarinas, flavonoides, inclusive antocianidinas e taninos condensados.

Quadro 11. Resultado da Triagem Fitoquímica dos extratos de *E. suberosum*

Metabólitos secundários	Extrato em Acetato de etila	Extrato Etanólico
Alcaloides	Negativo	Positivo
Antocianidinas	-	Positivo
Antracenosídeos	Negativo	Negativo
Cumarinas	Negativo	Positivo
Flavonoides	Positivo	Positivo
Taninos condensados	-	Positivo
Taninos hidrolisáveis	-	Negativo
Triterpenos/esteroides	Positivo	Negativo

Em particular, os alcaloides de núcleo tropânico são de ocorrência comum na família Erythroxylaceae e no gênero *Erythroxylum* (GRIFFIN & LIN, 2000; BRACHET et al., 1997; ZUANAZZI et al., 2001). Flavonoides são sugeridos como marcadores para o gênero (JOHNSON et al., 1998), a detecção destes no extrato etanólico de *E. suberosum*, está de acordo com o trabalho de Bohm e colaboradores (1988), que revelou a presença de canferol e quercetina nesta espécie. A presença de triterpenos no gênero *Erythroxylum* também já foi descrita na literatura (CHAVEZ et al., 1996; LUCAS FILHO et al., 2010). Além disso, taninos e cumarinas já foram relatados para o gênero (GONZÁLEZ-GUEVARA et al., 2004). Em trabalho realizado por Lucas Filho (2009), alcaloides, flavonoides, triterpenos e esteroides foram detectados, por CCD, em *E. suberosum*. Assim sendo, os resultados encontrados na triagem fitoquímica estão de acordo com o esperado para o gênero e a espécie estudada.

5.2.3 Fracionamento dos extratos

5.2.3.1 Extrato Hexânico

O Extrato Hexânico (EH) foi fracionado em CCC, obtendo-se 105 frações que, após análise por CCD, foram reunidas, conforme está indicado na Figura 17 (p. 82). Devido a algumas frações resultantes apresentarem pequena massa e/ou se apresentarem como misturas complexas quando analisadas por CCD, as mesmas não foram trabalhadas no sentido de se isolar componentes químicos. As frações F1 e F2 foram analisadas por CG/EM, porém o resultado foi inconclusivo.

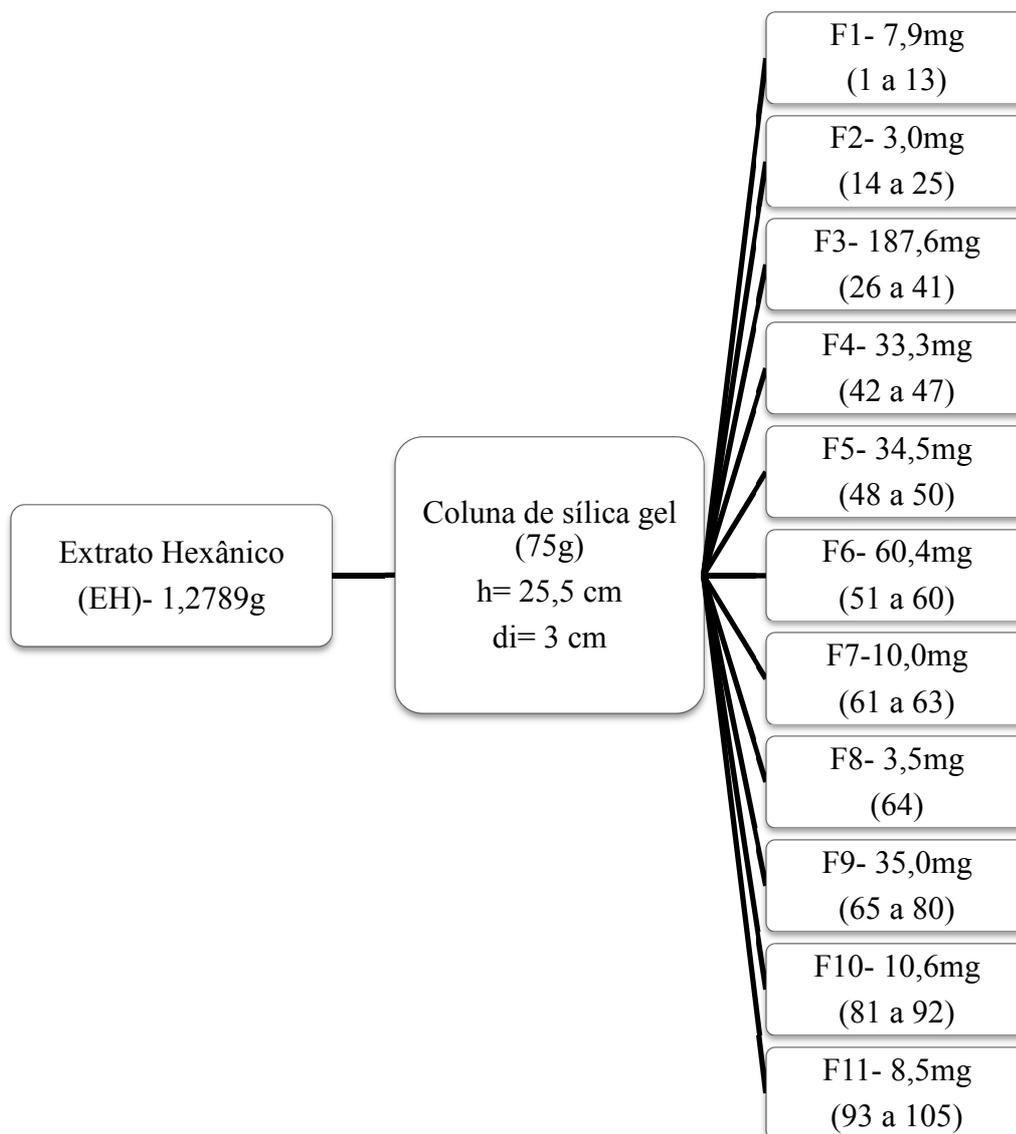


Figura 17. Fracionamento do EH em CCC e obtenção de frações reunidas.

5.2.3.2 Extrato em Acetato de etila

O fracionamento do Extrato em Acetato de etila (EAc) em CCC resultou em 226 frações que foram reunidas por semelhança, após análise em CCD, em 12 frações (Figura 18, p. 83). Na fração 11 houve a formação de um precipitado amarelo que foi separado (F11a- 11,5 mg). A análise deste precipitado em CCD revelou a presença de duas substâncias que apresentam mancha vermelha e marrom sob luz UV (365 nm) e manchas amarelas na

revelação com vanilina sulfúrica. Este precipitado foi analisado por CLAE-DAD, que indicou a presença de três substâncias, que apresentam grupos cromóforos, conforme é apresentado no cromatograma da Figura 19 (p. 84).

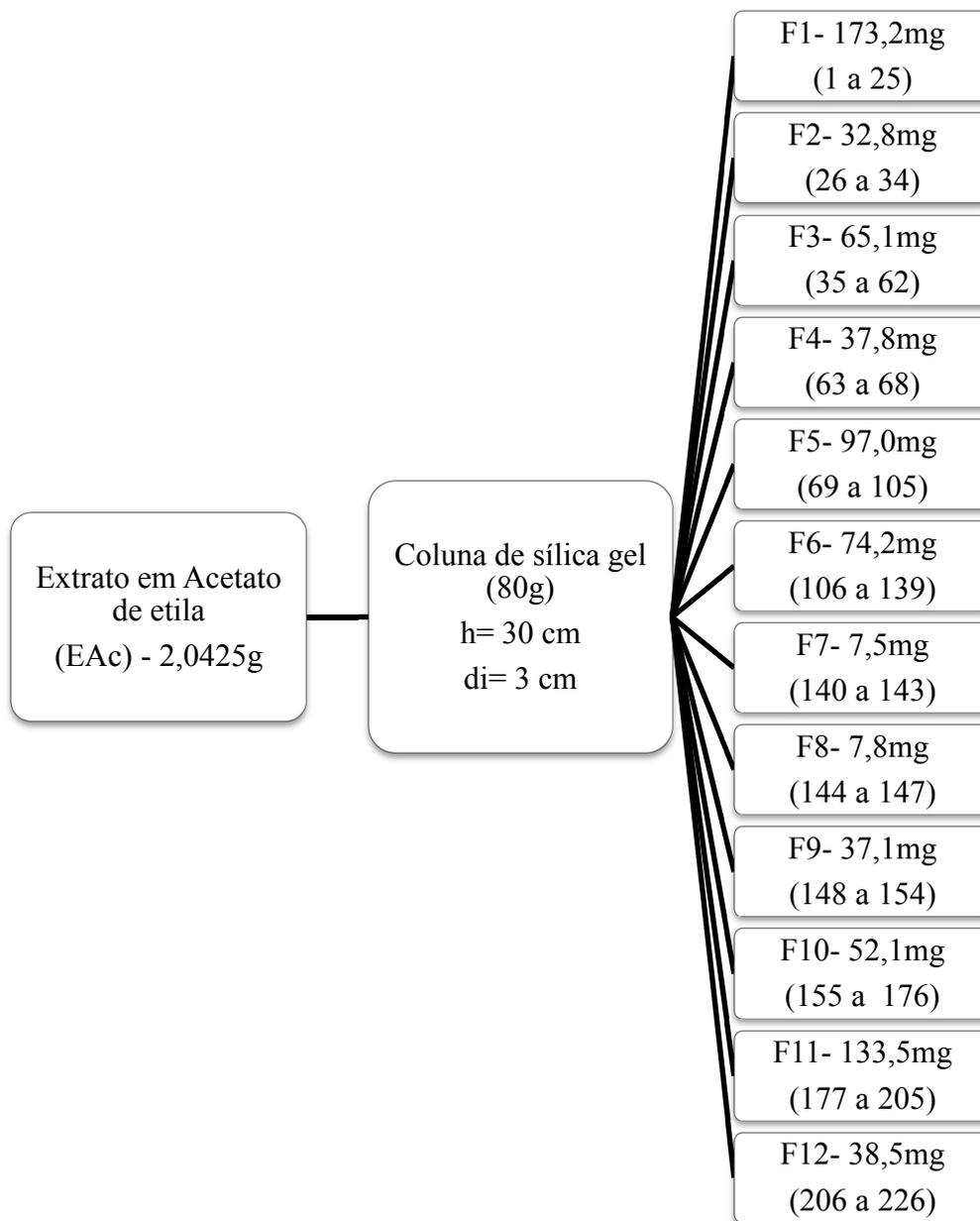


Figura 18. Fracionamento do EAc em CCC e obtenção de frações reunidas.

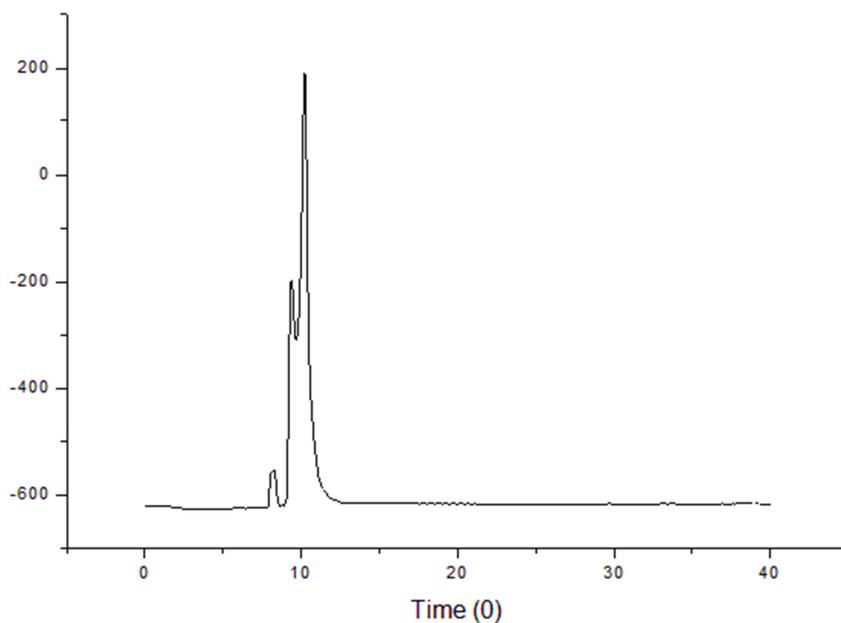


Figura 19. Cromatograma da Fração 11a- EAc obtido por CLAE/DAD.

Durante a secagem do restante da fração F11, houve formação de mais precipitado de substâncias, que foi separado de um pigmento solúvel em acetato de etila. Desta separação, resultou a fração F11b (57,3mg), que, após CCD, foi analisada por CLAE/DAD. O cromatograma de F11b é apresentado na Figura 20.

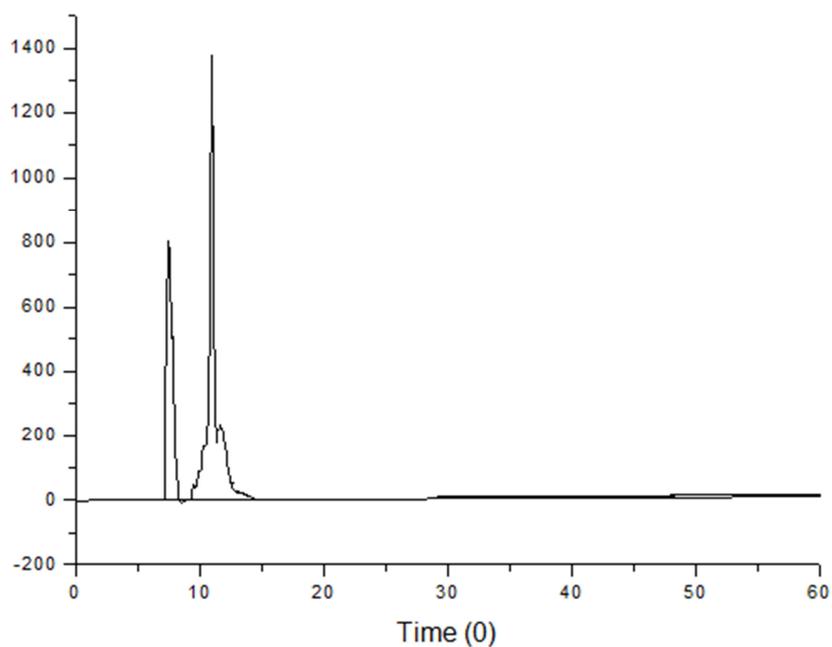


Figura 20. Cromatograma de F11b – EAc obtido por CLAE/DAD.

As frações F11a e F11b foram analisadas por CCD em placa cromatográfica com fase estacionária sílica, usando-se como fase móvel acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água (10:1:1:3). A revelação com as soluções de ferricianeto de potássio 1% e cloreto férrico 2% (1:1) sugeriu a presença de taninos e polifenóis, devido ao aparecimento de manchas azuis (LUCAS FILHO, 2009).

As demais frações resultantes do EAc não foram ensaiadas devido a massa pequena e/ou se apresentarem como misturas complexas em análise por CCD.

5.2.3.3 Extrato Etanólico

O fracionamento do Extrato Etanólico (EE) em CCC resultou em 260 frações, que foram reunidas, após análise em CCD, em oito frações semelhantes (Figura 21).

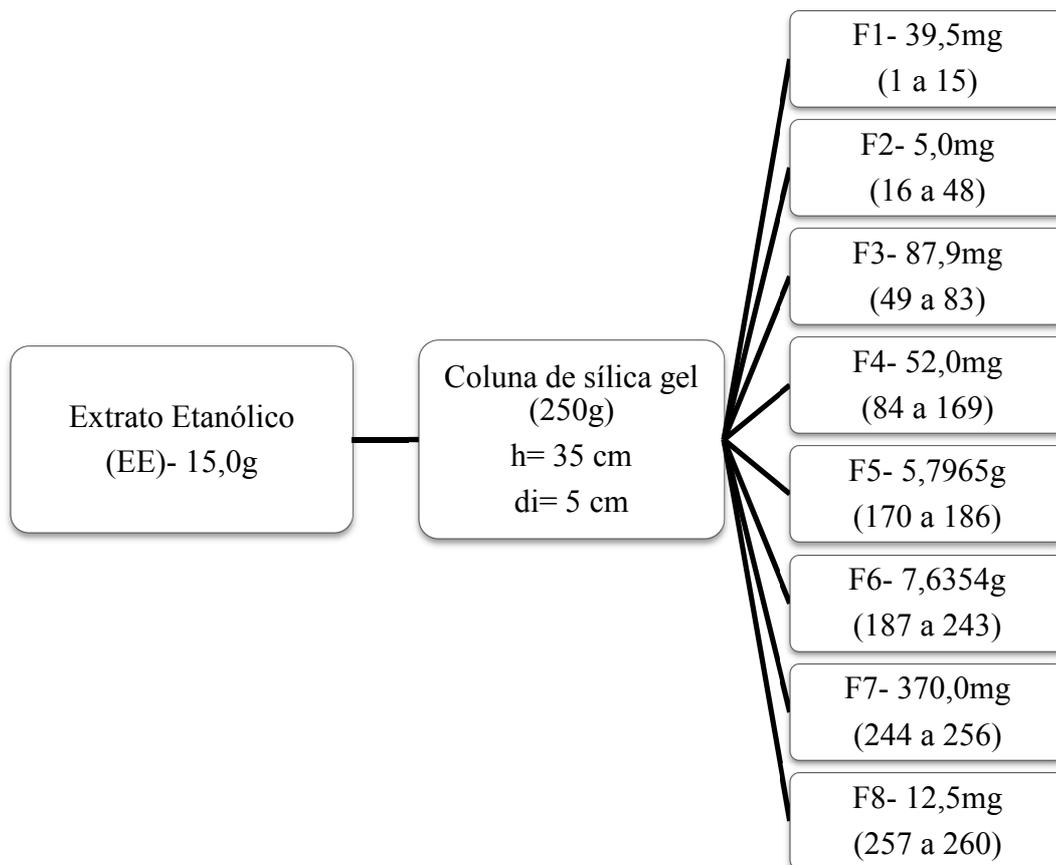


Figura 21. Fracionamento do EE em CCC e obtenção de frações reunidas.

A fração F6, um sólido marrom, que apresentou uma grande quantidade de massa (7,6354g), foi suspensa em acetato de etila e filtrada. A porção solúvel em acetato de etila (F6Ac), após secagem do solvente, originou um precipitado de cor amarela (87,6mg). Este sólido foi analisado por CLAE/DAD. O cromatograma de F6Ac pode ser visualizado na Figura 22.

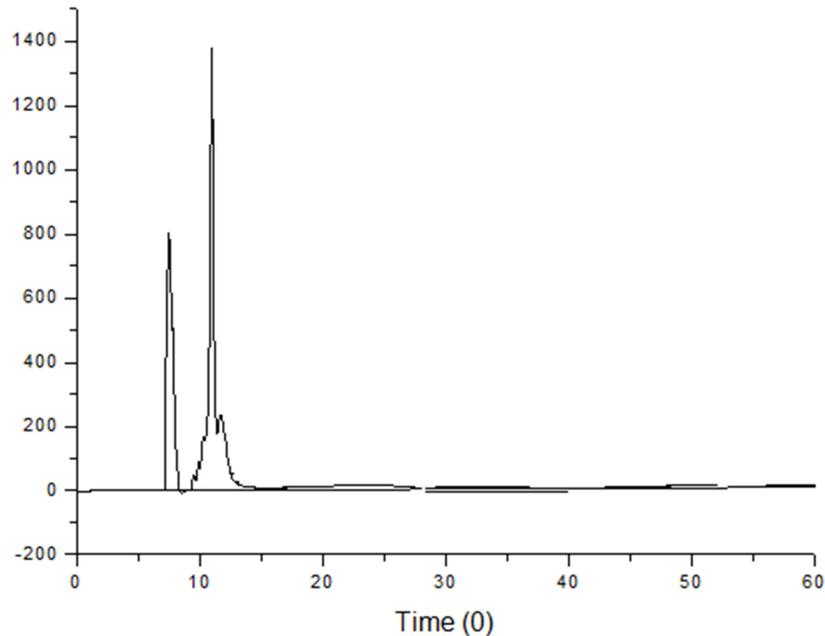


Figura 22. Cromatograma de F6Ac – EE obtido por CLAE/DAD.

Como pode ser observado nas Figuras 20 (p. 84) e 22, as frações F11b (EAc) e F6Ac (EE) apresentaram perfis cromatográficos semelhantes, assim, pode ser que estas frações sejam compostas pelas mesmas substâncias ou por substâncias semelhantes.

A fração F6Ac, assim como F11b, revelou-se positiva (manchas azuis) para presença de taninos e polifenóis em análise por CCD e revelação com ferricianeto de potássio 1% e cloreto férrico 2% (1:1) (LUCAS FILHO, 2009). A triagem fitoquímica também sugeriu a presença de taninos condensados no extrato etanólico. O uso tradicional de *E. suberosum* como adstringente, antidiarreico, antirreumático e o uso para curtume (CORRÊA, 1931; BARBOSA & PINTO, 2003; FONSECA, 1822) podem estar relacionados à presença de taninos nesta espécie. As atividades biológicas dos taninos se devem, principalmente, à capacidade destes metabólitos de complexação com íons metálicos (ferro, cobre, alumínio), à atividade sequestradora de radicais e à habilidade de complexar com macromoléculas, como

proteínas e polissacarídeos (SIMÕES et al., 2007). Na Figura 23 está apresentado um exemplo de tanino condensado, a delphinidina.

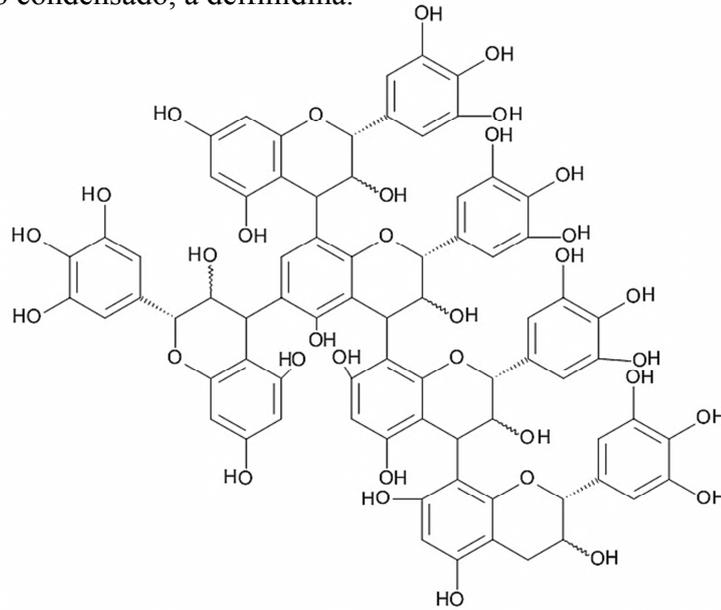


Figura 23. Exemplo de um tanino condensado, a delphinidina.
Fonte: Simões e colaboradores (2007).

5.2.4 Extração e identificação de alcaloides de *E. suberosum*

5.2.4.1 Extração pelo Método Stas-Otto

O Método Stas-Otto (Extração Ácido-Base) é um procedimento extrativo do qual se obtém uma fração concentrada em alcaloides, devido a mudanças de pH do solvente e às propriedades químicas destes metabólitos secundários. Assim, em meio básico, os alcaloides estão na forma de base livre ($R_3N^+H + NH_4OH \Rightarrow R_3N:$) e são solúveis em solventes orgânicos. Já em meio ácido, apresentam-se na forma de sal ($R_3N: + H^+ \Rightarrow R_3N^+H$) e solubilizam em água (ZUANAZZI et al., 2001; SIMÕES et al., 2007).

