

Ramon Prata de Oliveira

Purificação parcial e análise por CG/EM dos constituintes
químicos presentes no extrato hexânico de *Struthanthus*
flexicaulis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração: Química Orgânica, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Richard Michael Grazul.

Juiz de Fora
2012

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.”

Theodore Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de ser grato ao grande arquiteto do universo por ter me mantido sempre íntegro e sempre estar iluminando os meus passos.

À minha mãe Sônia e a minha irmã Paloma simplesmente pelo fato delas existirem em minha vida.

À minha avó Edith pelo carinho e todo o apoio e suporte necessário ao longo desses anos.

Ao meu pai por me proporcionar a estrutura necessária para eu alcançar meus objetivos.

À toda a minha família que de uma forma ou de outra contribuiu para a execução deste trabalho.

À todos os meus amigos “das antigas”, companhia para qualquer hora, que de uma forma ou de outra contribuíram em vários momentos de descontração e boas risadas.

A special thanks goes to my advisor and mentor, Dr. Richard Michael Grazul, for accepting me as his student and fostering my strong interest in analytical equipment. He has not only given me support and orienting my research, but he has also shared his life experiences to encourage me in pursuing a promising career. I will be forever grateful to him for his guidance, friendship and for all the bands that he brought up throughout my M.Sc. studies. It has been a privilege and honor of mine to be his student.

À todos os colegas do NUPEQ, e aos alunos de iniciação científica pela colaboração para a execução deste projeto.

RESUMO

Atualmente, podemos encontrar facilmente as mais diversas informações sobre uma determinada planta medicinal, mas que carecem de fundamentos científicos, tornando assim seu uso um potencial risco a saúde. Em geral, as conclusões sobre segurança e eficácia são baseadas em avaliações precárias do uso popular. Portanto, existe a necessidade de que profissionais qualificados possam, além de acessar tais informações, analisá-las criticamente para disponibilizá-las de forma que sejam facilmente compreendidas, não só por profissionais da área, mas também pelos usuários destas plantas. Um exemplo destas plantas consagradas na medicina popular, mas sem nenhum estudo fitoquímico descrito na literatura, é a *Struthanthus flexicaulis*, conhecida popularmente como erva-de-passarinho. Esta planta tem sido usada para o tratamento de inúmeras enfermidades como febre, desordens respiratórias e pulmonares, erupções e feridas na pele, contra leucorréia, bronquite e tumores diversos.

Do extrato hexânico bruto das folhas de *S. flexicaulis* foram identificados, por CG/EM, 125 compostos sem relatos na literatura para este gênero. Os compostos químicos presentes nas frações foram agrupadas em sete subdivisões químicas, a saber: alcanos, álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, cetonas, terpenóides e outros sendo que, dentro da subdivisão outros incluímos os epóxidos, as furanonas e as amidas. Dentre estas sete subdivisões criadas, a que se destacou na maioria das 15 frações obtidas em 3 colunas cromatográficas foram os triterpenos.

Logo, diante da contribuição das plantas superiores para o desenvolvimento, de forma direta ou indireta, de quimioterápicos a partir de seus metabólitos secundários, o estudo com a espécie *S. flexicaulis* abre espaço para a continuação deste trabalho em busca da atividade biológica das substâncias identificadas e suas aplicações, tendo em vista o seu uso popular e o fato de ser uma espécie medicinal sem estudo.

Palavras-chave: *Struthanthus flexicaulis*, CG/EM, Quimiotaxonomia.

ABSTRACT

Currently, we can easily find the most diverse informations about a particular medicinal plant, but these informations frequently lack a scientific basis, thus making its use a potential health risk. In general, the conclusions on safety and efficacy evaluations are based on popular use. Therefore, there is a need for qualified professionals to, in addition to access such information, analyze then critically to make then available in ways that are easily understood, not only for professionals but also by users of these plants. An example of one of these plants enshrined in folk medicine, but without any phytochemical study described in the literature, is *Struthanthus flexicaulis*, popularly known as erva-de passarinho. This plant has been used to treat numerous ailments such as fever, respiratory disorders and lung, skin rashes and sores, against leucorrhoea, bronchitis and various tumors.

The analysis of the crude hexane extract of the leaves of *S. flexicaulis* resulted in the identification by GC/MS of 125 compounds with no previous reports in the literature for this species. The chemical compounds present in the fractions were grouped into seven chemical subdivisions, namely: alkanes, alcohols, aldehydes, carboxylic acids, ketones, terpenes. "Others" were further subdivided to include epoxides, furanones and amides. Among the seven subdivisions created, what stood out most of the 15 fractions obtained from the three chromatographic columns were triterpenes.

The identification of secondary metabolites in *S. flexicaulis* opens space for the continuation of this work in search of the biological activity of the identified substances and their applications, in view of its popular use and the fact that it is a medicinal species without previous detailed study.

Keywords: *Struthanthus flexicaulis*, GC/MS, Chemotaxonomy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição biogeográfica da família Loranthaceae.	17
Figura 2 - Estrutura dos constituintes isolados da espécie <i>Scurrula atropurpurea</i>	18
Figura 3 - Estrutura da quercetina, 4- <i>O</i> -acetil-quercitrina, catequin-4- β -ol e do perseitol isolados da <i>Ligaria cuneifolia</i>	19
Figura 4 - Haustórios, raízes modificadas das plantas do gênero <i>Struthanthus</i>	23
Figura 5 - Fluxograma da preparação dos extratos a partir das folhas secas de <i>S. flexicaulis</i>	27
Figura 6 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F0.	32
Figura 7 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F9.	33
Figura 8 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F11.	33
Figura 9 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F12.	34
Figura 10 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1-F13.	34
Figura 11 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F1.	35
Figura 12 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F2.	35
Figura 13 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F3.	36
Figura 14 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F4.	36
Figura 15 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F4.	37
Figura 16 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3-F1.	37
Figura 17 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F2.	38
Figura 18 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F3.	38
Figura 19 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F4.	39
Figura 20 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F5.	39
Figura 21 - Estrutura básica de alguns carotenóides.	43
Figura 22 - Etapas da biossíntese para a formação da chalcona intermediária básica C15, da qual todos os flavonóides são formados.	45
Figura 23 - Modelo de estrutura de taninos hidrolisáveis.	46
Figura 24 - Modelo de estrutura dos taninos condensados.	47
Figura 25 - Rota sintética simplificada de ácidos graxos de cadeia longa.	49
Figura 26 - Três vias biossintéticas primárias das ceras.	50
Figura 27 - Estruturas de alguns triterpenos comumente encontrados no reino vegetal.	52

Figura 28 - Espectro de absorção no UV-Vis da fração C1F7 (solvente: clorofórmio 100%).	56
Figura 29 - Cromatograma da fração C1F0.	57
Figura 30 - Espectros de massas do <i>n</i> -dotriacontano. (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F0. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.	58
Figura 31 - Espectro no IV da fração C1F0.	61
Figura 32 - Espectro de RMN de ¹ H da fração C1F0.	62
Figura 33 - Espectro de RMN de ¹³ C da fração C1F0.	63
Figura 34 - Fórmulas estruturais de alguns hidrocarbonetos encontrados na fração C1F0.	64
Figura 35 - Cromatograma da fração C1F0 com energia de ionização de 40 eV.	65
Figura 36 - Espectros de massas do <i>n</i> -tetrapentacontano com energia de ionização de 40eV (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F0. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.	65
Figura 37 - Espectros de massas do <i>n</i> -nonanal. (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F12. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.	66
Figura 38 - Fórmulas estruturais de alguns aldeídos encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i> .	68
Figura 39 - Espectros de massas do ácido hexadecanóico. (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F12. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.	69
Figura 40 - Fórmulas estruturais de alguns ácidos e ésteres encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i> .	71
Figura 41 - Espectros de massas do fitol (3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol). (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F12. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.	73
Figura 42 - Fórmulas estruturais de alguns álcoois encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i> .	74
Figura 43 - Espectros de massas do acetato de α -amirina (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F9. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.	75
Figura 44 - Fórmulas estruturais de alguns terpenos encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i> .	77
Figura 45 - Fórmulas estruturais de algumas substâncias enquadradas dentro da subdivisão outros.	80

Figura 46-Espectros de massas de uma substância desconhecida e inserida dentro da subdivisão outros. (A) Espectro de massas obtido da amostra C3F5. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento. 81

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Proposta de formação dos fragmentos m/z 44 e 57 a partir do <i>n</i> -nonanal.	67
Esquema 2 - Proposta de formação dos fragmentos m/z 60 e 73 a partir do ácido hexadecanóico.	70
Esquema 3 - Fragmentação tipo reação <i>retro</i> -Diels-Alder do composto acetato de α -amirina.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classes químicas, as soluções reveladoras e as respectivas visualizações do extrato hexânico bruto de <i>S. flexicaulis</i>	24
Tabela 2 - Dados da primeira separação cromatográfica do extrato hexânico bruto.....	28
Tabela 3 - Dados da cromatografia em coluna da fração C1F9.	29
Tabela 4 - Dados da cromatografia em coluna da fração C2F4.	29
Tabela 5 - Compostos identificados via CG/EM no extrato hexânico das folhas de <i>S. flexicaulis</i> seus respectivos T_r e número CAS.....	40
Tabela 6 - Impurezas encontradas nas amostras e as suas possíveis fontes.	54
Tabela 7 - Constituintes químicos presentes na fração C1F0 obtidos via a biblioteca <i>NIST</i> 8.0 da CG/EM.	59
Tabela 8 - Classificação dos constituintes químicos presentes na fração C1F0 baseando-se no índice de retenção de Kováts.....	59
Tabela 9 - Relação dos hidrocarbonetos encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	63
Tabela 10 - Relação dos aldeídos e cetonas encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	67
Tabela 11 - Relação dos ácidos carboxílicos e ésteres encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	70
Tabela 12 - Relação dos ésteres metílicos, derivatizados com metóxido de sódio na cera cuticular de <i>S. flexicaulis</i>	72
Tabela 13 - Relação dos ésteres metílicos, derivatizados com ácido sulfúrico na cera cuticular de <i>S. flexicaulis</i>	72
Tabela 14 - Relação dos álcoois encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	73
Tabela 15 - Relação dos terpenos encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	76
Tabela 16 - Relação das amidas encontradas na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	78
Tabela 17 - Relação das furanonas encontradas na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	78
Tabela 18 - Relação dos epóxidos encontrados na fração hexânica das folhas de <i>S. flexicaulis</i>	79

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A -Dados brutos obtidos da fração C1FO por CG/EM:	93
Apêndice B -Dados brutos obtidos da fração C1F9 por CG/EM:	94
Apêndice C -Dados brutos obtidos da fração C1F11 por CG/EM:	94
Apêndice D -Dados brutos obtidos da fração C1F12 por CG/EM:	96
Apêndice E -Dados brutos obtidos da fração C1F13 por CG/EM:	97
Apêndice F -Dados brutos obtidos da fração C2F1 por CG/EM:.....	98
Apêndice G -Dados brutos obtidos da fração C2F2 por CG/EM.....	100
Apêndice H -Dados brutos obtidos da fração C2F3 por CG/EM:.....	101
Apêndice I -Dados brutos obtidos da fração C2F4 por CG/EM:	102
Apêndice J -Dados brutos obtidos da fração C2F5 por CG/EM:	103
Apêndice K -Dados brutos obtidos da fração C3F1 por CG/EM:	104
Apêndice L -Dados brutos obtidos da fração C3F2 por CG/EM:	105
Apêndice M -Dados brutos obtidos da fração C3F3 por CG/EM:	106
Apêndice N -Dados brutos obtidos da fração C3F4 por CG/EM:	107
Apêndice O -Dados brutos obtidos da fração C3F5 por CG/EM:.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

CAS	<i>Chemical Abstracts service</i>
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG/EM	Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas
CLAE/UV	Cromatografia Líquida Alta Eficiência/Ultra-Violeta
E.H.	Extrato Hexânico
eV	Elétron Volts
IV	Infravermelho
min.	Minutos
<i>NIST</i>	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
P.A.	Para Análise
pH	Potencial Hidrogeniônico
PMA	Ácido Fosfomolíbico
R _f	Fator de Retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
T _r	Tempo de retenção
UV-Vis.	Ultravioleta-Visível
u.m.a.	Unidade de massa atômica
$\lambda_{\text{máx.}}$	Comprimento de onda máximo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 A FAMÍLIA LORANTHACEAE.	15
1.2 IMPACTOS AMBIENTAIS DAS ERVAS-DE-PASSARINHO.	17
1.3 ESTUDOS FITOQUÍMICOS DAS ERVAS-DE-PASSARINHO.	17
1.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS ERVAS-DE-PASSARINHO.	19
1.5 O GÊNERO <i>STRUTHANTHUS</i>	20
1.6 A ESPÉCIE <i>STRUTHANTHUS FLEXICAULIS</i>	23
2. JUSTIFICATIVA	24
3. OBJETIVOS	24
4. PARTE EXPERIMENTAL	25
4.1 INSTRUMENTOS E MATERIAIS	25
4.2 MATERIAL VEGETAL.	26
4.2.1 Coleta e identificação.	26
4.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.	26
4.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO HEXÂNICO DAS FOLHAS DE <i>S. FLEXICAULIS</i>	27
4.5 REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO DA CERA CUTICULAR COM H ₂ SO ₄ / MeOH.	30
4.6 REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO DA CERA CUTICULAR COM NaOMe.	30
4.7 METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE TANINOS.	30
5. RESULTADOS	31
6. COMPOSTOS ENCONTRADOS NO EXTRATO HEXÂNICO DAS FOLHAS DE <i>S. FLEXICAULIS</i>	43
6.1 CAROTENÓIDES.	43
6.2 FLAVONÓIDES.	44

6.2.1 Biossíntese dos flavonóides.....	44
6.2.2 Classificação e propriedades biológicas dos taninos.....	45
6.3 CERAS.....	48
6.3.1 Composição das ceras.....	49
6.3.2 Síntese <i>de novo</i> e alongamento de ácido graxo de cadeia longa.....	49
6.3.3 Vias biossintéticas das ceras.....	50
6.4 TRITERPENOS	52
7. DISCUSSÃO	53
7.1 IMPUREZAS ENCONTRADAS NAS AMOSTRAS.....	54
7.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DETECTADOS NO EXTRATO HEXÂNICO DAS FOLHAS DE <i>S. FLEXICAULIS</i> POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.....	55
7.2.1 Carotenóides.....	55
7.2.2 Taninos.....	56
7.2.3 Alcanos.....	56
7.2.4 Aldeídos e cetonas.....	66
7.2.5 Ácidos carboxílicos e ésteres.....	68
7.2.6 Álcoois.....	72
7.2.7 Triterpenos.....	75
7.2.8 Outros.....	77
8. CONCLUSÕES.....	81
9. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	82
REFERÊNCIAS	83
APÊNDICES.....	92

1. INTRODUÇÃO

O uso dos produtos naturais, em especial os oriundos das plantas medicinais para promover o alívio de doenças, é reconhecido por mais de cinco milênios em várias civilizações. Com o decorrer dos anos, o estudo destes produtos tem contribuído para o desenvolvimento de diversos fármacos, com aplicações terapêuticas utilizadas na medicina moderna, dos quais, aproximadamente 25 % são derivados direta ou indiretamente de plantas superiores¹.

Historicamente, o desenvolvimento da química orgânica ocorreu paralelo ao estudo das plantas, principalmente a partir do século 19, quando foram registradas as primeiras investigações, com base científica, sobre os vegetais.

Já século XX, com o surgimento dos antibióticos produzidos por fermentação microbiana aliada ao desenvolvimento de fármacos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica, logo depois da segunda guerra mundial, foram causas do declínio do uso de plantas medicinais e conseqüentemente, no investimento em fármacos de origem vegetal. Nas últimas décadas, uma mudança nos valores das sociedades ocidentais fez com que as plantas medicinais passassem novamente a ocupar papel de destaque por grandes contingentes das populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento². É válido destacar que no período compreendido entre 1983 e 1994, muito dos medicamentos de origem natural aprovados para o tratamento do câncer foram substâncias provenientes do metabolismo de vegetais superiores².

1.1 A FAMÍLIA LORANTHACEAE.

Esta família, esta inclusa na ordem Santalales, a qual engloba outras cinco famílias: Balanophoraceae, Eremolepdaceae, Olacaceae, Opiliaceae e Viscaceae. Todas as plantas pertencentes as famílias descritas anteriormente parasitam galhos de árvores ou arbustos e, de acordo com o grau de dependência nutricional, são classificadas como hemiparasitas ou holoparasitas por atuarem nos sistemas condutores de seiva do hospedeiro: xilema e floema, respectivamente³.

