



UFRR

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WÉLIDA DO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO
ESSENCIAL E EXTRATOS DE *Aristolochia* sp (ARISTOLOCHIACEAE)**

Boa Vista, RR

2016

WÉLIDA DO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO
ESSENCIAL E EXTRATOS DE *Aristolochia* sp (ARISTOLOCHIACEAE)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química: Área de Concentração: Química de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Francisco das Chagas do Nascimento

Boa Vista, RR

2016

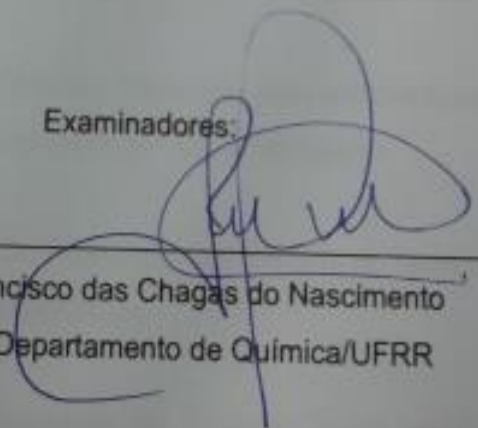
Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

- O48c Oliveira, Wélida do Nascimento de.
Caracterização química e atividades biológicas do óleo essencial e extratos de *Aristolochia sp* (Aristolochiaceae) / Wélida do Nascimento de Oliveira. – Boa Vista, 2014.
61f. : il.
Orientador: Prof. Dr. Francisco das Chagas do Nascimento.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Química.
- 1 – *Aristolochia sp*. 2 – Atividades biológicas. 3 – Caracterização.
I – Título. II – Nascimento, Francisco das Chagas do (orientador).

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO
ESSENCIAL E EXTRATOS DE *Aristolochia* sp (ARISTOLOCHIACEAE)

Dissertação apresentada como pré-requisito
para conclusão do Curso de Mestrado do
Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Roraima. Área de
concentração: Química de Produtos Naturais.
Defendida em 24 de março de 2016 e avaliada
pela seguinte banca examinadora:

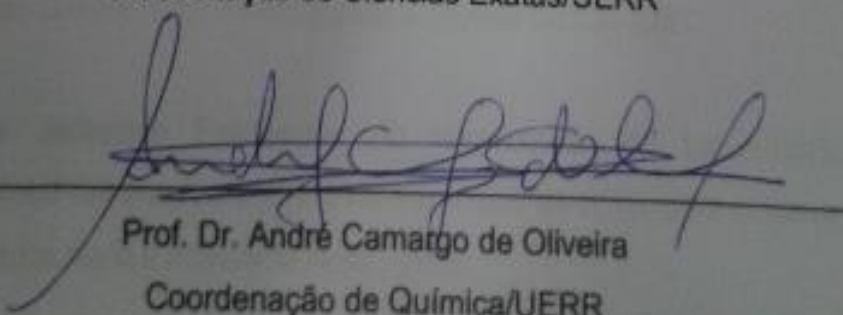
Examinadores:



Prof. Dr. Francisco das Chagas do Nascimento
Orientador/ Departamento de Química/UFRR

Cléria M. de Moraes.

Prof. Dra. Cléria Mendonça de Moraes
Coordenação de Ciências Exatas/UERR



Prof. Dr. André Camargo de Oliveira
Coordenação de Química/UERR

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS por me dar forças para continuar lutando, mesmo em meio às dificuldades.

Aos meus pais, Edna do Nascimento de Oliveira e José Farias de Oliveira pelo amor e carinho que tem me dedicado durante todos os dias.

Aos meus irmãos, Ablene do Nascimento de Oliveira, Wilkinson do Nascimento de Oliveira e minha irmã Andreia do Nascimento de Oliveira.

A Nakita Eugene Bacchus e Cristiane Marangon pela colaboração, parceria e pela amizade. Ao Francisco dos Santos Silva por sua colaboração.

Ao meu Orientador Professor Dr. Francisco das Chagas do Nascimento pelas suas orientações conduzidas com competências.

A Professora Dra. Cléria Mendonça de Moraes, pelos ensinamentos e colaboração com esta pesquisa.

A Professora Dra. Adriana Akemi Okuma do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG) pela a análise do CG-EM.

Ao Professor Jefferson Fernandes do Nascimento do Laboratório de Fitopatologia do CCA-UFRR e a Aluna Erica Karine Vieira da Silva, pela colaboração com os testes realizados para a Atividade Antifúngica.

Ao Senhor Alberto Blank, pela disponibilidade e paciência para nos guiar todas as vezes que precisamos realizar as coletas. Ao Flávio Blenk por sua colaboração, a dona Hedi e Ercília Blenk por nos receber em sua casa.

Aos colegas da turma 2014.1 do Mestrado em Química pelo companheirismo.

Ao Programa do curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Roraima.

A CAPES pela bolsa de estudo, que foi de imensa importância para realização da minha pesquisa.

A todos, muito obrigada.

RESUMO

Os óleos essenciais e extratos obtidos de plantas aromáticas possuem diferentes propriedades biológicas, tais como, a ação larvicida, atividade antioxidante, ação analgésica e anti-inflamatória, fungicida e atividade antitumoral. Dos gêneros que apresentam tais propriedades, esta *Aristolochia*. Com isso o objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição química do óleo essencial e atividades biológicas dos extratos hexânico e etanólico e do óleo essencial obtidos da raiz de *Aristolochia sp.* Esta planta é conhecida popularmente como cipó-mil-homens é utilizada pela população para a cura de doenças tais como: dores de estômago e como anti-inflamatório. Diante disto, foram realizadas extrações a partir da raiz de *Aristolochia sp* para a obtenção do óleo essencial pela técnica de hidrodestilação, obtendo um rendimento de 0,430% para o período seco e 0,216% no período chuvoso, e a obtenção dos extratos Etanólico e Hexânico. A análise por CG-EM, demonstrou a presença de 19 constituintes sendo em sua maioria compostos sesquiterpenos. Os compostos majoritários foram: Miristicina (29,900%), Borneol (16,989%), α -copaeno (5,646%), selina-6-en-4-ol (9,729%) e (\pm) - cadineno (17,066%). Para o ensaio fitoquímico com o extrato etanólico bruto de *Aristolochia sp*, o resultado foi positivo para tanino, flavanonóis, flavanonas, terpenoides e esteroides. Os extratos hexânico e etanólico da raiz de *Aristolochia sp* não apresentaram atividade antioxidante, mostrando valores para CE₅₀ muito acima se comparados com o valor do padrão Quercetina. Ambos os extratos apresentaram baixa toxicidade frente à *Artemia salina*, já para o óleo essencial não foi possível calcular a DL₅₀, pois houve 100% de mortalidade, sendo considerado tóxico. A atividade antifúngica realizada com o fungo *C. gloeosporioides*, com as amostras (extrato etanólico e óleo essencial) mostraram-se inibidoras para o crescimento micelial, podendo ser considerados como microbioestático. Com os resultados obtidos espera-se que este trabalho possa contribuir para o estudo deste gênero, levando-se em consideração que é o primeiro trabalho realizado com espécie deste gênero no Estado de Roraima.

Palavras-chaves: *Aristolochia sp.* Atividades biológicas. Caracterização.

ABSTRACT

Essential oils and extracts of aromatic plants have different biological properties, such as the larvicide action, antioxidant, analgesic and anti-inflammatory, fungicidal and anti-tumor activity. Among the genus that have such properties, *Aristolochia* is one of them. Thus the aim of this study was to characterize the chemical composition of essential oil and biological activities of hexanic and ethanolic extracts and essential oil obtained from the root of *Aristolochia* sp. This plant is popularly known as vine-thousand-men and used to heal some kind of diseases such as stomach pain and anti-inflammatory. Therefore, we performed essential oil extraction by hydrodistillation technique, the obtained yield was 0.430% for the dry period and 0.216% in the rainy period, It was also obtained the hexanic and ethanolic extracts. Analysis by GC-MS, it was found the presence of 19 constituents being mostly sesquiterpene compounds. The major compounds were: myristicin (29.900%), borneol (16.989%), α -copaene (5.646%), selina-6-en-4-ol (9.729%) and (\pm) -cadinene (17.066%). For the phytochemical test with ethanol extract of *Aristolochia* sp, the result was positive for Tannin, flavanonóis, flavanones, terpenoids and steroids. The *Aristolochia* sp root extract did not show antioxidant activity, showing much higher EC₅₀ values compared with the amount of Quercetin pattern. Hexane and ethanol extracts showed low toxicity against the toxicity of *Artemia salina*, as to the essential oil was not possible to calculate the LD₅₀, as there was 100% mortality, and is considered toxic. The fungicidal activity performed with *C. gloeosporioides* fungus, with samples (ethanol extract and essential oil) proved to be inhibitory to mycelial growth, it may be recognized as microbioestático. With the results it is expected that this work can contribute to the study of this kind.

Keywords: *Aristolochia* sp. Biological activities. Characterization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Constituinte químicos encontrada em óleos essenciais de <i>Aristolochia</i> sp	16
Figura 2 -	Espécies dos gêneros da Família Aristolochiaceae	18
Figura 3 -	Partes da planta do cipó-mil-homens	20
Figura 4 -	Reação entre o radical DPPH [*] e um composto antioxidante	24
Figura 5 -	Localização do Município de São João da Baliza em RR	27
Figura 6 -	Amostra do cipó-mil-homens in natura, antes e após a pulverização	28
Figura 7 -	Sistema utilizado para a extração do Óleo essencial de <i>Aristolochia</i> sp	29
Figura 8 -	Erlenmeyers com as amostras contendo os solventes Hexano e Etanol para a obtenção dos extratos	30
Figura 9 -	Sistema UV-visível para realização da Atividade Antioxidante	33
Figura 10 -	Sistema utilizado para eclosão dos cistos de <i>Artemia salina</i>	34
Figura 11 -	Cromatograma com os tempos de retenção dos compostos em destaque os majoritários	38
Figura 12 -	Estrutura Química dos compostos majoritários identificados por (CG-EM) do óleo essencial de <i>Aristolochia</i> sp	39
Figura 13 -	Análise fitoquímica preliminar do Extrato Etanólico Bruto de <i>Aristolochia</i> sp	40
Figura 14 -	Análise fitoquímica do teste para Esteroides e Triterpenóides	43
Figura 15 -	Curva da Quercetina	41
Figura 16 -	Curva do Extrato Etanólico de <i>Aristolochia</i> sp	42
Figura 17 -	Curva do Extrato Hexânico de <i>Aristolochia</i> sp	42
Figura 18 -	Curva da Atividade frente à <i>Artemia salina</i> com o Extrato Hexânico	46
Figura 19 -	Curva da Atividade frente à <i>Artemia salina</i> com o Extrato Etanólico	46
Figura 20 -	Taxa de Crescimento Micelial (%) e Concentrações(µg/mL) para o Extrato Etanólico de <i>Aristolochia</i> sp	49
Figura 21 -	Taxa de Crescimento Micelial (%) e Concentrações(µg/mL) para o Óleo essencial de <i>Aristolochia</i> sp	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Os principais óleos essenciais no mercado mundial	17
Quadro 2 - Classificação Botânica de <i>Aristolochia</i> sp.	19
Quadro 3 - Descrição da Serra Acarí	22
Quadro 4 - Composição dos óleos essenciais das espécies do gênero <i>Aristolochia</i>	23
Quadro 5 - Resultados da Prospecção Fitoquímica do extrato etanólico de <i>Aristolochia</i> sp	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos Terpenos	24
Tabela 2 - Peso total do material após a pulverização, peso do material dividido quando necessário e peso do óleo essencial	31
Tabela 3 - Rendimento obtido nas extrações realizadas	39
Tabela 4 - Constituintes identificados por (CG-EM) presentes no óleo essencial de <i>Aristolochia</i> sp	40
Tabela 5 - Valores da absorbância em cada Concentração dos Extratos Etanólico e Hexânico de <i>Aristolochia</i> sp.	44
Tabela 6 - Valores encontrados após a utilização do software Origin 6.0 para os Extratos Etanólico e Hexânico de <i>Aristolochia</i> sp.....	46
Tabela 7 - Número de náuplios mortos nas amostras testadas	48
Tabela 8 - Dados da atividade frente à <i>Artemia salina</i> para o óleo essencial, Extrato Hexânico e Extrato Etanólico de <i>Aristolochia</i> sp.	49
Tabela 9 - Calculo para os Extratos Hexânico e Etanólico	51
Tabela 10 - Concentrações e Taxa de Crescimento Micelial para o Extrato Etanólico e o Óleo essencial de <i>Aristolochia</i> sp	52

ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade Antioxidante
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
atm	Atmosfera
BDA	Batata-Dextrose-Aguar
°C	graus Celsius
CCAUFRR	Ciências Agrárias na Universidade Federal de Roraima no Campus Cauamé
CE ₅₀	Concentração Efetiva a 50%
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa
<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
cm	Centímetros
CO ₂	Dióxido de Carbono
C.Q (%)	Composto Químico em porcentagem
CL ₅₀	Concentração Letal
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DL ₅₀	Dose letal a 50%
DMSO	Dimetilsulfóxido
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EHB	Extrato Hexânico Bruto
FeCl ₃	Cloreto Férrico
g	Gramas
HCl	Ácido Clorídrico
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
IK	Índice de Kovats
L	Litro
mL	Mililitro
mg	Miligrama
mM	massa Molar
min	Minutos
MOE	Massa do Óleo Essencial