No tecido vegetal, os alcaloides encontram-se na forma de sal, assim, no início da extração, as folhas de *E. suberosum* (240g) foram alcalinizadas com NH_4OH (25%) para que os alcaloides presentes passassem para a forma de base livre e fossem extraídos com o solvente orgânico (éter). O extrato etéreo foi, então, particionado com água acidificada. A fase aquosa resultante desta partição foi alcalinizada (pH 10) e particionada com éter (2x) obtendo-se um extrato etéreo (EEt) concentrado em alcaloides. Posteriormente, a mesma fase aquosa

foi particionada com diclorometano, resultando em um extrato diclorometânico (ED) rico em alcaloides.

Os extratos etéreo e diclorometânico foram concentrados em evaporador rotativo e armazenados em frascos âmbar até envio para análise. Adicionou-se pequena quantidade de metanol a estes, para evitar a degradação dos mesmos devido à possível presença de água. Posteriormente, foi realizada partição das fases em metanol com clorofórmio. Resultando assim, do extrato etéreo, uma fração metanólica (FM-E= 4,5mg) e uma fração clorofórmica (FC-E= 15,5mg). Como o mesmo procedimento foi aplicado ao extrato diclorometânico, obteve-se, do mesmo, uma fração metanólica (FM-D= 36,6mg) e uma fração clorofórmica (FC-D= 18,2mg). Da extração ácido-base obteve-se um rendimento total de 0,031%.

5.2.4.2 Identificação de substâncias obtidas pelo Método Stas-Otto

As frações metanólicas (FM-E e FM-D) e clorofórmicas (FC-E e FC-D) de ambos os extratos (etéreo-EEt e diclorometânico-ED) preparados pelo Método Stas-Otto foram analisadas por CG/EM.

O cromatograma de FM-E apresentou 55 picos e o de FC-E apresentou 85 picos (Figura 24, p. 89), indicando uma presença maior de constituintes em fração obtida com solvente orgânico menos polar (CHCl_3). Foram propostas identificações para 15 substâncias em FM-E e para 17, em FC-E. Sendo que nove substâncias foram detectadas em ambas as fases. O cromatograma de FM-D apresentou 67 picos e o de FC-D, 47 picos (Figura 25, p. 90), sugerindo uma maior quantidade de substâncias na fração mais polar (fração metanólica). Em FM-D foram propostas identificações para sete substâncias e para nove, em FC-D. Os compostos identificados nas quatro frações são apresentados na Tabela 1 (p. 91). A identificação de algumas substâncias foi realizada mediante comparação dos espectros de massas dos componentes de cada amostra com os espectros das bibliotecas NIST08 e WILEY7. Não foi possível a identificação de todos os picos presentes nos cromatogramas das amostras, pois apresentaram espectros de massas com índice de similaridade baixo (<85%) em relação aos espectros das espectrotecas.

A Tabela 1 (p. 91) apresenta o peso molecular, o tempo de retenção (minutos) e a área relativa do pico (%) de cada substância identificada nos cromatogramas das quatro frações analisadas.

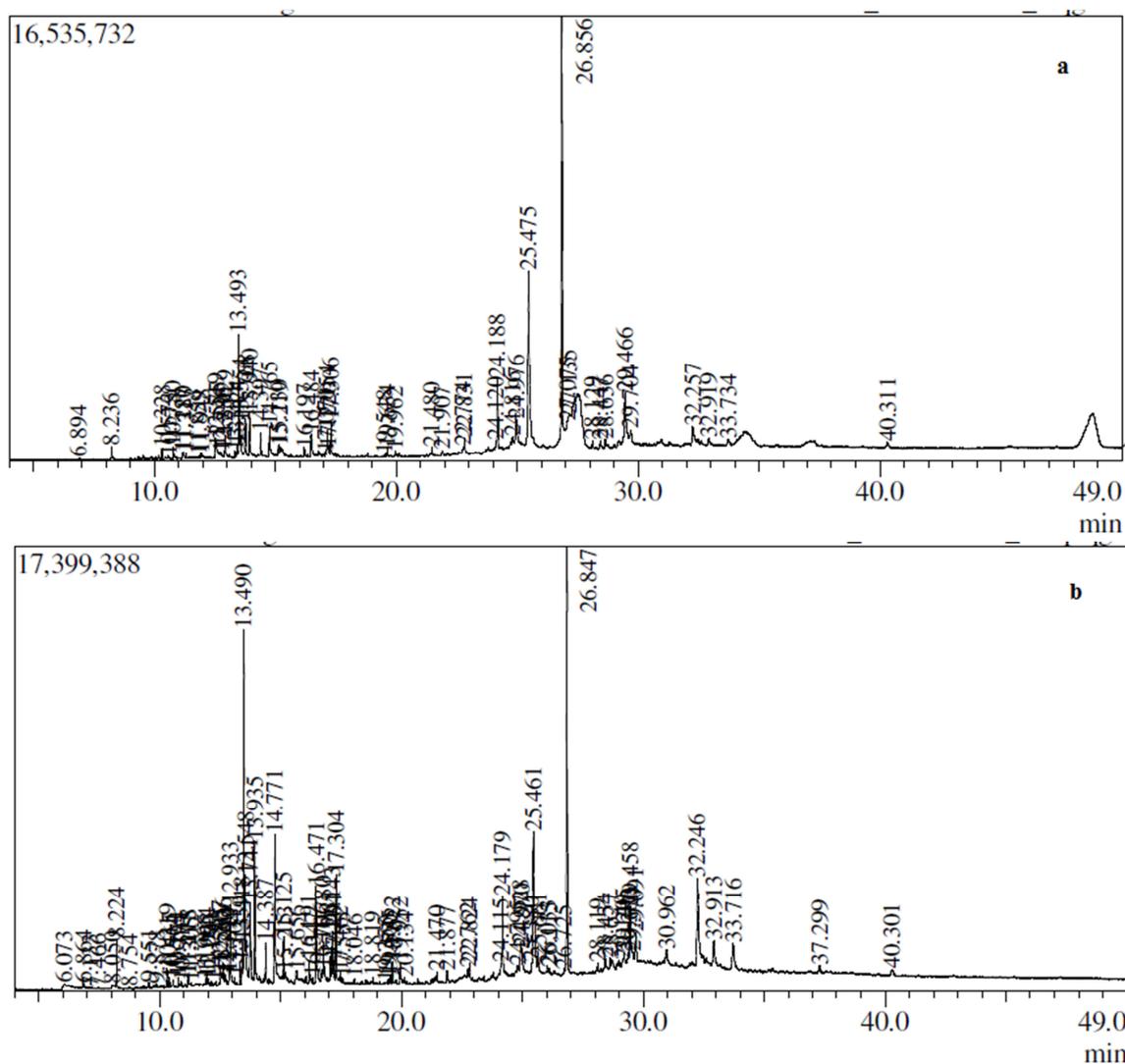


Figura 24. Cromatogramas de FM-E (a) e FC-E (b) obtidos por CG/EM.

Observa-se a presença de ácidos graxos e hidrocarbonetos apenas nas frações do extrato etéreo. Já o fenilpropanoide coniferol e os compostos terpênicos foram encontrados em frações dos extratos etéreo e diclorometânico. Neste grupo dos terpenoides, o blumenol C esteve presente apenas nas frações do extrato diclorometânico e os triterpenos β -amirina e lupeol, apenas na fase metanólica do extrato etéreo (FM-E). O alcaloide tropânico, tropacocaína, foi detectado em todas as amostras analisadas.

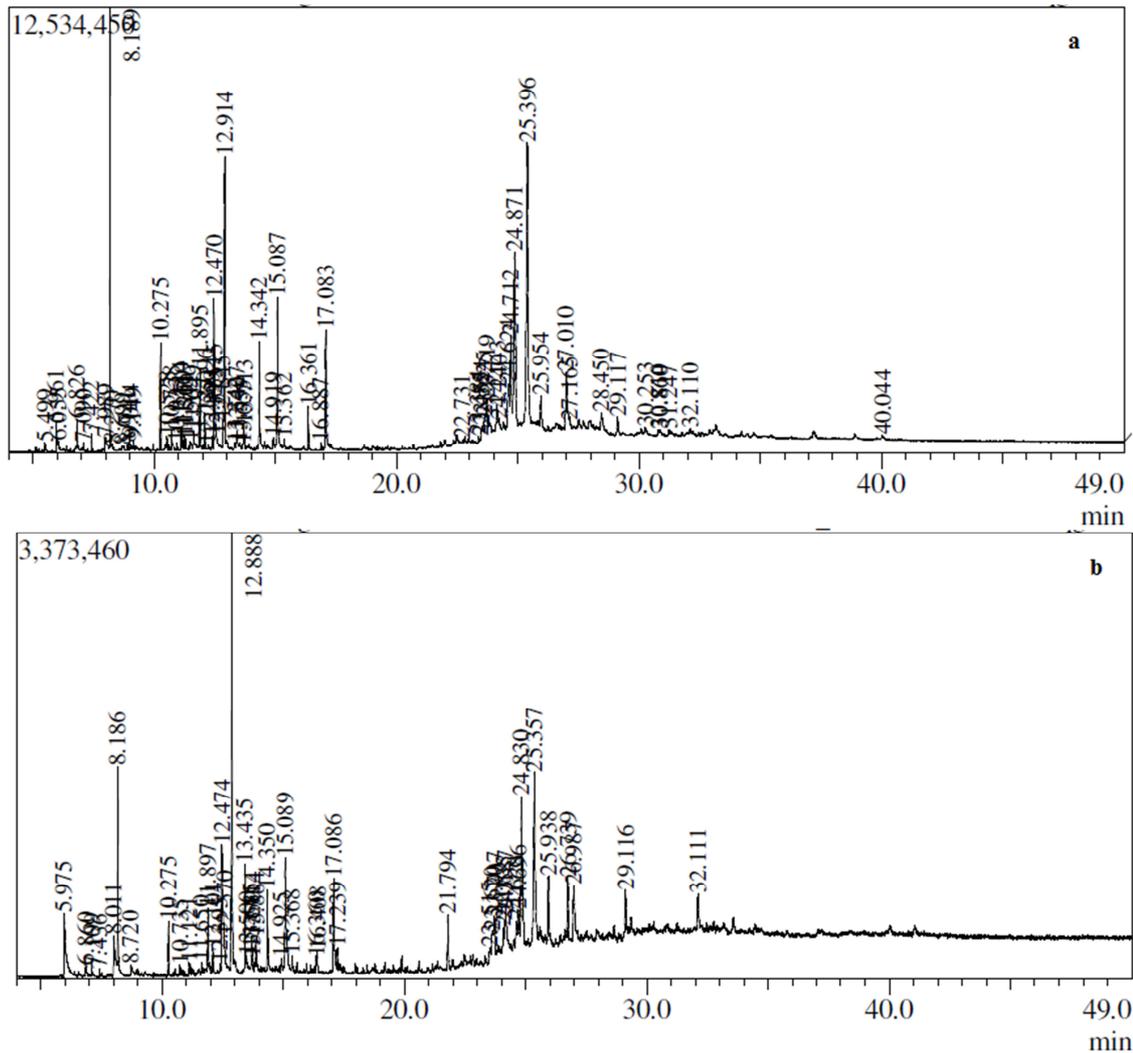


Figura 25. Cromatogramas de FM-D (a) e FC-D (b) obtidos por CG/EM.

As diferenças observadas nas frações podem ter ocorrido, pois, o extrato etéreo foi preparado primeiro. E, a partir do material que originou esse extrato, foi realizada a extração com diclorometano. Assim, uma grande parte de compostos mais apolares já foram diluídos, previamente, no éter etílico. Algumas substâncias com menor afinidade pelo éter foram, posteriormente, extraídas pelo diclorometano. Substâncias cuja presença foi detectada em todas as frações poderiam de apresentar em elevada concentração no material vegetal, sendo parte extraída pelo éter (que ficaria saturado) e o restante teria sido dissolvido pelo diclorometano.

Da mesma forma, a presença de substâncias em fase metanólica ou em fase clorofórmica poderia ser explicada, dentre outros fatores, pela maior afinidade dessas substâncias a um determinado solvente.

Tabela 1. Substâncias com presença proposta pela análise por CG/EM das frações FM-E e FC-E (EEt) e FM-D e FC-D (ED)

Substâncias propostas	Peso molecular	% FM-E	T _R (min.)	% FC-E	T _R (min.)	% FM-D	T _R (min.)	% FC-D	T _R (min.)
Ácidos graxos livres e esterificados									
Ácido láurico (ácido dodecanóico)	200	-	-	0,23	10,415	-	-	-	-
Ácido mirístico (ácido tetradecanóico)	228	-	-	0,69	12,635	-	-	-	-
Ácido palmítico (ácido hexadecanóico)	256	1,76	14,765	4,41	14,770	-	-	-	-
Ácido esteárico (ácido 9-octadecanóico)	284	-	-	0,76	17,065	-	-	-	-
Miristato de isopropila (éster isopropílico do ácido tetradecanóico)	270	0,25	13,344	0,44	13,340	-	-	-	-
Palmitato de etila (éster etílico do ácido hexadecanóico)	284	0,42	15,130	0,98	15,125	-	-	-	-
Linolenato de metila (Éster metílico do ácido 9, 12, 15- octadecatrienóico)	292	0,46	19,635	-	-	-	-	-	-
Estearato de etila (éster etílico do ácido 9-octadecanóico)	312	-	-	0,44	17,460	-	-	-	-
Fenol									
4-[(1E)-3-hidroxi-1- propenil]-2-metoxifenol (coniferol)	180	1,22	12,520	0,66	12,505	4,12	12,470	5,66	12,475
Hidrocarbonetos									
Pentadecano	212	-	-	0,09	12,025	-	-	-	-
Heneicosano	296	0,73	22,830	-	-	-	-	-	-
Amida									
Benzamida	121	-	-	0,29	8,050	0,50	7,990	2,58	8,010
Imida									
3-etil-4-metilpirrol-2,5- diona (2-etil-3-metilmaleimida)	139	-	-	0,11	6,865	0,69	6,825	0,40	6,860
Terpenoides									
4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetraidro-2(4H)-benzofuranona	180	0,44	10,330	0,42	10,320	2,32	10,275	1,25	10,275
4-[(1E)-1,3-Butadienil]-3,5,5-trimetil-2-ciclohexen-1-ona (megastigmatrienona)	190	0,42	10,780	0,18	10,775	0,36	10,730	0,25	10,735
4-(3-hidroxibutil)-3,5,5-trimetil-2-ciclohexen-1-ona (Blumenol C)	210	-	-	-	-	0,89	12,095	0,64	12,100
3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecan-1-ol (fitol)	296	1,95	16,485	3,82	16,470	-	-	0,66	16,410
3,7,11,15-tetrametil -2-hexadeceno	280	0,52	13,425	3,71	13,550	-	-	-	-
α-tocoferol	430	0,89	29,705	1,47	29,690	-	-	-	-
β-sitosterol	414	1,83	32,255	-	-	-	-	1,87	32,110
β-amirina	426	0,68	32,920	-	-	-	-	-	-
Lupeol	426	0,60	33,735	-	-	-	-	-	-
Alcaloide									
3β-benzoiloxitropano (tropacocaína)	245	0,60	15,220	0,76	15,655	4,87	15,085	5,92	15,090

Os espectros de massas dos ácidos graxos livres com identificação sugerida nas amostras e suas respectivas estruturas são apresentados nas Figuras 26 a 29.

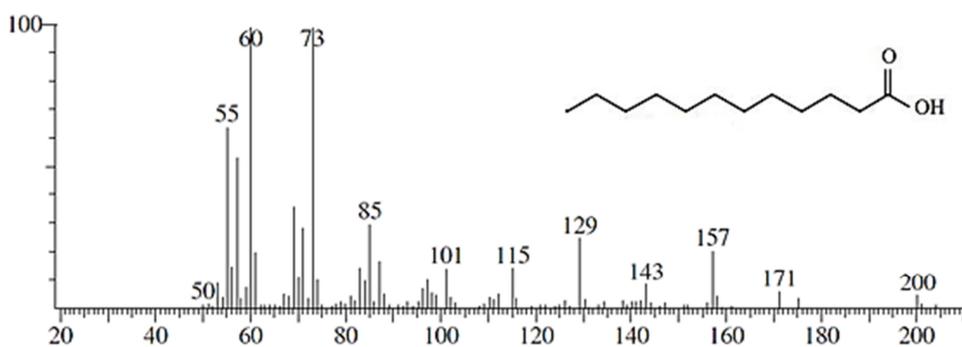


Figura 26. Espectro de massas e estrutura do ácido láurico.

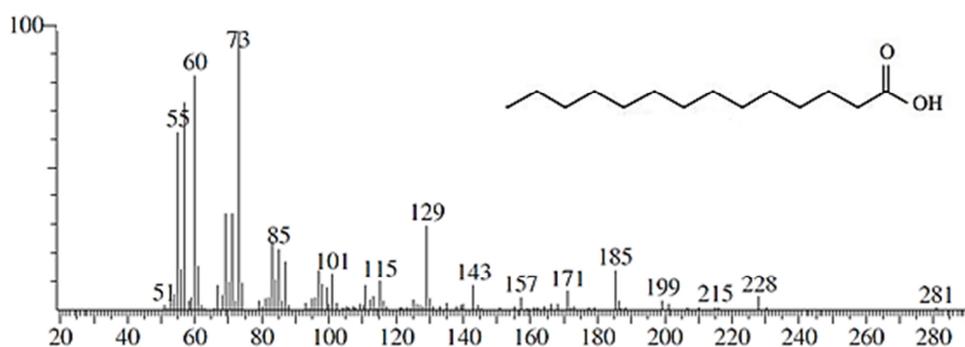


Figura 27. Espectro de massas e estrutura do ácido mirístico.

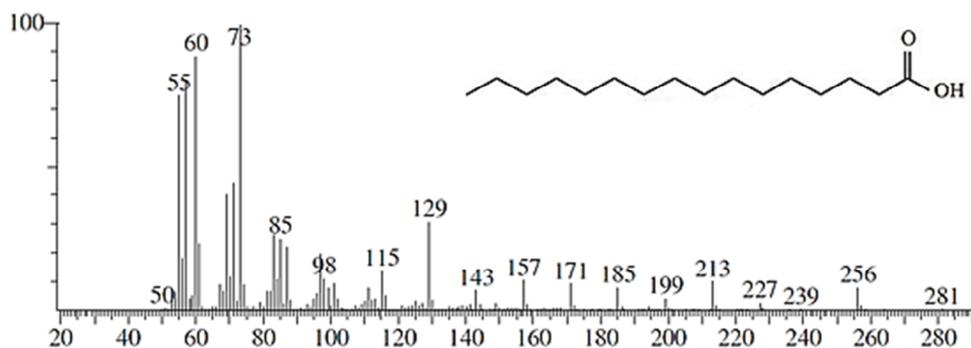


Figura 28. Espectro de massas e estrutura do ácido palmítico.

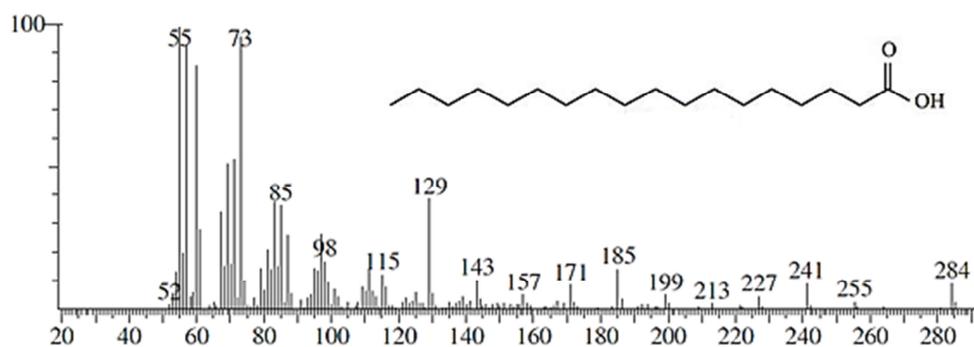


Figura 29. Espectro de massas e estrutura do ácido esteárico.

Os ácidos graxos foram detectados nas frações do extrato etéreo (FM-E e FC-E), sendo que nenhuma destas substâncias estava presente nas frações do extrato diclorometânico. Os espectros de massas representados nas Figuras 26 a 28 (p. 92) são característicos de ácidos graxos livres, ou seja, nos espectros, o pico do íon molecular é pouco intenso e o pico base ou a presença de um pico com grande intensidade envolve o rearranjo de McLafferty do íon molecular, com quebra da ligação β ao grupo carbonila (SILVERSTEIN et al., 2007). A Figura 30 (a) apresenta a fragmentação do ácido hexadecanóico (ácido palmítico), evidenciando a formação de alguns fragmentos que são comuns nos espectros de massas dos ácidos graxos, como os íons m/z 213, m/z 185, m/z 171, m/z 129, m/z 73 (pico base) e m/z 60 (SÁNCHEZ, 2012; SILVERSTEIN et al., 2007). A formação do fragmento m/z 60, por rearranjo de McLafferty está representada na Figura 30 (b).

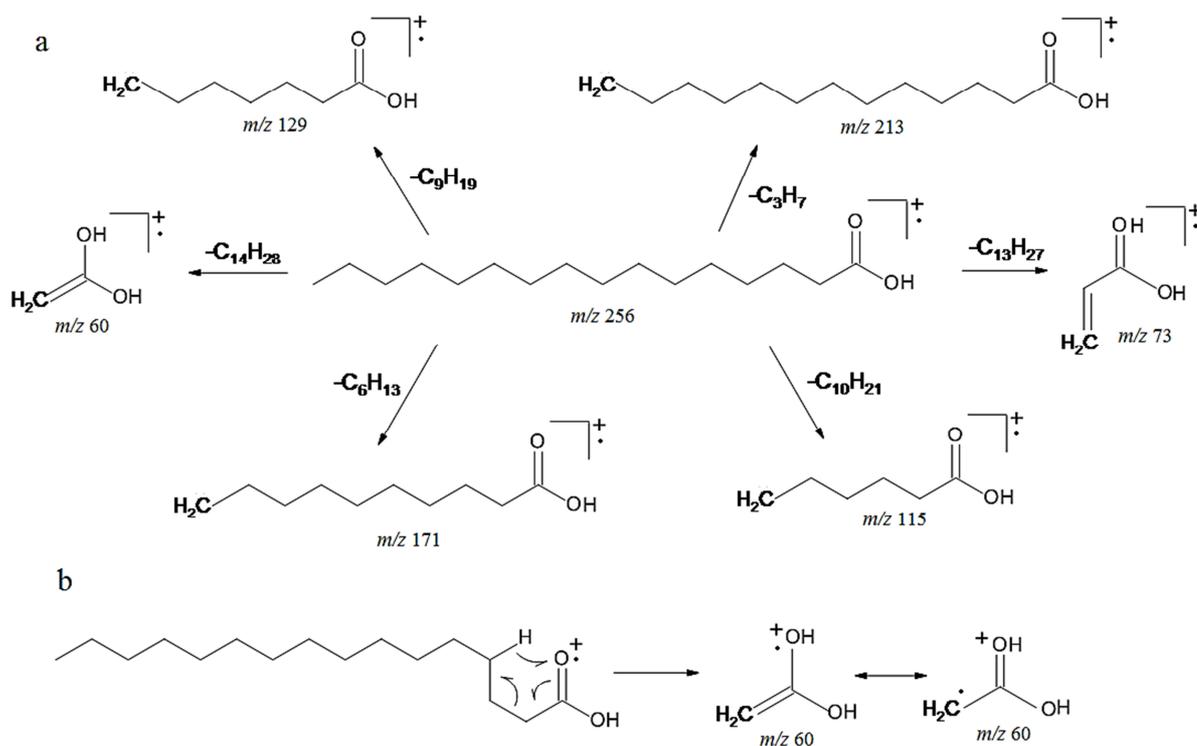


Figura 30. Esquema apresentando fragmentos do ácido hexadecanóico obtidos por impacto de elétrons (a) e rearranjo McLafferty em ácidos alifáticos (b). **Fonte:** Adaptado de Sánchez (2012) e Silverstein e colaboradores (2007).