A maioria das espécies na ordem Santanales ocorre na família Loranthaceae, correspondendo cerca de 900 espécies das 1436 existentes, compreendidas em 74 dos 89 gêneros. A segunda maior família é a Viscaceae, embora com apenas sete gêneros, engloba 480 espécies que estão distribuídas, em maioria, dentro dos gêneros *Phoradendron* e *Viscum*⁴.

Grande parte destas plantas possui em suas sementes uma substância chamada de visco que a permite fixar-se na planta hospedeira, após serem ingeridas e secretadas por pássaros, exceto as sementes dos gêneros *Nuytsia* e *Misodendrum* que são dispersas pelo vento. Pelo fato dos pássaros serem os agentes disseminadores das sementes das duas maiores famílias, Loranthaceae e Viscaceae, estas plantas são conhecidas popularmente como ervas-de-passarinho⁴.

A ordem Santalales possui uma grande distribuição biogeográfica sendo encontrada tanto regiões tropicais quanto de clima temperado. Na Europa, o gênero *Viscum* e, na América do Norte, o gênero *Phoradendron*, ambos da família Viscaceae, representam a maioria das plantas parasitas, enquanto que a família Loranthaceae distribui-se pelos trópicos: Malásia, Austrália e América do Sul⁴, logo, apresenta-se pouco abundante em regiões temperadas⁴.

No Brasil, as espécies da família Loranthaceae são encontradas numa área muito abrangente, como por exemplo, nas Florestas Pluviais: Amazônica, Atlântica e pelas regiões mais secas do país, Central e Nordeste⁵. Na figura seguinte (Figura 1), é mostrada a distribuição biogeográfica desta família no globo terrestre.

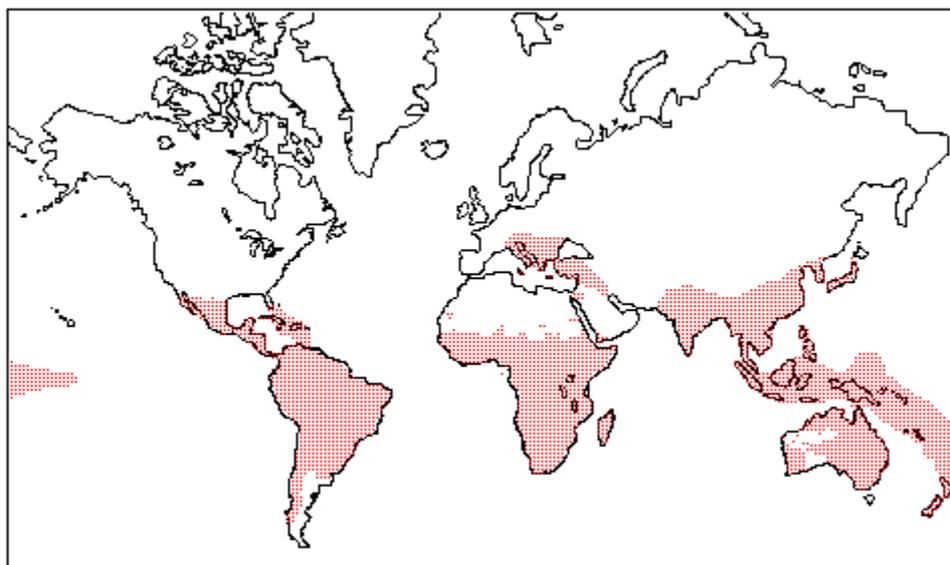


Figura 1 - Distribuição biogeográfica da família Loranthaceae.

1.2 IMPACTOS AMBIENTAIS DAS ERVAS-DE-PASSARINHO.

A espécie *Viscum album* (Viscaceae) encontrada na Europa, Ásia e América do Norte, abrange uma lista de plantas hospedeiras representadas por 452 espécies. Logo, as ervas-de-passarinho, causam impactos ambientais negativos devido ao parasitismo de plantas com interesse comercial⁵. Na floresta de pinheiros do monte Parnis, na Grécia, 67,67% das árvores mais antigas foram infectadas por *V. album* a qual tem ocasionado simultaneamente com a baixa precipitação pluvial, a redução do vigor e a predisposição destas árvores ao ataque de besouros, resultando na grande mortalidade dos pinheiros⁶.

1.3 ESTUDOS FITOQUÍMICOS DAS ERVAS-DE-PASSARINHO.

Os estudos fitoquímicas com espécies da família Loranthaceae foram iniciados após estudos com os extratos de *Viscum album* (Viscaceae), espécie amplamente encontrada na Europa e muito usada na medicina popular no tratamento do câncer. Dentre as substâncias presentes nesta espécie, descritas na literatura, relacionadas com a redução de tumores podemos citar: lectinas, viscotoxinas, proteínas, peptídeos, oligossacarídeos, alcalóides, e compostos polifenóis⁷. A presença de flavonóides e proantocianidinas na família Loranthaceae⁸ e outros constituintes como flavonas, lignanas e monoterpenos glicosilados⁹, chamou a atenção dos pesquisadores para o

estudo fitoquímico dos extratos e das frações de algumas espécies desta família endêmicas e de uso medicinal local.

Da espécie *Scurrula atropurpurea*, uma planta parasita de *Camellia sinensis*, foram isolados alguns ácidos graxos: ácidos linoléico e oléico; xantonas: cafeína e teobromina; flavonóides glicosilados: quercitrina e rutina; o monoterpene glicosilado icarisida B; a lignina glicosilada aviculina e flavonas: catequinas e epicatequinas, representados na figura 2¹⁰.

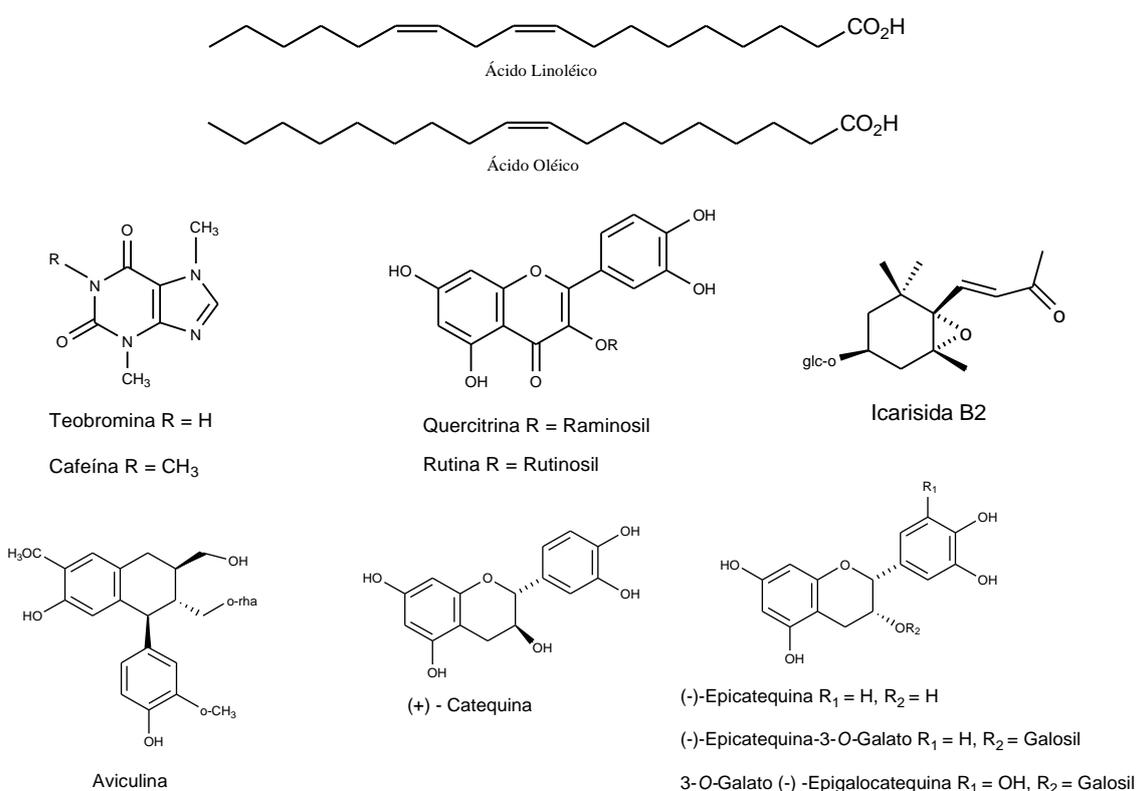


Figura 2 - Estrutura dos constituintes isolados da espécie *Scurrula atropurpurea*.

A partir de outras espécies deste gênero, comuns na Indonésia como a *Scurrula fusca*, cuja planta hospedeira é *Ficus riedelii*, foi isolado de suas folhas o perseitol (Figura 3)¹⁴. Também foram isolados os flavonóides quercetina e 4-O-acetil-quercitrina (Figura 3) além da quercitrina oriunda da fração de acetato de etila da espécie *Scurrula ferruginea*¹¹.

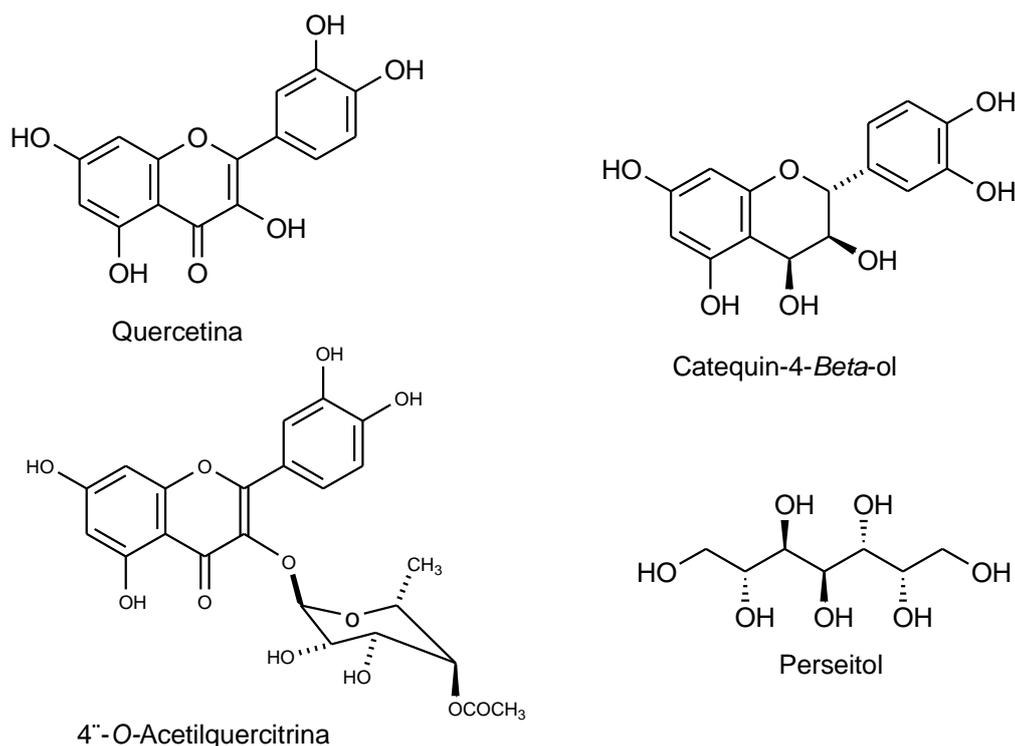


Figura 3 - Estrutura da quercetina, 4-*O*-acetil-quercitrina, catequin-4- β -ol e do perseitol isolados da *Ligaria cuneifolia*.

1.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS ERVAS-DE-PASSARINHO.

Em relação ao uso terapêutico das plantas, as ervas-de-passarinho têm sido consideradas, popularmente, como tônico cardíaco administrado durante a febre tifóide, como narcótico e antiplasmódico. Na França, em 1682, foi consagrada como remédio doméstico de grande poder curativo nos casos de epilepsia. Muito utilizada para o tratamento de convulsões epilépticas, estas plantas parasitas têm sido empregadas no tratamento de outros tipos de desordens do sistema nervoso como delírios, histerias, neuralgias, além de desordem urinária e de doenças cardíacas. Também têm sido usadas para deter hemorragias internas¹².

O extrato de *V. album* tem sido utilizado popularmente por décadas, na Europa, contra uma variedade de doenças como artrites, reumatismo e hipertensão, além do uso no tratamento de tumores epiteliais em humanos¹³. Este extrato tem sido utilizado no tratamento tanto de tumor benigno como maligno especialmente na Alemanha, após o discurso do filósofo austríaco Rudolf Steiner (1861-1925) e do físico Ita Wegman

(1876-1943), indicando o uso do extrato de *Viscum* como uma droga natural anticâncer em 1920^{14,15}.

A partir de 1926, elaborações de extratos de ervas-de-passarinho têm sido utilizadas clinicamente como adjuvantes na terapia do câncer e inúmeros estudos vêm sendo realizados desde então. O mecanismo de ação da atividade antitumoral desta planta deve-se não somente à inibição da proliferação celular, mas também por indução de citoquinas e efeitos imunoadjuvantes, como atividade imunomoduladora¹⁶.

Dentre as espécies desta família, a *Ligaria cuneifolia* é usada popularmente na Argentina como substituinte da *V. album* para o controle da pressão sanguínea. Pesquisas realizadas com os extratos de *L. cuneifolia* também sugerem que esta planta seja capaz de exercer efeitos imunomodulador em ratos, devido à estimulação da produção de óxido nítrico em culturas de macrófagos e à inibição da proliferação tanto das células do baço tratadas com agentes mitogênicos (concanavalina A e polissacarídeos), quanto da linhagem de leucemia linfóide¹³.

Na Indonésia, o gênero *Scurrula*, tem sido usado como infusão em fadigas e em patologias de câncer. Estudos prévios com a espécie *Scurrula ferruginea* revelou a presença de flavonóides como a quercetina, quercitrina e o 4-*O*-acetil-quercitrina, um possível marcador específico do gênero *Scurrula*, todos com potente atividade citotóxica frente a distintas linhagens de câncer humano como a leucemia K562 e o glioblastoma U-251¹¹.

Para os mexicanos, a espécie *Psittacanthus calyculatus*, conhecida no vernáculo como “muérdago verdadeiro”, é usada na medicina popular para o tratamento de hipertensão arterial. Estudos farmacológicos da resposta vasomotora da artéria aorta de ratos revelou que o extrato hidroalcolico desta planta induz a liberação de componentes vasoconstrictores e a síntese/liberação de óxido nítrico no tecido endotelial¹⁷.

1.5 O GÊNERO *STRUTHANTHUS*.

Em meio aos 74 gêneros de erva-de-passarinho descritos na família Loranthaceae, o gênero *Struthanthus* possui cerca de 60 espécies próprias da América tropical, a

grande maioria situada na América do Sul e, em particular, no Brasil representado com 40 espécies próprias⁹.

Este gênero neotropical representado pelas espécies *S. cansjerifolius*, *S. costaricensis*, *S. leptostachyus*, *S. oerstedii*, *S. orbicularis*, entre outras, é bastante difundido no Brasil, nos seguintes Estados: Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Bahia. Principalmente a espécie *S. vulgaris*, planta própria das regiões de mata pluvial, apreciadora de temperaturas amenas é muito comum no sul e nas serras do leste⁹.

Na medicina popular, em diferentes países, espécies do gênero *Struthanthus* são usadas no tratamento de várias enfermidades, por exemplo, na Nicarágua *S. cassythoide* é indicada para dor em geral, febre, desordens respiratórias e pulmonares, erupção e feridas na pele¹⁸. A espécie originária do Brasil e América Tropical, *S. flexicaulis*, possui atividades medicinais como energético e também é usada para o tratamento de leucorréia, bronquite e diversos tumores¹⁹.

Uma das ervas-de-passarinho mais comuns, parasitando árvores ornamentais e pomares, como laranjeiras e goiabeiras no país, usada na medicina popular nas infecções das vias respiratórias, é a espécie *S. vulgaris* cujo extrato hidroalcolico a 70% das folhas secas tem apresentado atividade antimicrobiana frente amostras de bactérias Gram positivas e Gram negativas¹⁹.

O site www.plantamed.com.br²⁰ sugere as folhas frescas de *S. flexicaulis* para o tratamento das seguintes enfermidades: “afecção respiratória, bronquite, doença do útero, dor no peito, hemoptise, hemorragia, pleurisia, pneumonia, pontada” [*sic*], mas não cita referências. Rodrigues e Carvalho citam o uso de *S. flexicaulis* no tratamento de blenorria, bronquite e pneumonia²¹.

Em 1993, Salatino e colaboradores publicaram um estudo sobre as concentrações de taninos encontradas em *S. vulgaris* nas várias partes da planta em diversas fases de crescimento²². A identificação de outros constituintes, além de taninos, não foi descrita.

Pereira e Felcman pesquisaram os teores de silício, manganês, ferro, cobre e zinco nas folhas de *S. marginatus* numa tentativa de vincular os teores de elementos traços aos poderes curativos de várias plantas coletadas em Nova Friburgo, RJ²³.