MMV	Massa do Material Vegetal
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro
NIST	National Institute of Standards and Technology
NPPGCT	Núcleo de Pesquisa e Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia
P.A	Para Analise
pH	potencial Hidrogeniônico
R	Rendimento
RR	Roraima
T.R	Tempo de Retenção
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micrômetro
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	ÓLEOS ESSENCIAIS	16
1.2	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA ARISTOLOCHIACEAE	19
1.3	O GÊNERO ARISTOLOCHIA	20
1.3.1	Descrição botânica de <i>Aristolochia</i> sp	20
1.3.1.1	Descrição do local de coleta	21
1.3.2	Constituintes Químicos isolados em espécies de <i>Aristolochia</i> ...	22
1.3.3	Composição do óleo essencial das espécies do gênero <i>Aristolochia</i>	22
1.3.3.1	Terpenos	24
1.4	CROMATOGRAFIA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG-EM)	25
1.5	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	25
1.6	TOXICIDADE	26
1.7	ATIVIDADE FUNGICIDA	27
2	OBJETIVOS	28
2.1	OBJETIVOS GERAIS	28
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	MATERIAIS	29
3.1.1	Área de estudo	29
3.1.2	Coleta do material vegetal	30
3.1.3	Solventes	30
3.2	MÉTODOS	30
3.2.1	Extração do óleo essencial	30
3.2.2	Determinação do rendimento	31
3.2.3	Obtenção dos extratos Hexânico (EH) e Etanólico (EE)	32
3.2.4	Avaliação da composição Química por CG-EM	33
3.2.5	Prospecção fitoquímicos do extrato Etanólico Bruto	33
3.2.5.1	Extrato hidroalcoólico	33

3.2.5.2	Teste para fenóis e taninos	34
3.2.5.3	Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides	34
3.2.5.4	Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas	34
3.2.5.5	Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas	34
3.2.5.6	Testes para esteroides e triterpenoides (Liebermon – Burchard)	34
3.2.6	Atividade Antioxidante pelo método do DPPH	35
3.2.7	Determinação da Toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	36
3.2.7.1	Metodologia empregada	36
3.2.7.1.1	Incubação	36
3.2.7.1.2	Exposição	37
3.2.8	Atividade Fungicida	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
4.1	RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL	39
4.2	ANALISE DO CG-EM	40
4.3	ENSAIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DE <i>ARISTOLOCHIA SP</i>	42
4.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	44
4.5	TESTE DE TOXICIDADE FRENTE À <i>ARTEMIA SALINA</i>	47
4.6	ATIVIDADE FUNGICIDA	51
5	CONCLUSÕES	55
6	REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com finalidade medicinais, para tratar doenças, curar e prevenir, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (VEIGA, 2005). No Brasil, diferentes tradições terapêuticas têm contribuído com a medicina popular (AMOROZO, 2004).

A utilização de plantas ocupa lugar de destaque na medicina popular, isso devido aos conhecimentos indígenas e as colaborações trazidas pelos escravos e imigrantes, que foi de suma importância para o surgimento de uma medicina popular rica e original (SIMÕES et al., 1995 apud BALDAUF, 2009).

A região amazônica apresenta um grande potencial para exploração e cultivo de plantas medicinais, pois tem grande diversidade e espécies raras, muito delas, além de serem utilizadas na farmacopeia, são empregadas pelos países como cosméticos, suplemento nutricional ou medicamento, como por exemplo; a pilocarpina extraída do jaborandi (PINTO; LAMEIRA; SILVA, 2006).

Uma das matérias primas utilizadas pelas indústrias na produção de alimentos, bebidas, perfumaria, cosméticos e medicamento fitoterápico são os óleos, que podem ser atraídos de diversas partes das plantas, como flores, folhas, caule, raízes, etc (CRAVEIRO, 1993). Estes óleos essenciais são uma rica fonte de metabólitos secundários voláteis, comumente associados a importantes atividades biológicas (ORLANDA, 2011).

Entre as plantas produtoras de óleo essenciais, destacam-se as pertencentes à Família Aristolochiaceae, distribuída em sete gêneros, um deste é a *Aristolochia*, conhecida por apresentar atividades biológicas, tais como, sedativa, antitérmica, estomacal, contraceptiva, abortiva, anti-inflamatória entre outras (PACHECO, 2009).

Entre as espécies deste gênero está a *Aristolochia sp*, conhecida como cipó-mil-homens, é uma planta aromática encontrada no Sul do Estado de Roraima utilizada para o tratamento de dores no estômago e como anti-inflamatório.

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo caracterizar e avaliar a bioatividade do óleo essencial e extratos extraídos da raiz do cipó-mil-homens, visando identificar os principais constituintes químicos e verificar as atividades biológicas.

1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são compostos voláteis, que podem ser extraídos de plantas, muitas vezes possuem odores agradáveis, mais que é característico de cada planta. A composição química dos óleos essenciais depende do clima, da estação do ano, das condições geográficas, do período de colheita e da técnica de destilação (MARCIEL *et al.*, 2002).

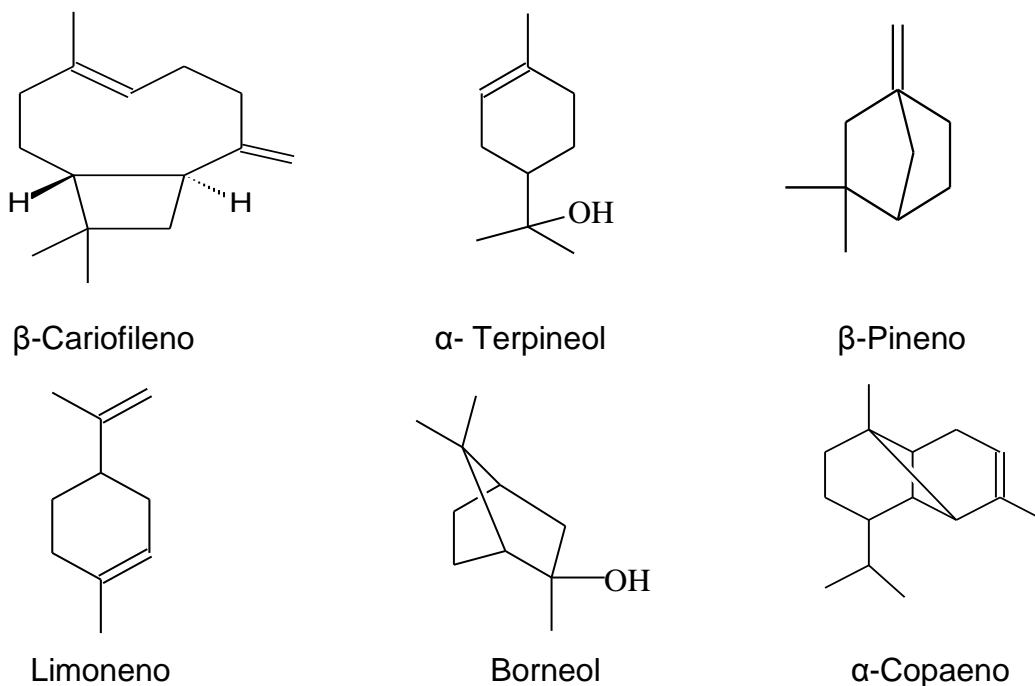
Algumas das técnicas de destilação para a obtenção dos óleos essenciais:

- **Enfloração:** é utilizado para extração de óleos essenciais de matérias-primas delicadas como pétalas de flores (SIMÕES *et al.*, 2000 apud JAKIEMIU, 2008).
- **Prensagem:** é utilizada para extração de óleo essencial de frutas cítricas, que é encontrado nos tecidos periféricos, no caso nas cascas (SIMÕES *et al.*, 2000 apud JAKIEMIU, 2008).
- **Extração com solventes orgânicos:** é utilizada no mundo todo para obter maior rendimento ou produtos que não podem ser obtidos por nenhum outro processo. Geralmente são utilizados solventes apolares como o diclorometano e éter (GUENTHER, 1948 apud JAKIEMIU, 2008).
- **Fluidos supercríticos:** é uma técnica que utiliza o poder do solvente em temperatura e pressão vizinhas ao ponto crítico. O solvente mais utilizado nesta técnica é o dióxido de carbono (CO₂), devido ao seu baixo custo, à temperatura crítica considerada baixa (31,1°C) e a pressão crítica facilmente alcançável (72,85 atm), é um solvente inodoro e quimicamente inerte. Esta técnica vem sendo considerada uma das mais promissoras para a área da alimentação. A única desvantagem é que o processo demanda custos altos, dificultando a implantação da técnica (LUQUE, 1994 apud JAKIEMIU, 2008).
- **Hidrodestilação:** é um método antigo e versátil, sendo o mais usado comercialmente no Brasil. O material vegetal permanece em contato com a

água em ebulição, o vapor faz com que as paredes celulares se abram e o óleo que está entre as células evapore junto com a água que vai para o condensador, onde é resfriado e separado por diferença de densidade. No caso das produções em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo essencial obtido, após separar-se da água, deve ser seco com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) (SIMÕES *et al.*, 2000 apud JAKIEMIU, 2008).

Os principais constituintes desses óleos são misturas complexas de terpenos, terpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. Também podem conter pequenas quantidades de diterpenos e outros componentes em função da planta aromática (SERAFINI *et al.*, 2001 apud STEFFENS, 2010) e compostos aromáticos (KNAAK, 2010, p.121).

Figura 1 - Constituinte químicos encontrados em óleos essenciais de espécies do gênero *Aristolochia*



Fonte: Adaptada de PACHECO, 2009.

As plantas aromáticas apresentam grande importância econômica na região Amazônica, isto devido à aplicação dos óleos essenciais e uso dos aromas em processos tecnológicos (SANTOS et al., 2004).

Segundo Nogueira e Lourenço (2007) a estimativa da produção mundial de óleos essenciais é superior a 42.000 toneladas, dos quais 35% são provenientes de frutos cítricos, 33% de plantas cultivadas, 1% de plantas espontâneas e 31% de outras fontes.

O Brasil ganha lugar de destaque na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, sendo os quatro maiores produtores mundiais. A posição do Brasil deve-se aos óleos essenciais de cítricos, sendo estes subprodutos da indústria de sucos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Segundo Bizzo, Hovell e Rezende (2009), são considerados os maiores consumidores de óleos essenciais no mundo: EUA (40%), União Europeia - UE (30%), a França considerada o país líder em importações e o Japão (7%), ao lado do Reino Unido, Alemanha, Suíça, Irlanda, China, Cingapura e Espanha. O quadro abaixo apresenta os principais óleos comercializados no mercado mundial.

Quadro 1- Os principais óleos essenciais no mercado mundial

Óleos essenciais	Espécie
Laranja (Brasil)	<i>Citrus sinensis</i> (L.) osbeck
Menta Japonesa (Índia)	<i>Mentha arvensis</i> L. f. piperascens Malinv.
Eucalipto (tipo cineol)	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill., <i>E. polybractea</i> R.T. Baker e <i>Eucalyptus</i> spp.
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt e <i>C. nardus</i> (L.) Rendle
Hortelã-pimenta	<i>Mentha x piperita</i> L.
Limão	<i>Citrus limon</i> (L.) N. L. Burm
Eucalipto (tipo citronella)	<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.
Cravo-da Índia	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. E L. M. Perry
Cedro (EUA)	<i>Juniperus virginiana</i> L. e <i>J. ashei</i> Bucholz
Lima destilada (Brasil)	<i>Citrus auratifolia</i> (Chistm. & Panz.) Swingle
Spearmint (nativa)	<i>Mentha spicata</i> L.
Cedro (China)	<i>Chamaecyparis funebris</i> (Endl.) Franco
Lavandim	<i>Lavandula intermedia</i> Emeric ex Loisel
Sassafrás (China)	<i>Cinnamomum micranthum</i> (Hayata)
Cânfora	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl.
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i> L.

Cont: Os principais óleos essenciais no mercado mundial

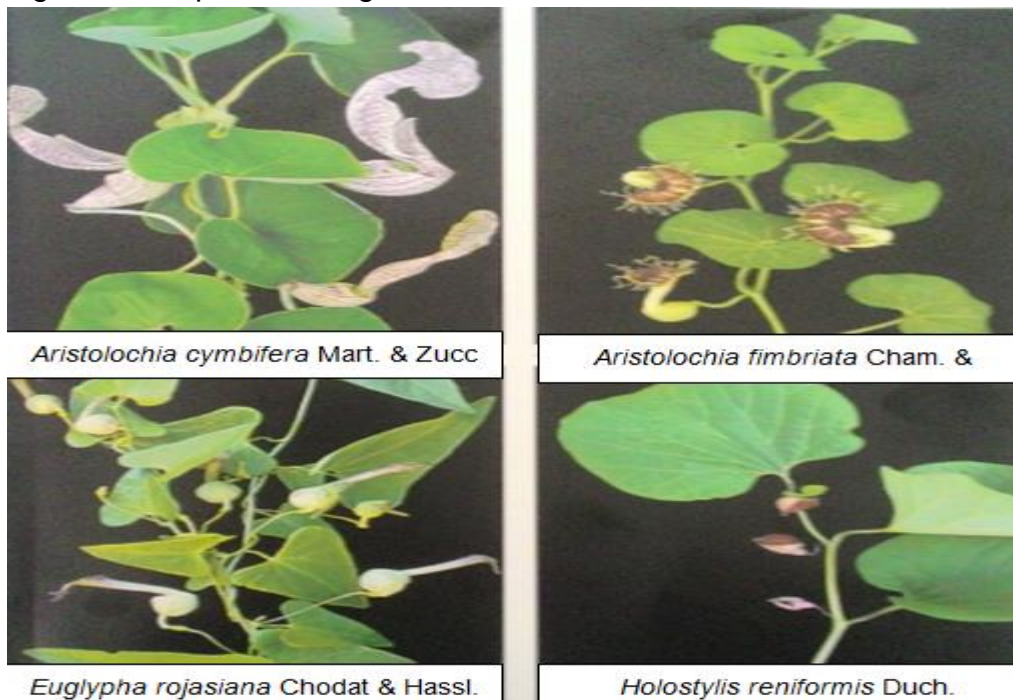
Óleos essenciais	Espécie
Grapefruit	<i>Citrus paradisi</i> Macfady
Patchouli	<i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.