Os espectros de massas e as estruturas dos ésteres de ácidos graxos com identificação proposta por CG/EM são apresentados nas Figuras 31 a 34 (p. 94).

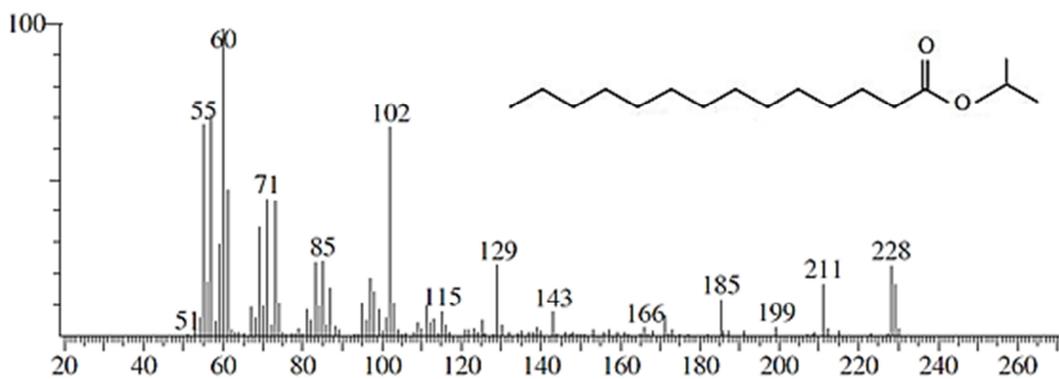


Figura 31. Espectro de massas e estrutura do miristato de isopropila.

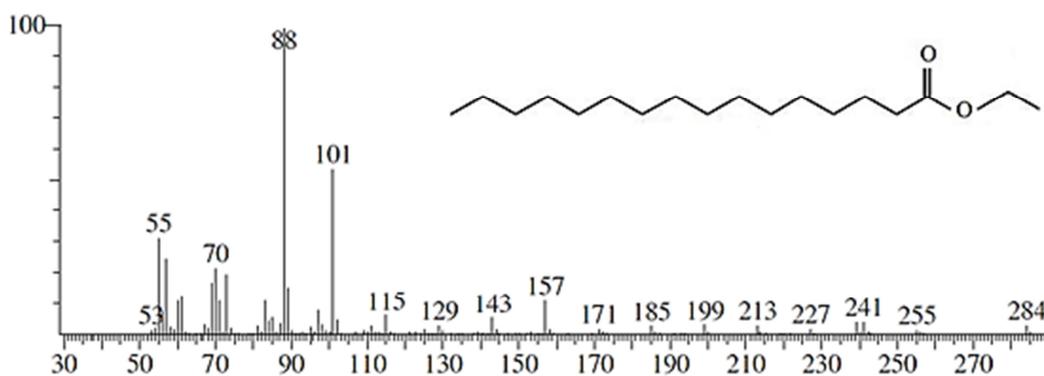


Figura 32. Espectro de massas e estrutura do palmitato de etila.

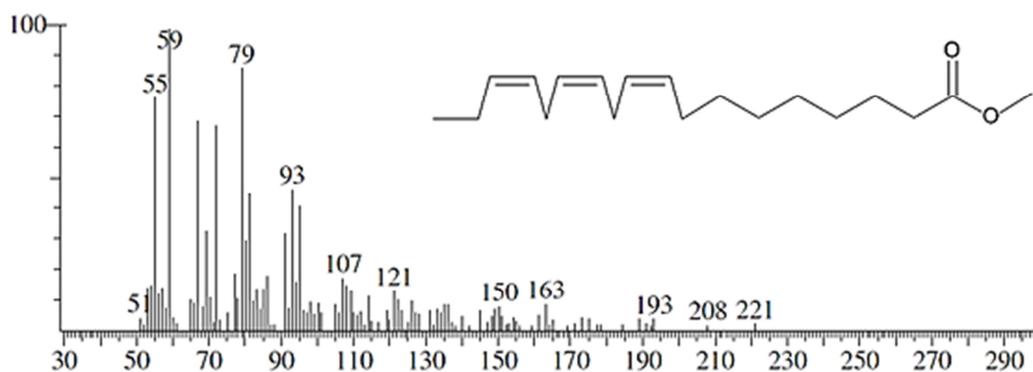


Figura 33. Espectro de massas e estrutura do linolenato de metila.

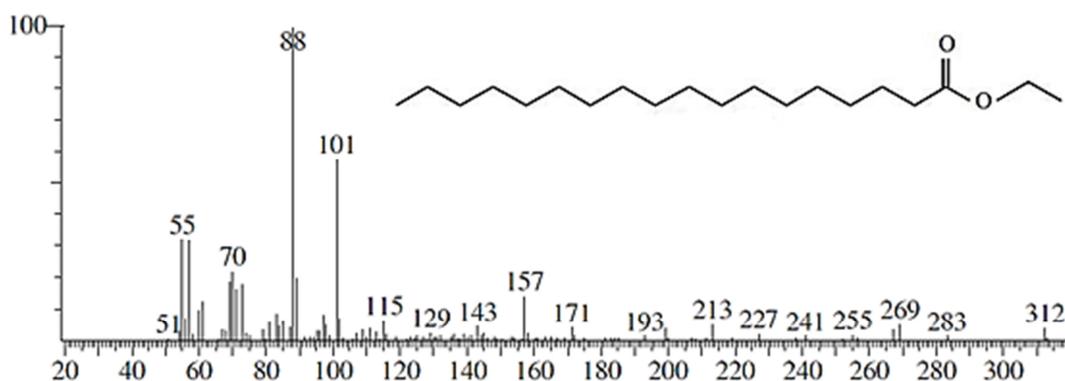


Figura 34. Espectro de massas e estrutura do estearato de etila.

Os espectros de massas dos ésteres graxos (Figuras 31 a 34, p. 94) apresentam algumas características comuns a este grupo de compostos orgânicos: o pico do íon molecular pode aparecer com baixa intensidade e há um pico característico que é um fragmento formado por rearranjo de McLafferty com quebra da ligação β em relação à carbonila. Neste fragmento é mantida a cadeia carbônica do álcool e o carbono α do ácido graxo que forma o éster (SILVERSTEIN et al., 2007). Nos espectros de massas do palmitato de etila (Fig. 32, p. 94) e do estearato de etila (Fig. 34, p. 94) é observada a presença do pico base em m/z 88. A proposta de formação deste pico a partir do palmitato de etila, por rearranjo de McLafferty, é apresentada na Figura 35.

Os ácidos palmítico, esteárico e linolênico foram encontrados também na espécie *E. gonocladum* (LUCAS FILHO, 2010). Além disso, Barreiros e colaboradores (2002 e 2005), Chavez (1996) e Nascimento (2008) relataram a presença de estearatos e palmitatos de triterpenos em *E. passerinum*, *E. numularia*, *E. leal costae* e *E. deciduum*, o que sugere que esses ácidos graxos ocorrem comumente no gênero *Erythroxyllum*.

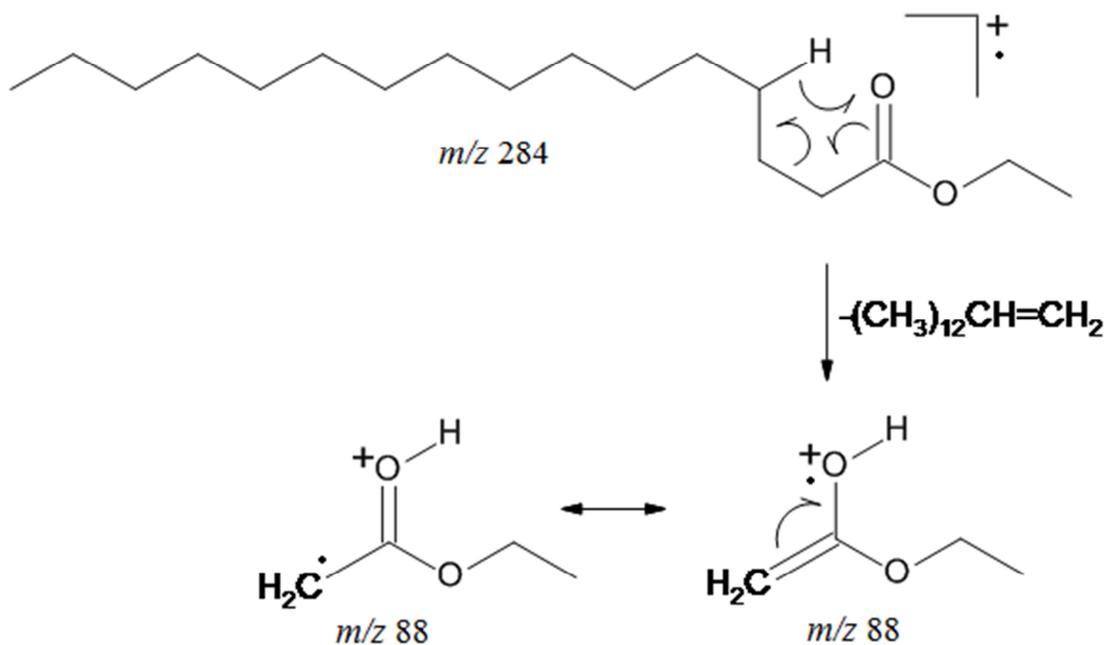


Figura 35. Proposta de fragmentação do palmitato de etila mostrando o fragmento oriundo do rearranjo de McLafferty. **Fonte:** Adaptado de Silverstein e colaboradores (2007).

O coniferol, um fenilpropanoide derivado do ácido cinâmico, foi detectado em todas as quatro fases analisadas. Este álcool é classificado como um monolignol e é um dos precursores para a formação das ligninas, comum em vegetais lenhosos arbustivos ou arbóreos (MARTÍNEZ et al., 2009).

O espectro de massas do coniferol (Figura 36) apresenta o pico do íon molecular intenso (m/z 180); isso ocorre, pois a presença do anel aromático na molécula estabiliza o fragmento que gera o pico. O pico intenso em m/z 91 confirma a presença do anel aromático com cadeia carbônica lateral; essa cadeia pode perder o grupo $-C_2H_3O$ e o fragmento resultante origina, por rearranjo, um fragmento estável, o íon tropílio (SILVERSTEIN et al., 2007).

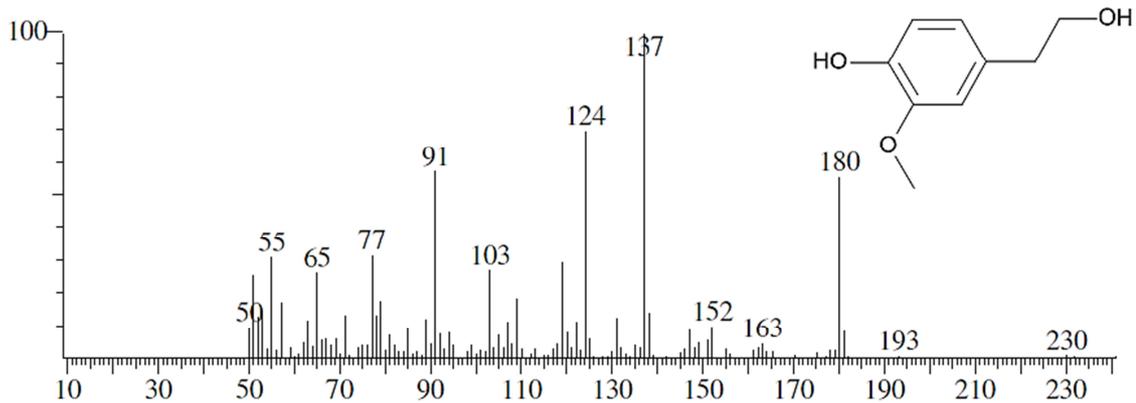


Figura 36. Espectro de massas e estrutura do coniferol.

Usualmente, nos espectros de massas dos fenóis é encontrado um pico com m/z 77 e um pico correspondente à perda de um $-CO$ (M-28) (MCLAFFERT & TURECEK, 1993; SILVERSTEIN et al., 2007). No espectro do coniferol este pico é o fragmento m/z 152. O pico base (m/z 137) se forma pela perda de um $-C_2H_3O$. Um esquema apresentando alguns fragmentos do espectro de massas do coniferol, inclusive a formação do íon tropílio, pode ser visualizado na Figura 37 (p. 97).

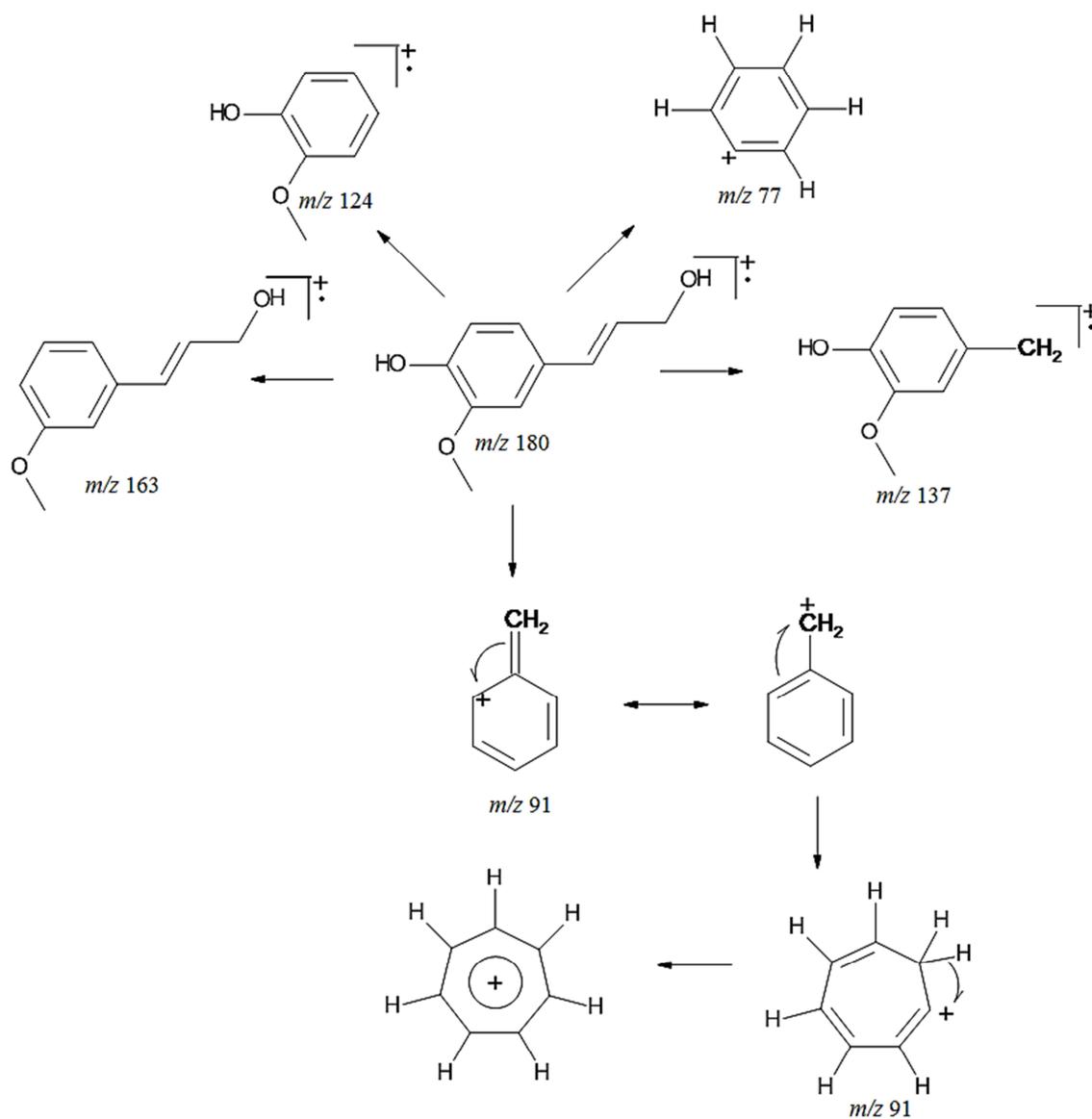


Figura 37. Proposta de fragmentação do coniferol obtida por impacto de elétrons.
Fonte: Adaptado de Silverstein e colaboradores (2007).

Foram identificados dois hidrocarbonetos (pentadecano e heneicosano) no extrato etéreo (FM-E e FC-E). Seus espectros de massas podem ser visualizados nas Figuras 38 e 39, a seguir (p. 98).

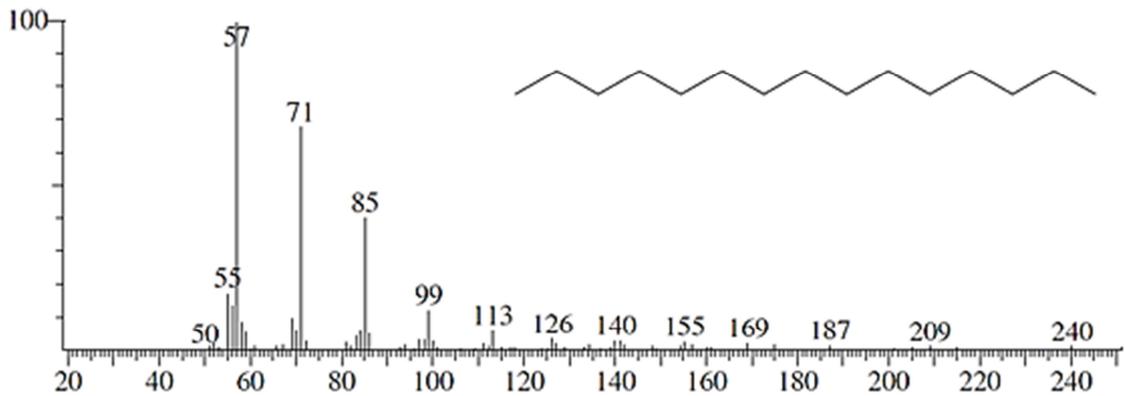


Figura 38. Espectro de massas e estrutura do pentadecano.

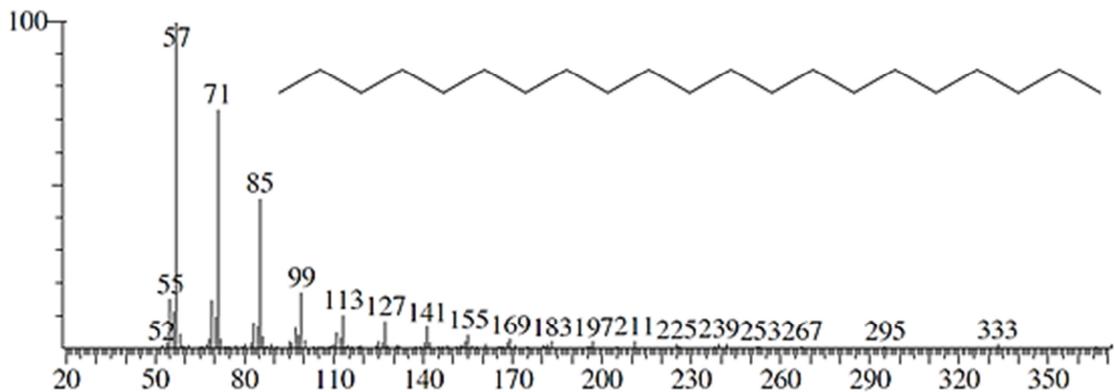


Figura 39 Espectro de massas e estrutura do heneicosano.

Estes espectros são característicos de hidrocarbonetos alifáticos não ramificados: o pico do íon molecular é de baixíssima intensidade ou ausente e a sequência de fragmentação é caracterizada por um aglomerado de picos afastados por 14 unidades de massa, que corresponde à perda de um CH_2 . O pico base dos hidrocarbonetos corresponde a um fragmento $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, que ocorre em m/z $14_n + 1$ e é acompanhado por picos C_nH_{2n} e $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}$, sendo n o número de carbonos do fragmento. Os picos mais intensos representam, geralmente, os fragmentos em C_3 e C_4 (SILVERSTEIN et al., 2007). Nos espectros de massas do pentadecano (m/z 212) e do heneicosano (m/z 296) o pico mais intenso (pico base) corresponde ao fragmento C_4H_9 em m/z 57. Uma proposta de fragmentação para os hidrocarbonetos alifáticos, representados pelo pentadecano, está apresentada na Figura 40 (pág. 99).

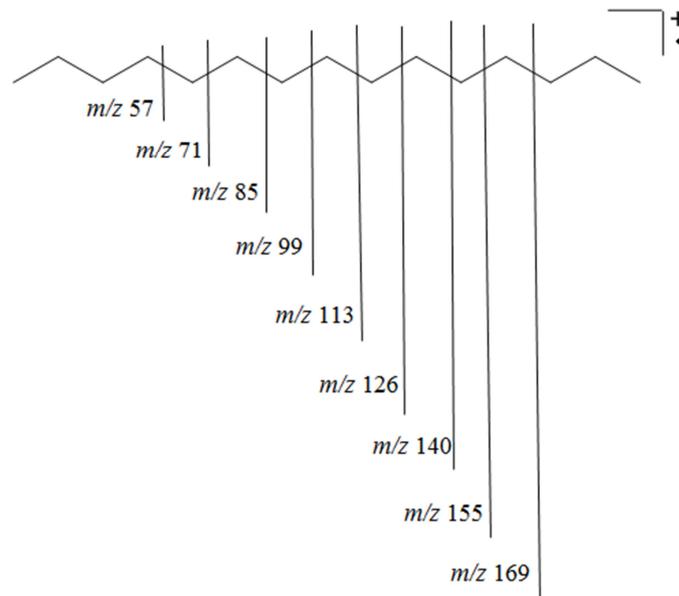


Figura 40. Proposta de fragmentos do pentadecano obtidos por impacto de elétrons.
Fonte: Adaptado de Silverstein e colaboradores (2007).

A benzamida (Figura 41) foi detectada nas fases FC-E, FM-D e FC-D. Esta amida aromática já foi encontrada em óleos essenciais de algumas espécies, como a *Houttuynia cordata*, uma planta medicinal muito utilizada na medicina tradicional chinesa (LIANG et al., 2005). Não foram encontrados registros sobre a presença da benzamida em outras espécies do gênero *Erythroxylum*. O espectro de massas da Figura 41 é característico de amidas aromáticas, sendo que o pico do íon molecular é representado pelo fragmento m/z 121, que perde o NH_2 , originando o cátion benzoíla (m/z 105) que é estabilizado por ressonância, explicando a sua representação por um pico intenso. O íon benzoíla sofre uma quebra dando origem ao cátion fenila, que é representado pelo pico base (fragmento m/z 77) (SILVERSTEIN et al., 2007).