Otero e Núñez, em colaboração com Jiménez, descrevem numa série de publicações o uso de extratos de *S. orbicularis* no tratamento de picadas de cobras. Foi

possível demonstrar *in vitro*, que 25 µg do extrato são capazes de neutralizar ou reduzir em 65% a formação de edemas causados pelo veneno da espécie *Bothrops asper*, conhecida no vernáculo como jararaca, com um tempo de coagulação inferior a 100 segundos. Os mesmos pesquisadores também estudaram o efeito deste extrato bruto sobre a coagulação e hemorragia induzidas pelo veneno de outras cobras do gênero *Bothrops*. Estes resultados apontam possíveis atividades anti-inflamatórias ou efeitos sobre os sistemas imunológico e hematológico^{24,25,26}.

Lorenzana-Jiménez e colaboradores publicaram uma série de trabalhos, de conteúdo similar, sobre estudos *in vivo* com extratos metanólicos de *S. venetus* em 2006 nos quais os efeitos sobre o sistema cardiovascular em ratos e na musculatura aórtica de cobaias foram investigados^{27,28}. Foi observada a influência do extrato sobre a pressão arterial. Os efeitos observados foram dependentes da dose administrada e puderam ser revertidos pela administração anterior de propranolol, o que indica a possibilidade da mediação dos efeitos do extrato metanólico através dos receptores β-adrenérgicos.

Uma baixa atividade antibacteriana do extrato metanólico de *S. flexicaulis* contra *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 foi relatada por Oliveira e colaboradores²⁹, embora nenhuma substância de referência tenha sido empregada na medição dos halos de inibição, o que impede chegar a conclusões sobre a potência relativa do extrato.

Vieira e colaboradores³⁰ utilizaram em seus trabalhos um extrato hidroetanólico a 70% de folhas frescas de *S. vulgaris*. O extrato apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e Gram negativas. A fração que apresentou maior atividade contra bactéria Gram positiva (*Bacillus cereus*) e Gram negativa (*Pseudomonas aeruginosa*) foi àquela obtida com *n*-butanol. Nessa fração foram detectados flavonóides, taninos condensados (proantocianidinas) e saponinas.

Diante do uso etnofarmacológico das ervas-de-passarinho, principalmente na Europa, e dos estudos fitoquímicos citados na literatura, evidenciando algumas substâncias presentes nestas plantas hemiparasitas como relevantes agentes quimioterápicos para o tratamento de várias doenças, incluindo o câncer; como também a abundância da ocorrência do gênero *Struthanthus* nas regiões tropicais, sobre tudo no Brasil, esta dissertação de mestrado enfocou a espécie *Struthanthus flexicaulis* amplamente disseminada no estado de Minas Gerais e pouco referenciada na literatura.

1.6 A ESPÉCIE *STRUTHANTHUS FLEXICAULIS*.

Semelhante às outras espécies deste gênero, principalmente a *S. vulgaris*, a hemiparasita *S. flexicaulis* é uma planta que habita as partes aéreas de outros vegetais hospedeiros e os parasitam parcialmente, através de uma ou mais raízes modificadas fisiológica e morfológicamente chamadas de haustórios (Figura 4). Ou seja, as raízes especiais desta espécie retiram água e sais minerais diretamente do hospedeiro, embora esta planta seja capaz de realizar fotossíntese⁶.



Figura 4 - Haustórios, raízes modificadas das plantas do gênero *Struthanthus*.

Em relação à espécie *S. flexicaulis* não existem estudos fitoquímicos, quimiotaxônomicos ou farmacológicos descritos na literatura.

Neste sentido, nossos próprios trabalhos, ainda não publicados, revelaram a presença de compostos como terpenos, alcaloides, lipídeos, esteróides, taninos e flavonóides, além de mais de 50 compostos diferentes nos extratos de acetato de etila e diclorometano³¹. Foram também realizados testes de atividades antimicrobianas com as seguintes bactérias: *Staphylococcus aureus* (SA), *Bacillus cereus* (BC), *Shigella sonnei* (SS), *Salmonella typhimurium* (ST), *Escherichia coli* (EC) e *Klebsiella pneumoniae* (KP). Relatou-se que algumas frações investigadas demonstraram atividade antibacteriana. Vale destacar que aquelas oriundas da extração com acetato de etila inibiam o crescimento com bactérias Gram positivas de uma forma moderada³².

No extrato hexânico constatou-se a presença de classes químicas como esteróides, lipídeos e terpenos como pode ser visto na Tabela 1. Estas classes puderam ser evidenciadas através de reações cromogênicas que indicam sua presença ou ausência no extrato hexânico analisado com os reagentes citados.

Tabela 1 - Classes químicas, as soluções reveladoras e as respectivas visualizações do extrato hexânico bruto de *S. flexicaulis*.

Classe Química	Solução Reveladora	Observação ou Visualização
Carotenóides e clorofilas	UV-visível	(+) Manchas laranja e verde.
Lipídeos e Esteróides	PMA	(+) Manchas azuis
Lipídeos	Rodamina B	(+) Manchas violetas
Esteróides e Terpenos	Anisaldeído	(+) Manchas verdes forte
Alcalóides	Dragendorff	(-)
Flavonóides	Acetato de chumbo	(-)

2. JUSTIFICATIVA

A utilização de extratos de ervas-de-passarinho, principalmente da espécie *Viscum album* (Viscaceae), para o tratamento de diversas doenças, especialmente contra o câncer é conhecido por mais de 80 anos na Europa³³. Estudos recentes atribuem importantes propriedades anticancerígenas a esta espécie, o que tem conduzido as pesquisas mais recentes aos estudos químicos e biológicos de outras plantas parasitas³⁴.

Diante deste contexto observou-se a inexistência de trabalhos publicados relatando o isolamento e a caracterização de substâncias puras a partir da espécie tropical *S. flexicaulis*. Neste sentido, dada à escassez de trabalhos sobre os constituintes químicos e, conseqüentemente, da quimiotaxonomia da espécie supramencionada, constatamos a necessidade de estudos mais minuciosos para identificar conclusivamente as substâncias presente nos extratos.

3. OBJETIVOS

Portanto, os principais objetivos deste trabalho foram:

1. Obtenção do extrato hexânico bruto.
2. Fracionamento do extrato hexânico bruto baseado na sua polaridade por cromatografia.

3. Análise qualitativa por técnicas espectroscópicas tais como, CG/EM, IV, RMN e UV, das frações obtidas a partir do extrato hexânico bruto das folhas de *S. flexicaulis*.

Desta forma, pode-se contribuir para o aumento do conhecimento sobre a composição química de uma espécie vegetal pertencente ao bioma regional.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 INSTRUMENTOS E MATERIAIS

O espectro na região do UV-Visível foi obtidos em aparelho SHIMADZU-UV-1800 no Departamento de Química, ICE, UFJF.

O espectro na região do infravermelho foi adquirido em espectrômetro BOMEM-FT-IR MB-102 no Departamento de Química, ICE, UFJF. Foi utilizado pastilha de KBr como matriz.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram obtidos através do aparelho BRUKER ADVANCE ACX300 (300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C) no Departamento de Química, ICE, UFJF. Foi utilizado CDCl_3 como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

As análises de cromatografia gasosa foram realizadas em aparelho SHIMADZU GC/MS – QP 2010 PLUS, utilizando-se coluna capilar Rtx[®]-5ms (Crossband[®] 5% difenil / 95% polisiloxano) e hélio como gás de arraste. As seguintes condições foram empregadas para todas as análises: modo *Split* (*Split Ratio*: 1:6); volume da injeção: 1 μL ; fluxo total: 6,6 mL/min; temperatura da injetora: 290°C; programação do forno: 80°C durante 5 min. e então aquecido até 290°C (4°C/min) permanecendo por 40 min. a 290°C. O detector de massas foi programado para varredura de 30 a 600 unidades de massa atômica e as amostras foram bombardeadas com um feixe de elétrons de 70 eV.

O acompanhamento do fracionamento do extrato foi realizado por CCD em cromatofolhas com sílica gel Merck suportada em placa de alumínio contendo indicador de fluorescência F₂₅₄. Como reveladores foram utilizados lâmpada de ultravioleta e solução etanólica de ácido fosfomolibdico (PMA) 5 – 10% m/v.

A cromatografia em coluna foi executada utilizando coluna cromatográfica *flash* no aparelho BUCHI C-605 com PUMP MANAGER C-615 com sílica gel 60 (0,04 – 0,063 mm) (230-400 mesh) VETEC.

Nas purificações foram utilizados solventes P.A. da VETEC, PROQUIMIOS e ISOFAR. Todos os solventes foram destilados antes do uso.

4.2 MATERIAL VEGETAL.

4.2.1 Coleta e identificação.

As partes aéreas de *S. flexicaulis* foram coletadas na Avenida Presidente Costa e Silva no Bairro São Pedro no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, em agosto de 2011. Uma exsicata número CESJ 43665 foi depositada e identificada pela Profa. Dra. Fátima Regina Gonçalves Salimena no Herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora.

4.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.

As folhas foram secas à temperatura ambiente durante 15 dias e posteriormente pulverizadas rendendo uma massa de 423,75 g. O produto assim obtido foi extraído três vezes com 1 litro de etanol grau P.A. durante três dias a temperatura ambiente num béquer de 5 L. A solução etanólica obtida foi evaporada em um evaporador rotativo, sob pressão reduzida numa temperatura $\leq 50^{\circ}\text{C}$, fornecendo 70,81 g de extrato bruto etanólico das folhas.

O extrato foi solubilizado em 400 mL de EtOH morno, que, em seguida, foi particionado num béquer de 5L, com agitação magnética, utilizando-se 500 mL hexano e 500 mL HCl 1% v/v, com um pH inicial de 1. Após a separação das fases, a fase aquosa foi extraída mais cinco vezes com 250 mL de hexano e as soluções resultantes combinadas, secas com Na_2SO_4 e evaporadas, obtendo-se 10,80g (15% de rendimento) de um óleo verde.

A solução hidroalcoólica remanescente foi novamente extraída quatro vezes com 250 mL acetato de etila. As soluções foram reunidas, lavadas com uma solução saturada

de cloreto de sódio, secas com Na_2SO_4 e evaporadas, rendendo 3,28g (4,6% de rendimento) de um óleo verde. Conforme ilustra a Figura 5.

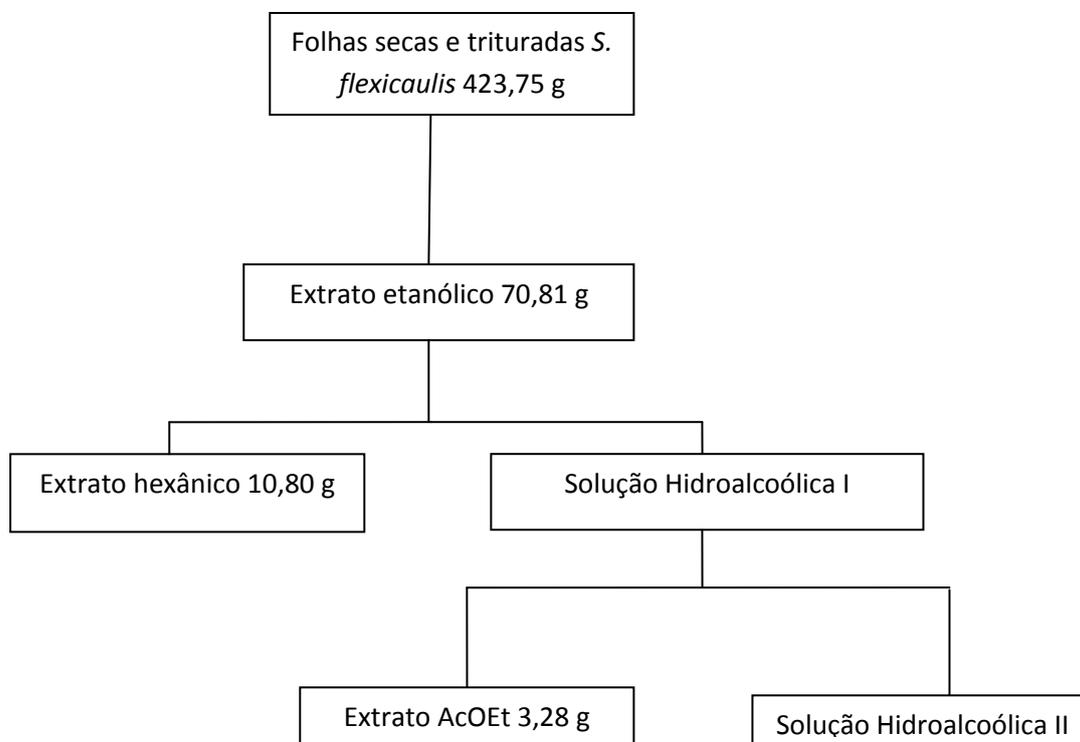


Figura 5 - Fluxograma da preparação dos extratos a partir das folhas secas de *S. flexicaulis*.

4.4 FRACIONAMENTO DO EXTRATO HEXÂNICO DAS FOLHAS DE *S. FLEXICAULIS*.

O método de separação utilizado para o fracionamento do extrato foi a cromatografia *flash* de acordo com o método descrito por Still *et al.*³⁵.

Ao extrato hexânico obtido a partir das folhas de *S. flexicaulis* foi atribuída à sigla E.H. (10,80 g). O E.H. foi submetido à coluna *flash* (60 mm de diâmetro; fluxo de 80 mL/min) e empacotada com sílica gel 60 (0,04 – 0,063 / 230 – 400 mesh) utilizando os eluentes hexano, clorofórmio e metanol nos seguintes gradientes: hexano 100%, clorofórmio 100%, clorofórmio/metanol 2%, 5% e 10%. Todas as frações coletadas do EH foram analisadas por cromatografia em camada delgada, utilizando como eluentes: hexano, clorofórmio e metanol.

A visualização dos constituintes químicos presentes foi realizada por inspeção sob lâmpada de luz UV em 254 nm e por reações cromogênicas com PMA. As frações de número 11 até 40 foram analisadas por espectroscopia na região do UV-Vísivel (dados não apresentados). No total, foram coletadas 76 frações de 70 mL cada e as frações que apresentavam perfis cromatográficos semelhantes, de acordo com o R_f e o espectro UV-Visível, foram combinadas em 14 novas frações conforme pode ser visto na tabela 2 onde são apresentados em detalhes os dados obtidos da primeira separação cromatográfica (coluna I).

Tabela 2 - Dados da primeira separação cromatográfica do extrato hexânico bruto.

COLUNA I				
Frações reunidas	Denominação	Massa (g)	Eluente (%)	Aspecto
1-10	C1F0	0,2626	Hexano 100%	sólido branco cristalino
11-12	C1F1	0,2175	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
13	C1F2	0,5392	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
14-16	C1F3	0,3821	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
17	C1F4	0,0530	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
18-21	C1F5	0,4144	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
22-28	C1F6	1,5631	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
29-33	C1F7	0,3334	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
34-40	C1F8	0,0005	CHCl ₃ 100%	óleo amarelo/alaranjado
41-45	C1F9	4,3482	CHCl ₃ /MeOH 2%	óleo verde
46-53	C1F10	0,0777	CHCl ₃ /MeOH 5%	óleo verde
54-69	C1F11	0,0799	CHCl ₃ /MeOH 10%	óleo verde
70-73	C1F12	0,0617	CHCl ₃ /MeOH 10%	óleo verde
74-76	C1F13	0,0634	CHCl ₃ /MeOH 10%	óleo verde

A fração C1F9, obtida em maior rendimento, foi submetida a um novo fracionamento utilizando coluna cromatográfica *flash* (46 mm de diâmetro; fluxo 100 mL/min.) empacotada com sílica gel 60 (0,04 – 0,063 / 230 – 400 mesh) e eluída com o sistema binário de solventes hexano: acetato de etila 9:1. Todas as frações coletadas foram analisadas em CCD, utilizando o mesmo sistema de solventes e a visualização dos constituintes químicos presentes foi realizada por inspeção sob lâmpada de luz UV em 254 nm e por reações cromogênicas com PMA. Foram coletadas 50 frações de 35 mL cada e as frações que apresentavam perfis cromatográficos semelhantes de acordo

com o R_f foram combinadas em 5 novas frações conforme pode ser visto na tabela 3 onde são apresentados em detalhes os dados obtidos da segunda separação cromatográfica (coluna II).

Tabela 3 - Dados da cromatografia em coluna da fração C1F9.