Fonte: BIZZO; HOVELL; REZENDE (2009)

1.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA ARISTOLOCHIACEAE

A família Aristolochiaceae tem sua distribuição predominantemente tropical. Essa família é constituída por sete gêneros (*Apama*, *Aristolochia*, *Asarum*, *Euglypha*, *Holostylis*, *Saruma* e *Thottea*) com cerca de 600 espécies, *Aristolochia* é considerado o maior gênero desta família com cerca de 450 espécies, seguida por *Asarum*, com cerca de 100 espécies, a maioria das espécies deste gênero tem ocorrência na região temperada (SOUZA, 2008).

Figura 2 – Espécies dos gêneros da Família Aristolochiaceae



Fonte: SOUZA, 2008.

No Brasil há ocorrência de três gêneros, *Aristolochia* com aproximadamente 60 espécies, *Holostylis* e *Euglypha*, são encontrados apenas na Região Centro-Oeste e países vizinhos (SOUZA, 2008).

1.3 O GÊNERO *ARISTOLOCHIA*

Aristolochia possui flores com uma base bojuda seguida por um tubo estreito (colo) e por um lábio geralmente muito amplo. No Brasil, a maioria das espécies de *Aristolochia* ocorre na borda de florestas, mas há também espécies típicas de formações mais abertas, como *Aristolochia smilacina*, uma planta rastejante com pequenas flores, relativamente frequente nos campos rupestres (SOUZA e LORENZI, 2008, p.78).

Aristolochia, conhecida popularmente como papo-de-peru, jarrinha ou cipó-milhomem ou cipó-mil-homens. Algumas de suas espécies são usadas como plantas ornamentais. Espécies deste gênero são utilizadas em todo o Brasil como plantas medicinais (SOUZA e LORENZI, 2008).

1.3.1 Descrição botânica de *Aristolochia* sp

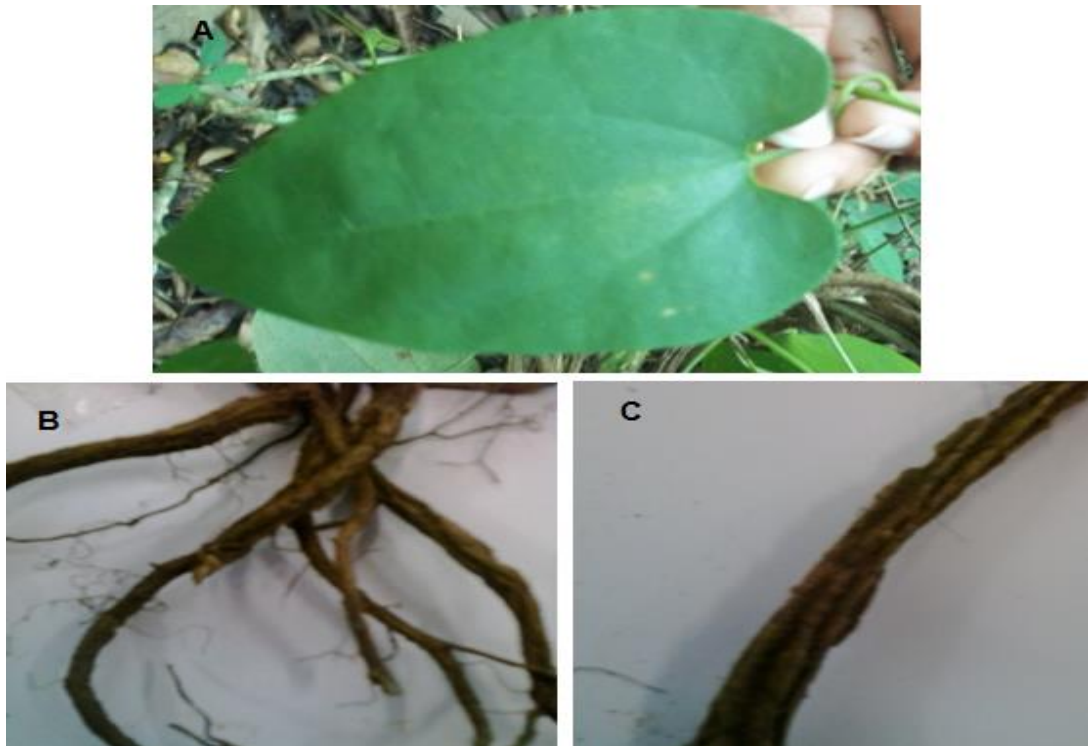
Planta herbácea, perene, trepadeira, de ramos longos e finos, possui caule com casca grossa, estriado e rugoso. As folhas em forma de coração alternam-se ao longo do caule. A classificação botânica segue de acordo com o quadro abaixo.

Quadro 2 – Classificação Botânica de *Aristolochia* sp

Classificação botânica	
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Aristolochiales
Família	Aristolochiaceae
Gênero	<i>Aristolochia</i>
Espécie	-
Sinônimos	Cipó-mil-homens

Fonte: Adaptada do SISBIO - www.ibama.gov.br/sisbio/sistema/index.php acessado em 2015.

Figura 3 - Partes da planta do cipó-mil-homens



A= Folhas; B= Raízes e C= Parte aéreas.
Fonte: Autora

1.3.1.1 Descrição do local de coleta

A coleta do material botânico, foi realizada na Serra Acarí, localizada no Município de São João da Baliza, no sudeste do Estado de Roraima, na mesorregião Sul, microrregião Sudeste, tendo coordenadas geográficas 59°55'63" de longitude Oeste e 00°57'65" de latitude Norte. Limita-se ao norte com o município de Caracaraí; ao sul com o Estado do Amazonas; a leste com o município de Caroebe e a oeste com o município de Rorainópolis e São Luiz do Anauá (SEPLAN, 2010).

O clima do município é caracterizado pelo tipo "Awi" como tropical úmido com pequeno período de seca durante o ano e "Aji" como tropical chuvoso sem estação seca. A temperatura média anual é correspondente a 27 °C. A precipitação pluviométrica é de aproximadamente 1.750 mm, com ocorrência de chuvas de abril a agosto, sendo maior a densidade pluviométrica em junho (SEPLAN, 2010).

Na região é predominante o Turismo de Aventura, com realização de trilhas para as Serras e caminhadas ecológicas, sendo destaque para a floresta densa, proporcionando oportunidades de observação da flora e da fauna. O Rio Jauaperi e

a Serra de Acarí, onde percorre o rio Jatapú são importantes para o turismo. Sendo o Rio Jatapú utilizado para a geração de energia no sul do Estado, beneficiando aproximadamente 45.000 pessoas. O acesso à cidade é feito pela BR-174 até o Km 500 no trevo à esquerda da BR-210 (SEPLAN, 2010).

Quadro 3 – Descrição da Serra Acarí.

Localização	Leste da sede do Município de São João da Baliza
Distância da sede municipal	2 Km
Condições de acesso	Estradas de terra e trilhas
Propriedade	Local público
Infraestrutura	Não dispõe
Estado de conservação	Bom
Descrição	Serra recoberta de floresta, com nascente d'água

Fonte: <http://roraimabrasil.com.br/sao-joao-da-baliza/> acessado em 2016.

1.3.2 Constituintes Químicos isolados em espécies de *Aristolochia*

Dentro da família Aristolochiaceae, o gênero *Aristolochia* tem sido documentado quimicamente desde 1951 (SHAN, 2007), revelando uma química bastante variada, produzindo como principais metabólitos secundários, terpenoides, lignóides, ácidos graxos e derivados, alcaloides, ácidos aristoloquiáceos e aristolactamas (OLIVEIRA, 2005; PACHECO, 2009).

1.3.3 Composição do óleo essencial de espécies do gênero *Aristolochia*

A composição dos Óleos Essenciais das espécies do gênero *Aristolochia* são basicamente monoterpenos e sesquiterpenos (PACHECO, 2009).

Quadro 4- Composição dos óleos essenciais das espécies do gênero *Aristolochia*

Ocorrência	Substância Identificada	Parte da Planta
<i>A. birostris</i>	α -pineno, limoneno, σ -elemeno, β -bourboneno, β -cariofileno, α -humuleno, germacreno A, γ -elemeno, β -selineno, α -cadinol	Partes Aéreas
<i>A. cymbifera</i>	α -cubebeno, α -copaeno, β -bourboneno, β -cariofileno, t- α -bergamopteno, germacreno A, α -farneseno	Folhas Frescas
<i>A. debilis</i>	α -pineno, canfeno, β -pineno, mirceno, limoneno, t- β -ocimeno, pcimeno, calameno, 1,8-cineol, cânfora, borneol, acetato de bornila, coriofileno, α -humuleno, β -elemeno	Folhas e caules
<i>A. debilis</i>	α -pineno, canfeno, β -pineno, borneol, calameno, cânfora, 1,8-cineol, α -guaieno, α -cubebeno, β -chamigreno, σ -cadineno, α -santaleno, σ -guaieno, aromadendreno	Raízes
<i>A. gigantea</i>	σ -elemeno, α -copaeno, β -bourboneno, β -cariofileno, t- α -bergamopteno, α -cadinol, α -humuleno, germacreno D, germacreno A, γ -elemeno, σ -cadineno	Folhas
<i>A. gigantea</i>	Linalol, α -terpineol, α -copaeno, β -elemeno, β -cariofileno, t- α -bergamopteno, α -humuleno, germacreno D, α -cadinol, α -farneseno, (E)-nerolidol	Ramos
<i>A. gigantea</i>	linalol, α -terpineol, geraniol, nerol, α -copaeno, β -cariofileno	Flores
<i>A. indica</i>	ishwarano, ishwarona, ishwarol	Raízes
<i>A. longa</i>	borneol, acetato de bornila, linalol, β -cariofileno, maaliol	Raízes
<i>A. macroura</i>	Linalol, σ -elemeno, α -cubebeno, α -copaeno, β -bourboneno, β -elemeno, β -cariofileno, α -humuleno, γ -muuroleno, germacreno D, γ -elemeno, α -farneseno, σ -cadineno, (E)-nerolidol, α -cadinol	Folhas
<i>A. papillaris</i>	limoneno, linalol, calareno, α -copaeno, β -elemeno, α -humuleno, γ -elemeno, γ -cadineno, σ -cadineno, α -cadinol	Partes Aéreas
<i>A. reticulata</i>	(-)-borneol, (-)- Δ 4-careno	-
<i>A. rodriguesia</i>	Linalol, 4-terpineol, α -terpineol, σ -elemeno, α -cubebeno, β -bourboneno, α -copaeno, β -elemeno, nerol, t- α -bergamopteno, σ -cadineno, α -cadinol, calareno	Folhas
<i>A. triangulares</i>	β -cariofileno, germacreno D, α -cubebeno, α -copaeno, β -elemeno, α -humuleno, γ -elemeno, γ -cadineno, σ -cadineno, (E)-nerolidol	Partes Aéreas
<i>A. triangulares</i>	β -bisaboleno, t-nerolidol, álcoois sesquiterpênicos	Ramos e Raízes
<i>A. zenkeri</i>	(+)-borneol, (-)-canfeno	-

Fonte: PACHECO (2009)

1.3.3.1 Terpenos

Terpenos, também chamados de terpenoides ou isoprenoides, constituem a maior classe de produtos naturais com mais de 55.000 compostos conhecidos (CHANG et al., 2010). Estes produtos químicos são parte do metabolismo secundário de espécies vegetais e animais e são derivados de unidades de isopreno, que se unem através de ligações cabeça-cauda por duas vias biossintéticas. As estruturas típicas dos terpenos contêm um esqueleto carbônico representado por $(C_5)_n$ e são classificados como mostrado na tabela abaixo (DEWICK, p. 167, 2002).

Tabela 1 – Classificação dos terpenos

Terpenos	Unidades isoprenos	Átomos de Carbono
Hemiterpenos	1	5
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Sesterpenos	5	25
Triterpenos	6	30
Tetraterpenos	8	40

Fonte: DEWICK, 2002.

1.4 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG-EM)

Segundo a IUPAC, a cromatografia é um método físico de separação, onde os componentes a serem separados se distribuem em duas fases, uma estacionária e outra móvel.

Uma das técnicas mais aplicada na caracterização de compostos químicos voláteis, e a cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de massa (CG-EM), devido à sua simplicidade, precisão e rapidez (AVATO et al., 2005).

A análise por CG-EM para identificação de compostos presentes em óleos essenciais faz-se a associação com a determinação do índice de Kovats (SKOOG, 2008). É um procedimento que vem sendo utilizado com sucesso na identificação de

substâncias com estruturas conhecidas, que na maioria, os dados gerados podem ser comparados diretamente com os valores de tempo de retenção (índice de retenção) obtidos e com os espectros de massas dos constituintes voláteis publicados (ADAMS, 2007).

1.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

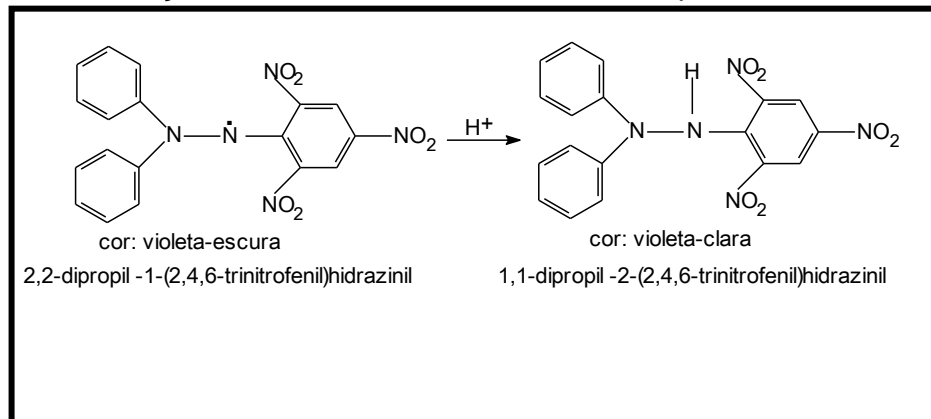
São inúmeros os estudos relacionados com o papel dos radicais livres, com isso, a biologia vem despertando grande interesse, uma vez que estes tem desempenhado papel importante na ocorrência de diversas doenças, dentre elas: doenças cardiovasculares, algumas formas de câncer, processos inflamatórios e desordens neurodegenerativas (MAXWELL, 1995; SILVA, 2009).