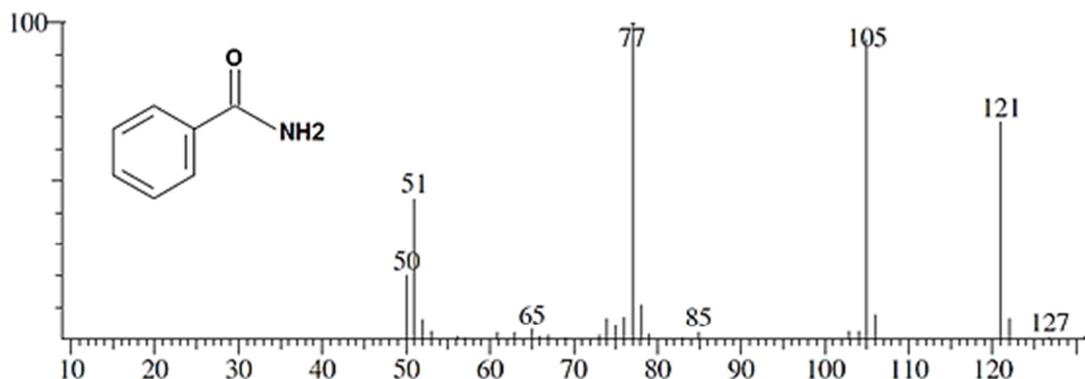


Figura 41. Espectro de massas e estrutura da benzamida.

Uma proposta de fragmentação da benzamida está apresentada na Figura 42, a seguir.

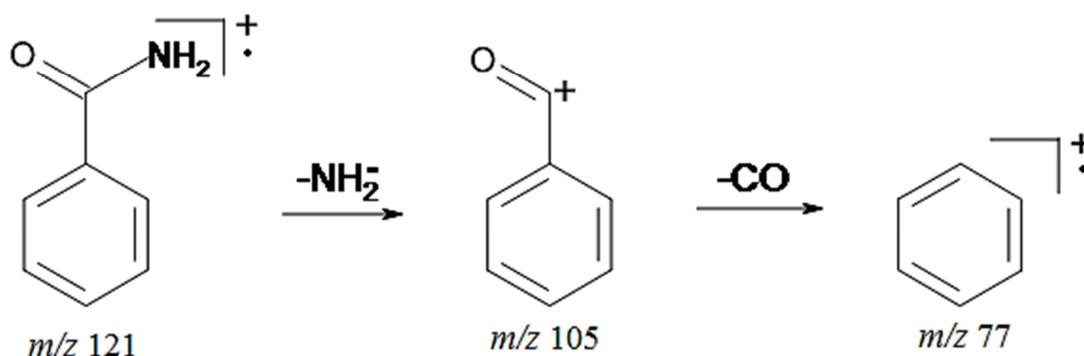


Figura 42. Fragmentos da benzamida obtidos por impacto de elétrons.
Fonte: Silverstein e colaboradores (2007).

A substância 3-etil-4-metil-1*H*-pirrol-2,5-diona (Figura 43) detectada em FC-E é uma imida cíclica pertencente à subclasse das maleimidas. As maleimidas se destacam, dentro do grupo das imidas cíclicas, por possuírem pronunciada atividade antibacteriana, antifúngica e inseticida. Estudos demonstram que estes efeitos biológicos estão relacionados à ligação dupla imídica (CECHINEL FILHO et al., 2003; MAHLE, 2008). Este composto já foi encontrado em extratos de algas (JURADO, 2011; SÁNCHEZ, 2012) e foi uma das substâncias voláteis isoladas, por microextração em fase sólida, da espécie *Ilex paraguariensis* em estudo realizado por Araújo e colaboradores (2007). O espectro de massas e a estrutura deste composto estão representados na Figura 43.

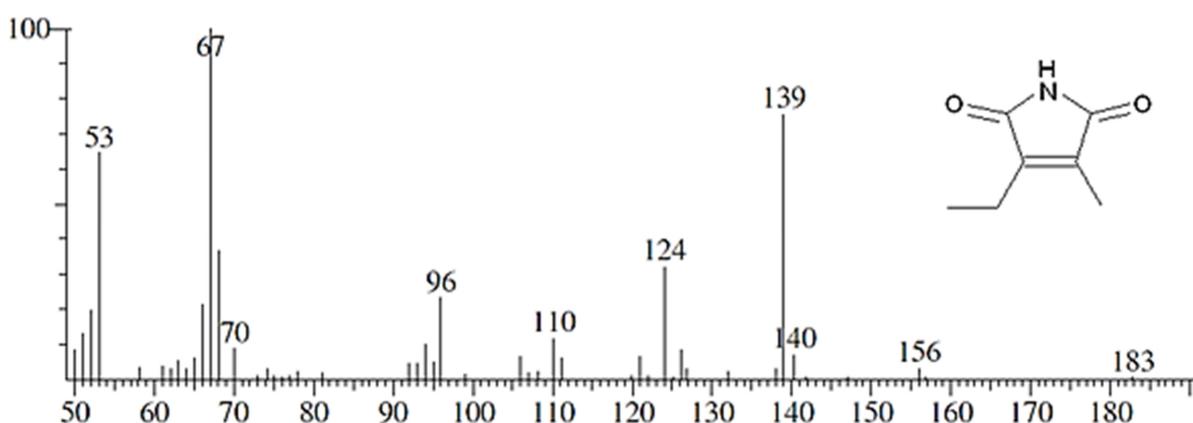


Figura 43. Espectro de massas e estrutura da 3-etil-4-metil-1*H*-pirrol-2,5-diona.

No espectro de massas da 3-etil-4-metil-1*H*-pirrol-2,5-diona (m/z 139) observa-se a formação do fragmento m/z 124 devido à perda de uma metila. Os picos mais intensos são formados por rearranjo (JURADO, 2011). O pico base (m/z 67) corresponde ao fragmento acetamida, que é um dos precursores na síntese das maleimidas (CECHINEL FILHO et al., 2003). Os principais fragmentos representados por picos observados no espectro de massas da 3-etil-4-metil-1*H*-pirrol-2,5-diona estão apresentados na Figura 44.

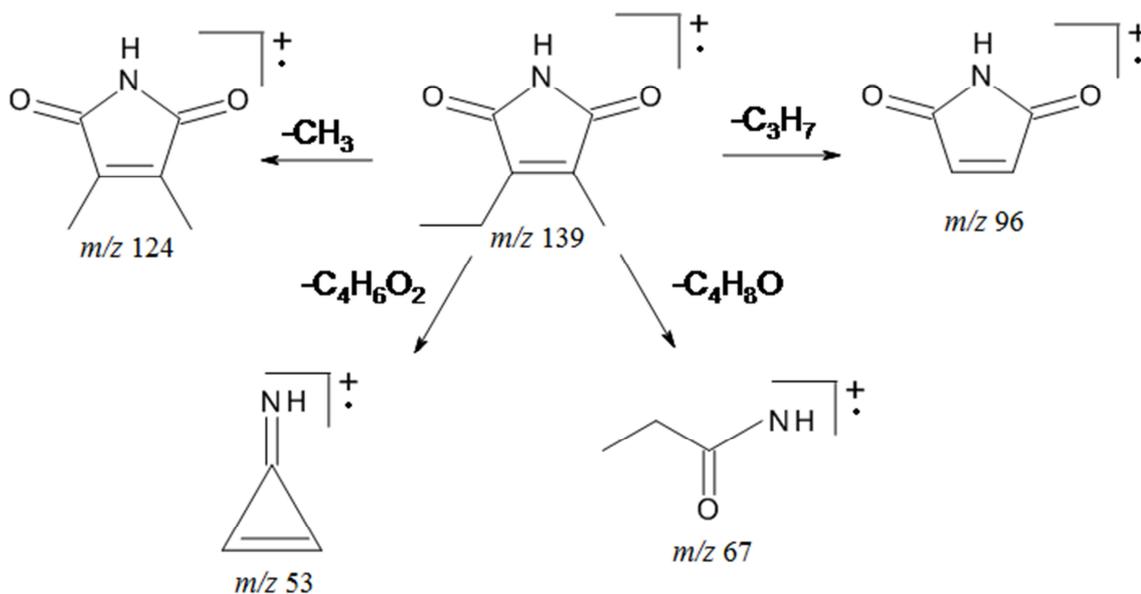


Figura 44. Fragmentos da 3-etil-4-metil-1*H*-pirrol-2,5-diona obtidos por impacto de elétrons.
Fonte: Jurado (2011).

Foi detectada a presença do composto 4,4,7a-trimetil-5,6,7,7a-tetraidro-2(4*H*)-benzofuranona, conhecido também como diidroactinidiolida. O espectro de massas e a estrutura desta substância são apresentados na Figura 45.

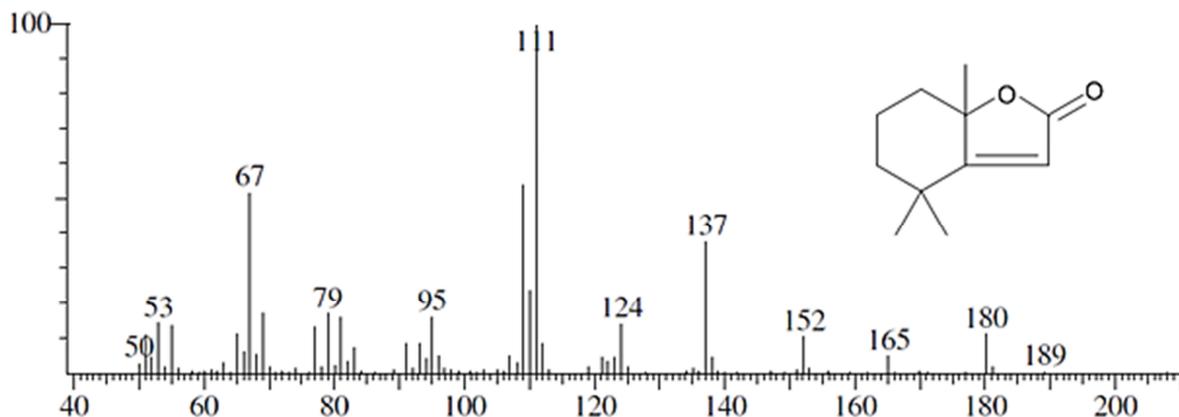


Figura 45. Espectro de massas e estrutura da diidroactinidiolida.

O espectro de massas obtido experimentalmente é compatível com o encontrado na literatura (<webbok.nist.gov>). O pico do íon molecular é pouco intenso (m/z 180) e os principais fragmentos são representados pelos picos m/z 137, m/z 111 (pico base) e m/z 67. O íon m/z 165 se forma devido à perda de um CH_3 pelo íon molecular (JURADO, 2011; SÁNCHEZ, 2012; SILVERSTEIN et al., 2007). O pico base deve se originar pela abertura do anel lactônico e uma proposta para a formação deste fragmento está apresentada na Figura 46. A diidroactinidiolida é um terpeno volátil encontrado em óleos essenciais (KANG et al., 2009; YU et al., 2012).

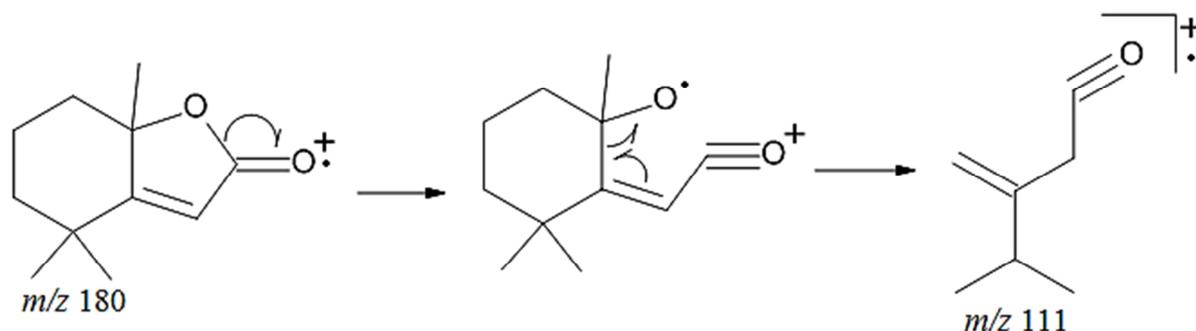


Figura 46. Proposta de fragmentação da diidroactinidiolida com formação do fragmento que origina o pico base.

O composto 4-[(1E)-1,3-butadienil]-3,5,5-trimetil-2-ciclohexen-1-ona, conhecido como megastigmatrienona, foi detectado nas quatro amostras analisadas. Esta substância é um composto volátil originado a partir de carotenoides (UENOJO et al., 2007). O espectro de massas da megastigmatrienona (Figura 47), obtido experimentalmente está de acordo com o encontrado na literatura (<webbok.nist.gov>).

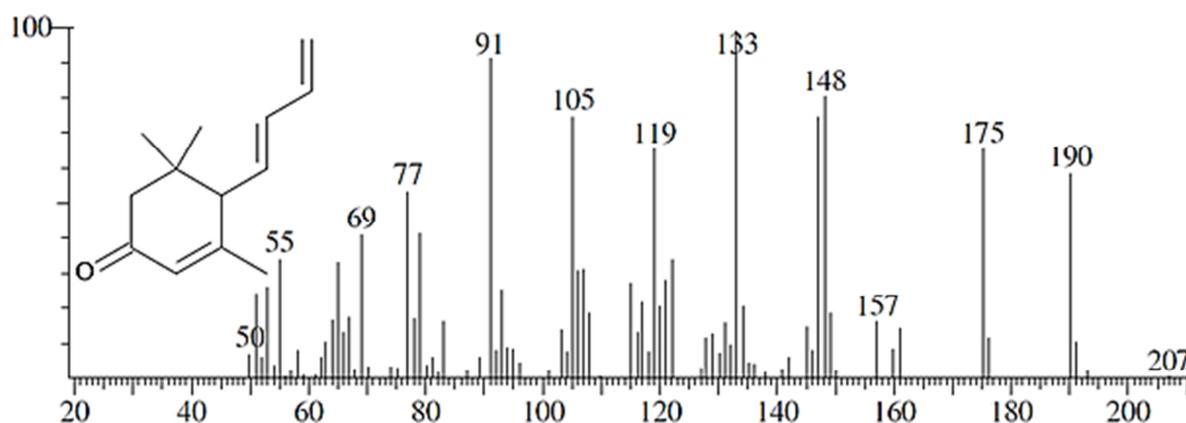


Figura 47. Espectro de massas e estrutura da megastigmatrienona.

Na fragmentação desta substância, o pico do íon molecular é intenso (m/z 190), o fragmento m/z 175 se forma pela perda de uma metila pelo íon molecular. Os fragmentos m/z 190, 175, 148, 131, 119, 91 e 77 são comuns nos espectros das megastigmatrienonas (NONIER et al., 2005). Na Figura 48 está representada uma proposta dos fragmentos observados no espectro de massas da megastigmatrienona.

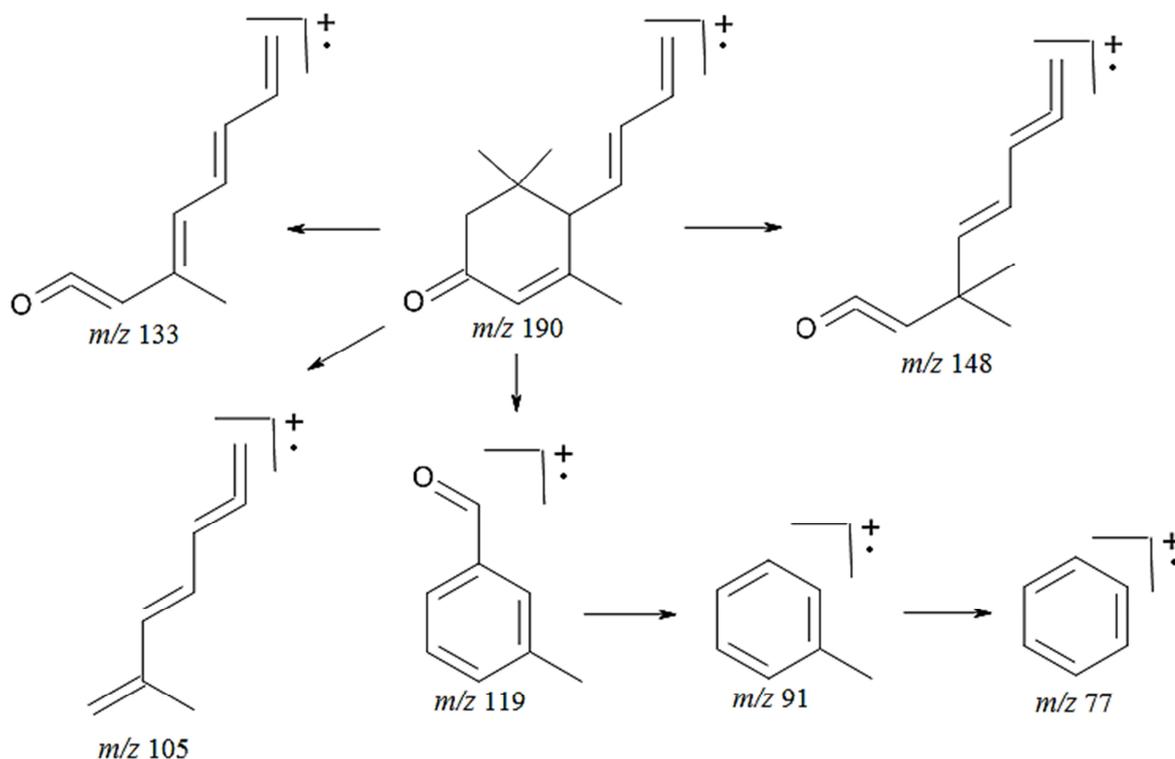


Figura 48. Proposta de fragmentos da megastigmatrienona obtidos por impacto de elétrons.

O blumenol C foi encontrado nas duas fases do extrato diclorometânico (FM-D e FC-D). Este composto foi isolado do látex de *Croton lechleri* em estudo realizado por Marino e colaboradores (2008). O espectro de massas e a estrutura do blumenol C estão apresentados na Figura 49 (p. 104). O perfil de fragmentação do blumenol C encontrado neste estudo se assemelha aos dados presentes na literatura (<webbok.nist.gov>). Alguns fragmentos observados no espectro deste composto são apresentados na Figura 50 (p. 104).

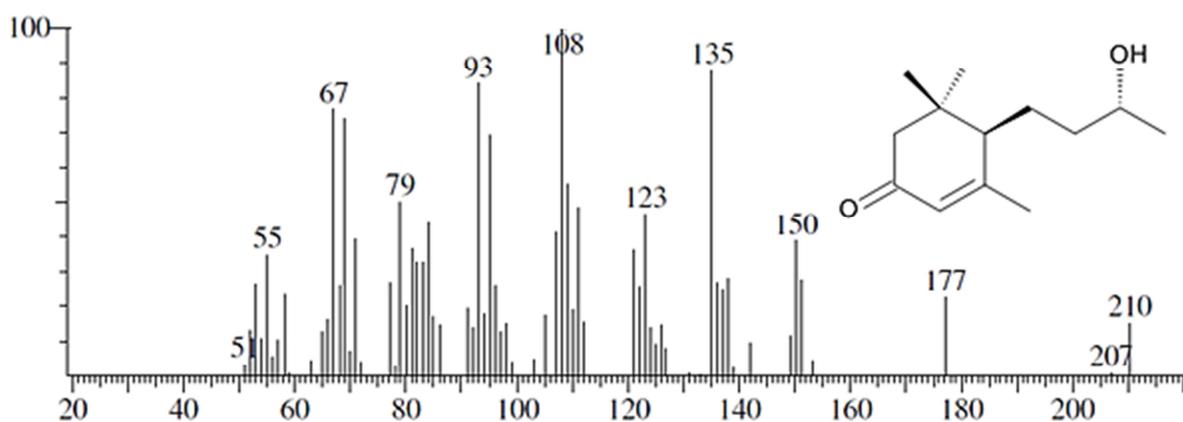


Figura 49. Espectro de massas e estruturado blumenol C.

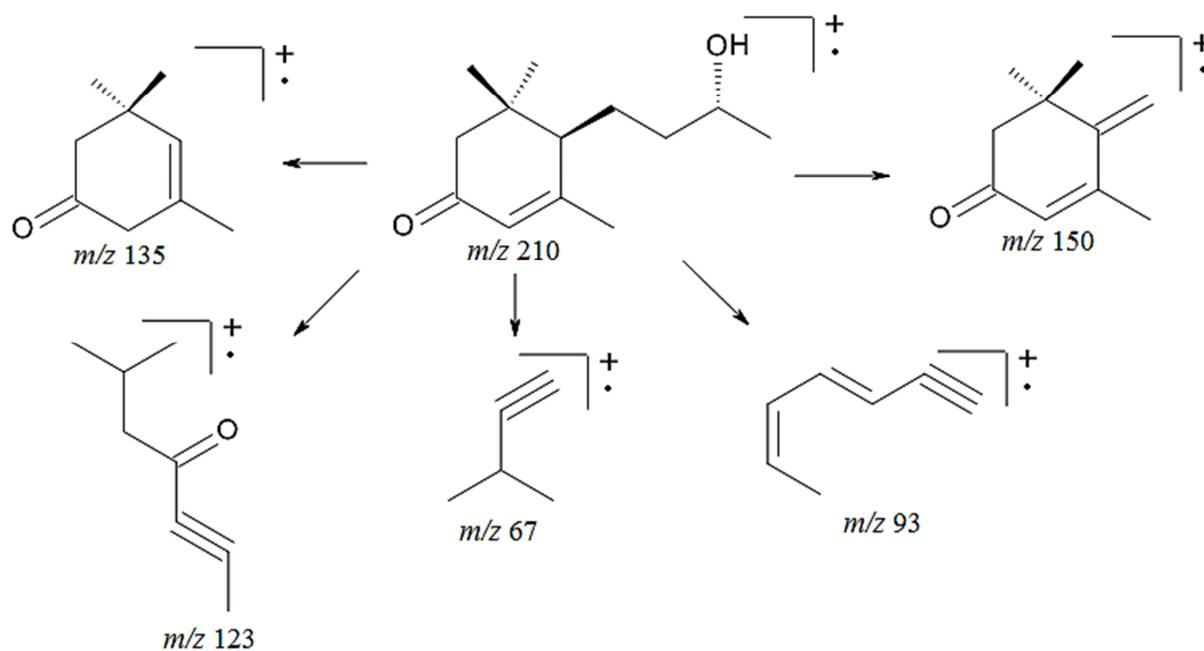


Figura 50. Proposta de fragmentos do blumenol C obtidos por impacto de elétrons.

A diidroactinidiolida, a megastigmatrienona e o blumenol C são classificados como norisoprenoides e são produtos da degradação dos carotenoides (NONIER et al., 2004).

O diterpeno 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno (Figura 51, p. 105) foi detectado em FM-E e em FC-E. Trata-se de um hidrocarboneto ramificado, insaturado e acíclico. Em espectro de massas deste tipo de composto pode-se observar o pico relativo ao íon molecular.

Por haver quebra preferencial próxima à ligação insaturada e à ramificação, pode ter ocorrido a formação do fragmento representado pelo pico m/z 237. Além disso, observa-se aglomerados de picos com espaçamento de 15 unidades, aproximadamente, podendo indicar a perda das ramificações $-CH_3$ (SILVERSTEIN et al., 2007).

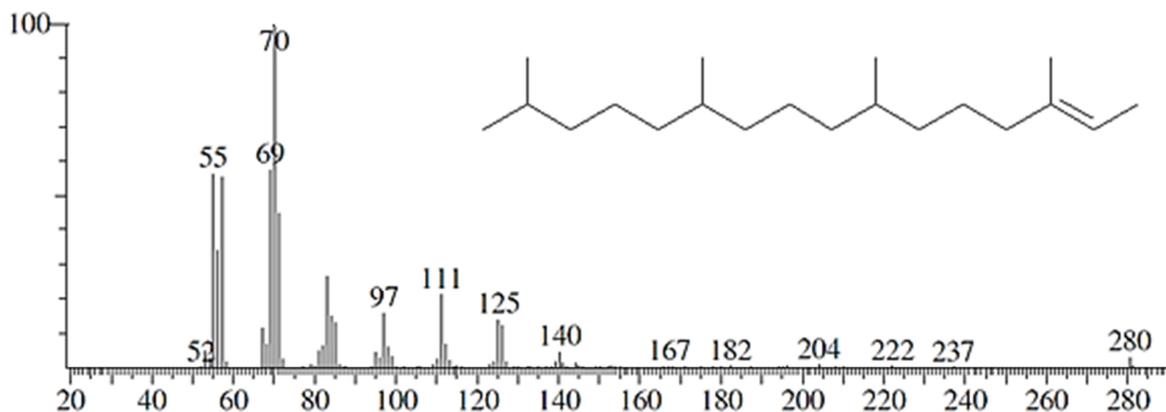


Figura 51. Espectro de massas e estrutura do 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno.