COLUNA II				
Frações reunidas	Denominação	Massa (g)	Eluente (%)	Aspecto
1-6	C2F1	0,0042	Hexano/ AcOEt 10%	óleo verde
7	C2F2	0,0072	Hexano/ AcOEt 10%	óleo verde
8-11	C2F3	0,0272	Hexano/ AcOEt 10%	óleo verde
12-20	C2F4	1,3602	Hexano/ AcOEt 10%	óleo verde
21-50	C2F5	0,0759	Hexano/ AcOEt 10%	óleo verde

Conforme pode ser visto, a fração C2F4, obtida em maior rendimento, foi submetida a uma terceira coluna cromatográfica *flash* (27 mm de diâmetro; fluxo 91 mL/min.) empacotada com sílica gel 60 (0,04 – 0,063 / 230 – 400 mesh) e eluída com o sistema binário de solventes diclorometano: hexano utilizando os gradientes 9:3, 9:2 e 9:1. Todas as frações coletadas foram analisadas em CCD, utilizando o mesmo sistema de solventes e a visualização dos constituintes químicos presentes foi realizada por inspeção sob lâmpada de luz UV em 254 nm e por reações cromogênicas com PMA. Foram coletadas 77 frações de 35 mL cada e as frações que apresentavam perfis cromatográficos semelhantes de acordo com o R_f foram combinadas em 5 novas frações conforme pode ser visto na tabela 4 onde são apresentados em detalhes os dados obtidos da terceira separação cromatográfica (coluna III).

Tabela 4 - Dados da cromatografia em coluna da fração C2F4.

COLUNA III				
Frações reunidas	Denominação	Massa (g)	Eluente (%)	Aspecto
1-2	C3F1	0,0242	CH ₂ Cl ₂ /Hexano 3%	óleo verde
3-17	C3F2	0,7187	CH ₂ Cl ₂ /Hexano 3%	óleo verde
18-59	C3F3	0,0225	CH ₂ Cl ₂ /Hexano 2%	óleo verde
60-66	C3F4	0,0018	CH ₂ Cl ₂ /Hexano 2%	óleo verde
67-77	C3F5	0,0227	CH ₂ Cl ₂ /Hexano 1%	óleo verde

4.5 REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO DA CERA CUTICULAR COM H₂SO₄/ MeOH.

A cera cuticular foi obtida através da imersão de 10 g de folhas frescas em 40 mL de hexano previamente destilado. O extrato resultante foi evaporado em evaporador rotatório rendendo uma massa de 33,4 mg.

Posteriormente, em um frasco de 1,5 mL contendo aproximadamente 10 mg de amostra, foram adicionados 2 mL de solução 2% H₂SO₄ em MeOH. Após duas horas em banho maria, a 55°C as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados 5 mL de hexano. A fase orgânica foi separada e lavada com solução saturada de NaCl (2 x 5 mL) e, em seguida, filtrada, concentrada em evaporador rotatório, dissolvida em 1000 µL de hexano grau CLAE/UV e injetada no CG/EM³⁶.

4.6 REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO DA CERA CUTICULAR COM NaOMe.

A amostra utilizada para esta derivatização foi a mesma obtida no procedimento descrito no item 4.5.

Em um frasco de 1,5 mL contendo aproximadamente 10 mg de amostra, foi adicionado 1 mL (40 mmol) de solução NaOMe em MeOH. Após uma hora em banho maria, a 50°C o meio reacional foi concentrado em evaporador rotatório. Em seguida, foram adicionados 5 mL de água. A fase aquosa foi lavada com hexano (2 x 5 mL) e, em seguida, a fase orgânica acumulada foi filtrada, concentrada em evaporador rotatório, dissolvida em 1000 µL de hexano grau CLAE/UV e injetada no CG/EM³⁶.

4.7 METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE TANINOS.

Em trabalhos anteriores, durante a preparação dos extratos a partir das folhas secas de *S. flexicaulis*, foi observado a formação de um precipitado vermelho floculento após o pH ser ajustado por volta de 11-12 com a adição gradual de NH₄OH concentrado o que nos deu indícios da presença de taninos nas folhas desta espécie. Logo, o teor de taninos foi determinado por espectroscopia U.V.-Vis. conforme método descrito na literatura³⁷.

Nesta metodologia, 1 grama de material, previamente seco a peso constante num forno de convecção, foi precisamente pesado e transferido para um erlenmeyer de 250 mL. 50 mL de água destilada quente (aproximadamente 80°C) foram adicionados aos frascos contendo as amostras, posteriormente cobertos com um vidro de relógio, e em seguida, aquecidos até a ebulição durante 30 minutos. Foi feita uma filtração dos extratos líquidos através de papel de filtro diretamente em balões volumétricos de 100 mL. Após arrefecimento a 25°C, o volume dos frascos foi completado até o menisco com água destilada. As soluções resultantes se apresentaram límpidas e isenta de qualquer material particulado.

Na sequência, 500 µL de padrão e amostra foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL. 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (Vetec 1N) foram adicionados seguidos de 5 mL de solução saturada de carbonato de sódio. Os volumes dos frascos foram completados até o menisco e mantidos a 30°C durante 30 minutos.

Logo, uma curva de calibração foi construída empregando ácido gálico como referência e as absorbâncias foram medidas no espectrofotometro SHIMADZU UV-1800 a 765 nm utilizando-se de água destilada para o branco. Os resultados obtidos serão abordados na próxima seção.

5. RESULTADOS

As frações parcialmente purificadas foram analisadas por uma ou mais das seguintes técnicas: CG/EM, UV-Vis, IV e RMN de ^1H e ^{13}C com o objetivo de identificar os constituintes presentes.

Neste ponto, vale ressaltar que diante dos resultados obtidos a partir das análises das amostras por CG/EM constatamos a presença de uma grande variedade de classes químicas. E para facilitar a explanação do conteúdo foram criados sete grupos de classes químicas, a saber: alcanos (ALC), álcoois (ROH), aldeídos (CHO), ácidos (ACD), terpenos (TERP), cetonas (CET) e a subdivisão denominada por nós de “outros” que será discutida apropriadamente em um tópico a parte.

Devido a esta variedade de classes presentes resolvemos relatar em tópicos distintos os resultados e a discussão dos mesmos para que a leitura se torne mais clara.

COLUNA I

A fração C1F0 eluiu com hexano 100% e foi analisada por CG/EM, IV, e RMN de ^1H e ^{13}C . Nesta fração foram identificados álcoois e alcanos de cadeia longa conforme pode ser visto na figura 6.

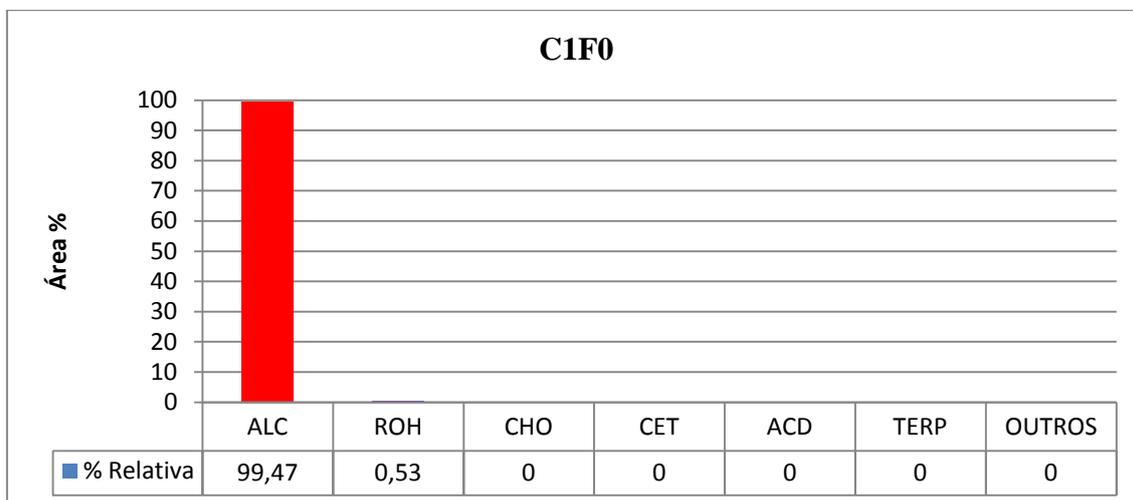


Figura 6 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F0.

Em seguida, foram obtidas as frações C1F1 até C1F8. Estas foram eluídas com clorofórmio 100%, e analisadas por espectrometria na região UV-Vis. Isto indicou-nos absorções características de carotenóides.

A fração C1F9 foi coletada utilizando-se o eluente clorofórmio/metanol 2% e analisada por CG/EM. A CCD apresentou 6 manchas com os respectivos R_f : 0,20 / 0,35 / 0,47 / 0,65 / 0,88 / 0,97. A análise por CG/EM identificou terpenos em grande maioria nesta fração conforme pode ser visto na figura 7. Esta fração foi submetida à purificação numa segunda coluna, utilizando-se hexano/acetato de etila 1%.

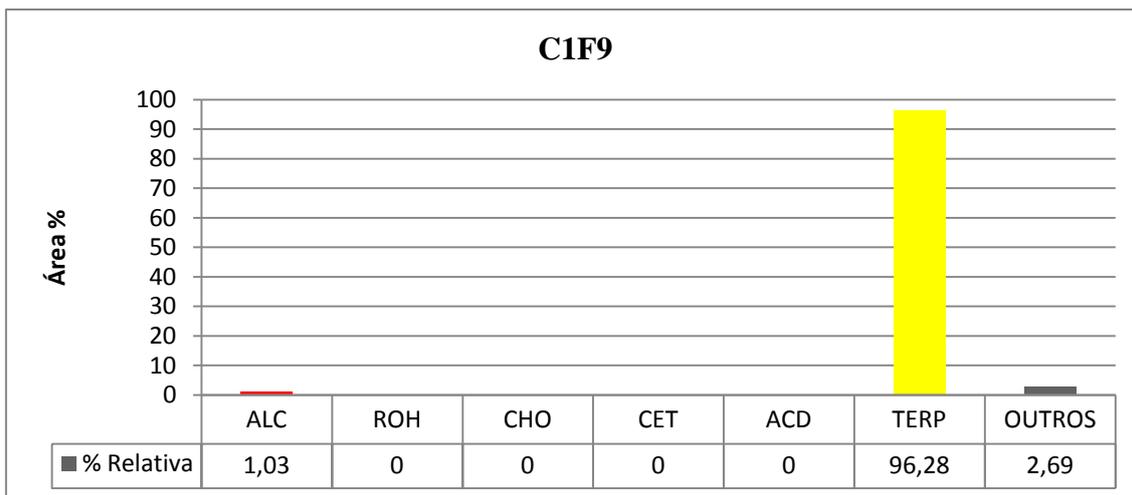


Figura 7 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F9.

A fração C1F11 foi coletada utilizando-se o eluente clorofórmio/metanol 10% e analisada por CG/EM. A CCD mostrou 2 manchas com os respectivos R_f : 0,73 / 0,93. Esta fração apresentou inúmeras substâncias em sua constituição, conforme pode ser visto na figura 8, porém os terpenos se destacaram sobre os demais com 55,2%.

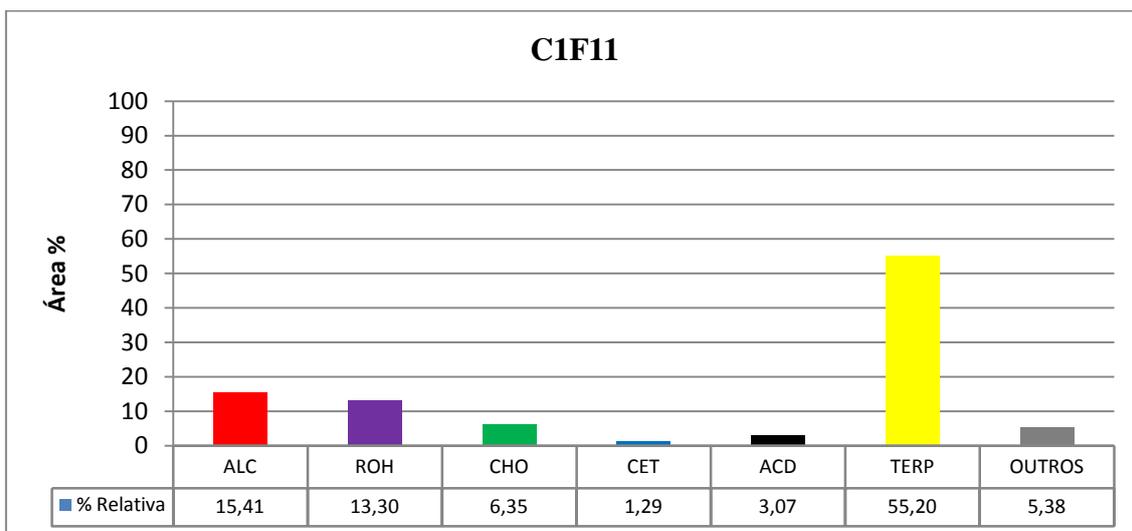


Figura 8 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F11.

A fração C1F12 foi coletada utilizando-se o eluente clorofórmio/metanol 10% e analisada por CG/EM. A CCD mostrou 4 manchas com os respectivos R_f : 0,05 / 0,14 / 0,23 / 0,39. Esta fração apresentou os aldeídos se sobressaindo sobre as demais subdivisões químicas conforme pode ser visto na figura 9.

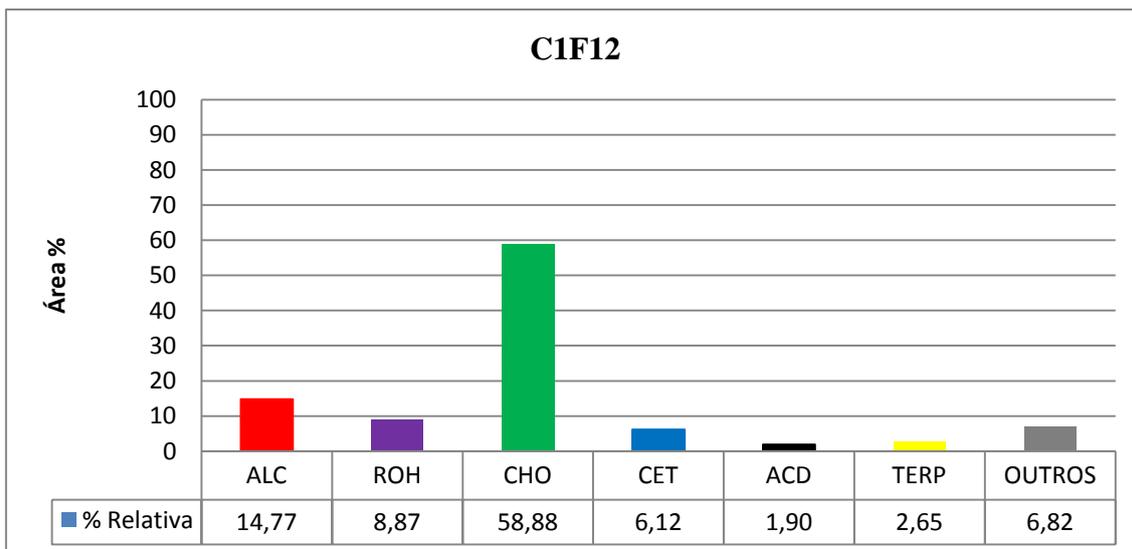


Figura 9 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1F12.

A fração C1F13 foi coletada utilizando-se o eluente clorofórmio/metanol 10% e analisada por CG/EM. A CCD mostrou 1 mancha com o R_f : 0,0. Esta fração apresentou os aldeídos em maior porcentagem relativa conforme pode ser visto na figura 10.

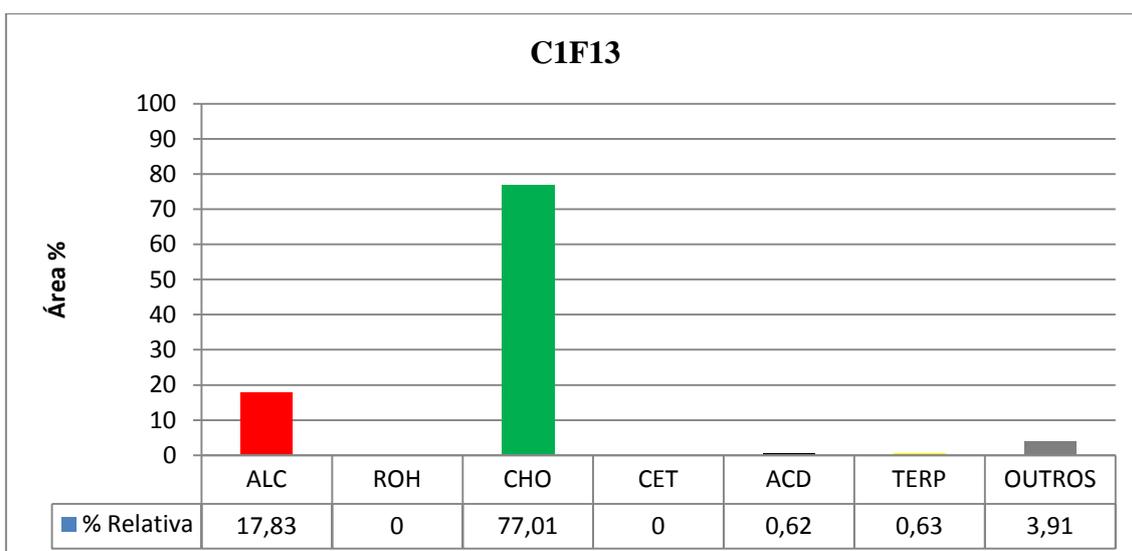


Figura 10 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C1-F13.