Para Ferreira e Costa (2011) os antioxidantes presentes em extratos de plantas e que tem propriedades terapêuticas vem atraído, cada vez mais, a atenção de pesquisadores. Extratos obtidos a partir de frutas, cereais, e de diferentes vegetais e, seus produtos derivados têm mostrado atividades antioxidantes efetivas.

A atividade antioxidante de compostos orgânicos tem em suas características estruturais, a presença de grupamentos fenólicos. Desta forma, flavonoides, fenilpropanoides e outros compostos aromáticos são os principais alvos da busca por estes antioxidantes (Ferreira e Costa, 2011).

Entre os métodos utilizados para determinação da atividade antioxidante de compostos orgânicos, esta o espectrofotométrico baseado na redução do radical estável DPPH, onde este permite fazer uma avaliação indireta da capacidade sequestradora de radicais livres e com isso associa-la com a capacidade antioxidante da substancia presentes nas amostras em teste (BRAND-WILLIAMS; COVELIER; BERSET, 1995).

Figura 4 – Reação entre o radical DPPH[•] e um composto antioxidante



Fonte: SILVA (2011).

1.6 TOXICIDADE

O ensaio de toxicidade de substâncias e extratos utilizando náuplios de *Artemia salina* Leach é um método simples, rápido e de baixo custo realizado para determinar a toxicidade de compostos bioativos. Este método pode ser considerado um teste inicial para prever atividades farmacológicas de substâncias puras e extratos, os quais podem ser submetidos posteriormente a outros ensaios para determinar atividades biológicas específicas. (LUNA, et al. 2005.; PRADO, 2014).

Pesquisas relatam a correspondência entre a atividade da *Artemia salina* e atividade biológicas tais como: Toxicidade de inseticidas (MICHAEL et al., 1956), antimicrobiana, antiparasitária (SIQUEIRA et al. 2001), antineoplásica (McLaughlin et al., 1993).

1.7 ATIVIDADE FUNGICIDA

A antracnose é uma doença cujo seu agente causador é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. É um fungo mitospórico, da ordem Melanconiales da família Melanconiaceae (MARTINS, 2005).

C. gloeosporioides possui grande quantidade de hospedeiros, como por exemplo: goiabeira, mangueira, mamoeiro, cajueiro, jaqueira, etc. Muitas dessas espécies têm importância econômica, outras importância social. (MARTINS, 2005;

MENEZES, 2002), atacando principalmente as partes aéreas das plantas como (caule, ramo, folha, inflorescência, flor, fruto e semente), (RUSSOMANNO, 2008).

Hoje em dia a sociedade vem buscando, formas de vida mais saudável e com isso, a comunidade científica tem buscado maneiras alternativas para o controle de pragas e doenças (SILVA, et al. 2009).

Tem-se realizado trabalhos para avaliar os efeitos dos extratos e dos óleos essenciais de plantas medicinais sobre a germinação dos esporos e crescimento micelial de fungos. Silva, et al. 2009 realizou estudo com quatorze plantas medicinais e/ou nativas conhecidas popularmente na Região Norte de Minas para avaliar estes efeitos dos extras e óleos essenciais destas plantas sobre o fungo *C. gloeosporioides*, obtendo bons resultados para os óleos essenciais do alecrim de vargem, lippia (*Lippia citriodora*), alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) e alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum*) onde, inibiram completamente o crescimento micelial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Caracterizar a composição química e atividades biológicas do óleo essencial e extratos Hexânico e Etanólico da raiz de *Aristolochia* sp.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter o óleo essencial da raiz de *Aristolochia* sp;
- Obter os extratos hexânico e etanólico Brutos da raiz de *Aristolochia* sp;
- Identificar os constituintes químicos do óleo essencial da raiz de *Aristolochia* sp;
- Realizar prospecção fitoquímica do extrato etanólico bruto de *Aristolochia* sp;
- Verificar atividade antioxidante dos extratos hexânico e etanólico da raiz de *Aristolochia* sp;
- Verificar a Toxicidade do óleo essencial e dos extratos da raiz de *Aristolochia* sp.
- Avaliar a atividade fungicida do óleo essencial e do extrato Etanólico da raiz de *Aristolochia* sp utilizando o fungo (*Colletotrichum gloeosporieoides*).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

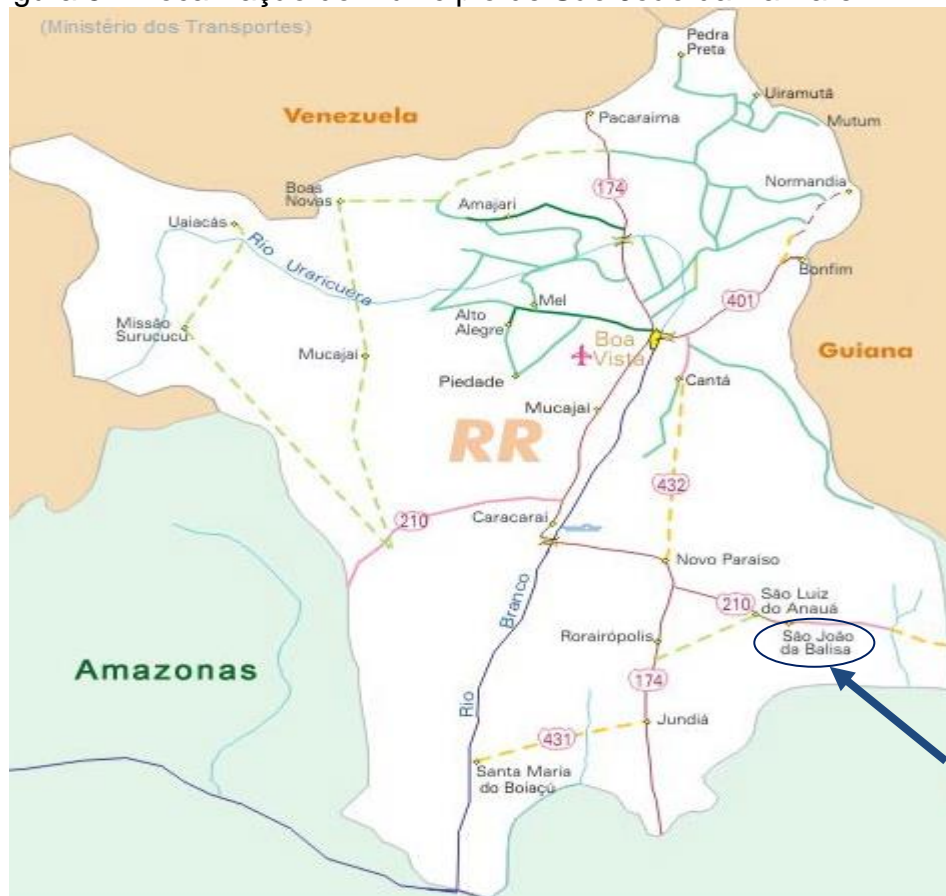
Para a realização da pesquisa, foram utilizados os seguintes materiais e métodos.

3.1 MATERIAL

3.1.1 Área de estudo

O material botânico *Aristolochia* sp, selecionado para o estudo foi coletado no Município de São João da Baliza, localizado no sul do Estado de Roraima

Figura 5 – Localização do Município de São João da Baliza em RR



Fonte: <http://www.mapas-brasil.com/roraima.htm> acessado em 2015.

3.1.2 Coleta do material vegetal

O material botânico *Aristolochia* sp, selecionado para o estudo foi coletado no Município de São João da Baliza, localizado no sudeste do Estado de Roraima. Foram realizadas três coletas (outubro de 2014, Abril e Agosto de 2015).

A parte coletada (cipó) foi seca no período de 7 dias à temperatura ambiente e pulverizado em moinho de facas nas dependências do Núcleo de Pesquisa e Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia (NPPGCT), Laboratório de alimentos.

Figura 6 – Amostra do cipó seco à temperatura ambiente e após a pulverização



Cipó seco à temperatura ambiente



após a pulverização

Fonte: Autora

3.1.3 Solventes

Os solventes e reagentes utilizados foram procedentes das marcas Merck, Sigma de grau P.A. A água destinada a realização do experimento foi submetida à destilação prévia.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Extração do óleo essencial

Para a extração do óleo essencial (Tabela 2) utilizou-se a técnica de hidrodestilação (arraste a vapor d'água), com o auxílio do aparelho de clewenger

com circuito fechado de água (Figura 7) de acordo com a Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010).

Tabela 2 - Peso total do material após a pulverização, peso do material dividido quando necessário e peso do óleo essencial

Coleta	Peso do material total (g)	Peso do material para a realização da extração (g)	Peso da amostra do óleo extraído (g)
1ª (16/10/2014) ¹	105,000	105,000	0,413
2ª (16/02/2015) ¹	353,349	117,494	0,674
		117,927	0,472
3ª (16/08/2015) ²	590,000	117,927	0,419
		200,000	0,449
		130,000	0,291
		130,000	0,237
		130,000	0,265

¹ = período seco; ² = período chuvoso

Fonte: Autora

Figura 7 – Sistema utilizado para a extração do Óleo essencial de *Aristolochia* sp



Fonte: Autora

3.2.2 Determinação do Rendimento

O rendimento foi calculado em porcentagem (%) a partir da massa obtida na extração do óleo essencial em relação à massa do material botânico de partida multiplicado por cem. Como mostra a equação abaixo.

$$R = \frac{\text{MOE (g)}}{\text{MMV (g)}} \times 100$$

Onde: R= rendimento; MOE= massa do óleo essencial; MMV= massa do material vegetal

3.2.3 Obtenção dos Extratos Hexânico Bruto (EHB) e Extratos Etanólico Bruto (EEB)

A amostra foi secada a temperatura ambiente e pulverizada, em seguida pesou-se o material obtendo 240,000g, logo após dividiu-se em duas partes de (120,000g) e transferidas para dois Erlenmeyers de vidro com capacidade para 1L cada, acrescidos de Hexano destilado em um e no outro Etanol bidestilado, para a realização das extrações, como mostra a figura abaixo. Utilizou-se o rotaevaporador para a obtenção dos extratos. Os produtos das extrações foram denominados de Extrato Hexânico Bruto (EHB) e Extrato Etanólico Bruto (EEB).

Figura 8 – Erlenmeyers com as amostras contendo os solventes Hexano e Etanol para a obtenção dos extratos



Fonte: Autora

3.2.4 Avaliação da composição Química (CG-EM)

As análises por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) foram realizadas em coluna 5% fenilmetilsilox HP-5MS –30 m x 250 μ m x 0,25 μ m. O gás de arraste utilizado foi hélio com fluxo de 1,4 mL/min. A temperatura

do injetor foi de 325 °C. As injeções foram realizadas no modo “split”. A identificação dos componentes baseou-se na comparação eletrônica do padrão de fragmentação dos componentes nos espectros de massas com aqueles da biblioteca do banco de dados da NIST.

3.2.5 Prospecção fitoquímicos do Extrato Etanólico Bruto

A prospecção fitoquímica foi realizada segundo a metodologia proposta por Matos (1997). O extrato etanólico bruto obtido foi submetido aos testes de: fenóis e taninos; antocianinas, antocianidinas e flavonoides; leucoantocianidinas, catequinas, flavonas, esteroides e triterpenoides como descrito nos próximos itens.

3.2.5.1 Extrato hidroalcoólico

Pesou-se 1,5 g do extrato etanólico bruto de *Aristolochia* sp e dissolveu-se em uma solução hidroalcoólico de etanol : água destilada (7:3). Pegou-se 7 tubos de ensaios e colocou 3,5 mL da solução hidroalcoólica em cada tubo estes devidamente numerado e uma porção de 10 mL em um béquer. Levou-se os tubos e o béquer para banho-maria, os tubos por 15 min e o béquer até a total separação do solvente. Retirou-os e deixou esfriar, e deu-se início aos testes.

3.2.5.2 Teste para fenóis e taninos

No tubo 1 adicionou-se 3 gotas da solução de FeCl_3 , em seguida agitou-se bem e observou-se a mudança na variação da cor e na formação de precipitado. Foi realizado o teste em branco, sendo este preparado em um tubo de ensaio contendo 3,5 mL de água destilada e 3 gotas de FeCl_3 .

3.2.5.3 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Utilizaram-se os tubos 2,3 e 4, onde o tubo 2 foi acidulado à pH 3 utilizando 4 gotas de HCl 0,1 M, o tubo 3 alcalinizou-se à pH 8,5 utilizando 1 gota de NaOH 6 M e o tubo 4 alcalinizou-se à pH 11 utilizando 3 gotas de NaOH 6 M , em seguida observou-se as mudanças de coloração das substâncias de cada tubo.

3.2.5.4 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Pegou-se os tubos 5 e 6, o primeiro foi acidulado a pH 1 utilizando 6 gotas de HCl 0,1M e o segundo alcalinizado a pH 11 utilizando 3 gotas de NaOH 6 M, em seguida os tubos foram aquecidos por 2 min e verificado a variação na cor.