O 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol, conhecido como fitol (Figura 52) foi identificado em FM-E e FC-E (extrato etéreo) e em FC-D (extrato diclorometânico).

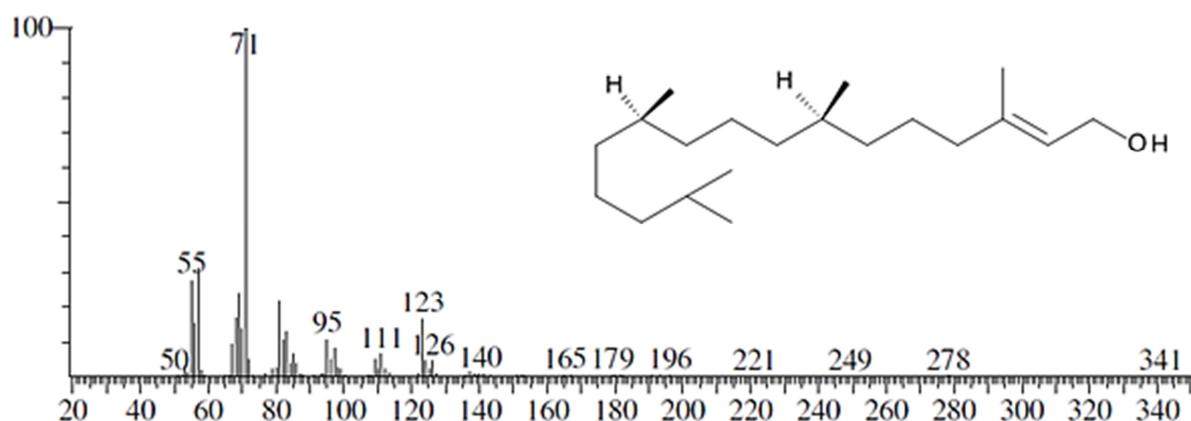


Figura 52. Espectro de massas e estrutura do fitol.

No espectro de massas do fitol o pico do íon molecular (m/z 296) não foi detectado. A formação do íon m/z 278 ocorre pela perda de uma molécula de H_2O ; este íon por sua vez, sofre sucessivas fragmentações formando os íons m/z 123 e 71 (pico base) (SIQUEIRA et al., 2003). A Figura 53 (p. 106) apresenta uma proposta de fragmentos do fitol obtidos por impacto de elétrons.

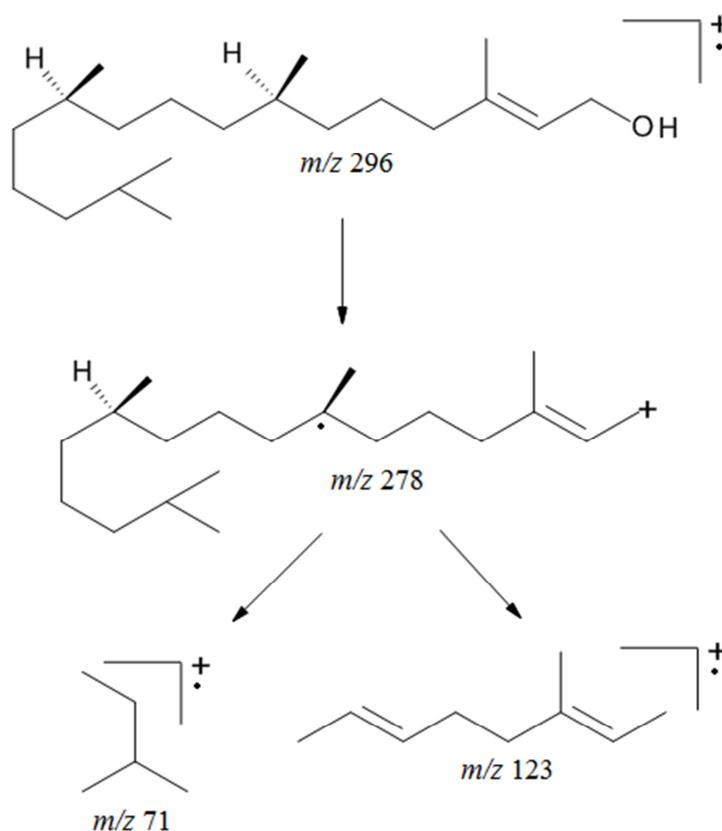


Figura 53. Proposta de fragmentos do fitol obtidos por impacto de elétrons.
Fonte: Adaptado de Siqueira e colaboradores (2003).

O fitol é um componente da molécula da clorofila, por isso é encontrado abundantemente, na natureza. Esta substância é um precursor de isoprenoides com 20 ou menos átomos de carbono (COSTA et al., 2012).

O α -tocoferol foi detectado em ambas as fases (metanólica e clorofórmica) do extrato etéreo, obtido pelo método Stas-Otto, de *E. suberosum*. Esta substância pertence ao grupo dos tocoferóis, uma classe de vitaminas lipossolúveis conhecida como Vitamina E. Esta vitamina desempenha papel importante na reprodução normal e como antioxidante de tecidos animais e vegetais. Juntamente com a Vitamina C, β -caroteno, selênio e flavonoides, a Vitamina E faz parte do grupo dos antioxidantes alimentares, que tem sido frequentemente associados à prevenção de doenças neurodegenerativas, aterosclerose, inflamação crônica, câncer e envelhecimento precoce. O α -tocoferol é considerado um dos mais potentes antioxidantes dentre os componentes da Vitamina E (GUINAZI et al., 2009).

O espectro de massas e a estrutura do α -tocoferol estão apresentados na Figura 54 (p. 107).

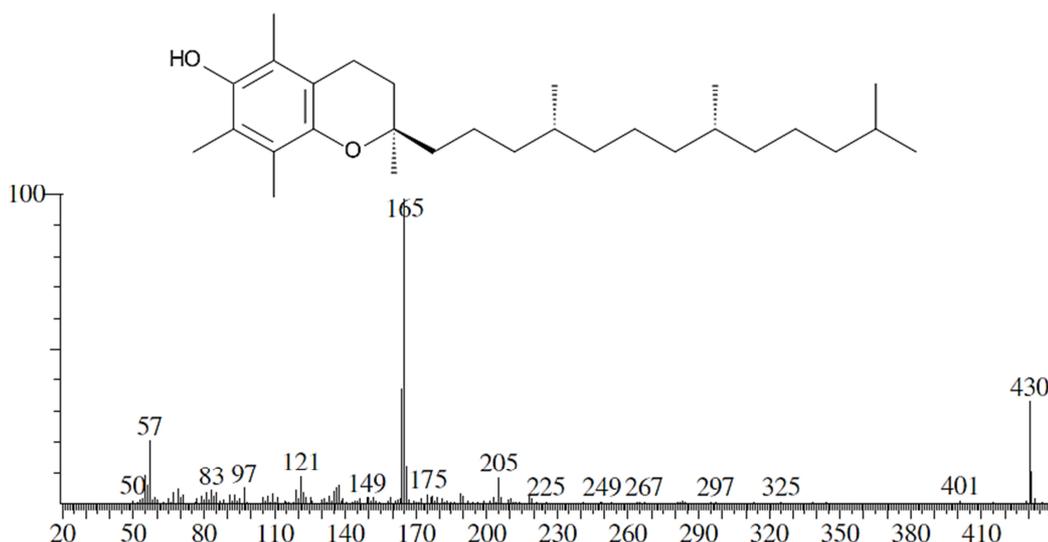


Figura 54. Espectro de massas e estrutura do α -tocoferol.

No processo de fragmentação do α -tocoferol, o íon molecular (m/z 430) perde a cadeia lateral alquílica para formar o fragmento m/z 205. O íon molecular sofre um processo de fragmentação por meio de um rearranjo de hidrogênio e uma reação de retro Diels-Alder no anel pirânico formando o íon m/z 165 (pico base) (SIQUEIRA et al., 2003). A Figura 55 mostra um esquema de fragmentos do α -tocoferol (a) e o mecanismo da reação retro Diels-Alder (b).

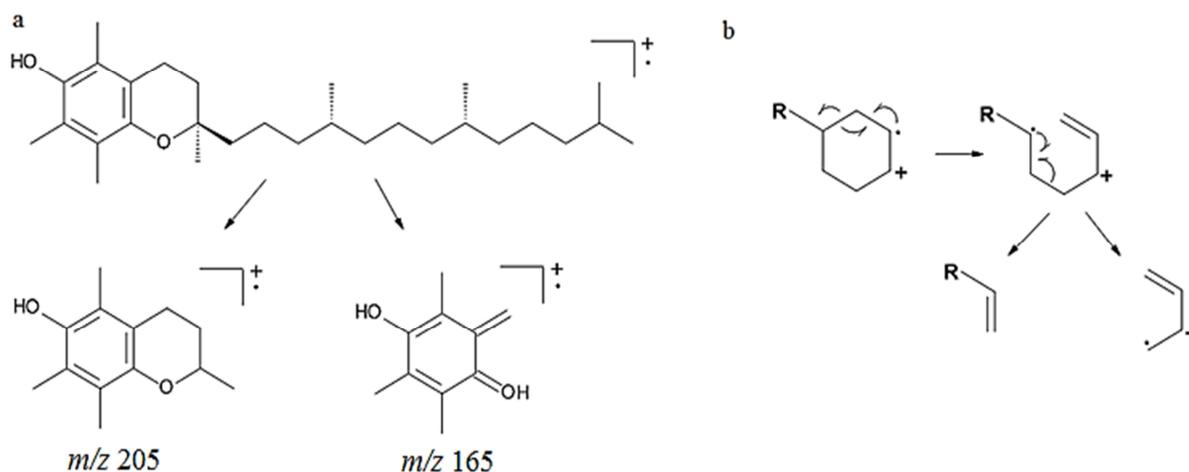


Figura 55. Esquema de fragmentos do α -tocoferol (a) e mecanismo da reação retro Diels-Alder (b).
Fonte: Siqueira e colaboradores (2003) e McLaffert & Turecek (1993).

A análise por CG/EM sugeriu a presença dos triptenos β -sitosterol, β -amirina e lupeol nas frações FM-E e FC-E. O β -sitosterol é uma substância amplamente distribuída nos vegetais e pertence a um grupo de esteróis denominados fitosteróis, que são quimicamente semelhantes ao colesterol e outros hormônios de origem animal. Os fitosteróis são usados pelas indústrias química e farmacêutica para semi-síntese de cortisona e hormônios utilizados como anticoncepcionais e são precursores de vitamina D (GABAY et al., 2010; HAN et al, 2008).

No espectro de massas do β -sitosterol (Figura 56) observa-se a presença do pico do íon molecular em m/z 414. O fragmento m/z 396 se forma devido à perda de uma molécula de H_2O pelo íon molecular, outros íons são formados a partir de rearranjos, como os fragmentos m/z 145, m/z 121, m/z 105, m/z 95 e m/z 91 (OLIVEIRA, 2010). A Figura 57 (p. 109) apresenta uma proposta de fragmentação para o β -sitosterol.

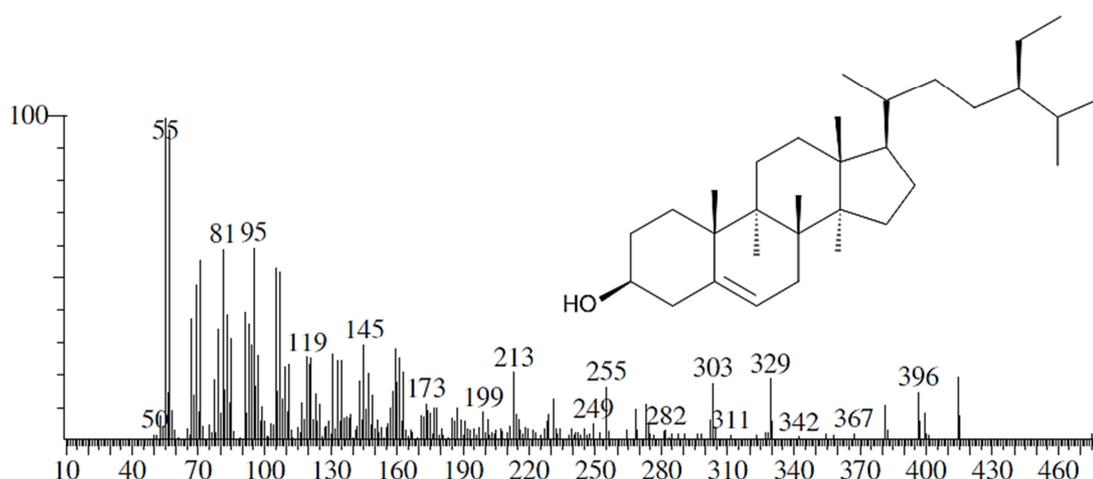


Figura 56. Espectro de massas e estrutura do β -sitosterol.

No espectro de massas da β -amirina (Figura 58, p. 109) o pico do íon molecular não é observado em m/z 426. O fragmento m/z 218 é representado pelo pico base e este é oriundo de um rearranjo retro-Diels-Alder. Este tipo de rearranjo pode levar a formação de fragmentos contendo os anéis A e B e parte do C e os anéis E e D e parte do anel C (OGUNKOYA, 1981; (SILVA et al., 1998). Uma proposta de íons formados na fragmentação da β -amirina, por impacto de elétrons, está representada na Figura 59 (p. 110).

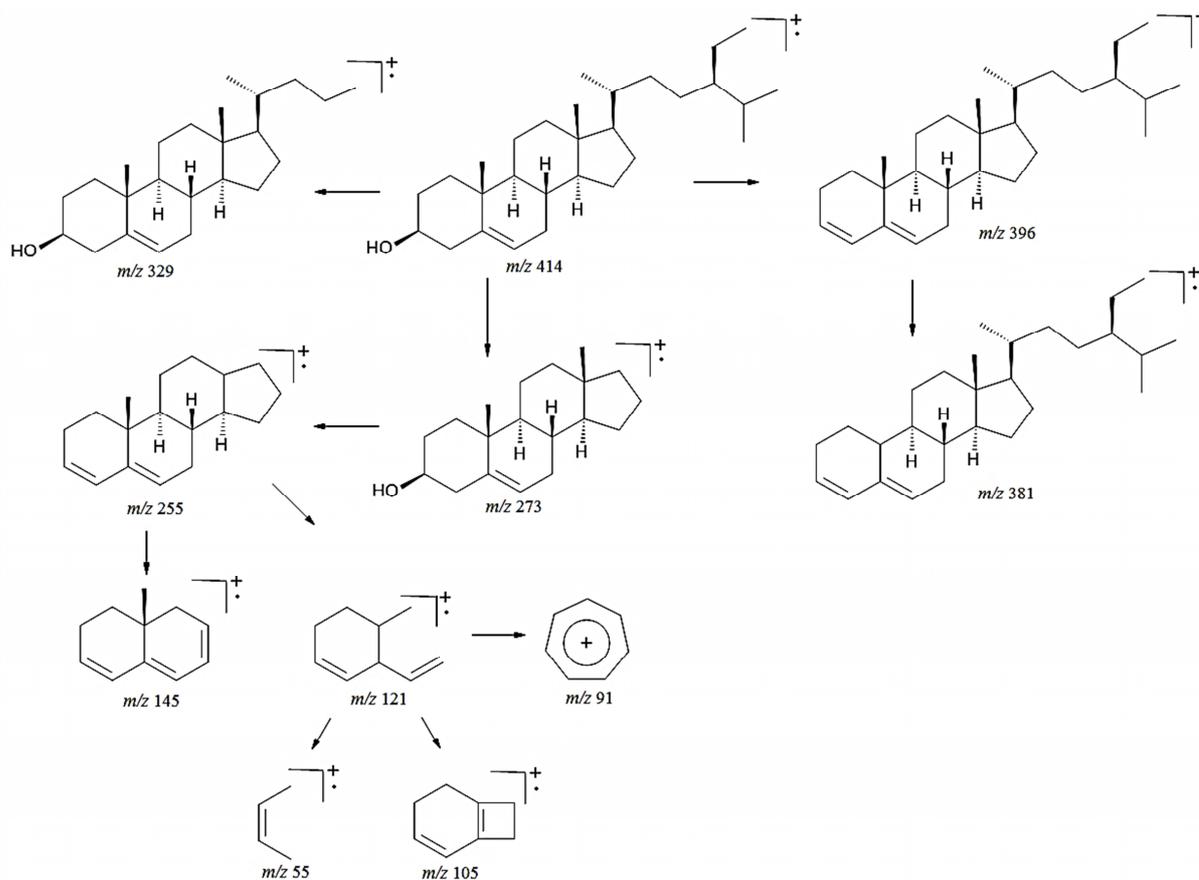


Figura 57. Proposta de fragmentos do β -sitosterol obtidos por impacto de elétrons.
Fonte: Oliveira (2010).

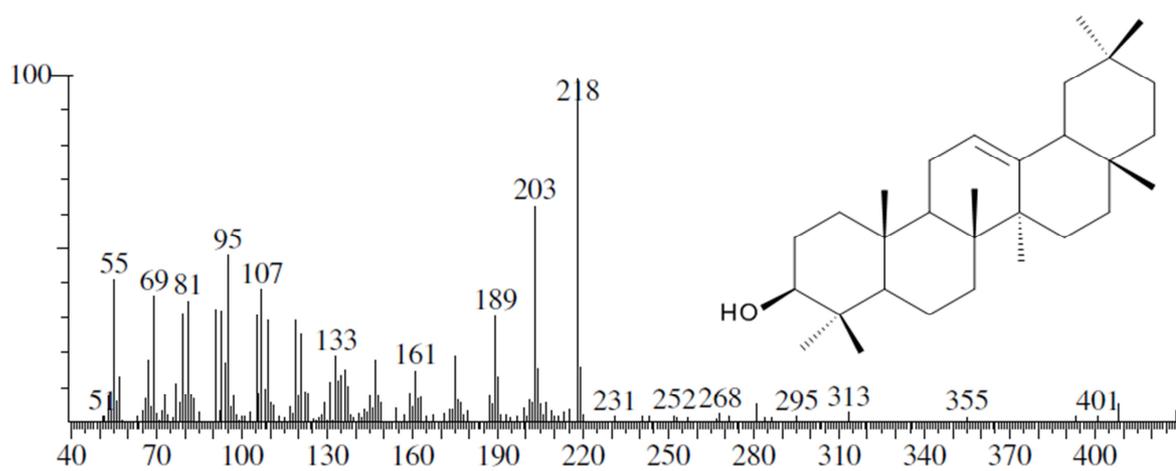


Figura 58. Espectro de massas e estrutura da β -amirina.

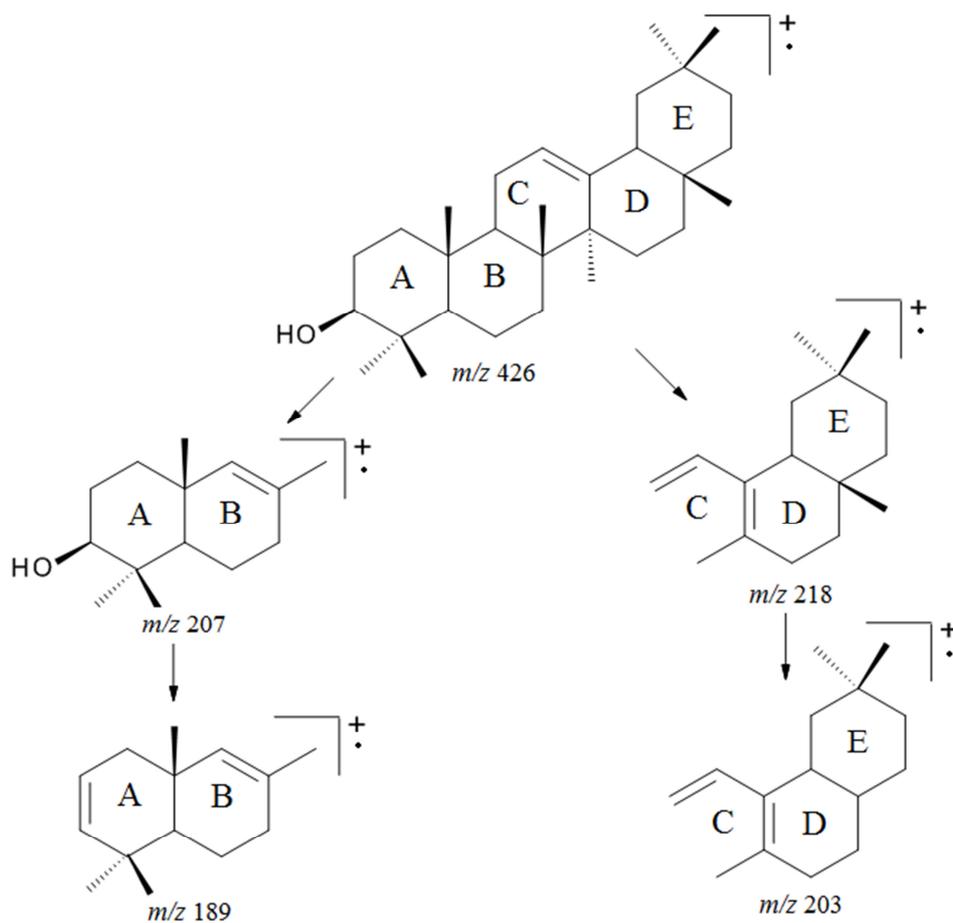


Figura 59. Proposta de fragmentos da β -amirina originados por impacto de elétrons.
Fonte: Zanon (2006).

A análise por CG/EM sugeriu a presença do triterpeno lupeol (Figura 60, p. 111). No espectro de massas deste composto o pico do íon molecular em m/z 426 não está evidente. Outros fragmentos oriundos do rearranjo retro-Diels-Alder do anel C, como os picos m/z 207, m/z 218, m/z 203 e m/z 189, são típicos de triterpenos pentacíclicos. Os íons m/z 189 e m/z 207 são característicos de fragmentações de compostos do tipo lupeno (OGUNKOYA, 1981). O esquema indicando os fragmentos do lupeol está mostrado na Figura 61 (p. 111).