COLUNA II

Com a fração C1F9, devido ao maior rendimento, foi realizada uma segunda coluna cromatográfica utilizando-se sistema binário de solventes (hexano:acetato de etila) com eluição isocrática (9:1). As frações obtidas foram posteriormente analisadas por CG/EM.

A primeira fração coletada, C2F1, apresentou 3 manchas na CCD com os respectivos R_f : 0,40 / 0,48 / 0,94. A análise por CG/EM nos mostrou que nesta fração os álcoois sobressaíram sobre as demais subdivisões conforme pode ser visto na figura 11.

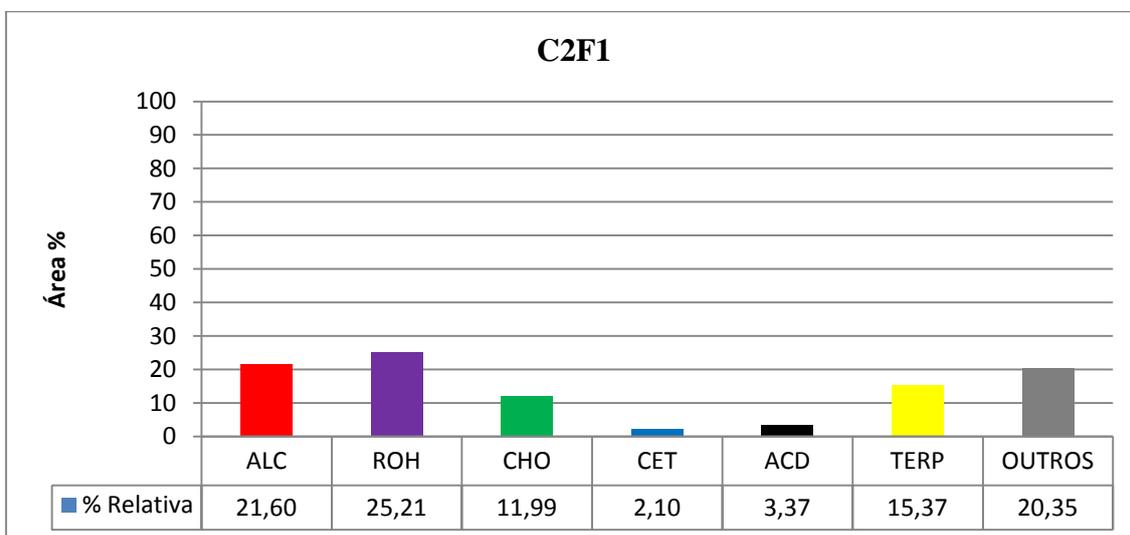


Figura 11 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F1.

A fração C2F2 apresentou na CCD uma única mancha com o R_f : 0,42. A análise por CG/EM identificou os terpenos em maior porcentagem relativa conforme pode ser visto na figura 12.

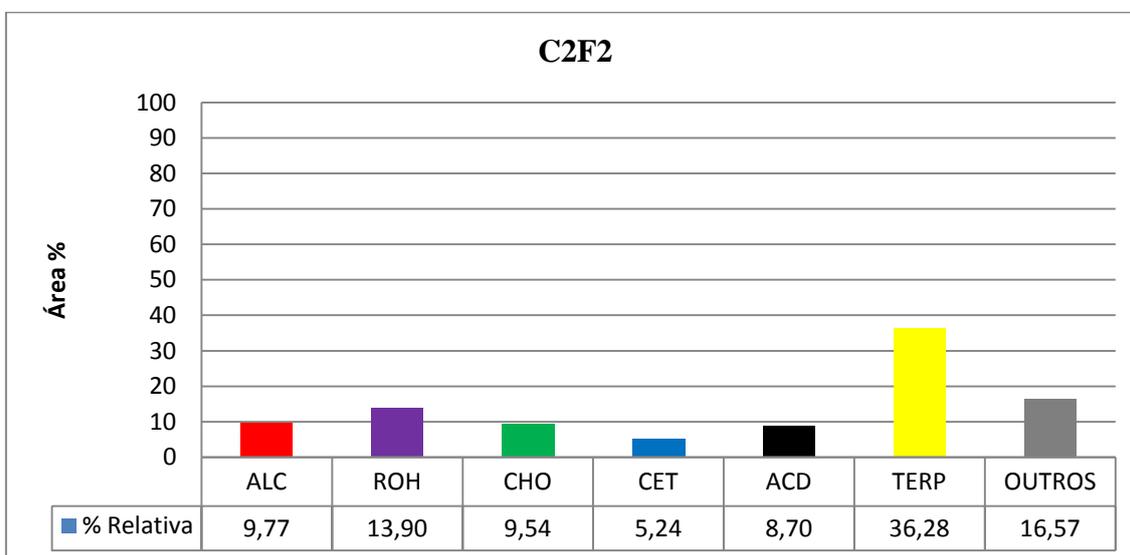


Figura 12 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F2.

A fração C2F3 apresentou na CCD uma única mancha com o R_f : 0,35. A análise por CG/EM identificou novamente os terpenos em maior porcentagem relativa conforme pode ser visto na figura 13.

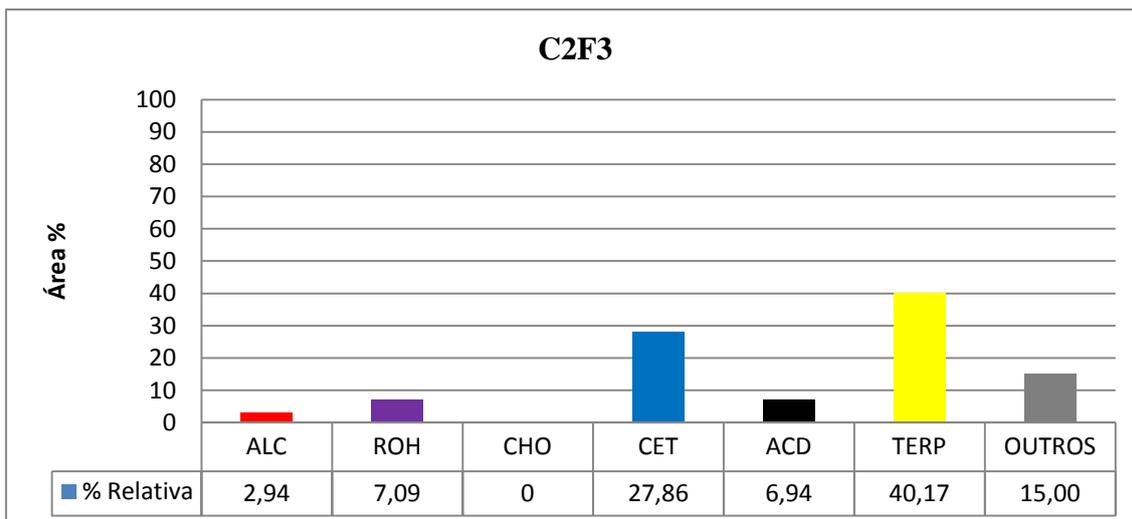


Figura 13 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F3.

A fração C2F4 apresentou na CCD uma única mancha com o R_f : 0,20. A análise por CG/EM identificou os terpenos como substâncias majoritárias conforme pode ser visto na figura 14.

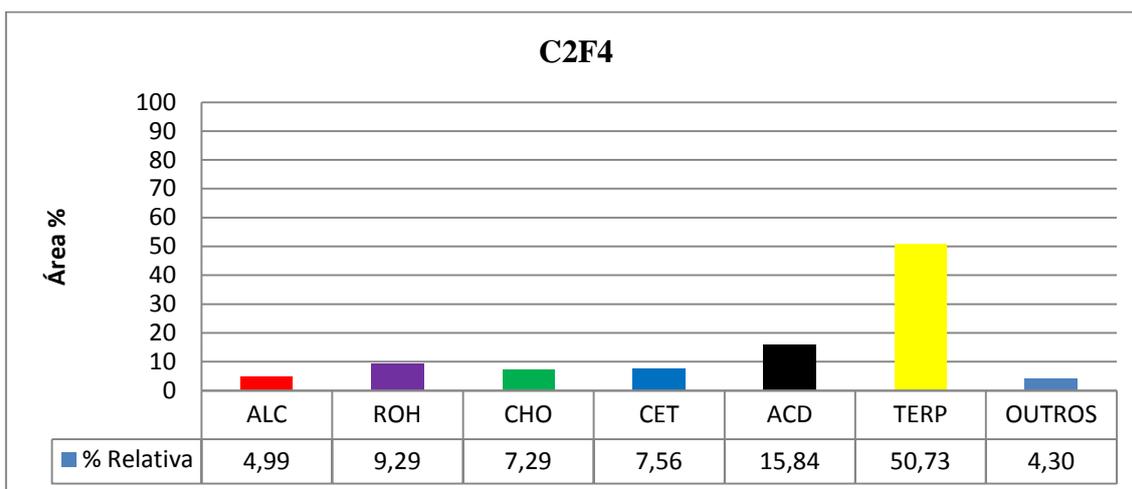


Figura 14 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F4.

A fração C2F5 apresentou na CCD uma única mancha com o R_f 0,14. A análise por CG/EM identificou como compostos majoritários substâncias que não se enquadram nas outras classificações, sendo portanto denominado de “outros” conforme pode ser visto na figura 15.

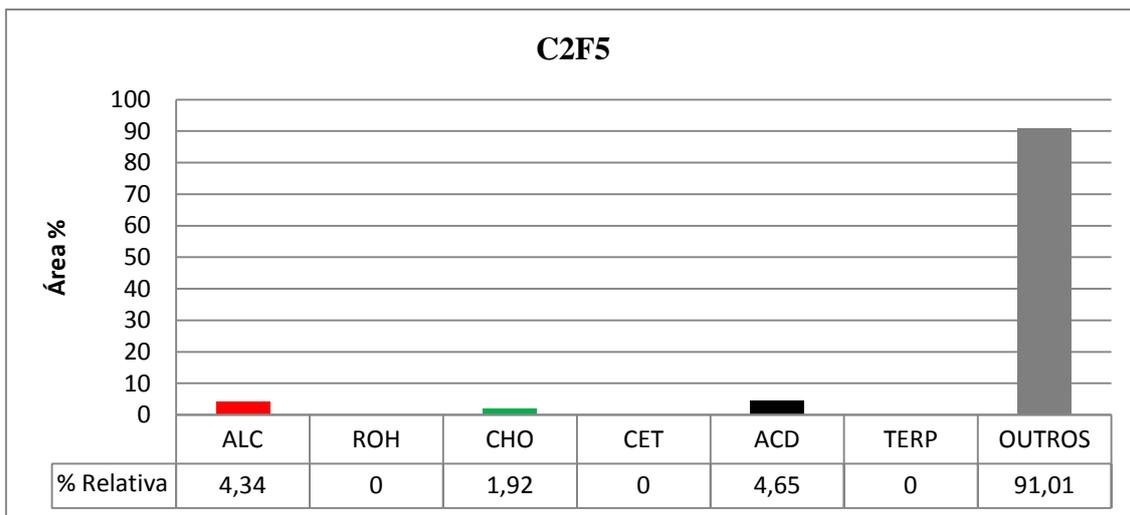


Figura 15 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C2F4.

COLUNA III

Com a fração C2F4, devido ao maior rendimento, foi realizada uma terceira coluna cromatografica. As frações obtidas foram posteriormente analisadas por CG/EM.

A fração C3F1 foi coletada utilizando-se o sistema binário de solventes diclorometano:hexano na proporção de 9:3. A CCD apresentou 5 manchas com os respectivos R_f : 0,36 / 0,50 / 0,59 / 0,66 / 0,77. A análise por CG/EM identificou terpenos em grande maioria nesta fração conforme pode ser visto na figura 16.

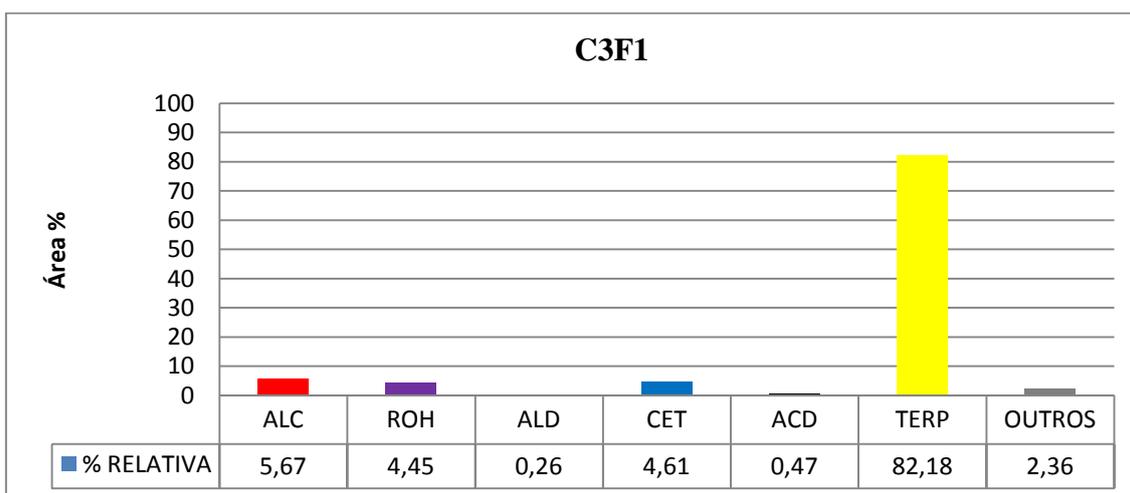


Figura 16 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3-F1.

A fração C3F2 foi coletada utilizando-se o sistema binário de solventes diclorometano:hexano na proporção de 9:3. A CCD apresentou 2 manchas com os

respectivos R_f : 0,35 / 0,51. A análise por CG/EM identificou nesta fração terpenos em sua grande maioria conforme pode ser visto na figura 17.

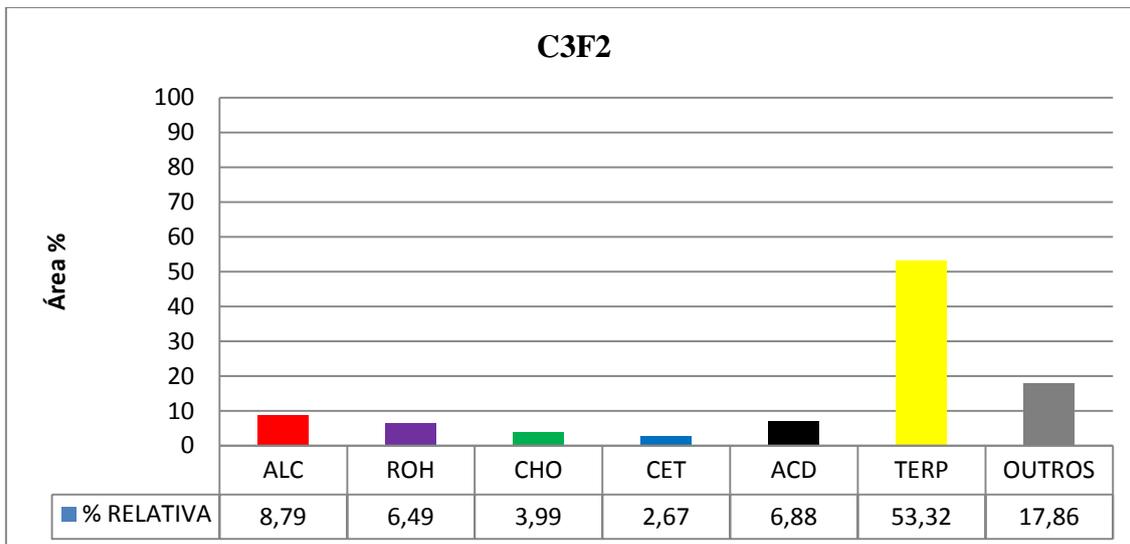


Figura 17 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F2.

A fração C3F3 foi coletada utilizando-se o sistema binário de solventes diclorometano:hexano na proporção de 9:2. A CCD apresentou 3 manchas com os respectivos R_f : 0,20 / 0,30 / 0,40. A análise por CG/EM identificou nesta fração terpenos em sua grande maioria conforme pode ser visto na figura 18.