3.2.5.5 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

No tubo 7 foi adicionado alguns centigramas de magnésio em fita e 0,5 mL de HCl concentrado. Esperou-se o fim da reação indicada pelo termino da efervescência e observou-se a mudança na cor da mistura.

3.2.5.6 Testes para esteroides e triterpenoides (Liebermon – Burchard)

Extraiu-se o resíduo do béquer três vezes com 1,5 mL de clorofórmio, triturando bem o resíduo, filtrou-se a solução clorofórmio gota a gota em um funil fechado com uma bolinha de algodão, coberto por algumas centigramas de Na₂SO₄ anidrido em um tubo de ensaio, adicionou-se 1 mL de anidrido acético, agitou-se suavemente e cuidadosamente juntou-se três gotas de H₂SO₄ concentrado, tornou-se a agitar suavemente e observou-se a mudança de coloração.

3.2.6 Atividade Antioxidante pelo método do DPPH

A metodologia consiste na medida da extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) em 515 nm (MIRANDA; FRAGA, 2006). A determinação da atividade antioxidante foi realizada em triplicata por método de espectrofotometria de absorção molecular UV-visível (Figura 9). A técnica consistiu na incubação por 10 minutos de 500 µL de uma solução metanólica de DPPH 0,1 mM com 500 µL de soluções contendo concentrações crescentes dos extratos etanólico e hexânico (500; 1000; 1500; 2000; 2500 µg.mL⁻¹) em metanol.

Figura 9 – Sistema UV-visível para realização da Atividade Antioxidante



Fonte: Autora

Procedeu-se da mesma forma para a preparação da solução denominada controle, porém substituindo-se 500 µL da amostra em 500 µL de solvente metanol. Para a solução denominada “branco”, foi utilizado solvente etanol. O percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos da porcentagem de atividade antioxidante (AA %).

$$AA \% = \frac{Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{controle}}$$

As análises das amostras foram realizadas em espectrofotômetro de absorção molecular UV-Visível em comprimento de onda de 515 nm com objetivo de avaliar a absorbância das diferentes concentrações das amostras e anotar os

resultados. Depois da avaliação foram calculadas as concentrações dos extratos etanólico e hexânico necessárias para capturar 50 % do radical livre DPPH (CE₅₀) por análise de regressão linear (CARBONARI, 2005).

3.2.7 Determinação da Toxicidade frente à *Artemia salina*

3.2.7.1 Metodologia empregada

A toxicidade sobre *Artemia salina* empregou a metodologia segundo Meyer et al. (1982).

3.2.7.1.1 Incubação

Em um aquário de forma arredondada que serviu como incubadora, adicionou-se uma solução salina artificial (20 g de sal marinho (Red Sea Salt) para 1 litro de água destilada) ajustou-se o pH entre 8 e 9 (Figura 10). A incubadora foi iluminada artificialmente com uma lâmpada fluorescente com aeração. Em um dos lados da incubadora, colocou-se aproximadamente 100 mg de cisto de *Artemia salina*. Parte do sistema foi coberto com papel alumínio para que os organismos ao nascerem, permanecessem isolados em um dos lados do aquário devido à iluminação. Durante a incubação, a temperatura foi monitorada em torno dos 25 °C, após 24 horas ocorreu à eclosão.

Figura 10 – Sistema utilizado para eclosão dos cistos de *Artemia salina*



Fonte: Autora

3.2.7.1.2 Exposição

O tempo de exposição partiu de uma solução de 25 mL contendo 0,0250 g da amostra (extrato etanólico bruto, extrato hexânico bruto e óleo essencial) de *Aristolochia* sp. foram solubilizada em DMSO a 1% e completando o volume com água salina.

Após o período de incubação de 24 horas, os organismos (náuplios de *Artemia salina*), foram selecionados e expostos em tubos de ensaios com diferentes concentrações das amostras diluídas em 1000; 500; 250 e 125 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Em cada tubo, foram transferidos com o auxílio de pipeta de Paster 10 náuplios de *Artemia*. Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração e para os controles.

3.2.8 Atividade Fungicida

A atividade antimicrobiana para o extrato etanólico e o óleo essencial de *Aristolochia* sp, com o fungo *C. gloeosporioides*, foi realizado no Laboratório Fitopatologia de Ciências Agrárias na Universidade Federal de Roraima no Campus Cauamé – CCAUFRR em coordenado pelo Professor Jefferson Fernandes do Nascimento.

Foi utilizado o meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Aguar). Na câmara de fluxo, o meio de cultura BDA fundente, foi vertidos em placas petri de vidro, anteriormente esterilizadas. No meio de cultura fundente foi acrescentado o extrato e o óleo essencial de *Aristolochia* sp. Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações do óleo essencial e extrato, 25, 50, 100, 200, 400 μ L.100mL⁻¹ de BDA. Adicionou-se Tween 20 para solubilizar a amostra, preparou-se uma testemunha contendo somente o meio de cultura BDA.

No centro de cada placa petri foi depositado um disco de micélio de 5 mm de diâmetro do fungo *C. gloeosporioides*. As placas de petri foram seladas com fita PVC e mantidas em incubadora a 25°C. O crescimento foi avaliado diariamente, por meio da medição ortogonal do diâmetro das colônias, calculando-se a taxa de crescimento micelial diário. No experimento utilizou-se quatro repetições, sendo que para cada repetição foi utilizada uma placa de petri. Os resultados foram expressos graficamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

Após a obtenção do óleo essencial de *Aristolochia* sp. foi possível calcular o rendimento. Como foram realizadas três extrações, para melhor entendimento os dados dos mesmos são mostrados na tabela abaixo:

Tabela 3- Rendimento obtido nas extrações realizadas

Coletas	Extrações	Peso do material para a realização da extração (g)	Peso da amostra do óleo extraído (g)	Rendimento (%)
Outubro/2014 ¹	1 ^a	105,000	0,413	0,393
		117,493	0,674	0,574
Fevereiro/2015 ¹	2 ^a	117,927	0,472	0,400
		117,927	0,419	0,355
			Média	0,430
Agosto/2015 ²	3 ^a	200,000	0,449	0,224
		130,000	0,299	0,230
		130,000	0,270	0,208
		130,000	0,265	0,204
			Média	0,216

¹ = período seco; ² = período chuvoso

Fonte: Autora

Como podemos observar os dados apresentados na tabela a cima, a média do rendimento do óleo essencial de *Aristolochia* sp é de 0,430% no período seco e de 0,216% para o período chuvoso, sendo considerado um bom rendimento.

Fatores como luz, disponibilidades de nutrientes, estações do ano, período do dia, ciclo e partes da planta podem fazer com que ocorra a variação na composição do óleo (CARVALHO-FILHO et al., 2006). Para TAVARES et al.(2005) a diferença deve-se provavelmente à diversidade no genótipo das plantas.

Estudos realizados com o óleo essencial obtido do caule da espécie *Aristolochia trilobata* L. mostrou um rendimento de 0,22% (ALVES, 2013; SANTOS, 2013), já no trabalho de Buzatto (2008) foi encontrado o valor de 0,05% com o estudo do óleo essencial de *Aristolochia triangularis* Cham.

4.2 ANÁLISE POR CG-EM

Foram quantificados 20 constituintes químicos e identificados 19 pela análise com CG-EM, como podemos observar na Tabela 4, e o cromatograma abaixo mostra o tempo de retenção de todos os compostos em destaque os majoritários.

Tabela 4 – Constituintes identificados por (CG-EM) presentes no óleo essencial de *Aristolochia sp*

Composto	T.R.	Área (%)	IK
β – Felandreno	3,878	0,990	964
Eucaliptol	3,896	0,779	1059
Linalol	4,645	0,903	1082
Borneol	5,604	16,989	1088
α -terpinol	5,872	1,216	1143
α-copaeno	8,324	5,646	1221
β -elemeno	8,507	2,431	1398
α - gurjuneno	8,765	1,337	1419
(\pm)-cadineno	8,879	11,900	1440
β -cariofileno	8,909	1,433	1494
(-)-Aristoleno	9,154	0,731	1403
Alloaromadendreno	9,418	1,935	1386
Longifoleno (V4)	9,477	3,632	1387
β -cubebeno	9,651	1,148	1339
NI	9,755	5,166	---
Miristicina	10,133	29,900	1516
(-)-spatuleno	10,813	1,020	1536
Selina-6-en-4-ol	11,311	9,729	1593
β - guaieno	11,663	1,947	1523
γ - gurjunenopoxido-(2)	11,771	1,168	1558
Total		100%	

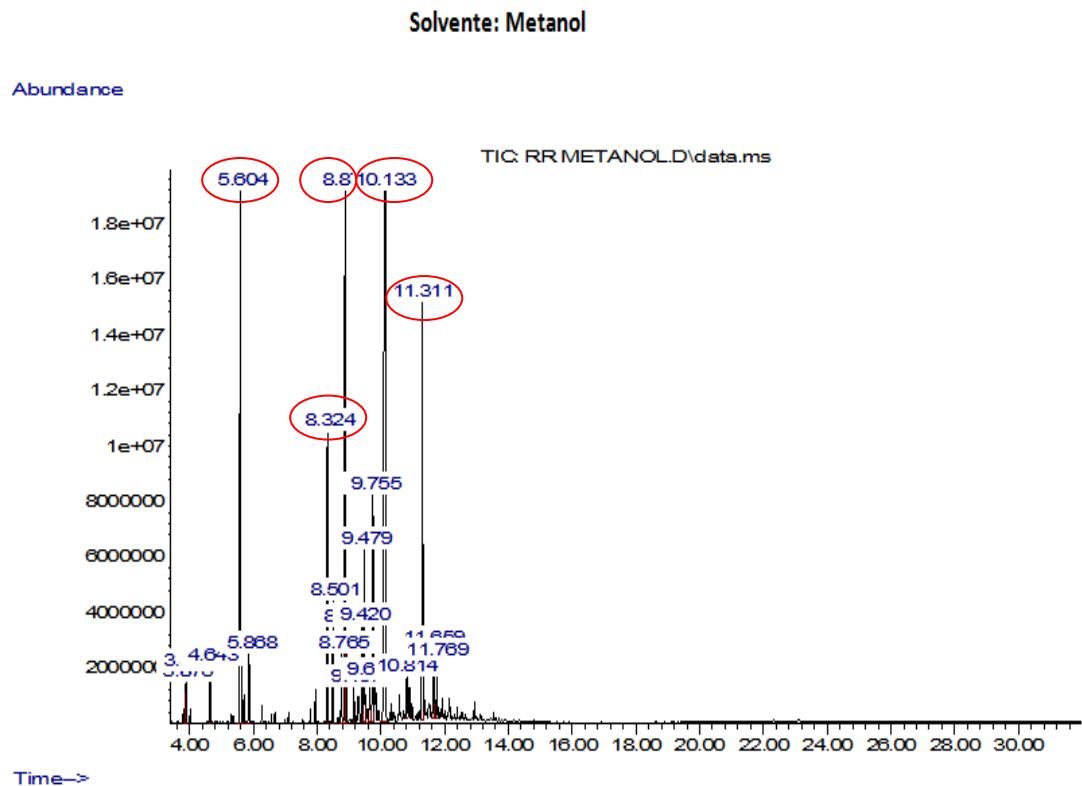
T.R. = Tempo de Retenção.

IR=Índice de Kovats

NI= não identificado

Fonte: Autora

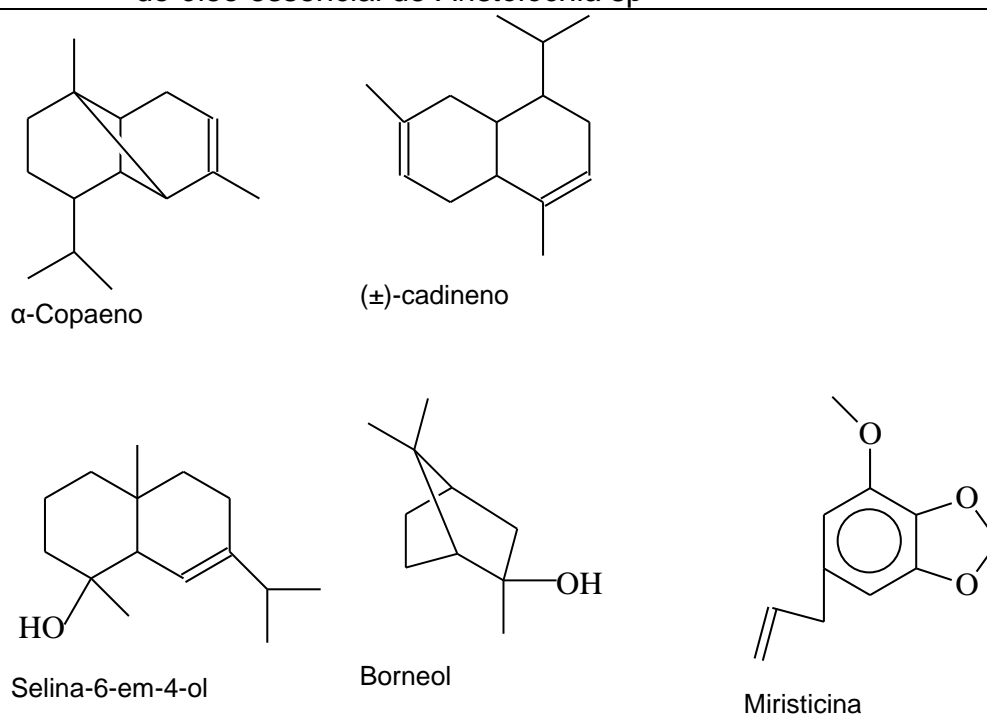
Figura 11 - Cromatograma com os tempos de retenção dos compostos, em destaque os majoritários



A análise por CG-EM levou a constituintes monoterpênicos e sesquiterpênicos. Para Francisco et al. (2006), hidrocarbonetos sesquiterpênicos predominam nos óleos essenciais das folhas de quatro espécies deste gênero (*Aristolochia arcuata*, *A. malmeana*, *A. melastoma* e de *Holostylis reniformis* (Aristolochiaceae)). Nos óleos de caules e raízes há predominância de hidrocarbonetos monoterpênicos, exceto nos óleos de caules de *H. reniformis* no qual predominam sesquiterpênicos oxigenados (FRANCISCO et al., 2006).