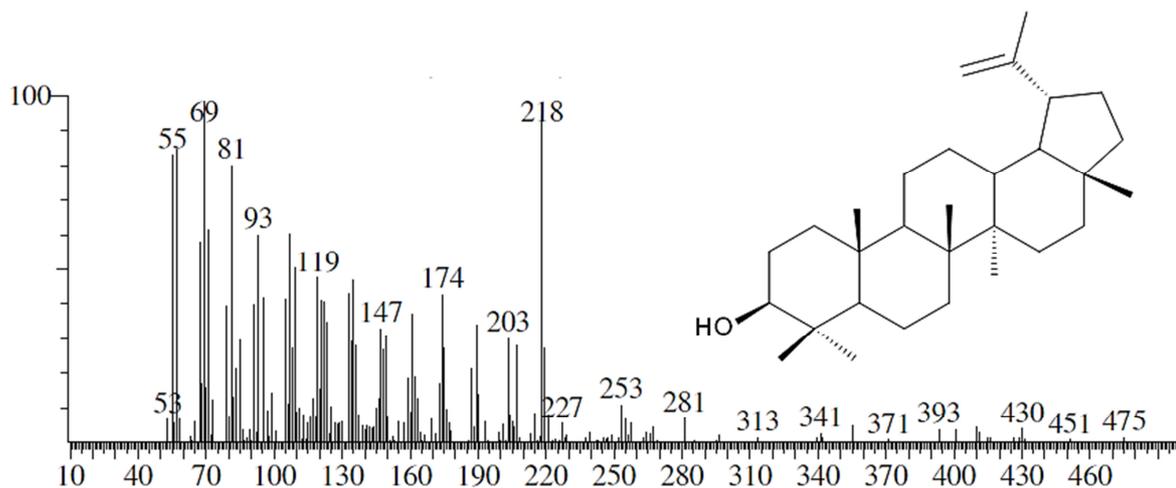


Figura 60. Espectro de massas e estrutura do lupeol.

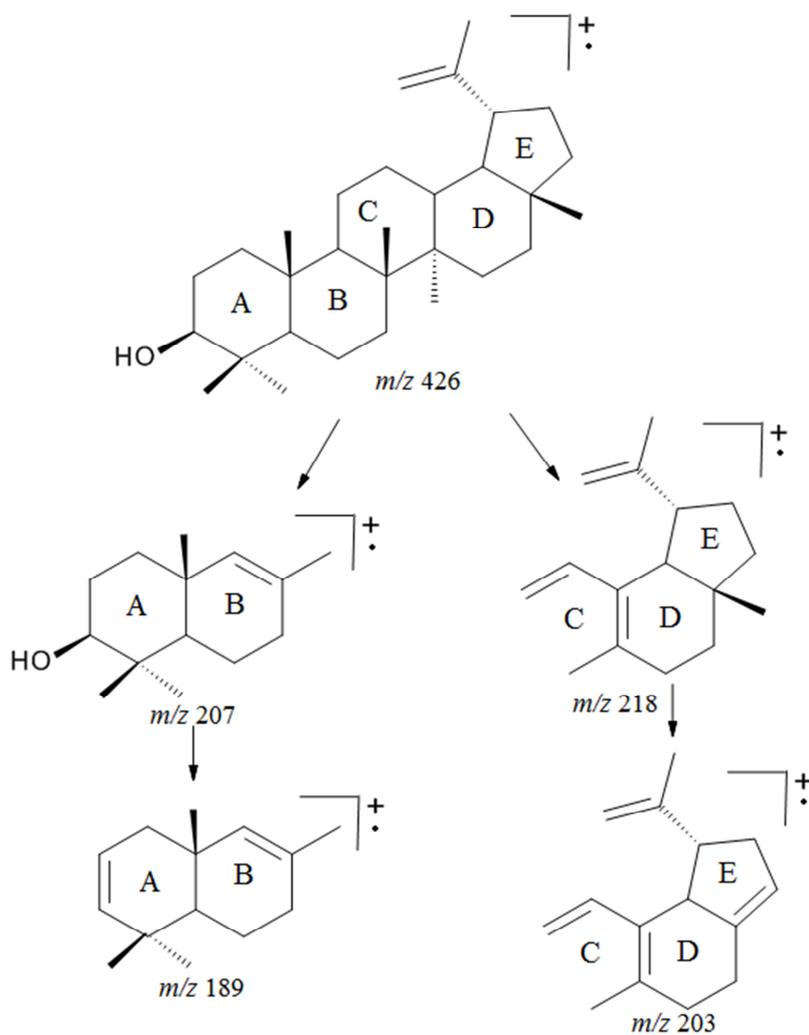


Figura 61. Proposta de fragmentos do lupeol obtidos por impacto de elétrons.

Fonte: Machado (2007).

Os triterpenos β -sitosterol, β -amirina e lupeol já foram detectados em outras espécies do gênero *Erythroxylum*, como *E. deciduum* (NASCIMENTO, 2008), *E. gonocladum* (LUCAS FILHO, 2009), *E. pictum* (ANSELL et al., 1993), *E. barbatum* (SANTOS et al., 2006), *E. passerinum* (BARREIROS et al., 2002) e *E. leal costae* (CHÁVEZ et al., 1996).

A análise por CG/EM do extrato etéreo e diclorometânico das folhas de *E. suberosum*, preparado pelo Método Stas-Otto, sugeriu a presença do alcaloide tropânico tropacocaína.

Os alcaloides tropânicos possuem uma estrutura bicíclica denominada tropano [3,2,1]octano (Figura 62).

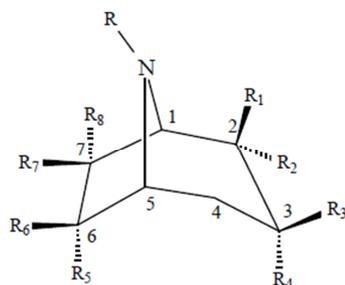


Figura 62. Estrutura do anel tropano.

O espectro de massas e a estrutura da tropacocaína são apresentados na Figura 63, a seguir.

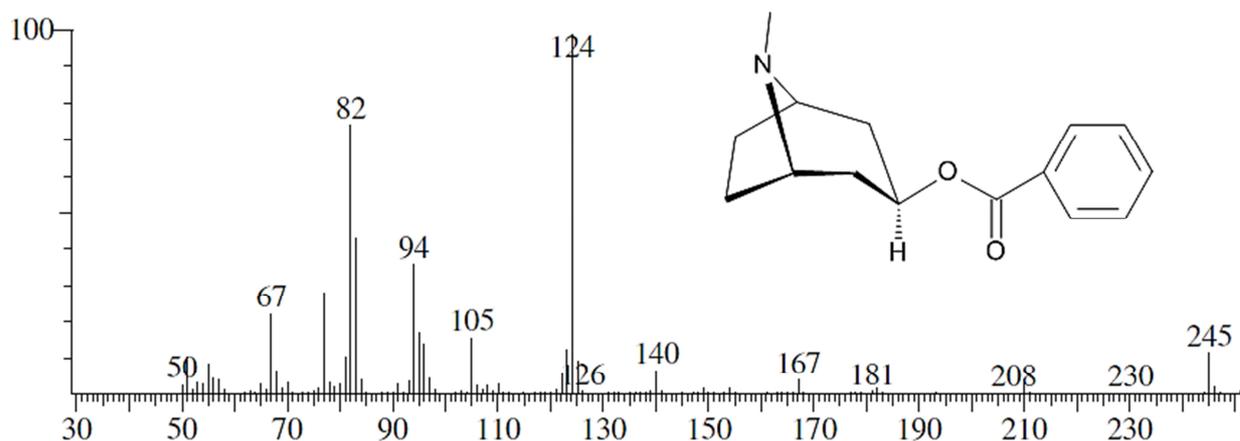


Figura 63. Espectro de massas e estrutura da tropacocaína.

No espectro de massas é observado o pico base m/z 124, que é característico de derivados tropanos substituídos em C-3 por um ácido (CHRISTEN et al., 1995; EL-IMAM et al., 1988). No caso da tropacocaína este substituinte é o ácido benzóico. Além do pico base (m/z 124) os fragmentos m/z 140, 94, 82 e 67 são característicos de alcaloides tropânicos substituídos em C-3 (AL-SAID et al., 1986; CHRISTEN et al., 1993).

O íon representado pelo pico m/z 105 corresponde ao grupo benzóil (AL-SAID et al., 1986; AL-SAID et al., 1989; MCLAFFERTY & TURECEK, 1993). O fragmento m/z 94 (*N*-metilpiridina), também encontrado no espectro de massas da cocaína, provavelmente, se forma após a saída do ácido benzóico e rearranjo do anel tropano, com perda de um C_2H_4 (MCLAFFERTY & TURECEK, 1993; PAYO-HILL et al., 2000).

Uma proposta de fragmentação da tropacocaína é apresentada na Figura 64. A tropacocaína ($C_{15}H_{19}O_2N$) apresenta, na análise por espectrometria de massas, o pico do íon molecular m/z 245.

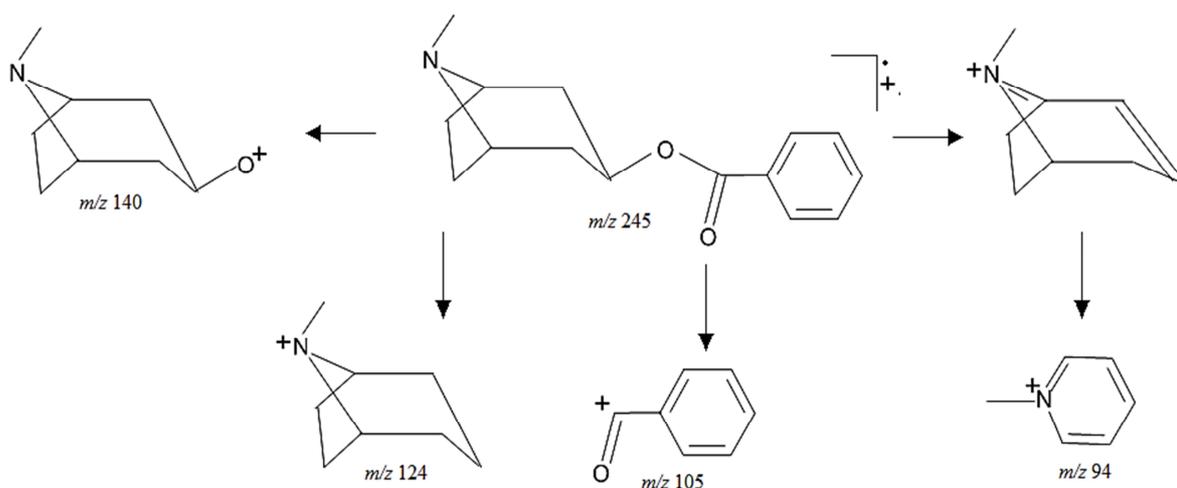


Figura 64. Proposta de fragmentos da tropacocaína obtidos por impacto de elétrons.

Na Figura 65 (p. 114) é apresentada uma proposta de formação dos íons m/z 126, 82 e 65, por rearranjo (MCLAFFERTY & TURECEK, 1993; SATURNINO JÚNIOR et al., 2008).

A ocorrência da tropacocaína é comum no gênero *Erythroxylum*. Este alcaloide já foi encontrado nas espécies *E. cuneatum*, *E. ecarinatum* (EL-IMAM et al., 1988), *E. monogynum* (CHRISTEN et al., 1995), *E. pelleterianum* (ZUANAZZI et al., 2001), *E. sideroxyloides*, *E. macrocarpum* (AL-SAID et al., 1986), *E. argentinum*, *E. ulei*, *E. mamacoca* (EL-IMAM et al., 1985).

Estudos revelaram que a tropacocaína possui as mesmas propriedades anestésicas, mas apresenta uma toxicidade menor que a cocaína (NOVÁK et al., 1984). A presença de tropacocaína nas folhas de *E. suberosum* pode ser considerado um ponto de confirmação de que esta espécie possui propriedades anestésicas, como indicado pelos índios Kayapó (BARBOSA & PINTO, 2003).

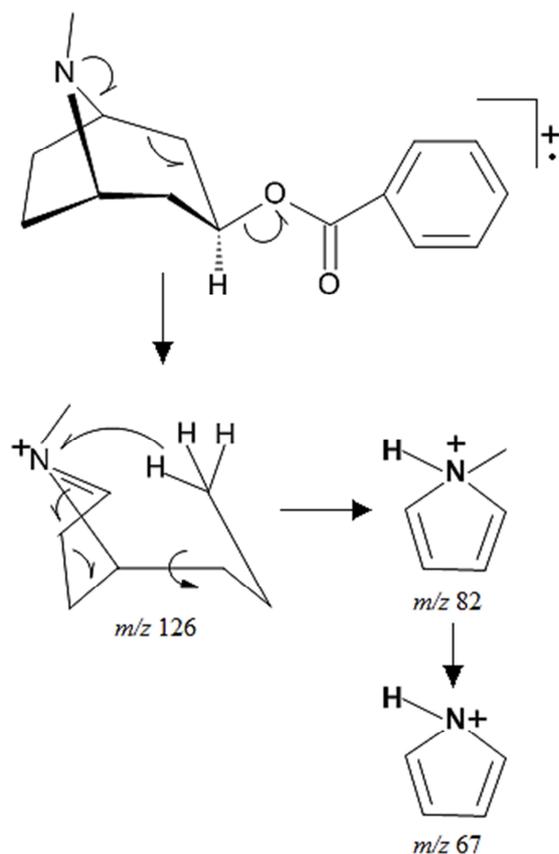


Figura 65. Formação de fragmentos do núcleo tropanico.
Fonte: Adaptado de Saturnino Júnior e colaboradores (2008).

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os experimentos para detecção do potencial antioxidante dos extratos das folhas de *E. suberosum* foram realizados pois há relatos da presença de flavonoides no gênero e em estudos fitoquímicos previamente feitos com a espécie (BOHM et al., 1988; CHAVEZ et al., 1996). Além disso, na triagem fitoquímica do presente estudo houve a indicação da presença de compostos fenólicos nos extratos, tais como flavonoides, cumarinas e taninos, que são reconhecidos como agentes antioxidantes.

5.3.1 Determinação de fenólicos totais

A curva analítica do padrão ácido gálico, usado na quantificação dos fenólicos totais pelo método Folin Ciocalteu é apresentada na Figura 66. A equação da reta encontrada foi:

$$A = 0,0047C \quad R^2 = 0,9999$$

Sendo A= absorvância e C= concentração, substituindo a absorvância (A) de cada extrato na equação da reta, obteve-se C, e em seguida, calculou-se a quantidade de fenólicos totais em equivalentes de AG na solução dos extratos, através da equação:

$$\text{mg AG (100 mL)} = 100 \times C / 1000$$

Para determinar a quantidade de mg de fenólicos totais em equivalentes de AG por grama de extrato, utilizou-se a equação:

$$\text{mg AG / g extrato} = 1000 \times \text{mg AG (100 mL)} / 10$$

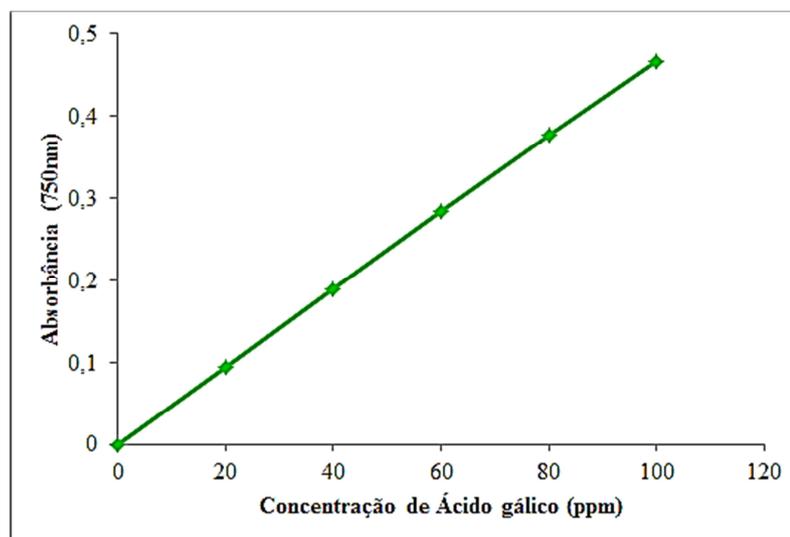


Figura 66. Curva analítica do ácido gálico.

Os resultados da quantidade de fenólicos totais, em miligramas, expressos em equivalentes de ácido gálico por grama de extrato, são apresentados na Tabela 2 (p. 116).

Os extratos analisados apresentaram quantidades significativas de compostos fenólicos, sendo que no extrato mais polar detectou-se uma maior quantidade de fenólicos totais. Foram encontrados, no EAc e no EE, $242,2 \pm 9,53$ mg e $575,5 \pm 2,50$ mg por grama de extrato, respectivamente. A triagem fitoquímica sugeriu a provável presença de uma única classe de compostos fenólicos no EAc (flavonoides), já no EE observou-se positividade para flavonoides, cumarinas e taninos condensados.

Tabela 2. Quantidade de fenólicos totais presentes nos extratos de *E. suberosum*

Extrato	Absorbância (nm)	Fenólicos totais mg em equivalentes de AG/g extrato \pm DP
EE	0,271	$575,5 \pm 2,50$
EAc	0,114	$242,2 \pm 9,53$

5.3.2 Atividade de retirada de radical usando o método DPPH

Os extratos etanólico (EE) e em acetato de etila (EAc) das folhas de *E. suberosum* apresentaram atividade de retirada de radical (ARR). A Tabela 3 apresenta os resultados do ensaio de ARR dos extratos, em diferentes concentrações, e do ácido gálico (AG), usado como padrão.

Tabela 3. Atividade de retirada de radical dos extratos de *E. suberosum* e do ácido gálico em diferentes concentrações

Concentração mg/mL	Média da Abs \pm DP	% ARR
AG-0,01	$0,964 \pm 0,006$	7,8
AG-0,03	$0,829 \pm 0,002$	20,7
AG-0,05	$0,633 \pm 0,002$	39,4
AG-0,07	$0,517 \pm 0,003$	50,5
AG-0,1	$0,270 \pm 0,003$	74,2
EE-0,1	$0,646 \pm 0,016$	36,7
EE-0,2	$0,524 \pm 0,009$	48,7
EE-0,3	$0,299 \pm 0,007$	70,7
EE-0,4	$0,096 \pm 0,003$	90,6
EAc-0,5	$0,722 \pm 0,002$	31,8
EAc-0,7	$0,547 \pm 0,012$	48,4
EAc-0,9	$0,394 \pm 0,006$	62,7
EAc-1,1	$0,260 \pm 0,006$	75,4
EAc-1,3	$0,157 \pm 0,0005$	85,2

Os gráficos da concentração da amostra *versus* a ARR podem ser visualizados na Figura 67 (p. 118). A partir do gráfico, calculou-se o IC₅₀. O valor de IC₅₀ é definido como a

concentração final do extrato (em mg/mL), requerido para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (DENG et al., 2011).

O valor de IC₅₀ do ácido gálico foi 0,068 mg/mL. Dentre os extratos, o EE apresentou o menor IC₅₀ (0,18 mg/mL) enquanto o EAc exibiu um IC₅₀ de 0,74 mg/mL. Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será sua IC₅₀ e, conseqüentemente, maior a sua atividade antioxidante (DENG et al., 2011; SOUSA et al., 2007). Assim, o ácido gálico (padrão) apresentou uma atividade de retirada de radical 11 vezes maior que o extrato menos ativo (EAc). Já em relação ao EE, a atividade do padrão foi, aproximadamente, 2,6 vezes maior que a do extrato.

Os resultados de IC₅₀ apresentados pelos extratos de *E. suberosum* são significativamente diferentes do IC₅₀ do padrão ácido gálico. No entanto, o ácido gálico trata-se de um composto fenólico puro. Nos extratos, os compostos fenólicos estão em mistura com outras substâncias, o que pode interferir no potencial antioxidante, daí, provavelmente, valores de IC₅₀ mais altos para os extratos em comparação com o IC₅₀ do padrão.

A presença de compostos fenólicos em extratos não é o único fator responsável pela atividade antioxidante por estabilização de radicais; devem ser considerados também, aspectos sobre a estrutura dos compostos fenólicos, uma vez que alguns requisitos estruturais, como a presença de hidroxilas vicinais livres (Figura 8, p. 50) são essenciais para uma atividade antioxidante pronunciada (RICE-EVANS et al., 1996).

5.3.3 Poder redutor de íon metálico

A Tabela 4 (p. 119) e a Figura 68 (p. 119) apresentam os resultados de poder redutor de extratos de *E. suberosum* sobre o íon metálico Fe³⁺.

Os componentes dos extratos foram capazes de reduzir o íon Fe³⁺. O extrato etanólico (EE) apresentou uma atividade maior que o extrato em acetato de etila (EAc).

O poder redutor mostrou-se dependente da concentração, assim, quanto mais concentrado o extrato, maior foi o seu poder de redução. O EAc apresentou um aumento gradativo da atividade, enquanto que para o EE, houve um grande aumento do poder redutor entre as concentrações de 50 e 100 ppm, mas a partir desta concentração houve uma estabilização na atividade, conforme pode ser visto no gráfico da Figura 68 (p.119).

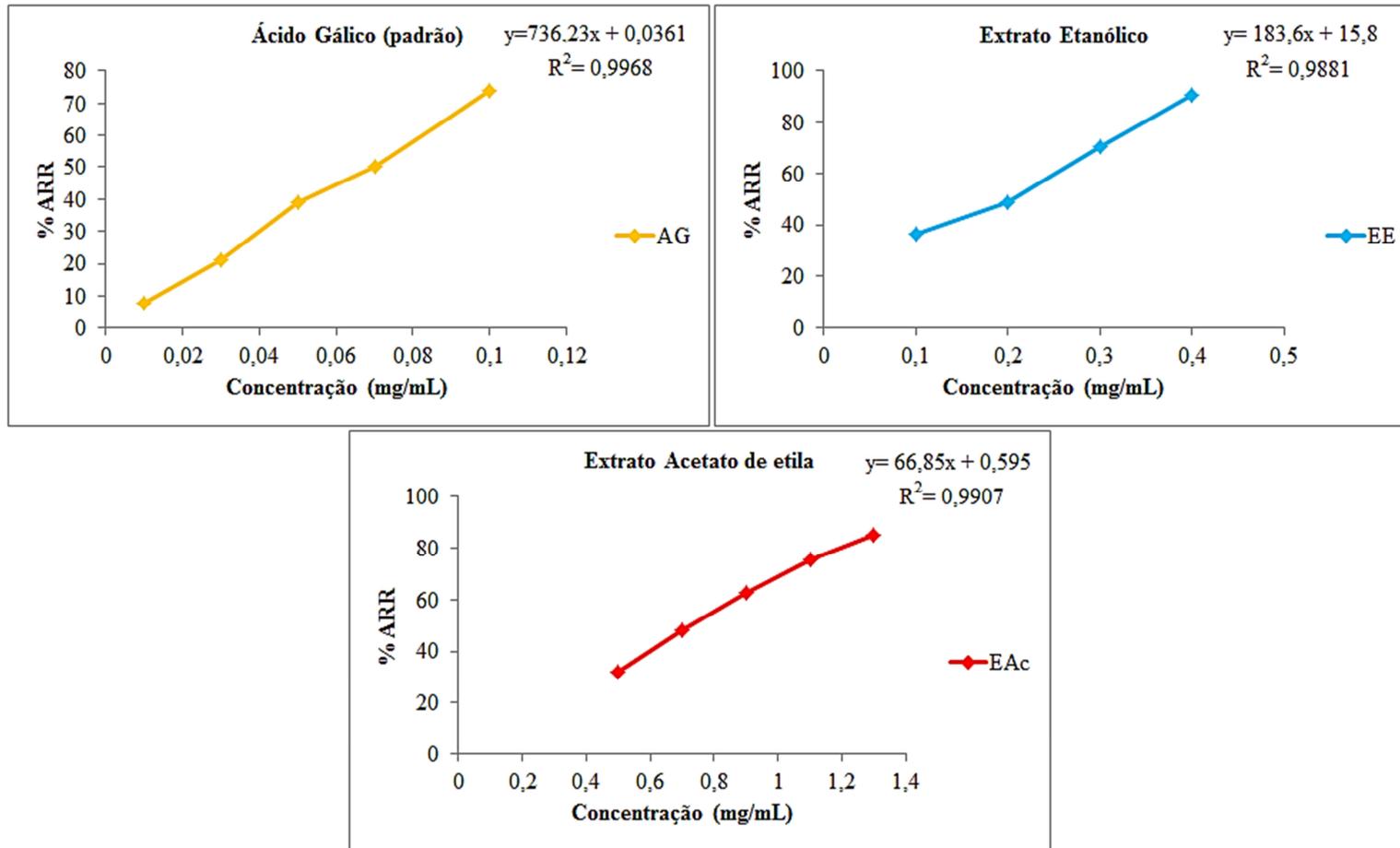
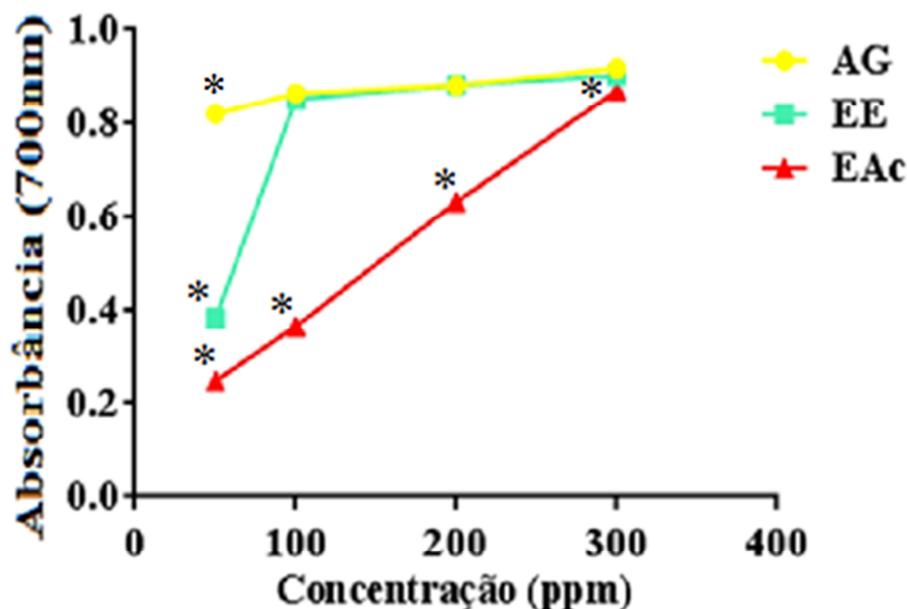


Figura 67. Gráficos da concentração versus ARR do ácido gálico e dos extratos etanólico e acetato de etila das folhas de *E. suberosum*.