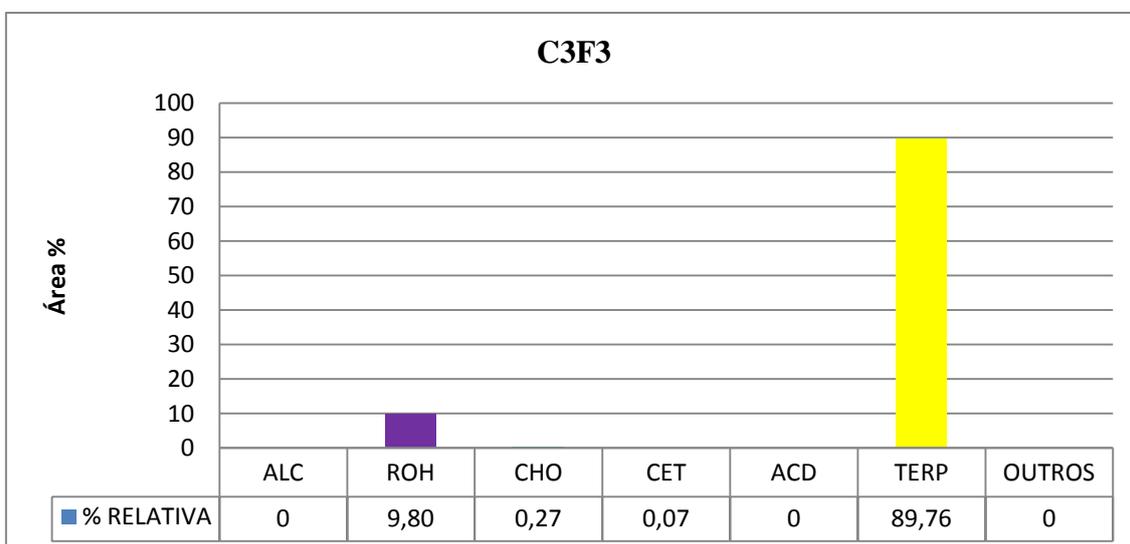


Figura 18 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F3.

A fração C3F4 foi coletada utilizando-se o sistema binário de solventes diclorometano:hexano na proporção de 9:2. A CCD apresentou 2 manchas com os

respectivos R_f : 0,32 / 0,46. A análise por CG/EM identificou nesta fração os alcanos em maior porcentagem relativa conforme pode ser visto na figura 19.

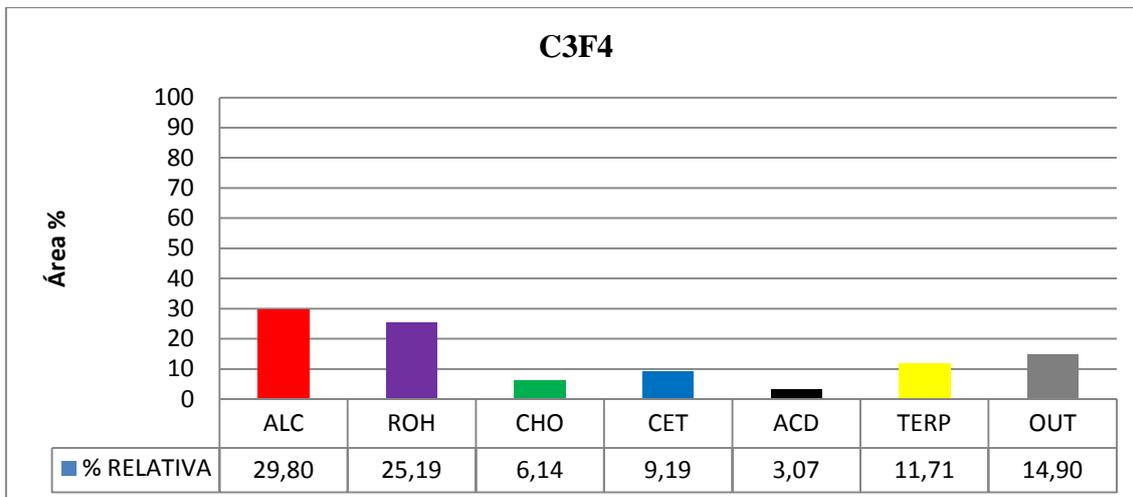


Figura 19 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F4.

A fração C3F5 foi coletada utilizando-se o sistema binário de solventes diclorometano:hexano na proporção de 9:1. A CCD apresentou 1 mancha com o R_f : 0,17. A análise por CG/EM identificou nesta fração as cetonas em maior porcentagem relativa conforme pode ser visto na figura 20.

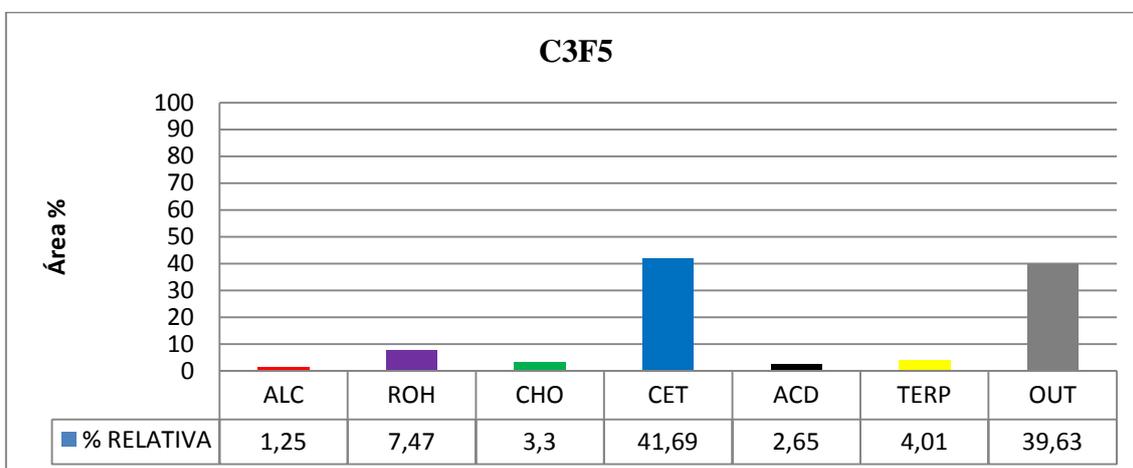


Figura 20 - Abundância relativa dos compostos presentes na fração C3F5.

Com estes dados em mãos podemos perceber claramente que os resultados seguem uma lógica de raciocínio. Pois ao utilizar a fração C1F9, que apresentou 96,28% de terpenos, para a realização da segunda coluna, das cinco frações obtidas oriundas desta fração três apresentaram os terpenos de forma majoritária. O mesmo

pode ser dito a respeito da terceira coluna onde foi utilizada a fração C2F4 com 50,73% de terpenos. Das cinco frações obtidas, três apresentaram os terpenos em maioria.

Logo, diante desses dados pode-se construir uma tabela (tabela 5) onde podemos constatar a presença de todos os constituintes químicos identificados via CG/EM no extrato hexânico das folhas de *S. flexicaulis* em ordem crescente de eluição a partir de uma coluna capilar Rtx[®]-5ms (Crossband[®] 5% difenil / 95% polisiloxano) e os seus respectivos números CAS e tempo de retenção (T_r).

Obs.: Desta tabela foram excluídas as impurezas presentes nas amostras. Estas serão discutidas em um tópico adiante.

Tabela 5 - Compostos identificados via CG/EM no extrato hexânico das folhas de *S. flexicaulis* seus respectivos T_r e número CAS.

Nº	Nome Composto	CAS	T _r (min.)
1	4-etil-1-octin-3-ol	5877-42-9	6.886
2	<i>n</i> -nonanal	124-19-6	10.270
3	<i>n</i> -dodecano	112-40-3	13.747
4	<i>n</i> -tridecano	629-50-5	13.750
5	<i>n</i> -decanal	112-31-2	14.030
6	1,11-dodecadieno	20521-44-2	17.170
7	2-metileno-ciclopentano-propan-1-ol	53544-48-2	18.114
8	spiro[ciclopropano-1,6'-[3]oxatriciclo[3.2.1.0(2,4)]octano]	107079-37-8	18.120
9	3-metil-5-undeceno	74630-67-4	19.253
10	2-undecenal	2463-77-6	19.749
11	3,7-dimetil-nonano	17302-32-8	20.900
12	<i>n</i> -tetradecano	629-59-4	20.903
13	<i>n</i> -pentadecano	629-62-9	20.910
14	2-dodecen-1-al	4826-62-4	23.200
15	5-isopropenil-3-isopropil-2,2-dimetil-2,5-dihidrofurano	77822-53-8	23.414
16	5,6,7,7-tetrametil-octa-3,5-dien-2-ona	959102-49-9	24.712
17	4,4,7- α -trimetil-2(4 <i>H</i>)-5,6,7,7- α -tetraidro-benzofuranona	15356-74-8	25.499
18	azaleato de metila	1732-10-1	25.812
19	4,11,11-trimetil-8-metileno-oxatriciclo(8.2.0.0(4,6))dodecano	1139-30-6	26.203
20	5-eicoseno	74685-30-6	27.433
21	3,5-dimetil-ciclohex-1-eno-4-carboxaldeído	6975-94-6	27.990
22	1-hexadecanol	36653-82-4	29.015
23	<i>n</i> -nonadecano	629-92-5	30.252
24	1,2-epoxi-hexadecano	7320-37-8	30.280
25	2,6,10-trimetil-dodecano	3891-98-3	30.399
26	2-etil-1-pentanol	27522-11-8	30.577
27	<i>n</i> -tetradecanal	124-25-4	30.746
28	3,7,11-trimetil-1-dodecanol	6750-34-1	31.126
29	2,4-dimetil-eicosano	75163-98-3	31.695
30	ácido tetradecanóico	544-63-8	31.993
31	ácido pentadecanóico	1002-84-2	32.004
32	1-propildecil-ciclohexano	13151-89-8	32.013
33	ácido octanodecanóico	57-11-4	32.014
34	2,6,10,15-tetrametil-heptadecano	54833-48-6	33.027

35	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	102608-53-7	34.126
36	ciclopentadecanona	502-72-7	34.287
37	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	502-69-2	34.305
38	(8Z)-14-metil-8-hexadecenal	60609-53-2	34.541
39	<i>n</i> -heptanofenona	1671-75-6	35.400
40	5-metil-1-fenil-5-hexen-1-ona	94227-05-1	35.409
41	2-nonadecanona	629-66-3	35.796
42	1,2-epoxi-dodecano	2855-19-8	35.809
43	3,5,24-trimetil-tetracontano	55162-61-3	36.147
44	1-(dodeciloxi)-2,3-epoxi-propano	2461-18-9	36.151
45	1,2-epoxi-3-(hexadeciloxi)-propano	15965-99-8	36.156
46	2-(2-dodecen-1-il)-anidrido succinico	19780-11-1	36.313
47	7-hexadecenal	56797-40-1	36.316
48	3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecen-3-ol	505-32-8	36.965
49	2,4-dimetil-eicosano	75163-98-3	36.981
50	ácido pentadecanóico	1002-84-2	37.323
51	ácido hexadecanóico	57-10-3	37.326
52	2,4-heptadien-1-al	4313-03-5	37.482
53	10-metil-nonadecano	56862-62-5	38.218
54	2-hexil-1-decanol	2425-77-6	38.243
55	1-pentacontanol	40710-43-8	38.381
56	ácido eicosa-5,8,11,14,17-pentenóico	10417-94-4	39.448
57	9-tricoseno	27519-02-4	40.020
58	1,1,10-trimetil-2-hidroxi-6,9-epidioxidocalina	108511-85-9	40.374
59	ácido octadecadienóico	60-33-3	40.588
60	2,6-dimetil-2,7-octadien-1,6-diol	64142-78-5	40.600
61	<i>n</i> -heneicosano	629-94-7	40.624
62	linoleato de metila	301-00-8	40.761
63	11,14,17-eicosatrienato de metila	55682-88-7	40.768
64	2,4,4-trimetil-ciclopentanol	56470-83-8	40.786
65	octanosato de metila	55682-92-3	41.305
66	3,7,11-trimetil-2,6-dodecadien-1-ol	20576-58-3	41.732
67	2-(5-oxohexil)-ciclopentanona	15674-93-8	41.735
68	11-hexadecenal	53939-28-9	41.735
69	1-isopropenil-4-metil-1,4-ciclohexanediol	61465-23-4	42.808
70	8-hexil-pentadecano	13475-75-7	45.120
71	<i>n</i> -tetratriacontano	14167-59-0	45.123
72	<i>n</i> -eicosano	112-95-8	45.130
73	tridocosahexaenoina	11094-59-0	45.479
74	<i>n</i> -octadecanal	638-66-4	45.803
75	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-ólídeo	96168-15-9	46.474
76	13-docosenamida	112-84-5	46.623
77	ácido-10,12-pentacosadienóico	66990-32-7	46.882
78	<i>n</i> -tetradecanamida	638-58-4	47.134
79	1-tetracosanol	506-51-4	47.161
80	<i>n</i> -dotriacontano	544-85-4	49.307
81	heptacosan-1-ol	2004-39-9	51.177
82	<i>n</i> -tetracontano	4181-95-7	53.123
83	<i>n</i> -tetratetracontano	7098-22-8	53.250
84	<i>n</i> -tetrapentacontano	5856-66-6	54.941
85	geranilgeraniol	24034-73-9	55.606
86	esqualeno	7683-64-9	55.607
87	hexadecil-oxirano	7390-81-0	55.695
88	octadecanoato de <i>cis</i> -9,10-epoxi-dodecila	92332-53-1	56.243
89	ácido <i>p</i> -(dodeciloxi)-benzóico	2312-15-4	56.389

90	σ -tocoferol	119-13-1	56.665
91	colesta-3,5-dieno	747-90-0	57.217
92	13,17,21-trimetil-heptatriacontano	58668-40-9	57.975
93	acetato de 4,14-dimetil -9-cicloergost-24(28)-en-3-ol	10376-42-8	58.169
94	4,4,7- α -trimetil-hexahidro-1-benzofuran-2(3H)-ona	16778-27-1	58.355
95	9,19-ciclo-9- β -lanostane-3-beta-2,5-diol	26525-84-8	58.544
96	<i>n</i> -pentatriacontano	630-07-9	60.364
97	3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	14214-69-8	60.638
98	1-pentacosanol	26040-98-2	61.081
99	1-heptacosanol	2004-39-9	61.194
100	1,3,5-trimetil-4- <i>n</i> -octadecil-ciclohexano	55282-34-3	61.225
101	vitamina E	59-02-9	61.667
102	acetato de octasila	18206-97-8	63.041
103	bufogenina	465-39-4	64.973
104	6-hidroxi-7- <i>N</i> -docosilmercapto-5,8-quinolinedinona	53193-64-9	64.968
105	17-pentatriaconteno	6971-40-0	66.184
106	5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-spiro[2.5]octano.	77143-32-9	66.133
107	4,14-dimetil-(3- β -4- α -5- α)-ergosta-8,24(28)-dien-3-ol	16910-32-0	66.540
108	andrografolídeo	5508-58-7	67.260
109	acetato de stigmasta-5,22-dien-3-ol	4651-48-3	67.263
110	colesterato de metila	1174-92-1	67.341
111	acetato-5- α -stigmasta-7,22-dien-3- β -ol	4651-46-1	67.455
112	acetato de α -amirina	863-76-3	68.522
113	3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	1153-34-0	68.640
114	1-heptatriacontanol	105794-58-9	69.078
115	lupeol	545-47-1	69.081
116	ácido-22-tricosenóico	65119-95-1	69.389
117	acetato de lupeol	1617-68-1	70.127
118	betulinol	473-98-3	70.186
119	colesta-3,5-dien-7-ona	567-72-6	70.262
120	friedelan-2-ona	17947-04-5	70.416
121	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	1449-09-8	71.188
122	4-colesten-3-ona	601-57-0	71.819
123	2,2-dimetilcolest-7-en-3-ol	64519-13-7	73.369
124	9-hexacoseno	71502-22-2	78.627
125	lanost-9-en-12-ona	52474-76-7	79.026

Por fim, foi determinado o teor de taninos nas folhas de *S. flexicaulis* conforme descrito na seção 4.7 através da construção de uma curva de calibração a 765 nm.

Os valores do limite de detecção, limite de quantificação e coeficiente de correlação foram de 10 ppm, 30 ppm e 99,77% respectivamente. O valor médio de taninos totais (duplicata) encontrado, expresso em miligramas de ácido gálico por kilograma de planta foi de 653 ppm (mg/kg).