Entre os compostos majoritário estão miristicina (29,900%), borneol (16,989%), α -copaeno (5,646%), selina-6-en-4-ol (9,729%) e (\pm) - cadineno (17,066%). A figura 12 mostra a estrutura química destes compostos.

Figura 12 – Estrutura Química dos compostos majoritários identificados por (CG-EM) do óleo essencial de *Aristolochia* sp



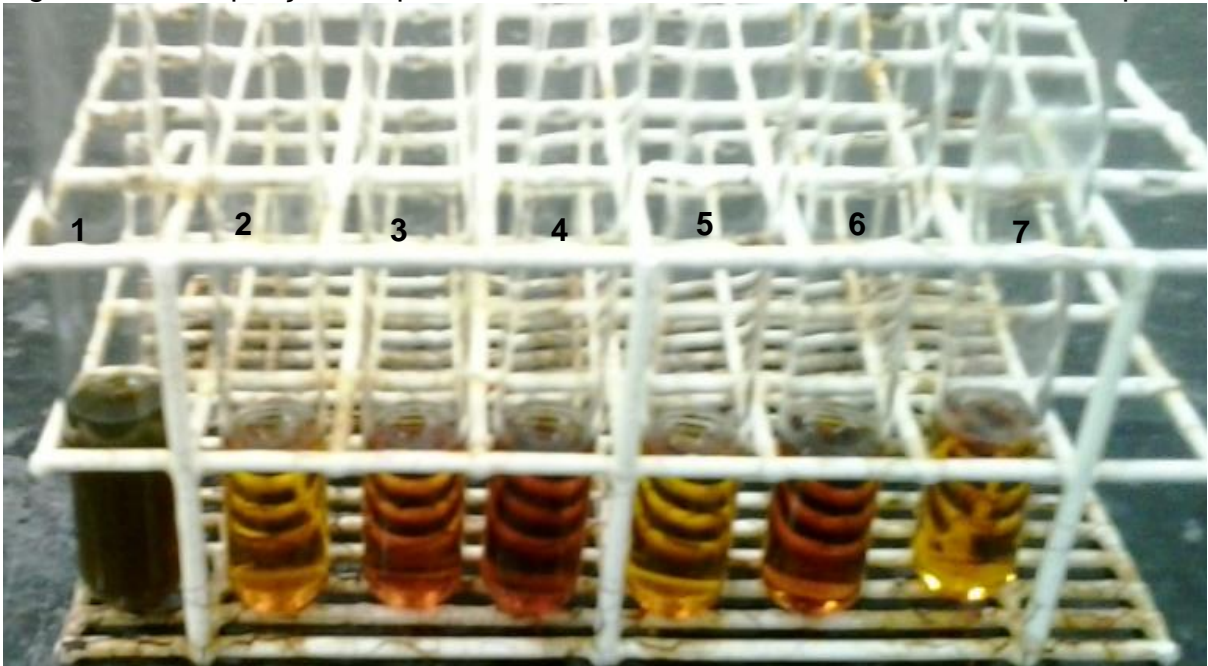
Fonte: Autora

São atribuídos efeitos benéficos a Miristicina, tais como, ações inseticidas, fungicidas e ativador de glutathione S transferase prevenindo a formação de tumores (TEIXEIRA, 2008).

4.3 Ensaio fitoquímico preliminar do extrato etanólico bruto de *Aristolochia* sp

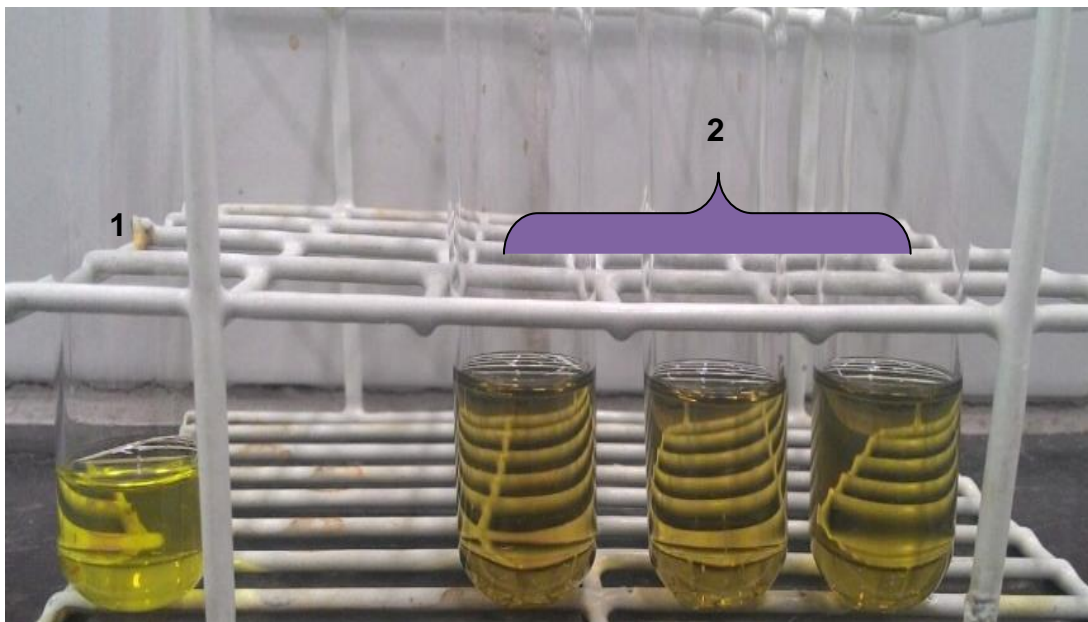
A prospecção fitoquímica foi realizada com o EEB de *Aristolochia* sp para a caracterização dos metabólitos secundários (Figura 13 e 14), obtiveram-se os resultados apresentados no Quadro 5. Os ensaios foram feitos em duplicata para a confirmação dos resultados.

Figura 13 - Prospecção fitoquímica do Extrato Etanólico Bruto de *Aristolochia* sp



Fonte: Autora

Figura 14 – Análise fitoquímica do teste para Esteroides e Triterpenóides



1 – Solução clorofórmica 2 – Solução clorofórmica + anidrido acético + H_2SO_4 (triplicata)

Fonte: Autora

Quadro 5 - Resultados da Prospecção Fitoquímica do extrato etanólico de *Aristolochia* sp

Metabolitos secundários	Resultados	Metabolitos secundários	Resultados
Fenóis	-	Catequinas	-
Tanino	+	Flavonas	-
Antocianinas	-	Flavanonas	+
Antocianidinas	-	Flavanonóis	+
Leucoantocianidinas	-	Xantonas	-
Esteroides	+	Triterpenóides	-

Fonte: Autora

Os metabólitos secundários são substâncias que possuem propriedades biológicas diversas. Estes metabólitos tem papel importante para a adaptação das plantas em seus ambientes, como na defesa contra microrganismos e parasitas. Também representam uma fonte de substâncias farmacologicamente ativas empregadas como medicamentos, cosméticos e matéria prima para a química fina (GRANATO, 2013).

4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A Atividade Antioxidante é expressa por CE_{50} (concentração efetiva, que elimina 50% dos radicais livres) indica o quanto a amostra é antioxidante, isto é, quanto menor o valor da CE_{50} mais ativa é a amostra (ALPIOVEZZA et al., 2012; LOCATELLI et al., 2009). Os resultados da atividade antioxidante dos extratos brutos etanólico e hexânico de *Aristolochia* sp. estão expressos na Tabela 5.

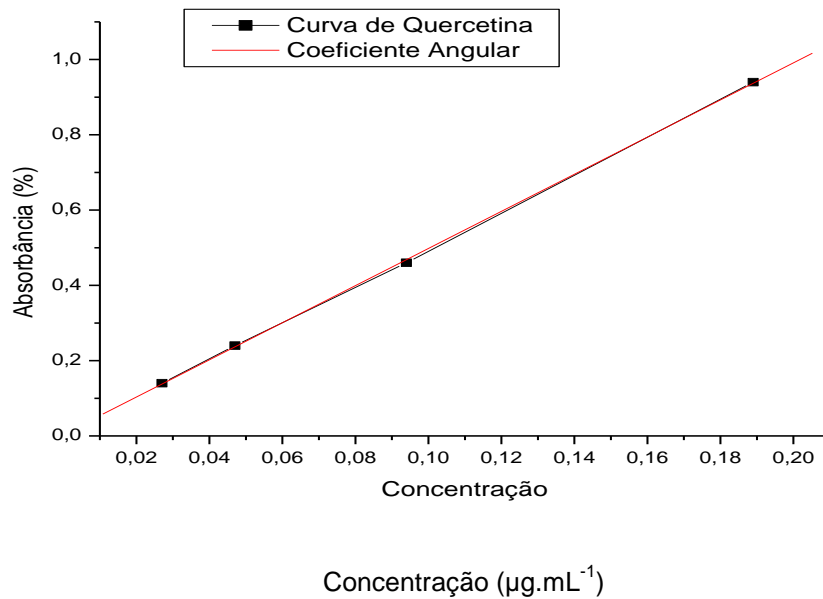
Tabela 5 - Valores da absorbância em cada Concentração dos Extratos Etanólico e Hexânico de *Aristolochia* sp

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Massa (μg)	Volume (mL)	(AA %)	
			E.E.	E.H
500	12500	25	0,12	1,24
1000	25000	25	0,27	5,20
1500	37500	25	0,41	8,21
2000	50000	25	0,48	12,41
2500	62500	25	0,60	23,45

Fonte: Autora

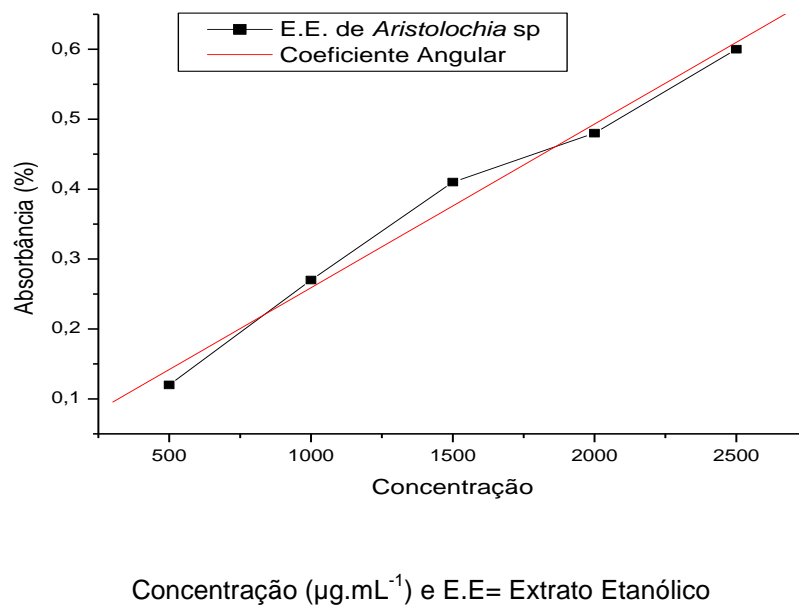
Como podemos observar na tabela 6 os resultados demonstram que o percentual antioxidante aumenta proporcionalmente com a concentração. A partir das concentrações e dos valores de absorbância dos extratos foram construídos gráficos, Figura 15, Figura 16 e Figura 17.

Figura 15 – Curva da quercetina

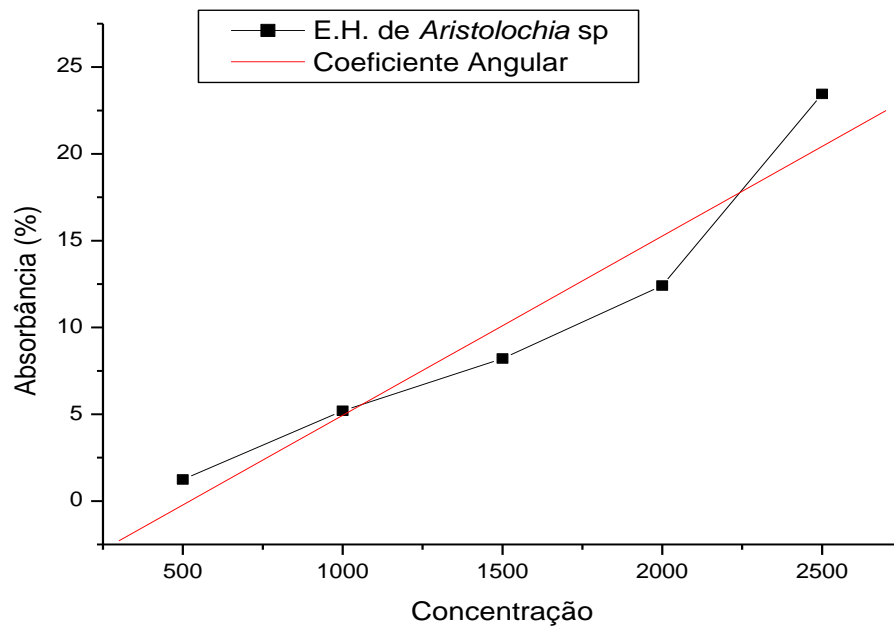


Fonte: Autora

Figura 16 - Curva do extrato etanólico de *Aristolochia* sp



Fonte: Autora

Figura 17 - Curva do extrato hexânico de *Aristolochia* sp

Concentração (µg.mL⁻¹) e E.H= Extrato Hexânico

Fonte: Autora

Foi utilizado o software Origin 6.0, o que possibilitou a determinação da equação da reta ($Y = A + BX$). Através desta equação, pode-se encontrar a concentração efetiva (CE_{50}) para cada amostra testada, Tabela 6.