Tabela 4. Poder redutor dos extratos das folhas de *E. suberosum* sobre o íon metálico Fe^{3+}

	50 ppm	100 ppm	200 ppm	300 ppm
EAc	0,249±0,008	0,367±0,004	0,633±0,006	0,871±0,007
EE	0,384±0,001	0,853±0,022	0,883±0,003	0,903±0,004
AG	0,821±0,007	0,865±0,029	0,882±0,001	0,919±0,004

**Figura 68.** Poder redutor dos extratos das folhas de *E. suberosum* e do padrão ácido gálico (* Diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação aos outros resultados obtidos).

Todos os resultados do EAc foram diferentes, estatisticamente ($p < 0,05$), dos valores obtidos usando o padrão ácido gálico. Entretanto, os resultados do EE, nas concentrações 100, 200 e 300 ppm, não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) dos resultados apresentados pelo padrão, nestas mesmas concentrações, indicando que o extrato etanólico tem uma capacidade pronunciada de reduzir o íon metálico Fe^{3+} .

No entanto, através da análise estatística ficou evidente que, pelo método de retirada do radical DPPH, tanto o EAc como o EE não foram ativos como o padrão ácido gálico.

A atividade antioxidante do EE ficou evidente no teste de redução do íon metálico. Provavelmente, os compostos fenólicos presentes no EE tenham requisitos estruturais que os favoreçam como redutores de íon férrico.

5.3.4 Voltametria Cíclica para avaliação do potencial antioxidante

Os extratos em acetato de etila e etanólico de *E. suberosum* foram avaliados por voltametria cíclica sob o eletrodo de trabalho de diamante dopado com boro para confirmar sua capacidade antioxidante.

A Figura 69 apresenta os voltamogramas cíclicos do extrato etanólico (EE) e do extrato em acetato de etila (EAc) ambos na concentração de 2mg/mL.

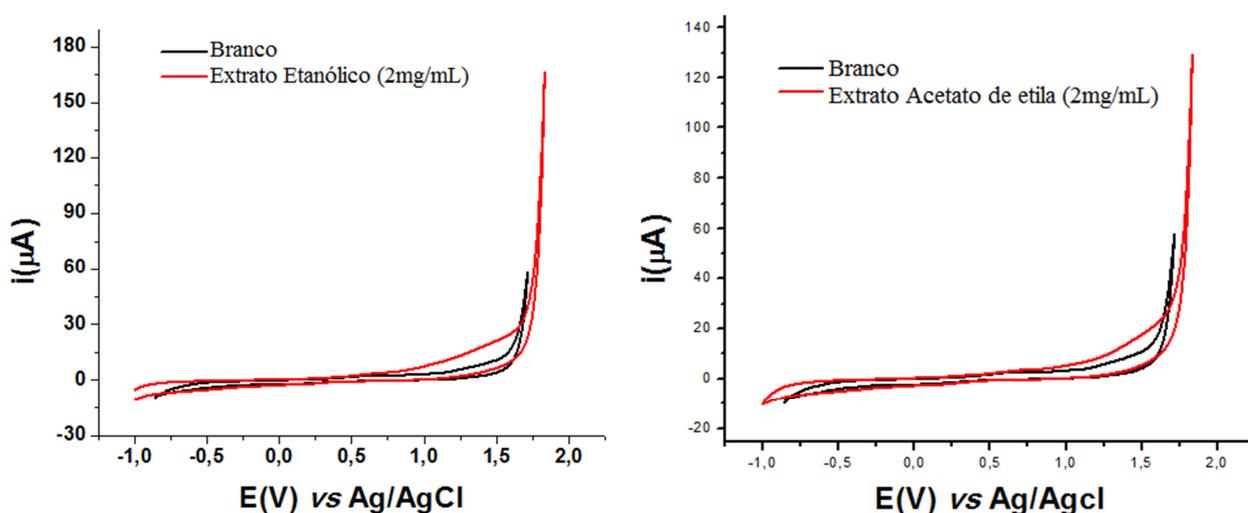


Figura 69. Voltamogramas cíclicos do extrato etanólico e em acetato de etila de *E. suberosum* sobre eletrodo de diamante dopado com boro em meio de uma solução de etanol: H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (1:1). Velocidade Varredura: 50 mV/s .

Como pode ser observado nos voltamogramas (Figura 69) os extratos avaliados não apresentaram um pico de oxidação nítido, mas é possível verificar uma elevação da corrente anódica em torno de $1,0 \text{ V}$, o que indica uma atividade antioxidante na faixa de potencial aplicado. A nitidez do pico de oxidação pode ter sido comprometida pela presença de outros compostos eletroativos na amostra do extrato.

Nos voltamogramas apresentados na Figura 69, a descarga de corrente gerada em torno de $1,75 \text{ V}$ é devido à oxidação da água presente na solução do eletrólito (H_2SO_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) utilizado nas análises.

Pela análise dos voltamogramas é possível verificar que o extrato etanólico apresentou maior capacidade antioxidante e maior concentração desses compostos visto que o aumento de corrente iniciou antes e em maior intensidade em relação ao extrato em acetato de etila.

Apesar da voltametria cíclica ser uma técnica analítica simples e rápida para correlacionar potenciais de oxidação e intensidade de corrente com a capacidade antioxidante de extratos vegetais (ALVES et al., 2010; COSIO et al., 2006), esta técnica mostrou-se menos sensível para detectar os compostos presentes nos extratos avaliados do presente trabalho. Assim como em estudo realizado por Lúcio & Gil (2007), com os fitoterápicos *Ginko biloba*, *Hypericum perforatum* (Hipérico ou Erva de São João) e *Aesculus hippocastanum* (Castanha da Índia), em que a voltametria cíclica apresentou-se útil como critério complementar de identificação para estas amostras que possuíam elevada complexidade, mas a definição de picos de oxidação das espécies eletroativas presentes nestes extratos só foram evidenciados por voltametria de pulso diferencial, que é uma técnica mais sensível, da qual se obteve parâmetros que são importantes na avaliação do poder antioxidante. Entretanto, a técnica de voltametria de pulso diferencial não foi avaliada visto que os resultados da voltametria cíclica estavam de acordo com os obtidos por outras metodologias realizadas neste trabalho.

Nos dois testes usados para determinação da atividade antioxidante (ARR e Poder redutor) o extrato etanólico mostrou-se mais efetivo que o extrato em acetato de etila, assim como na análise por voltametria cíclica. Isto pode ser devido à maior quantidade de compostos fenólicos no EE, conforme resultado da determinação de fenólicos totais (Tabela 2, p. 116). Na triagem fitoquímica foi detectada maior variedade de compostos fenólicos (flavonoides, taninos e cumarinas) no EE (Quadro 11, p. 81), o que também pode contribuir para uma melhor atividade antioxidante deste extrato.

6 CONCLUSÃO

Através das pesquisas em herbários virtuais foram encontrados registros de coletas, no século XIX, das espécies descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, incluídas em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros*. Foram detectadas coletas realizadas pelo próprio Saint-Hilaire e por outros naturalistas europeus como Martius, Pohl, Gardner. As pesquisas em herbários virtuais permitiram a obtenção de dados sobre coletas dessas plantas realizadas nos séculos XX e XXI, em Minas Gerais. Estas informações permitiram a realização de incursões nas proximidades de Diamantina e a coleta das espécies de ocorrência atual. Foram coletadas, na região de Diamantina, quatro espécies citadas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros* (*Davilla elliptica*, *Erythroxylum suberosum*, *Remijia ferruginea*, *Esenbeckia febrífuga*) Através da comparação entre as informações de coletas atuais, obtidas das pesquisas em herbários virtuais, e a descrição dos locais de ocorrência das plantas feitas por Saint-Hilaire, foi possível verificar que algumas espécies são encontradas, ainda na atualidade, nos mesmos locais citados pelo naturalista ou em localidades próximas.

A espécie *E. suberosum* foi descrita por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais e foi coletada nas incursões atuais realizadas nas proximidades de Diamantina, sendo uma espécie abundante na região.

A triagem fitoquímica dos extratos orgânicos sugeriu a presença de flavonoides e triterpenos/esteroides no extrato em acetato de etila; e alcaloides, cumarinas, flavonoides (incluindo antocianinas) e taninos condensados no extrato etanólico. A análise de frações dos extratos em acetato de etila e etanólico por CLAE/DAD indicou a presença de substâncias que possuem grupos cromóforos. A realização de CCD com estas frações e o uso de reveladores específicos sugeriu que tais frações podem ser compostas por taninos e/ou polifenóis.

A análise por CG/EM dos extratos obtidos pelo método Stas-Otto sugeriu a presença de 23 substâncias. Foram detectados ácidos graxos, como os ácidos esteárico e palmítico e seus ésteres; a amida aromática benzamida, o α -tocoferol, que é uma substância com conhecida atividade antioxidante; os triterpenos β -sitosterol, β -amirina e lupeol, entre outros. O único alcaloide tropânico identificado nas folhas de *E. suberosum* foi a tropacocaína. Este alcaloide já foi descrito em outras espécies do gênero *Erythroxylum*, mas não foram encontrados registros de sua detecção nesta espécie, até o momento.

Com relação à avaliação da atividade antioxidante, os extratos de *E. suberosum*, quando comparados ao padrão (ácido gálico), não apresentaram pronunciada atividade de retirada de radical DPPH. No ensaio de poder de redução do íon metálico Fe^{3+} , o extrato etanólico apresentou um maior potencial antioxidante, sendo que nas concentrações de 100, 200 e 300 ppm os resultados encontrados foram significativamente semelhantes aos resultados obtidos para o controle (ácido gálico). O extrato etanólico também apresentou maior capacidade antioxidante na análise por voltametria cíclica, corroborando com os resultados obtidos nos outros testes de avaliação da atividade antioxidante. Este melhor desempenho do extrato etanólico, em relação ao extrato em acetato de etila, pode estar relacionado à maior quantidade de fenólicos totais.

Assim os resultados deste trabalho são uma contribuição para a recuperação e disponibilização de informações sobre plantas úteis descritas por Saint-Hilaire no norte/nordeste de Minas Gerais, incluídas em sua obra *Plantas usuais dos brasileiros* e para o conhecimento sobre a composição química e atividade antioxidante da espécie *E. suberosum*. Esta planta é usada, tradicionalmente, há mais de 200 anos pela população brasileira, conforme descrição dos naturalistas europeus. Sendo assim, é de grande importância a realização de estudos sobre sua composição química, além de pesquisas farmacológicas e toxicológicas. Estudos realizados com plantas brasileiras são importantes na valorização da flora nativa de nosso país.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas. **Chemkeys**. 2003.

AL-SAID, M. S.; EVANS, W. C.; GROUT, R. J. Alkaloids of *Erythroxylum hypericifolium* stem bark. **Phytochemistry**. v. 28, n. 2, p. 671-673, 1989.

AL-SAID, M. S.; EVANS, W. C.; GROUT, R. J. Alkaloids of *Erythroxylum macrocarpum* and *E. sideroxyloides*. **Phytochemistry**. v. 25, n. 4, p. 851-853, 1986.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**. v.33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

AMOROZO, M. C. de M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Levenger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 16, n. 2, p. 189-203, 2002.

ANDRADE, K. dos S.; BASTIAN, C. Viajantes naturalistas do século XIX na região da Província de Goiás: levantamento de topônimos indígenas. **Antares**. v. 4, n. 8, p. 169-184, 2012.

ANDRADE-NETO, V.F. ; BRANDÃO, M.G.L.; STEHMANN, J.R.; OLIVEIRA, L.A.; KRETTLI, A.U. Antimalarial activity of *Cinchona*-like plants used to treat fever and malaria in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 87, p. 253–256, 2003.

ANSELL, S. M.; PEGSL, K. H.; TAYLOR, D. A. H. Diterpenes from the timber of *Erythroxylum pictum*. **Phytochemistry**. v. 32, n. 4, p. 945-954, 1993.

ANVISA. **Farmacopéia Brasileira**. Volume I. 5ª Edição; Brasília, 2010.

ARAÚJO, H. C.; LACERDA, M. E. G.; LOPES, D.; BIZZO, H. R.; KAPLAN, M. A. C. Studies on the Aroma of Maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) using Headspace Solid-phase Microextraction. **Phytochemical Analysis**. v. 18, p. 469– 474, 2007.

AZEVEDO, A. O.; CAMPOS, J. J.; GALDINO, G. S.; BRAGA, F. C.; DUARTE, I. D. G.; PEREZ, A. C. Antinociceptive effect from *Davilla elliptica* hydroalcoholic extract. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 113, p. 354–356, 2007.

BAILLON, H. **Histoire des Plantes**. Paris, 1874. Disponível em: <<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k5436751c.r=BAILLON%2C+H+Histoire+des+Plantes+Paris%2C+1874.langPT>> Acesso em: 31 de outubro de 2013.

BARBOSA, G. F. **Plantas medicinais: alternativa econômica a conservação do Cerrado brasileiro?** Palmas: UFTO, 2010. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação *strictu sensu* em Desenvolvimento Regional e Agronegócio, Universidade Federal do Tocantins, 2010.

BARBOSA, W. L. R.; PINTO, L. N. Documentação e valorização da fitoterapia tradicional Kayapó nas aldeias A'Ukre e Pykanu - sudeste do Pará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13, p. 47-49, 2003.

BARIL, V. L. **L'Empire du Brésil, monographie complète de l'Empire sud-américain**. Ferdinand Sartorius, Libraire-Éditeur. Paris: 1862. Disponível em: <<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k57323999.r=L%27Empire+du+Br%C3%A9sil%2C+monographie+compl%C3%A8te+de+l%27Empire+sud-am%C3%A9ricain.langPT>> Acesso em 05 de novembro de 2013.

BARREIROS, M. L.; DAVID, J. M.; PEREIRA, P. A. P.; GUEDES, M. L. S.; DAVID, J. P. Fatty Acid Esters of Triterpenes from *Erythroxylum passerinum*. **Revista Brasileira da Sociedade de Química**. v. 13, p. 669-673, 2002.

BARREIROS, M. L.; DAVID, QUEIROZ, L. P.; DAVID, J. P. Flavonoids and Triterpenes from leaves of *Erythroxylum nummularia*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 33, p. 537-540, 2005.

BIERI, S.; BRACHET, A.; VEUTHEY, J.; CHRISTEN, P. Cocaine distribution in wild *Erythroxylum* species. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 103, p. 439-447, 2006.

BLOIS, M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. **Nature**. v. 181, n. 4617, p. 1199-1120, 1958.

BOHM, B. A.; LOO, T.; NICHOLLS, K. W.; PLOWMAN, T. Flavonoid variation in *Erythroxylum*. **Phytochemistry**. v. 27, n. 3, p. 833-837, 1988.

BONAMIN, F.; MORAES, T. M.; KUSHIMA, H.; SILVA, M. A.; ROZZA, A. L.; PELLIZZON, C. H.; BAUAB, T. M.; ROCHA, L. R. M.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae) **Journal of Ethnopharmacology**. v. 138, p. 47- 52, 2011.

BRACHET, A.; MUNHOZ, O.; GUPTA, M.; VEUTHEY, J.; CHRISTEN, P. Alkaloids of *Erythroxylum lucidum* stem-bark. **Phytochemistry**. v. 46, p. 1439-1442, 1997.

BRANDÃO, M. G. L. **Pesquisa, recuperação e disponibilização de dados, imagens e amostras de espécies coletadas por naturalistas franceses e ingleses em Minas Gerais e Goiás, no século XIX**. Projeto de Pesquisa. Edital MCT/CNPq/FNDCT/MEC/CAPES/FAP's No 56/2010. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Universidade de Brasília (UNB), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). 2010.

BRANDÃO, M. G. L.; GRAEL, C. F. F.; FAGG, C. W. European Naturalists and Medicinal Plants of Brazil. **Biological Diversity and Sustainable Resources Use**. p. 101-121. 2011.

BRANDÃO, M. G. L.; PIGNAL, M.; ROMANIUC, S.; GRAEL, C. F. F.; FAGG, C. W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire(1779–1853). **Journal of Ethnopharmacology**. v. 143, p. 488–500, 2012.

BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas de uso popular dos cerrados mineiros. **DAPHNE – Revista do Herbário PAMG**. v. 3, n. 4, p. 11-20, 1993.

BRANDÃO, M.G.L.; ZANETTI, N.N.S.; OLIVEIRA, G.R.R.; GOULART, L.O. & MONTE-MÓR, R.L. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 1, p. 127-136, 2008a.

BRANDÃO, M.G.L.; ZANETTI, N.N.S.; OLIVEIRA, P.; GRAEL, C.F.; SANTOS, A.C.; MONTEMÓR, R.L.M. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in Official Pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 120, n. 2, p. 141-148, 2008b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Série B. Textos Básicos de Saúde. Ministério da Saúde: Brasília, 2006.

BUNBURY, C. J. F. **Viagem de um naturalista inglês ao Rio de Janeiro e Minas Gerais (1833-1835)**. Anais da Biblioteca Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1942.

CALAES, G. D.; FERREIRA, G. E. **A Estrada Real e a transferência da corte portuguesa: Programa Rumys – Projeto Estrada Real**. - CETEM/MCT/CNPq/CYTED: Rio de Janeiro, 2009.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**. v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.

CANO, J. H.; VOLPATO, G. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 90, p. 293–316, 2004.

CECHINEL FILHO, V.; CAMPOS, F.; CORRÊA, R.; ROSENDO A. YUNES, R. A.; NUNES, R. J. Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão da literatura. **Química Nova**. v. 26, n. 2, p. 230-241, 2003.

CENTRO DE REFERÊNCIA EM INFORMAÇÃO AMBIENTAL (CRIA). **Flora Brasiliensis**. Disponível em: <<http://florabrasiliensis.cria.org.br/opus>> Acesso em: 20 de julho de 2012.

CESCHINI, L.; CAMPOS, E. G. Cytotoxic effects of *Cochlospermum regium* (Mart & Schrank) Pilger aqueous root extract on mammalian cells. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 103, p. 302–305, 2006.

CHAVES, C. G.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ZUANAZZI, J. A.; DIEHL, E.; SIQUEIRA, N. C. S. de; HENRIQUES, A. T. *Erythroxylum argentinum*: assays for anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 22, p. 117 – 120, 1988.

CHAVEZ, J. P.; SANTOS, I. D.; CRUZ, F. G.; DAVID, J. M. Flavonoids and triterpene ester derivatives from *Erythroxylum leal costae*. **Phytochemistry**. v. 41, p. 941 943, 1996.

CHEVION, S.; ROBERTS, M. A.; CHEVION, M. The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 6, p. 860–870, 2000.

CHRISTEN, P.; ROBERTS, M. F.; PHILLIPSON, J. D.; WILLIAM C, EVANS, W. C. Alkaloids of *Erythroxylum monogynum* root-bark. **Phytochemistry**. v. 38, n. 4, p. 1053 1056, 1995.

CHRISTEN, P.; ROBERTS, M. F.; PHILLIPSON, J. D.; EVANS, W. C. Alkaloids of *Erythroxylum zambesiacum* stem-bark. **Phytochemistry**. v. 34, n. 4, p. 1147-1511, 1993.

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

CÓRDOVA, W. H. P.; MATOS, M. G.; TABART, J.; SIPEL, A.; KEVERS, C.; DOMMES, J. In vitro characterization of antioxidant properties of Cuban endemic varieties of *Erythroxylum alaternifolium* A. Rich. isolation of two flavonol glycosides. **Journal of the Chilean Chemical Society**. v. 57, n. 4, p. 1340-1343, 2012.

CORRÊA, M. P.; **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**; Ministério da Agricultura: Rio de Janeiro, 1931.

COSIO, M. S.; BURATTI, S.; MANNINO, S.; BENEDETTI, S.; Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. **Food Chemistry**. v. 97, p. 725–731, 2006.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 6. ed. Lisboa, Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

COSTA, J. P.; LOURENÇO, N. V.; SANTOS, C. C. M. P.; TOMÉ, A. R.; SOUSA, G. F.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; FREITAS, R. M. Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 33, n. 3, p. 421-428, 2012.

DATAPLAMT. **Plantas medicinais na Estrada Real. Seguindo os Passos de Saint-Hilaire**. Disponível em: <<http://www.dataplamt.org.br/caravana/saint-hilaire.html>> Acesso em 20 de julho de 12.

DECHAMBRE, A. **Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales**. Typographie Lahure: Paris, 1875. Disponível em: <<http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k31227d.r=DECHAMBRE%2C+A+Dictionnaire+encyclopedique+des+sciences+m%C3%A9dicales+Typographie+Lahure+Paris%2C+1875.1angPT>> Acesso em 05 de novembro de 2013.

DENG, J.; CHENG, W.; YANG, G. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. **Food Chemistry**. v. 125, p. 1430–1435, 2011.

DOLABELA, M. F.; OLIVEIRA, S. G.; NASCIMENTO, J. M.; PERES, J. M.; WAGNER, H.; PÓVOA, M. M.; OLIVEIRA, A. B. de. In vitro antiplasmodial activity of extract and constituents from *Esenbeckia febrifuga*, a plant traditionally used to treat malaria in the Brazilian Amazon. **Phytomedicine**. v. 15, p. 367–372, 2008.

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

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO. Avaliação da atividade antioxidante utilizando β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, p. 446-452, 2006.