6. COMPOSTOS ENCONTRADOS NO EXTRATO HEXÂNICO DAS FOLHAS DE *S. FLEXICAULIS*.

A mistura complexa de compostos encontrados no extrato hexânico das folhas de *S. flexicaulis* foi inserida em três grandes grupos: carotenos, ceras e taninos. A seguir, será relatada a função biológica e a biossíntese desses três grupos de compostos.

6.1 CAROTENÓIDES.

Mais de 700 carotenóides já foram identificados e estão amplamente distribuídos no reino vegetal e animal. Podem conter somente carbono e hidrogênio como os carotenos e o licopeno, ou ainda oxigênio como as xantofilas, a exemplo da capsantina na páprica; a zeaxantina e a luteína do milho (Figura 21). Os carotenóides representam uma extensa família de produtos naturais. São encontrados nos cloroplastos das plantas fotossintéticas, nos cromoplastos das flores, frutos e folhas, como também em bactérias, fungos, algas e insetos³⁸.

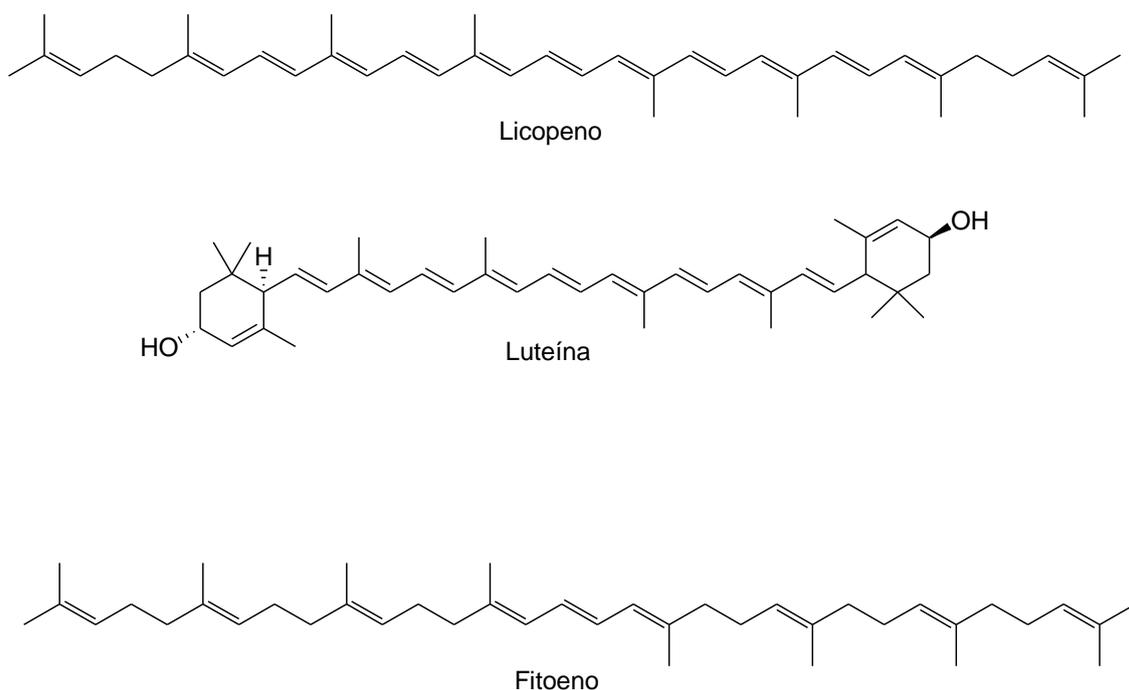


Figura 21 - Estrutura básica de alguns carotenóides.

Os carotenóides são fundamentais na dieta dos animais. Em vários mamíferos eles participam dos processos bioquímicos a exemplo da conversão do β -caroteno em

vitamina A, funcionam como pigmentos absorvedores de luz, transferindo esta energia para a clorofila no mecanismo da fotossíntese, agem como filtros de radiação ultravioleta, protegendo as plantas da foto-oxidação, prevenindo as células de danos provocados pelo oxigênio singlete, e ainda em situações de stress ou ferimentos, ou sujeitos a severa exposição à luz, estes compostos protegem as plantas de futuras infecções ou dano oxidativo^{31,39}.

As unidades isoprenóides formam a estrutura básica de todos os terpenóides, dos quais fazem parte os carotenóides. A associação desta matriz “monômero” leva à formação de compostos C10, C15, C20. A dimerização do composto C20 leva ao fitoeno (C40), o primeiro composto da família dos carotenos. A maioria vasta dos carotenóides comumente encontrados na natureza pode ser obtida a partir do fitoeno através de reações de (1) desaturação, (2) ciclização, (3) hidroxilação, (4) epoxidação, (5) rearranjo epóxido-furanóxico⁴⁰.

6.2 FLAVONÓIDES.

Flavonóides englobam uma classe muito importante de produtos naturais encontrados com grande frequência, unicamente em vegetais⁴¹. Dentro desse grande grupo de metabólitos secundários podemos mencionar os taninos que são compostos fenólicos com elevado peso molecular e estão associados aos mecanismos de defesa das plantas contra insetos⁴². São encontrados em grandes quantidades nos vacúolos das células das plantas, além de depósitos na epiderme das folhas⁴³.

6.2.1 Biossíntese dos flavonóides.

Os flavonóides são sintetizados pela combinação das vias metabólicas do ácido chiquímico e do acetil Co-A carboxilase. A chalcona sintase é a enzima que catalisa a formação da chalcona intermediária básica C15, da qual todos os flavonóides são formados, pela condensação de três moléculas de malonil- CoA com uma molécula de 4-coumaroil- CoA, (C3 – C6). Além do 4-coumaroil CoA, que é o principal substrato fisiológico para a formação das chalconas, a chalcona sintase de algumas espécies de plantas aceita como substrato o cafeoil-CoA ou o feruloil-CoA. O substrato éster da CoA do ácido cinâmico vem da fenilalanina. A fenilalanina amônio liase canaliza o

esqueleto C6 – C3 da fenilalanina via o ácido *trans*-cinâmico pelo metabolismo fenilpropanóide. A introdução da função hidróxi na posição 4 do ácido *trans*-cinâmico é catalisada pela cinamato 4-hidroxilase, fornecendo o 4-coumarato. O ácido hidróxi-cinâmico é ativado para futuras reações, pela formação de um éster da CoA (4-coumaroil-CoA), substrato preferido pela chalcona sintase. O segundo substrato da chalcona sintase, o malonil-CoA, é sintetizado da acetil-CoA e CO₂. Através de subseqüentes hidroxilações e reduções, as plantas sintetizam as diferentes classes de flavonóides (figura 22)^{44,45,46,47}.

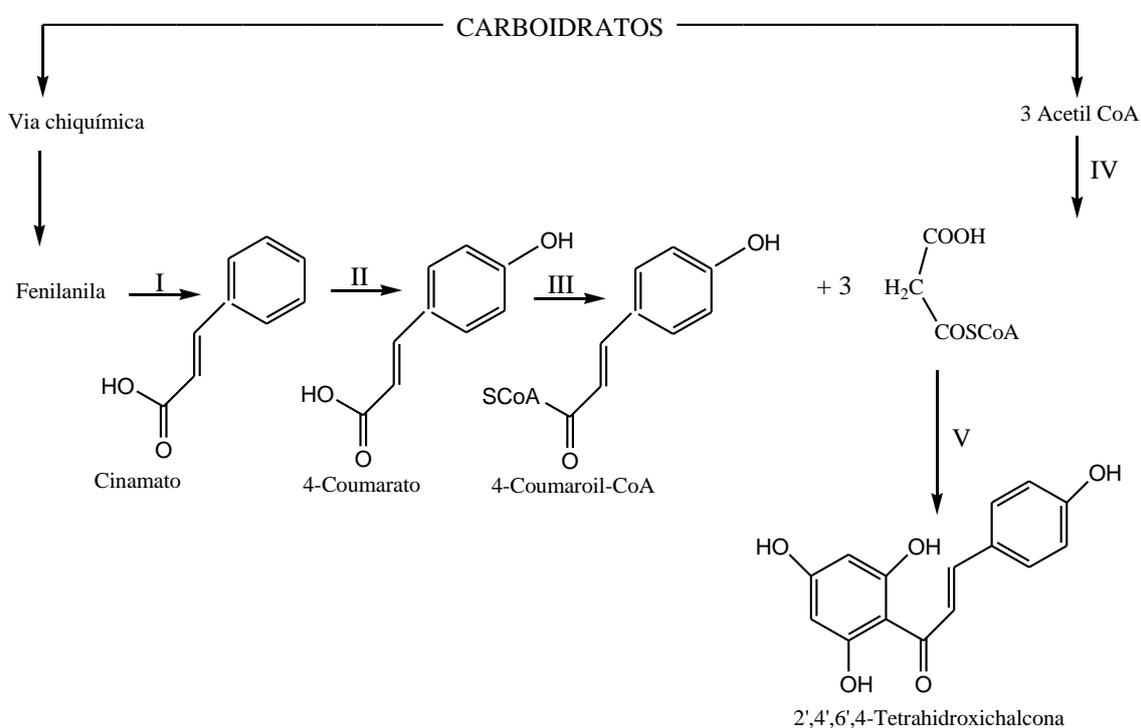


Figura 22- Etapas da biossíntese para a formação da chalcona intermediária básica C15, da qual todos os flavonóides são formados.

As enzimas são: I- Fenil amônia liase; II – Cinamato 4-hidroxilase; III- 4-Coumarato: CoA ligase; IV- Acetil CoA carboxilase; V- Chalcona sintase

6.2.2 Classificação e propriedades biológicas dos taninos.

Em termos químicos, os taninos são classificados em hidrolisáveis e condensados. Os primeiros são constituídos por diversas moléculas de ácidos fenólicos, como o gálico e o elágico, que estão unidos a um resíduo de glucose central (Figura 23). São chamados

de hidrolisáveis, uma vez que suas ligações ésteres são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas. Em solução desenvolvem coloração azul com cloreto férrico, assim como o ácido gálico⁴⁸.

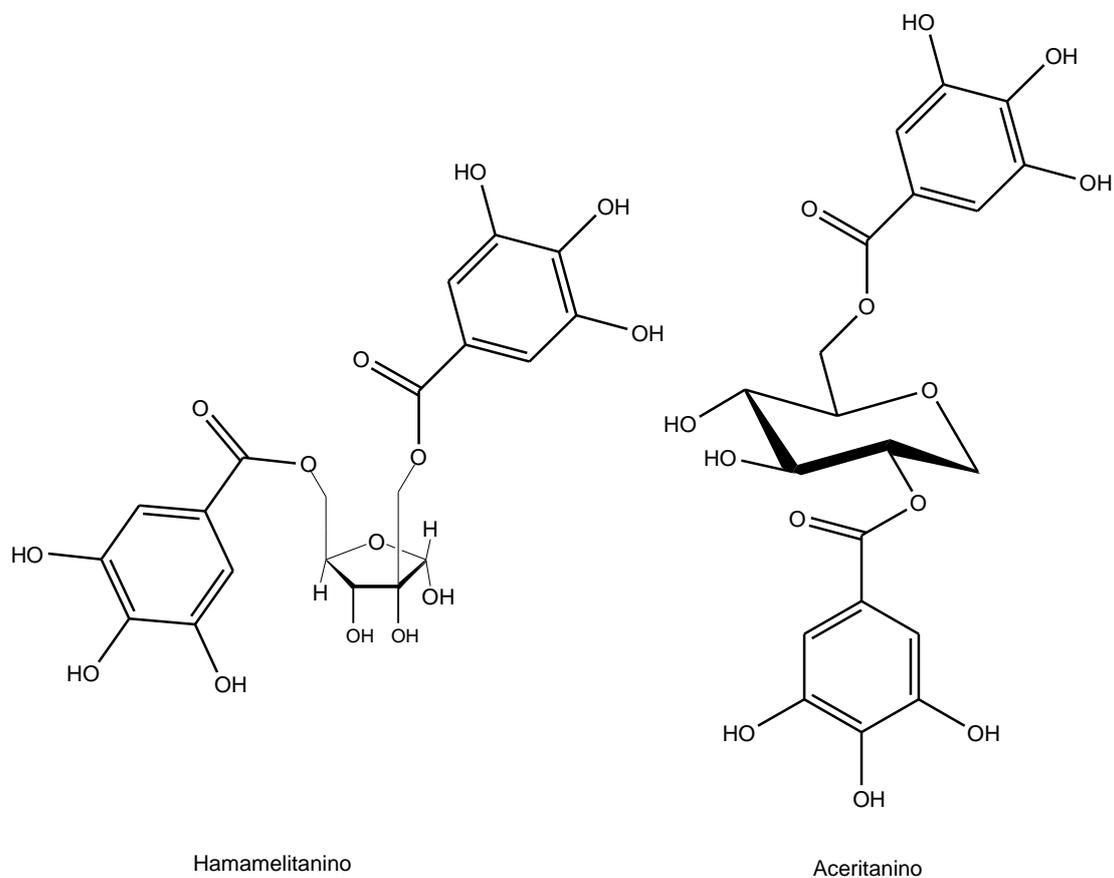


Figura 23 - Modelo de estrutura de taninos hidrolisáveis.

Os taninos condensados incluem todos os outros taninos verdadeiros. Suas moléculas são mais resistentes à fragmentação e estão relacionadas com os flavonóides, tendo uma estrutura "polimérica" do flavan-3-ol, como a catequina, ou do flavan-3,4-diol, da leucocianidina (Figura 24). Sob tratamento com ácidos ou enzimas esses compostos tendem a se polimerizar em substâncias vermelhas insolúveis, chamadas de flobafenos. Essas substâncias são responsáveis pela coloração vermelha de diversas cascas de plantas, por exemplo, a quina vermelha. Em solução, desenvolvem coloração verde com cloreto férrico, assim como o catecol⁴².

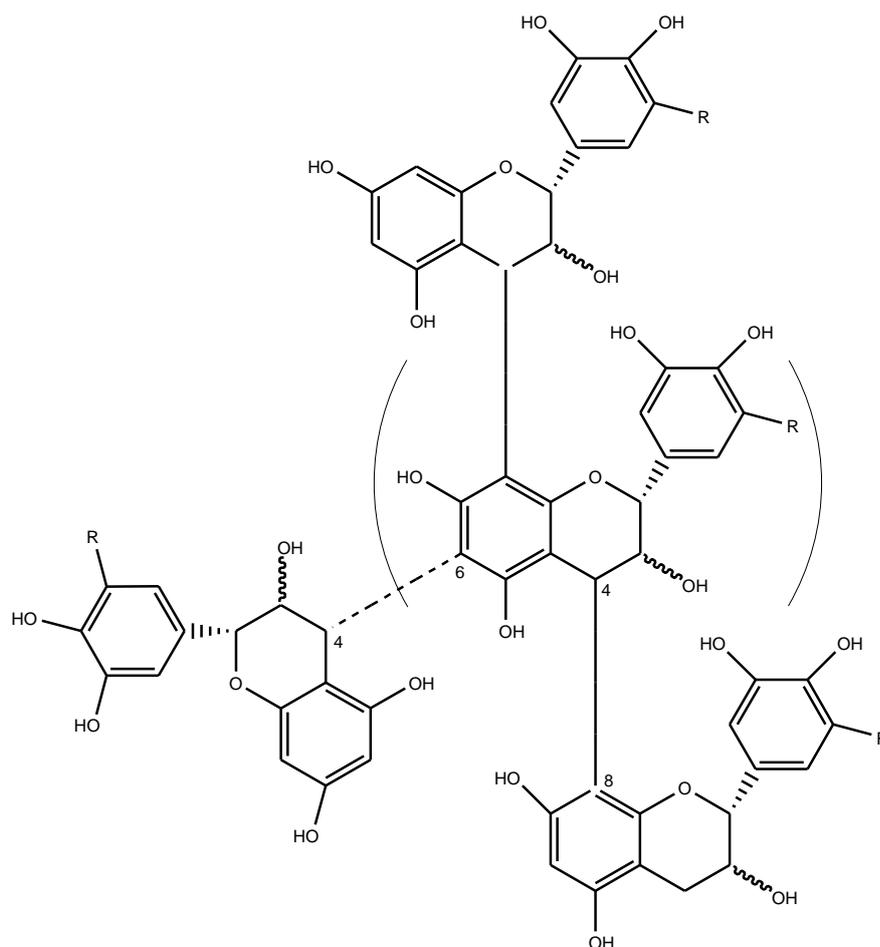


Figura 24 - Modelo de estrutura dos taninos condensados.

O papel biológico dos taninos nas plantas tem sido investigado e acredita-se que esteja envolvido na defesa química das plantas contra o ataque de herbívoros vertebrados ou invertebrados e contra microrganismos patogênicos^{49,50}. Foi observada a inibição da alimentação de herbívoros quando ingerem plantas com altos teores de taninos. Os modos de ação propostos contra herbívoros seriam: diminuição da palatabilidade pelo sabor adstringente, dificuldades na digestão pela complexação dos taninos com enzimas digestivas e/ou com proteínas da planta e, por último, produtos tóxicos formados no trato digestivo a partir da hidrólise dos taninos⁵¹.