Tabela 6 – Valores encontrados após a utilização do software Origin 6.0 para os extratos etanólico e hexânico de *Aristolochia* sp

Amostras	A	B	Y	$CE_{50}(\mu\text{g.mL}^{-1})$	R
Quercetina	0,00485	4,93163	50	10,1376	0,99987
Extrato Etanólico	0,025	0,000234	50	213568,3761	0,99267
Extrato Hexânico	-5,387	0,01033	50	5361,7618	0,95934

Fonte: Autora

Como podemos observar os Extratos de *Aristolochia* sp são inativos, ou seja, os valores encontrados para CE_{50} é muito acima se comparados com o valor do padrão Quercetina. Portanto as substâncias testadas não possuem potencial de atividade antioxidante nas concentrações testadas.

Buzatto (2008) determinou a atividade antioxidante do óleo essencial de *Aristolochia triangularis* Cham. Por meio da captação do radical DPPH (EC_{50}), obteve o valor de $16,4 \text{ mg mL}^{-1}$ ou seja, inferior a atividade antioxidante dos padrões (BHT $0,17 \text{ mg mL}^{-1}$; rutina $0,33 \text{ mg mL}^{-1}$ e quercetina $0,16 \text{ mg mL}^{-1}$), apresentando um resultado não significativo.

4.5 TESTE DE TOXICIDADE FRENTE À ARTEMIA SALINA

O bioensaio de toxicidade frente à *Artemia salina*, foi realizado com os extratos etanólico e hexânico bruto e com o óleo essencial de *Aristolochia* sp.

O teste foi realizado em triplicata para todas as concentrações das amostras e para o teste branco [controle 1 (solução salina) e controle 2 (solução salina + DMSO)]. A contagem dos náuplios sobreviventes foi realizada após 24 horas com o auxílio de uma lupa. Obtendo-se o seguinte resultado:

Tabela 7 – Número de náuplios mortos nas amostras testadas

	1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$		500 $\mu\text{g mL}^{-1}$		250 $\mu\text{g mL}^{-1}$		125 $\mu\text{g mL}^{-1}$		C1		C2	
Óleo essencial												
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
A	0	10	0	10	0	10	0	10	10	0	10	0
D	0	10	0	10	0	10	0	10	10	0	10	0
T	0	10	0	10	0	10	0	10	10	0	10	0
X	0	10	0	10	0	10	0	10	10	0	10	0
Extrato Hexânico												
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
A	7	3	10	0	10	0	10	0	10	0	1	0
D	8	2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
T	8	2	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
X	7,66	2,33	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
Extrato Etanólico												
	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M	V	M
A	9	1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
D	9	1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
T	9	1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0
X	9	1	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0

A= Amostra; D= Duplicata; T= Triplicata; X= Média; V= Vivos; M= Mortos.

Fonte: Autora

Após a contagem do número de exemplares de *Artemia salina* vivos, mortos ou imobilizados, realizou-se o seguinte cálculo:

$$M\% = \frac{\text{Número de organismos mortos} \times 100}{\text{Número total de organismos no tubo}}$$

Os valores da mortalidade foram corrigidos utilizando a fórmula de Abbott, fórmula abaixo (LUCENA, 2012):

$$MC^* = \frac{(\text{mortalidade nos frascos teste [\%]} - \text{mortalidade no frasco controle [\%]}) \times 100}{(100\% - \text{mortalidade no frasco controle [\%]})}$$

MC = mortalidade corrigida

Após a realização dos cálculos, considerar de baixa toxicidade quando a Dose Letal 50% (DL₅₀) for superior a 500 µg.mL⁻¹; moderada para DL₅₀ entre 100 e 500 µg.mL⁻¹ e muito tóxico quando DL₅₀ for inferior a 100 µg.mL⁻¹ (LUCENA, 2012). Resultados na Tabela 8.

Tabela 8 – Dados da atividade frente à *Artemia salina* para o óleo essencial, Extratos Hexânico e Etanólico de *Aristolochia* sp

Concentrações	Atividade para <i>A. salina</i> (% de mortalidade)		
	Óleo essencial	Extrato Hexânico	Extrato Etanólico
1000 µg.mL ⁻¹	100	76,6	10
500 µg.mL ⁻¹	100	23,3	0
250 µg.mL ⁻¹	100	0	0
125 µg.mL ⁻¹	100	0	0
Controle 1	0	0	0
Controle 2	0	0	0

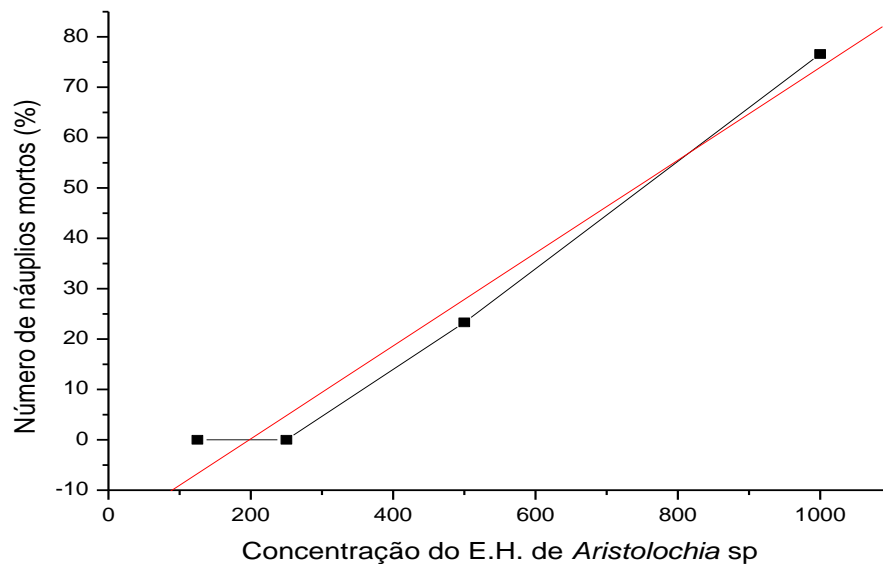
Fonte: Autora

Como houve mortalidade em todas as concentrações com a amostra do óleo essencial não foi possível calcular a DL₅₀. Com isso, o óleo essencial de *Aristolochia* sp, apresentou letalidade frente a *Artemia salina*, sendo considerado tóxico.

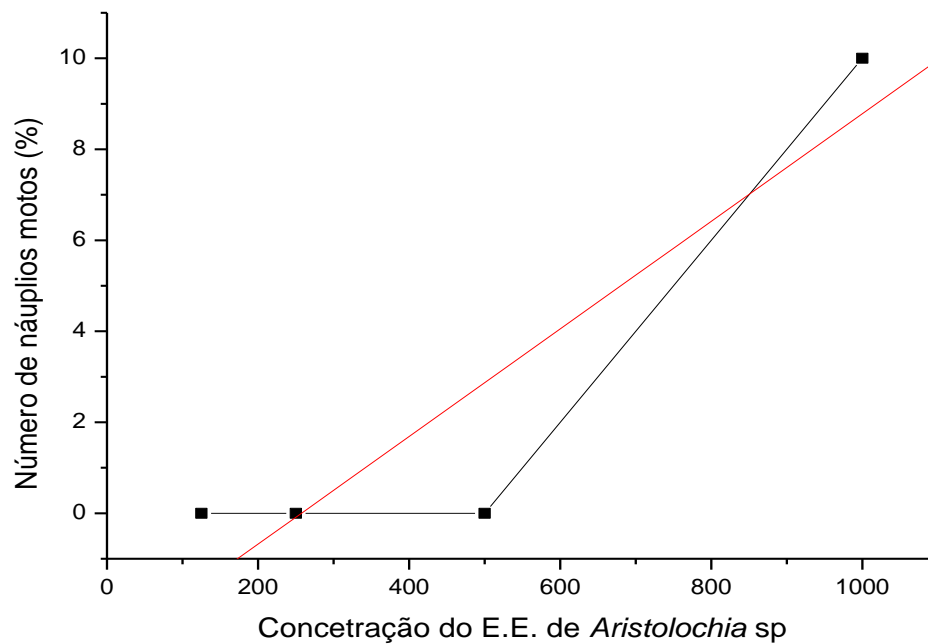
Buzatto (2008) avaliou a toxicidade frente à *Artemia salina* do óleo essencial de *Aristolochia triangularis* Cham, obtendo o resultado para DL_{50} de $315,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo considerado de baixa toxicidade.

Para o extrato eexânico o valor obtido foi de 76,6% para a concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e para a concentração de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ o valor de 23,3% de mortalidade, Figura 18. Para extrato etanólico houve mortalidade apenas na concentração $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo esta de 10%, Figura 19.

Figura 18 – Curva da Atividade frente à *Artemia salina* com o Extrato Hexânico



Fonte: Autora

Figura 19 – Curva da Atividade frente à *Artemia salina* com o Extrato Etanólico

Fonte: Autora

Utilizando a fórmula da regressão linear $Y = A + BX$, podemos calcular a DL_{50} para os extratos hexânico e etanólico, onde:

Tabela 9 – Cálculo para os extratos hexânico e etanólico

Cálculo para Extrato Hexânico

$$Y=50 \quad A= -18,24783 \quad B= 0,09221$$

$$Y=A + BX$$

$$50 = -18,24783 + 0,09221x$$

$$\text{Logo temos que } X = 740,13 \mu\text{g.mL}^{-1}$$

Cálculo para Extrato Etanólico

$$Y=50 \quad A= -3,04348 \quad B= 0,01183$$

$$Y=A + BX$$

$$50 = -3,04348 + 0,01183x$$

$$\text{Logo temos que } X = 4483,81 \mu\text{g.mL}^{-1}$$

Fonte: Autora

Pelas análises dos dados, pode-se verificar que os extratos hexânico e etanólico de *Aristolochia* sp, não apresentaram letalidade frente à *Artemia salina*, sendo considerado de baixa toxicidade (DL 50% superior a 500 µg.mL⁻¹) tendo sido encontrado os valores de DL₅₀ de 740,13 µg.mL⁻¹ para o extratos hexânico e 4483,81 µg.mL⁻¹ para o extrato etanólico.

Silva e Lima (2016) realizaram o teste com *Artemia salina* L. para o extrato etanólico de *Aristolochia trilobata* encontrando um valor de CL₅₀ de 2164,72 µg/mL e o extrato hexânico 1310,69 µg/mL. Logo, as amostras testadas não apresentam toxicidade frente ao teste realizado.

4.6 ATIVIDADE FUNGICIDA

Os teste das atividades fungicidas in vitro foram realizados para o Óleo essencial e o extrato etanólico bruto de *Aristolochia* sp. Na Tabela 10, podemos observar a taxa do crescimento micelial para o fungo *C. gloeosporioides* frentes as diferentes concentrações do óleo essencial e do extrato testado.

No controle verificou-se que não ocorreu interferência ao utilizar o emulsificante Tween 20 e BDA. O crescimento micelial para a testemunha foi maior que para os outros tratamentos, cobrindo toda a superfície da placa no quarto dia. Podemos observar ainda que para a concentração de 25 µg/mL do óleo essencial o crescimento micelial foi de 6,2 cm ao dia o mesmo para o controle. Outra observação importante foi que para o óleo essencial, nas concentrações de 100, 50 25 µg/mL a superfície das placas também foram cobertas no quarto dia.

Tabela 10 – Concentrações e taxa de crescimento micelial para o extrato etanólico e óleo essencial de *Aristolochia* sp

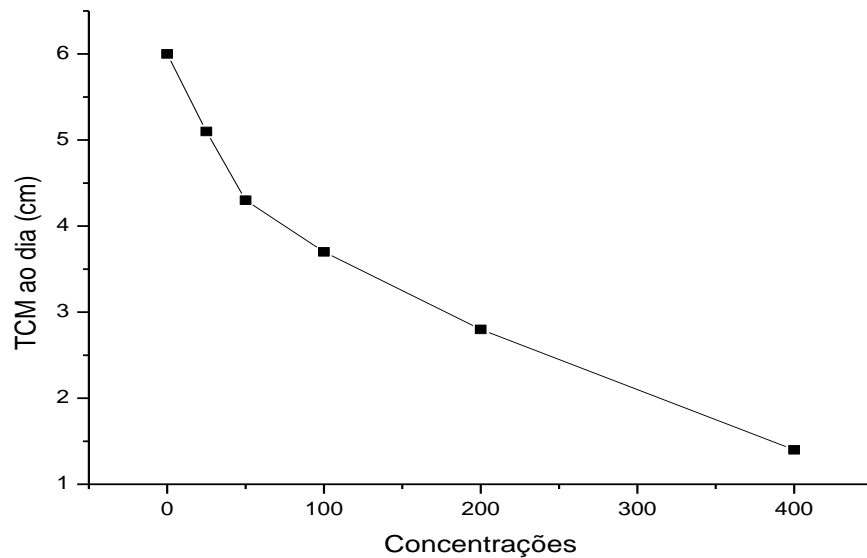
Concentrações para o extrato (µg/mL)	Crescimento micelial ao dia (cm)	
	extrato etanólico	óleo essencial
400	1,4	5,1
200	2,8	5,2
100	3,7	5,6
50	4,3	5,9
25	5,1	6,2
0,0*	6	6,2

* = Controle utilizando apenas o meio de cultura BDA.