EGASSE, E.; DUJARDIN-BEAUMETZ, G. **Les Plantes Médicinales Indigenes et Exotiques, leurs usages thérapeutiques, pharmaceutiques et industriels**. Octave Doin Éditeur: Paris, 1889. Disponível em: < <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k61413605> > Acesso em 05 de novembro de 2013.

EL-IMAM, Y. M. A.; EVANS, W. C.; GROUT, R. J. Alkaloids of *Erythroxylum cuneatum*, *E. ecarinatum* and *E. australe*. **Phytochemistry**. v. 27, n. 7, p. 2181-2184, 1988.

EL-IMAM, Y. M. A.; EVANS, W. C.; PLOWMAN, T. Alkaloids of some South American *Erythroxylum* species. **Phytochemistry**. v. 24, n. 10, p. 2285-2289, 1985.

FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. **Flora Brasiliensis online**. Disponível em: <<http://www.fapesp.br/publicacoes/flora/imgs/>> Acesso em 04/08/13.

FONSECA, E. T. **Indicador de Madeiras e Plantas Úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Oficinas Graphicas Villas-Boas & co., 1822.

GABAY O, SANCHEZ C, SALVAT C, CHEVY F, BRETON M, NOURISSAT G, WOLF C, JACQUES C, BERENBAUM F. "Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties". **Osteoarthritis and Cartilage**. v.18, p. 106–116, 2010.

GANDRA, P. G.; ALVES, A. A.; MACEDO, D. V.; KUBOTA, L. T.; Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante para avaliação do exercício Físico, **Química Nova**. v. 27, p. 980-985, 2004.

GARDNER, G. **Travels in the interior of Brazil, principally through the Northern Provinces and The Gold and Diamond Districts**. Reeve, Brothers: Londres, 1846.

GAVILANES, M. L.; BRANDÃO, M. Plantas consideradas medicinais ocorrentes na reserve biológica municipal do Poço Bonito, município de Lavras – MG. **DAPHNE – Revista do Herbário PAMG**. v. 8, n. 2, p. 57-68, 1998.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P. de.; WANDERLEY, M. G. L.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**. v.1, n. 1, p. 52-61, 2005.

GONZÁLEZ-GUEVARA, J. L.; GONZÁLEZ-LAVAUT, J. A.; PINO-RODRÍGUEZ, S.; GARCÍA-TORRES, M.; CARBALLO-GONZÁLEZ, M. T.; ECHEMENDIA-ARANA, O. A.; MOLINA-TORRES, J.; PRIETO-GONZÁLEZ, S. Phytochemical screening and *in vitro* antiherpetic activity of four *Erythroxylum* species. **Acta Faraceutica Bonaerense**. v. 23, n. 4, p. 506-9, 2004.

GONZÁLEZ-GUEVARA, J. L.; VELEZ-CASTRO, H.; GONZÁLEZ-GARCÍA, K. L.; PAYO-HILL, A. L.; GONZÁLEZ-LAVAUT, J. A.; MOLINA-TORRES, J.; PRIETO GONZÁLEZ, S. Flavonoid glycosides from Cuban *Erythroxylum* species. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 34, p. 539-542, 2006.

GOULART, M. **Vinda da Família Real**. História Digital. 2010. Disponível em: <<http://www.historiadigital.org/historia-do-brasil/brasil-colonial/vinda-da-familia-real/resumo-vinda-da-familia-real/>>. Acesso em 16 de novembro de 2013.

GRAHAM, H. D. Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 40, n. 5, p. 801-805, 1992.

GRIFFIN, W. J.; LIN, G. D. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. **Phytochemistry**. v. 53, p. 623-637, 2000.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica** v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

GUARIM NETO, G.; PASA, M. C. Estudo etnobotânico em uma área de cerrado no município de Acorizal, Mato Grosso. **FLOVET**. v. 1, n. 5, p. 32-40, 2009.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**. v. 32, n. 8, p. 2098-2103, 2009.

HAN, J.H.; YANG Y.X.; FENG M.Y. Contents of phytosterols in vegetables and fruits commonly consumed in China. **Biomed Environ Science**. v. 21, p. 449-457, 2008.

HENRIQUES, R. P. B. A viagem que revelou a biodiversidade do Brasil ao mundo. **Ciência Hoje**. v. 42, n. 252, p. 24-29, 2008.

HERBÁRIO VIRTUAL A. SAINT-HILAIRE. Centro de Referência em Informação Ambiental – CRIA. Disponível em: <<http://hvsh.cria.org.br/hv>>. Acesso em 09 de setembro de 2012.

HERBÁRIO VIRTUAL DA FLORA E DOS FUNGOS. *SpeciesLink*. Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia (INCT). Disponível em: <<http://inct.splink.org.br>>. Acesso em: 15 de maio de 2013.

HERBÁRIO VIRTUAL REFLORA. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.d>. Acesso em 25 de outubro de 2013.

HOEHNE, F. C. **Plantas e Substâncias Tóxicas e Medicinais.** Rio de Janeiro: Graphicards, 1939.

HONÓRIO-FRANÇA, A. C.; MARINS, C. M. F.; BOLDRINI, F.; FRANÇA, E. L. Evaluation of hypoglycemic activity and healing of extract from amongst bark of “Quina do Cerrado” (*Strychnos pseudoquina* ST. HILL). **Acta Cirúrgica Brasileira.** v. 23, n. 6, p. 504-510, 2008.

HOSTETTMANN, V.; GRUPTA, M. P.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F. **Handbook of strategies for the isolation of bioactive natural products.** Iberoamerican program of Science and technology. CYTED, Convenio Andrés Bello, 120p. 2008.

IGBINOSA, O. O.; IGBINOSA, I. H.; CHIGOR, V. N.; UZUNUIGBE, O. E.; OYEDEMI, S. O.; ODJADJARE, E. E.; OKOH, A. I.; IGBINOSA, E. O. Polyphenolic Contents and Antioxidant Potential of Stem Bark Extracts from *Jatropha curcas* (Linn). **International Journal of Molecular Sciences.** v. 12, p. 2958-2971, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Divisão Territorial do Brasil e Limites Territoriais, 2013. Disponível em: ftp://geoftp.ibge.gov.br/organizacao_territorial/divisao_territorial/2013/. Acesso em: 18 de setembro de 2013.

JOHNSON, E. L.; SCHMIDT, W. F.; NORMAN, H. A. Flavonoids as markers for *Erythroxylum* Taxa: *E. coca* var. *ipadu* and *E. novogranatense* var. *truxillense*. **Biochemical Systematics and Ecology.** v. 26, n. 7, p. 743-759, 1998.

JURADO, M. E. N. **Evaluación química, posible letalidad y citotoxicidad del alga invasora *kappaphycus alvarezii*.** Cumaná: Universidad de Oriente, 2011. 123 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Núcleo de Sucre, Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, 2011.

KANG, W. Y.; JI, Z. Q.; WANG, J. M. Composition of the essential oil of *Adiantum flabellulatum*. **Chemistry of Natural Compounds.** v. 45, n. 4, p. 575-577, 2009.

KHATTAK, K. F.; ATTA-UR-RAHMAN; CHOUDHARY, M. I.; HEMALAL, K. D.; TILLEKERATNE, L. M. New Tropane Alkaloids from *Erythroxylum moonii*. **Journal of Natural Products**. v. 65, p. 929-931, 2002.

KILMARTIN, P. A. Electrochemical detection of natural antioxidants: Principles and protocols. **Antioxidants and Redox Signalling**. v.3, p. 941–955, 2001.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KURY, L. Viajantes naturalistas no Brasil oitocentista: experiência, relato e imagem. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**. v. 7, p.863-880, 2001.

KUSHIMA, H.; NISHIJIMA, C. M.; RODRIGUES, C. M. R.; RINALDO, D.; SASSÁ, M. F.; BAUAB, T. M.; DI STASI, L. C.; CARLOS, I. Z.; BRITO, A. R. M. S.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: Gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 123, p. 430–438, 2009.

LE MAOUT, E.; DECAISNE, J. **Traité général de botanique descriptive et analytique**. Paris, 1868. Disponível em: <gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6149088p.r=Traité+général+de+botanique+descriptive+et+analytique.langPT> Acesso em 05 de novembro de 2013.

LI, X.; WU, X.; HUANG, L. Correlation between Antioxidant Activities and Phenolic Contents of *Radix Angelicae Sinensis* (Danggui). **Molecules**. v. 14, p. 5349-5361, 2009.

LIANG, M.; QI, M.; ZHANG, C.; ZHOU, S.; FU, R.; HUANG, J. Gas chromatography–mass spectrometry analysis of volatile compounds from *Houttuynia cordata* Thunb after extraction by solid-phase microextraction, flash evaporation and steam distillation. **Analytica Chimica Acta**. v. 531, p. 97–104, 2005.

LICCARDO, A.; MENDES, J. C. **Saint-Hilaire Nas Nascentes do Rio São Francisco**. Ouro Preto, 2001. Disponível em: <<http://www.geoturismobrasil.com/artigos/Saint%20Hilaire%20no%20Sao%20Francisco.pdf>> Acesso em 23 de maio de 2013.

LIM, Y. Y.; QUAH, E.P.L. Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. **Food Chemistry**. v. 103, p. 734–740, 2007.

LOIOLA, M. I. B.; AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; QUEIROZ, R. T. de. Flora da Paraíba, Brasil: Erythroxylaceae Kunth. **Acta Botanica Brasilica**. v. 21, n. 2, p. 473-487, 2007.

LOPES, F. C. M.; PLACERES, M. C. P.; JUNIOR, C. M. J.; HIGUCHI, C. T.; RINALDO, D.; VILEGAS, W.; LEITE, C. Q. F.; CARLOS, I. Z. Immunological and microbiological activity of *Davilla elliptica* St. Hill. (Dilleniaceae) against *Mycobacterium tuberculosis*. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 102, n. 6, p. 769-772, 2007.

LUCAS FILHO, M. D. **Estudo fitoquímico de espécies do gênero *Erythroxylum* com potencial atividade vasodilatadora e inibidora da enzima conversora de angiotensina**. Ouro Preto: UFOP, 2009. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Escola de Farmácia, Universidade Federal De Ouro Preto, Ouro Preto, 2009.

LUCAS FILHO, M. D.; SILVA, G.C.; CORTES, S.F.; MARES-GUIA, T.R.; FERRAZ, V. P.; SERRA, C.P.; BRAGA, F.C. ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O.E. Schulz. **Phytomedicine**. v. 17, p. 383-387, 2010.

LÚCIO, T. C.; GIL, E. S. Caracterização e avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais através de Voltametria. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, n. 2, p. 128-130, 2007.

MACHADO, M. M. **Perfil fitoquímico e avaliação dos principais efeitos biológicos e imunológico *in vitro* da *Euphorbia tirucalli* L.** Santa Maria: UFSM, 2007. 105p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MACHADO, R.B.; NETO, M.B. R.; PEREIRA, P.; CALDAS, E.; GONÇALVES, D.; SANTOS, N.; TABOR, K.; STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Conservation International do Brasil**, Brasília, 2004.

MAHLE, F. **Atividade antimicrobiana e toxicidade do protótipo N antipirino-3,4-diclomaleimina e seus derivados**. Itajaí: UNIVALI, 2008. 75p. Dissertação (Mestrado). Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2008.

MARINO, S. DE.; GALA, F.; ZOLLO, F.; VITALINI, S.; FICO, G. VISIOLI, F.; IORIZZI, M. Identification of Minor Secondary Metabolites from the Latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and Evaluation of their Antioxidant Activity. **Molecules**. v. 13, p. 1219-1229, 2008.

MARTÍNEZ, C.; SEDANO, M.; MENDOZA, J.; HERRERA, R.; RUTIAGA, J. G.; LOPEZ, P. Effect of aqueous environment in chemical reactivity of monolignols. A New Fukui Function Study. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**. v. 28, p. 196–201, 2009.

MARTIUS, K. F. P. **Systema de materia medica vegetal brasileira**. Tradução de Henrique Velloso d'Oliveira. Rio de Janeiro: Laemmert, 1854.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 2^a edição. Fortaleza: Edições UFC, 141p. 1997.

MCLAFFERTY, F. W.; TURECEK, F. **Interpretation of mass spectra**. 4^a edição. California: University Science Books, 1993.

MENDIETA, M. C.; SOUZA, A. D. Z.; PIRIZ, M. A.; HECK, R. M. Plantas medicinais utilizadas para o cuidado do sistema respiratório com potencial antimicrobiano: contribuições à enfermagem. **Journal of Nursing and Health**. v. 2, n. 2, p. 410-419, 2012.

MENDONÇA, J. O.; CERVI, A. C.; GUIMARÃES, O. A. O Gênero *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) do Estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 41, n. 3, 1998b.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA Júnior, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS T. S.; NOGUEIRA, P. E. **Flora Vascular do Cerrado**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. Cerrado: ambiente e flora. Embrapa Cerrados, Planaltina, p. 287-556. 1998a.

MONTELES, R.; PINHEIRO, C. U. B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 7, n. 2, p. 38-48, 2007.

MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE DE PARIS (MNHN). Herbarium specimens. Disponível em: <<http://coldb.mnhn.fr/Consultation?locale=en>>. Acesso em: 10 de maio de 2013.

NASCIMENTO, C. J. DO.; VIOLANTE, I. M. P.; GARCEZ, W. S.; POTT, A.; GARCEZ, F. R. Biologically active abietane and ent-kaurane diterpenoids and other constituents from *Erythroxylum suberosum*. **Phytochemistry Letters**. v. 5, p. 401–406, 2012.

NASCIMENTO, G. C. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antitumoral e citotoxicidade in vitro de *Erythroxylum deciduum* (Erythroxylaceae)**. Anápolis: UEG,

2008. 83p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação stricto sensu em Ciências Moleculares, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2008.

NONIER, M. F.; GAULEJAC, N. V.; VIVAS, N.; VITRY, C. Characterization of carotenoids and their degradation products in oak wood. Incidence on the flavour of wood. **Comptes Rendus Chimie**. v. 7, p. 689–698, 2004.

NONIER, M. F.; GAULEJAC, N. V.; VIVAS, N.; VITRY, C. Glycosidically bound flavour compounds in *Quercus petraea* Liebl. Wood. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 20, p. 567–572, 2005.

NOVÁK, M.; SALEMINK, C. A.; KHAN, I. Biological activity of the alkaloids of *Erythroxylum coca* and *Erythroxylum novogranatense*. **Journal of Ethnopharmacology**. v.10, p. 261-274, 1984.

OGUNKOYA, L. Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes. **Phytochemistry**. v. 20, p. 121-126, 1981.

OLIVEIRA FILHO, A. T. **Catálogo das Árvores Nativas de MG**. p. 115. Lavras, Editora UFLA: 2006.

OLIVEIRA G. S. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e inibitória das catepsinas B e K de *Miconia ferruginata* (Melastomataceae)**. Anápolis: UEG, 2010. 98p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Moleculares, Unidade de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2010.

OLIVEIRA, A. C.; FILHO, J. G. S.; MENDES-JÚNIOR, L. G.; ANJOS, R. M.; RIBEIRO, T. P.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAGA, V. A.; MEDEIROS I. *Erythroxylum pungens* elicits vasorelaxation by reducing intracellular calcium concentration in vascular smooth muscle cells of rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 22, 436-442, 2012.

OLIVEIRA, D. L. **O uso de plantas medicinais para educação ambiental nas Escolas Municipais de Jaraguá – Goiás**. Goiânia: UCG, 2009. 112p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ecologia e Produção Sustentável, Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2009.

OLIVEIRA, S. L.; TAVARES, J. F.; CASTELLO BRANCO, M. V. S.; LUCENA, H. F. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; NASCIMENTO, S. C.; AGUIAR, J. S.; SILVA, T.

G.; SIMONE, C. A.; ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; SILVA, M. S. Tropane Alkaloids from *Erythroxylum caatingae* Plowman. **Chemistry and Biodiversity**. v. 8, p. 155-165, 2011.

PAYO-HILL, A.L.; DOMINGUEZ, R. S.; SUAREZ, M. O.; BATISTA-BAEZ, M.; CASTRO, H. T. V.; RASTRELLI, L.; AQUINO, R. Tropane alkaloids from the leaves and stem bark of *Erythroxylum alaternifolium* and *Erythroxylum rotundifolium*. **Phytochemistry**. v. 54, p. 927-932, 2000.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 29, p. 19–24, 2013.

PLOWMAN, T.; HENSOLD, N. Names, types, and distribution of neotropical species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae). **Brittonia**. v. 56, p. 1–53, 2004.

POHL, J. E. **Plantarum Brasiliae Icones et Descriptions**. Vienna: Vindobonae, 1827. Disponível em: <<http://www.botanicus.org/title/b12002021#>> Acesso em 08 de agosto de 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, p. 755-760, 2006.

RAMOS, J. B. **Plantas medicinais brasileiras e biopirataria: nossas riquezas em risco**. Boletim Aqualung, n. 35, 2000. Disponível em: <http://www.institutoaqualung.com.br/info_plantas43.html>. Acesso em: 10 de abril de 2011.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**. v. 80, p. 223-230, 1997.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 20, n.7, p. 933-956, 1996.

RODRIGUES, E.; CARLINI, E. A. Ritual Use of Plants with Possible Action on the Central Nervous System by the Krahô Indians, Brazil. **Phytotherapy Research**. v. 19, p. 129-135, 2005.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**. v. 92, p. 235–254, 2005.

ROYAL BOTANIC GARDENS (KEW). Kew Herbarium Catalogue. Disponível em: <<http://apps.kew.org/herbcat/gotoHomePage.do>>. Acesso em: 08 de setembro de 2012.

SAINT-HILAIRE, A. F. C. P. **Plantas Usuais dos Brasileiros.** Traduzido por Maria das Graças Lins Brandão. Belo Horizonte: IDM Composição e Arte Ltda, 2009.

SAINT-HILAIRE, A. F. C. P. **Viagem pelas províncias do Rio de Janeiro e Minas Gerais.** Belo Horizonte/São Paulo: Itatiaia/EDUSP, 1975.

SALLAS, A. L. F. Narrativas e imagens dos viajantes alemães no Brasil do século XIX: a construção do imaginário sobre os povos indígenas, a história e a nação. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos.** v.17, n.2, p.415-435, 2010.

SÁNCHEZ, L. D. V. M. **Evaluación de los metabolitos secundarios y la actividad biológica del alga invasora *Caulerpa racemosa*.** Cumaná: Universidad de Oriente, 2012. 171 p. TCC (Graduação). Núcleo de Sucre, Departamento de Química, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, 2012.

SANTOS, C. C.; LIMA, M. A. S.; FILH, R. B.; SILVEIRA, E. R. Diterpenes from *Erythroxylum barbatum*. **Revista Brasileira da Sociedade de Química.** v. 17, n. 7, p. 1304-1308, 2006.

SATURNINO JÚNIOR, A.; VESSECCHI, R.; GAMEMBECK, S. E.; CROTTI, A. E. M. Fragmentação da cocaína por ESI-EM/EM: novos detalhes de uma velha história. **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.** Águas de Lindóia, 2008.

SAUVAIN, M.; RERAT, C.; MORETTI, C.; SARAVIA, E.; ARRAZOLA, S.; GUTIERREZ, E.; LEMA, A.-M.; MUÑOZ, V. A study of the chemical composition of *Erythroxylum coca* var. *coca* leaves collected in two ecological regions of Bolivia. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 56, p. 179–191, 1997.

SILVA, J. R. A.; RESENDE, C. M.; PINTO, A. C.; PINHEIRO, M. L. B.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; YOUNG, C. M.; BOLZANI, V. S. Esteres triterpenicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. **Química Nova.** v. 21, n. 6, p. 702-704, 1998.

SILVA, N. C. B. da; REGIS, A. C. D.; ESQUIBEL, M. A.; SANTOS, J. E. S.; ALMEIDA, M. Z. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola da Barra II – Bahia, Brasil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.** v. 11, n. 5, p. 435 – 453, 2012.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Tradução ALENCASTRO R. B. 7ªed. Rio do Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2007.

SINGH, R.P., MURTHY, K.N.C., JAYAPRAKASHA, G.K., Studies on the antioxidant activity of Pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models, **Journal of Agricultural And Food Chemistry**. v. 50, n. 81, p. 81-86, 2002.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS,, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**. v. 299, p. 152–178, 1999.

SIQUEIRA, D. S. DE.; PEREIRA, A. DOS. S.; AQUINO NETO, F. R. DE.; CABRAL, J. A.; FERREIRA, C. A. C.; SIMONEIT, B. R. T.; ELIAS, V. O. Determinação de compostos de massa molecular alta em folhas de plantas da Amazônia. **Química Nova**. v. 26, n. 5, p. 633-640, 2003.

SIQUEIRA, J. C. **Plantas Medicinais: Identificação e uso das espécies dos cerrados**. São Paulo: Editora Loyola, 1988.

SKOOG, D.A., WEST, D.M.; HOLLER, J.F. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª edição Editora Thomson, 2006.

SOALHEIRO, I. S. A apreensão do território mineiro nos relatos de Auguste de Saint-Hilaire: uma leitura relacinonal. **Revista Eletrônica Cadernos de História**, v. 5, n. 1. p. 48-56, 2008.

SOARES, J. F.; SIQUEIRA, A. L. **Introdução à Estatística Médica**. 1ª edição, Belo Horizonte: Departamento de Estatística, UFMG, 1999.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-Jr., G. M.; AYRES, M. C. C; COSTA, C. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TEIXEIRA, F. de A.; SILVA, C. G. DPPH. **Química Nova Interativa**. Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: < [http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=UF-nlqMiUTFCLSVoSdU9qTQ4Ucmq1ngPI6HYOVVGRjmWVQSezXek-5CMtO2QrxstKaRdjzpBtG2tMMoYJJ3FwA==](http://qnint.sbq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php?id=UF-nlqMiUTFCLSVoSdU9qTQ4Ucmq1ngPI6HYOVVGRjmWVQSezXek-5CMtO2QrxstKaRdjzpBtG2tMMoYJJ3FwA==>)> Acesso em 13 de fevereiro de 2014.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. Disponível em <<http://www.tropicos.org/>> Acesso em 24 de junho de 2012.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**. v. 30. p. 616-622, 2007.

VIOLANTE, I. M. P.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, W. S.; BATISTA, A. L.; CHANG, M. R.; POTT, V. J.; GARCEZ, F. R. Antimicrobial activity of some medicinal plants from the Cerrado of the central-western region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. p. 1302-1308, 2012.

WILKIE, K. T. R. **Global Ant Project - World ant taxonomists**. Johann (Baptista) Emmanuel Pohl (1782-1834), 2009. Disponível em: <<http://gap.entclub.org/taxonomists/Pohl,%20I.E/index.html>>. Acesso em 04 de agosto de 13.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**. v. 49, p. 4083-4089, 2001.

YU, C.; YULONG, W.; PEILING, Z.; DERUN, H.; MINGDE, Y.; CHUN, L.; ZHEN, C.; JI, L. Direct liquefaction of *Dunaliella tertiolecta* for bio-oil in sub/supercritical ethanol–water. **Bioresource Technology**. v. 124, p. 190–198, 2012.

ZANOLARI, B.; GUILLET, D.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F.; MARCÜAL DE Q. PAULO, M. Q.; HOSTETTMANN, K. Tropane Alkaloids from the Bark of *Erythroxylum vacciniifolium*. **Journal of Natural Products**. v. 66, p. 497-502, 2003.

ZANON, R. B. **Metabólitos secundários em *Vernonia Tweedieana* Baker**. Santa Maria: UFSM, 2006. 180p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

ZUANAZZI, J. A. S.; TREMEA, V.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES A. T. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 29, p. 819–825, 2001.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK. **Farmacognosia – da**

planta ao medicamento. 6^a edição. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2007. p. 577-614. 2007.