Fonte: Autora

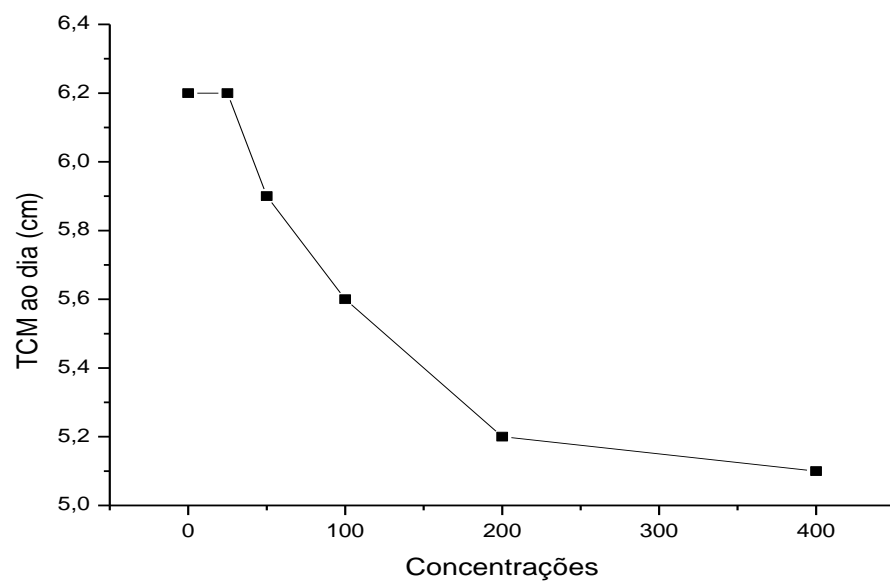
Com os dados obtidos na tabela 10 foi possível fazer gráficos, onde estes foram traçados a partir das concentrações e o crescimento micelial das amostras e o controle (Figura 20 e 21).

Figura 20 – Taxa de Crescimento Micelial (cm) e Concentrações ($\mu\text{g/mL}$) para o Extrato Etanólico de *Aristolochia* sp



Fonte: Autora

Figura 21 – Taxa de Crescimento Micelial (cm) e Concentrações ($\mu\text{g/mL}$) para o Óleo essencial de *Aristolochia* sp



Fonte: Autora

Como podemos observar nos dois gráficos, as amostras mostraram-se inibidoras para o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, sendo que o extrato etanólico mostrou-se melhor inibidor que o óleo.

O espatulenol foi encontrado como constituinte minoritário com um percentual de (1,020%), para John (2015) o espatulenol é uma substância responsável pela ação antifúngica, encontradas nas plantas. Em doses moderadas, essa substância é considerada microbioestático, ou seja, inibe o crescimento dos fungos filamentosos *Fonsecaea pedrosoi*. Em doses maiores, a mesma substância é microbiocida mata os tais fungos filamentosos.

5 CONCLUSÃO

Com o estudo do óleo essencial obtido da raiz de *Aristolochia sp* pelo processo de hidrodestilação, obtendo rendimento de 0,430% para o período seco e 0,216% no período chuvoso, e a obtenção dos extratos Etanólico e Hexânico.

A análise cromatográfica realizada em CG-EM proporcionou a identificação de dezenove compostos químicos presentes no óleo essencial, entre monos e sesquiterpenos, sendo este em maior quantidade, condizente com a literatura para este gênero. Os compostos majoritários foram a miristicina (29,900%), borneol (16,989%), α -copaeno (5,646%), selina-6-en-4-ol (9,729%) e (\pm) - cadineno (17,066%).

Para o ensaio fitoquímico com o extrato etanólico bruto da raiz de *Aristolochia sp* o resultado foi positivo para tanino, flavanonóis, flavanonas, terpenoides, esteroides e negativo para os demais ensaios.

A atividade antioxidante realizada pela metodologia do DPPH não mostrou bom indicativo com os extratos testados, mostrando valores para CE_{50} muito acima se comparados com o valor do padrão utilizado Quercetina.

No teste para toxicidade com *Artemia salina* foram encontrados os valores para DL_{50} de 740,13 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o Extratos Hexânico e 4483,81 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o Extrato Etanólico, sendo considerado de baixa toxicidade, já para o óleo essencial não foi possível calcular a DL_{50} , pois houve 100% de mortalidade, sendo considerado tóxico.

O teste realizado com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, as amostras mostraram-se inibidoras para o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, sendo que o extrato etanólico mostrou-se melhor inibidor que o óleo essencial, podendo ser considerados como microbioestático.

Este trabalho contribui para o estudo do óleo essencial e extratos de *Aristolochia sp*, fornecendo dados para a literatura deste gênero, sendo que não foi encontrado outro trabalho com espécies deste gênero no Estado de Roraima.

6 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil componentes by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 4 ed. USA: Allured Publishing Corporation, p. 804, 2007.

ALPIOVEZZA, A. R. Avaliação Farmacognóstica da Droga Vegetal Flores de Jasmim. **Revista Fito**. V. 7, n. 4, 2012.

ALVES, P. B. et al. **Composição química do óleo essencial de Aristolochia trilobata L. (Aristolochiaceae)**. 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2013.

AMOROZO, M. C. M. Pluralistic medical settings and medicinal plant use in rural communities. Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnobiology**, v.24, n.1, p.139-161, 2004.

ANVISA, AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITARIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

AVATO, P. et al. Glandular hair and essential oils in micropopagated plants of *Salvia officinalis* L. **Plants Science**, v. 169, n. 1 , p. 29-36, 2005.

BALDAUF, C. et al. “Ferveu, queimou o ser da erva”: conhecimentos de especialistas locais sobre plantas medicinais na região Sul do Brasil. **Rev. bras. plantas med.** Botucatu, v.11, n.3, p.282-291, 2009.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BRAND-WILLIAMS, M. E.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity**. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* n. 28, p. 25-30, 1995.

BUZATTO, C. **Atividade biológica dos constituintes voláteis de Aristolochia triangularis Cham.** 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.

CARBONARI, K.A. **Avaliação do Potencial Antioxidante** (In vitro e In vivo) e **Antiinflamatório de** *Ouratea parviflora*, *Polymnia sonchifolia* e *Marlierea obscura*. 2005. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

CARVALHO-FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v. 16, p. 24-30, 2006.

CHANG, T.-H. et al. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell Online**, v. 22, n. 2, p. 454–467, 2010.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, 16(3), p. 224-228, 1993.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products biosynthetic approach**. 2ª ed. Chichester: Wiley, 2002.

FERREIRA, M. A.; COSTA, M. C. D. **Utilização de Antioxidantes no Combate aos Radicais Livres Causadores de Envelhecimento Cutâneo**. Curso Superior de Tecnologia em Estética e Cosmética - UniFil. I Simpósio Nacional de iniciação científica. UniFil - Out. 2011. Disponível em: <http://www.unifil.br/portal/arquivos/publicacoes/paginas/>. Acesso em: 20 maio 2015.

FRANCISCO, C. S. et al. **Óleos essenciais de** *Aristolochia arcuata*, *A. malmeana*, *A. melastoma* e de *Holostylis reniformis* (Aristolochiaceae). 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2006.

GRANATO, E. M. et al. Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. **Rev. Bras. Farm.** 94 (2): 130-135, 2013.

GUENTHER, E. **The Essential Oils**. New York: Van Nostrand, v.1,1948.

<http://www.mapas-brasil.com/roraima.htm> acessado em 28 de outubro de 2015.

<http://roraimabrasil.com.br/sao-joao-da-baliza/> acessado em 20 de janeiro de 2016.

IUPAC (Analytical Chemistry Division Commission on Chromatography and other analytical separations commission on analytical nomenclature) **A Pure & Appl, Chem.** Vol. 65, No. 4, pp. 819-872, 1993.

JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho** (*Thymus vulgaris* L.). 2008, 90p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

JOHN, L. **Com urubucaá não tem urucubaca.** 2015. <http://planetasustentavel.abril.com.br/blog/biodiversa/com-urubucaa-nao-tem-urucubaca> acessado em 12 de janeiro de 2016.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation.** 5(2):120-132, 2010.

LOCATELLI, M. Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. **Food Chemistry, Amsterdam**, v. 114, n. 3, p. 889-897, 2009.

LUCENA, J. F. S. **Uma nova lignana e outros constituintes químicos de *Hypenia salzmannii*** (Beth.) Harley (Lamiaceae). 2012. 36 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB, p.36, 2012.

LUNA, J. S.; SANTOS et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **J. Ethnopharmacol.** 97 (2):199-206, 2005.

LUQUE, C. M.D., VALCÁRCEL, M., TENA, M. T. **Analytical Supercritical Fluid Extraction.** Springer-Verland: Berlin Heidelberg, 1994.

MARCIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, 25:429-438, 2002.

MARTINZ, I. **Produção de *Colletotrichum Gloeosporioides*.** Circular Técnica. Brasília-DF, 2005.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental.** UFC. Edições. p.44-46, 1997.

MAXWELL, S.R.J. **Prospects for the use antioxidant therapies**. Department of Medicine. v.49, p.345-361, 1995.

McLAGHLIN, J. L.; CHANG, C. J.; SMITH, D. L. Simple Bench – **Top Bioassays (BS e PD) for Discovery of Plant Antitumor Compounds** – Review of Recent Progress, p. 112-137. In: Kinghorn, Balandrini, M. F. (Eds). Human Medicinal Agents from Plants, Oxford University Press, New York, USA, 1993.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *colletotrichum*. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.27, p. 23-27, 2002.

MEYER, B. N. et al. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Medica**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

MICHAEL, A. S.; THOMPSON, C. G.; ABRAMOVITZ. **Artemia salina as a Test Organism for Bioassay**. Entomology Research Branch, U. S. Department of Agricultura, Beltsville, Maryland. SCIENCE, v. 123. 1956.

MIRANDA, A. L.P.; FRAGA, C.A.M. **Atividade Seqüestradora de Radical Livre Determinação do Potencial Antioxidante de Subtâncias Bioativas**. Pratical Studies for Medicinal Chemistry. Genebra: IUPAC, 2006.

NOGUEIRA, M.T.D.; LOURENÇO, J.A.A. **Óleos Essenciais: A normatização e a sua importância no âmbito do Regulamento Reach. Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais**. Curso Teórico-prático, pp. 72-79, 3ª Ed., Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa – Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal, 2007.

OLIVEIRA, P.M. et al. Diterpenoids from the aerial parts of *Plectranthus ornatus*. **J. Nat. Prod.**, 68(4), 588-591, 2005.

ORLANDA, J. F. F. **Estudo da Composição Química e Atividade Biológica do Óleo ESsencial de Ruta graveolens Linneau (RUTACEAE)**. 2011, 122p. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Federal de Pernambuco, João Pessoa, 2011.

PACHECO, A. G. **Estudo fitoquímico de Aristolochia esperanzae Kuntze (Aristolochiaceae)**. 2009. 242p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

PINTO, J. E. B. P.; LAMEIRA, O. A.; SILVA, F. G. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Lavra: UFLA/FAEPE, 2006.

PRADO, S. A. L. **Estudo fitoquímico e atividade biológica de *Aegiphila integrifolia* (Jacq.)**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Roraima/UFRR. p. 86, 2014.

RUSSOMANNO, O. M. R.; KRUPPA, P. C. **Doenças fúngicas das plantas medicinais, aromáticas e condimentares – parte aérea**. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal. Comunicado Técnico, 2008. http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=90 Disponível em 12/02/2016.

SANTOS, D. A. **Contribuição química para os voláteis de *Aristolochia trilobata* e obtenção do acetato de 6-metil-5-hepten-2-ila por Biotransformação**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Sergipe, 2013.

SEPLAN - **Informações Socioeconômicas do Município de São João da Baliza-RR 2010**[Elaboração: Divisão de Estudos e Pesquisas] 1ª edição. Boa Vista: CGEES/SEPLAN - RR, p.68, 2010.

SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. **Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional**. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. Biotecnologia na agricultura e na agroindústria. Guaíba: Agropecuária, 2001.

SHAN, Y.; Wang, X.; Zhou, X.; Kong, L.; Niwa, M. Two Minor Diterpene Glycosides (I) and an Eudesmane Sesquiterpene (II) from *Coleus forskohlii*. **Chem. Pharm. Bull.**, 55(3), 376-381, 2007.

SILVA et al. **Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolado do maracujazeiro**. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, 2009.

SILVA, I. S. A.; LIMA, S. G. **Constituintes fixos e voláteis de aristolochia trilobata: atividade antifúngica**. <http://sis.ufpi.br/22sic/Documentos/RESUMOS/Modalidade/Vida/IARA%20SAMARA%20DE%20ALCANTARA%20SILVA.pdf> acessado em 16/02/16.

SILVA, S. R. **Perfil dos Ácidos Graxos, Atividade Antioxidante e Caracterização Físico-Química do Óleo das Sementes de Três Espécies de Maracujá**

Cultivadas no Estado de Roraima. 2011. 28 p. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, p. 28, 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul.** 4.ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS, p174, 1995.

SIMÕES, C.M.O.et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5 ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2000.

SIQUEIRA, J.M.; ZIMINIANI, M.G.; RESENDE, U.M.; BOAVENTURA, M.A.D. Estudo fitoquímico das cascas do caule de *Duguetia glabruscula* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* LEACH. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p.185-187, 2001.

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO. <http://www.icmbio.gov.br/sisbio/> acessado em 12/10/15.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica.** 8 ed. São Paulo. Pioneira Thomson Learning, p. 1184, 2008.

SANTOS, A.S. et al. **Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Comunicado Técnico, p.99. Belém, PA, 2004.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrativo para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseando em APG II.** 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial.** 2010, 68p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica, Rio Grande do Sul, 2010.

TAVARES, E. S. et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill). N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v. 15, p. 1-5, 2005.

TEIXEIRA, G. F. et al. Conteúdo de miristicina em preparados de noz moscada (*Myristica fragans*, Houtt). **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, v.67 n.1 São Paulo abr. 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura? **Quim. Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.