A quantidade e o tipo de taninos sintetizados pelas plantas variam consideravelmente dependendo da espécie, do cultivo, do tecido e de condições ambientais. Geralmente a concentração é maior em espécies que prosperam em solos agrícolas pobres ou de baixa calagem, tal como ocorre nas regiões tropicais e subtropicais⁵². Além disso, as concentrações de taninos são maiores nas partes dos vegetais expostas ao sol, indicando, portanto, uma relação entre a fase dependente de luz da fotossíntese com a produção de taninos⁵³.

Plantas ricas em taninos condensados são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral⁵⁴.

Os prováveis mecanismos responsáveis pela atividade farmacológica dos taninos seriam: a capacidade de formar complexos com outras moléculas incluindo polissacarídeos e proteínas; formar complexos com íons metálicos como o ferro, manganês, cobre, alumínio, etc. e de exercer a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres⁵⁵.

6.3 CERAS.

As ceras estão presentes na cutícula das folhas das plantas formando uma camada impermeabilizante na superfície das mesmas sendo, portanto, essencial para a vida em um ambiente aéreo. Elas estão inseridas dentro da cutina ou do polímero suberina e continuam como uma camada amorfa sobre a superfície exterior da planta. Em muitas plantas as estruturas cristalinas das ceras epicuticulares sobrepõem esta camada o que proporciona uma aparência acinzentada para a superfície da planta. Plantas deficientes ou com a superfície alterada apresentam um aspecto brilhante. Este fenótipo distinto e facilmente observado tem sido amplamente utilizado no isolamento de mutantes defeituosas na produção de ceras⁵⁶.

A cutícula fornece a primeira linha de defesa entre a planta e o seu ambiente derramando as águas das chuvas a partir da sua superfície e limitando a perda de água nonstomatal. Além disso, as ceras podem proteger as plantas de bactérias e fungos patogênicos além de desempenharem um papel na interação planta inseto. A sua hidrofobicidade também faz das ceras um bom solvente para os poluentes orgânicos e impede a absorção foliar aquosa sem a adição de tensoativos. Além disso, a natureza refletora das ceras oferece proteção contra a radiação U.V. prejudicial⁵⁵.

6.3.1 Composição das ceras.

As ceras cuticulares são compostos hidrofóbicos presentes nas superfícies das plantas que são removidos por imersão num solvente orgânico tal como clorofórmio ou hexano. Elas formam misturas complexas principalmente de ácidos graxos, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, triterpenos e esteroides de cadeias longas além dos flavonóides. A proporção entre as classes químicas majoritárias varia de espécie para espécie. Cada classe de lipídeo da cera cuticular pode estar presente como uma série homóloga ou um comprimento de cadeia particular pode predominar. Quando uma classe de lipídeo majoritária tem uma série homóloga formam-se cristais característicos na superfície da planta. A forma e a aparência destes cristais são devido às propriedades físico-químicas da composição das ceras. A presença constante da cera cuticular nas plantas é um testemunho incondicional da sua função impermeabilizante na planta e a sua imensa diversidade é uma prova de muitas adaptações bem sucedidas para um ambiente aéreo, reforçando simultaneamente sua utilidade na proteção das plantas contra stress bióticos e abióticos⁵¹.

6.3.2 Síntese *de novo* e alongamento de ácido graxo de cadeia longa.

Os precursores da biossíntese de ceras são os ácidos graxos que são provavelmente derivados da síntese *de novo* dos plastídeos. Nas plantas, a biossíntese *de novo* de ácidos graxos é catalisada por uma série de etapas enzimáticas coletivamente denominadas como síntese de ácido graxo conforme pode ser visto na figura 25.

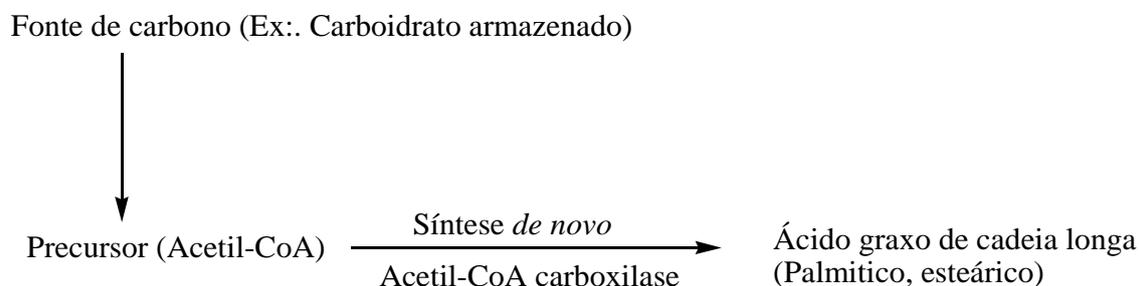


Figura 25 – Rota sintética simplificada de ácidos graxos de cadeia longa.

A iniciação da síntese do ácido graxo é a condensação da proteína carreadora maloníl-acil (ACP) com acetil-CoA seguido, pela redução sequencial de 3-cetoacil

ACP, a desidratação da 3-cetoacil-ACP, e a redução da trans D-2-enoíl-ACP. O ácido graxo primário permanece esterificado ao cofator ACP e é ainda alargada por dois carbonos pelo doador maloníl-ACP. Para cada adição de dois carbonos, há uma sequência de condensação, redução, desidratação e de redução em duas etapas. NAD(P)H serve como equivalente redutor para as duas redutases. Os produtos de cadeia longa (C16, C18) são subsequentemente processados por uma ou mais enzimas incluindo, stearoil-ACP desaturase, plastidial aciltransferases, and acil-ACP tioesterases (hidrolases). Os ácidos graxos são em seguida utilizados para glicerolípídeos, ceras ou biossíntese da cutina e suberina dependendo do tipo de tecido e estágio de desenvolvimento⁵¹.

6.3.3 Vias biossintéticas das ceras.

Uma vez que os ácidos de cadeia longa foram produzidos, estes podem ser sujeitos a diversas modificações (figura 26).

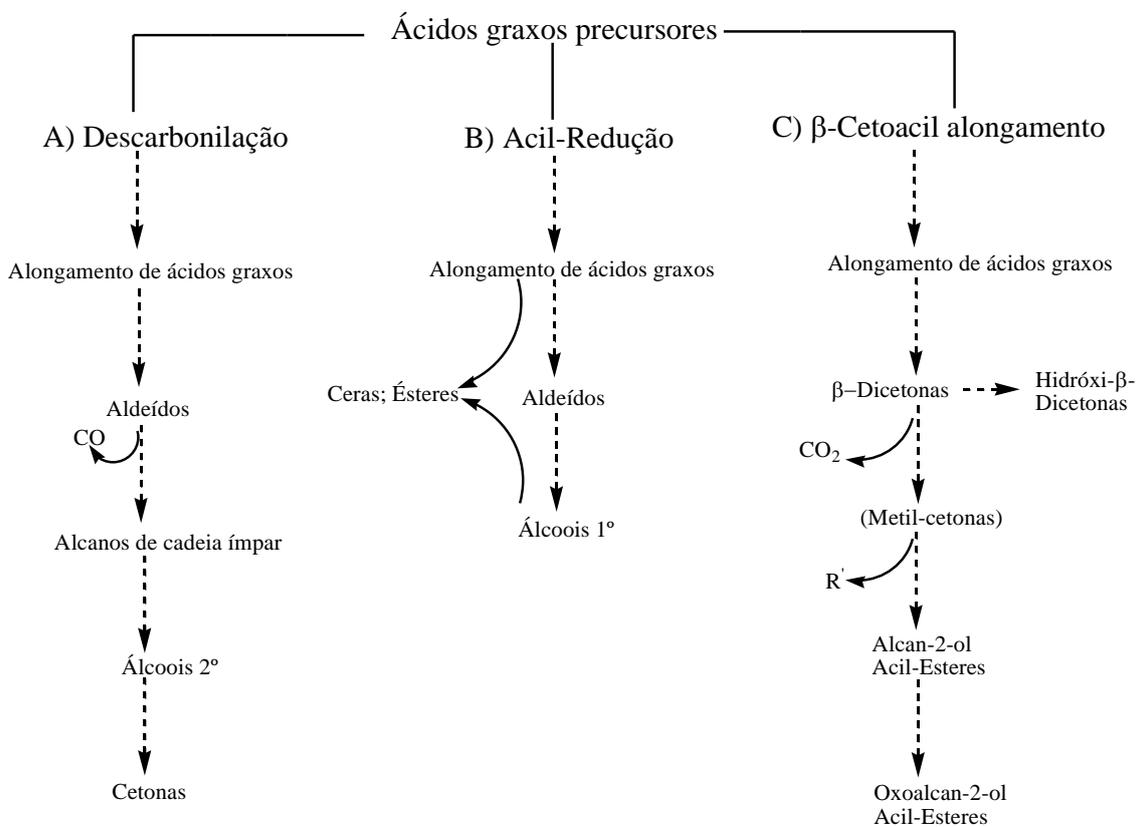


Figura 26 - Três vias biossintéticas primárias das ceras.

Neste esquema simplificado, a descarboxilação (A), acil redução (B) e β -cetoacil alongamento são mostrados como vias paralelas distintas. Todas as três vias são encontradas no tecido epidérmico da maioria das plantas, mas a sua composição em relação aos constituintes químicos da cera cuticular variam de órgão para órgão e de espécie para espécie. A via de descarboxilação resulta na produção de aldeídos, alcanos de cadeia ímpares, álcoois secundários e cetonas⁵¹.

Os primeiros estudos referem esta via como a via de descarboxilação porque se pensava que os compostos de cadeia ímpar (n-1) eram gerados por descarboxilação do ácido graxo correspondente (n). Foi demonstrado, no entanto, que um aldeído intermediário é gerado e que o monóxido de carbono, não o dióxido de carbono, é liberado. Embora a descarboxilação ocorra em plantas e micro-organismos, os insetos são dependentes do citocromo P₄₅₀ para gerar o hidrocarboneto de cadeia ímpar (Z) 9-tricoseno⁵¹.

A via de acil redução produz aldeídos, álcoois primários e ésteres derivados da esterificação de ácidos graxos e álcoois primários. No desenvolvimento da semente de jojoba a redução em duas etapas do ácido graxo para o álcool primário é catalisada por uma enzima e o aldeído intermediário não se acumula. Nas folhas de *Brassica oleracea* o aldeído intermediário se acumula e os dois passos da redução são catalisados por enzimas separadas⁵¹.

A via de alongamento do β -acetil resulta na produção de β -dicetonas e seus derivados. β -dicetonas são componentes importantes da cera cuticular da espiga da cevada e são encontradas como componentes minoritários de outras espécies de plantas como as pertencentes a família Brassicaceae. Análises de cevada mostraram que essa terceira via mostra claramente que o alongamento β -cetoacil foi catalisado por um sistema de enzima separado da acil redução e do sistema de descarboxilação⁵¹.

Em algumas plantas, as vias de descarboxilação e acil-redução podem partilhar algumas ou todas as reações de alongamento de ácidos graxos e podem diferir apenas nas enzimas modificadoras que atuam no alongamento dos ácidos graxos e seus derivados. Estes estudos mostram que uma etapa de alongamento individual ou uma única via pode ser afetada sem afetar os outros caminhos paralelos⁵¹.

Dentro do grupo das ceras vale destacar a presença dos triterpenos e devido a sua importância no reino vegetal será desenvolvido um tópico a parte na sequência.

6.4 TRITERPENOS

Uma pesquisa bibliográfica sobre triterpenos mostra um grande número destas substâncias de ocorrência vegetal. Uma ampla diversidade quanto a esqueleto e funcionalização, predominantemente oxigenada, leva a inúmeras estruturas^{57,58}.

Dentro dessa ampla variedade de triterpenos existem alguns que ocorrem com frequência maior nos vegetais. Estes apresentam apenas um grupo funcional no C-3 e são pentacíclicos ou tetracíclicos que contêm no máximo uma ou duas ligações duplas respectivamente⁵¹. Exemplos característicos são o lupeol, a α -amirina, a β -amirina e a friedelina (Figura 27).

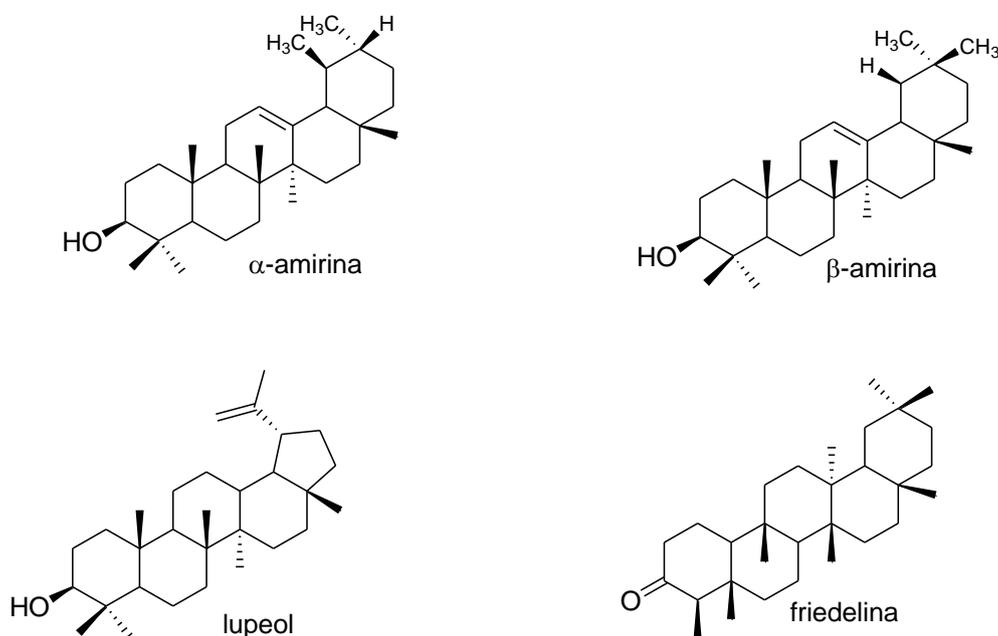


Figura 27 - Estruturas de alguns triterpenos comumente encontrados no reino vegetal.

Os triterpenóides (C_{30}) formam os componentes das resinas, látex, ceras e cutícula das plantas. Entre os triterpenos, está uma importante classe, os fitoesteróides, os quais são componentes dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteróides em mamíferos, plantas e insetos. Outra classe importante de triterpenos são as saponinas. Como o próprio nome indica, as saponinas são prontamente reconhecidas pela formação de espuma em certos extratos vegetais. Essas substâncias são semelhantes ao sabão porque possuem uma parte hidrossolúvel (glicose ou outro açúcar) e outra lipossolúvel (triterpeno). Nas plantas, as saponinas desempenham um importante papel na defesa contra insetos e micro-organismos⁵⁹.

Como outras moléculas biológicas, os triterpenos são construídos por uma rota de síntese em que se empregam moléculas simples para a montagem de moléculas complexas.

A chave para a elucidação da biossíntese de triterpenos consistiu na descoberta de que o seu precursor, o esqualeno, era constituído por duas unidades farnesil, unidas segundo um mecanismo cauda-cauda, ao invés do mecanismo cabeça-cauda típico dos terpenos mais simples⁶⁰.

O esqualeno é em seguida epoxidado seletivamente na posição 2, formando o 2,3-epoxiesqualeno⁵³. A abertura do epóxido inicia a ciclização. Dependendo da conformação inicial do epoxiesqualeno na superfície da enzima, inicia-se a biossíntese dos curcubitanos e esteroides ou, alternativamente, a dos triterpenos propriamente ditos⁶¹.

7. DISCUSSÃO

Apesar da técnica CG/EM ser uma poderosa ferramenta analítica para análises quantitativas e qualitativas ela apresenta certas limitações. No presente trabalho, observaram-se as limitações da biblioteca *NIST* 08, que contém milhares de espectros de massas registrados em seu arquivo, porém não contém o espectro de todos os compostos naturais e sintéticos, e devido à similaridade estrutural dos homólogos isolados não foi possível identificar de forma inequívoca todos os picos observados nos nossos cromatogramas. Logo, a biblioteca irá acusar a mesma substância para diferentes picos no cromatograma (ver anexos) e é nesta etapa que entra o trabalho de um pesquisador/químico identificando, dentro do limite razoável de dúvidas, a estrutura química correta dos componentes da mistura e os picos cromatográficos que não são cromatograficamente puros. Para se realizar esta tarefa, o ideal seria a injeção de padrões de referência, mas no contexto do presente trabalho essa prática não foi viável. Alternativamente, o índice de retenção de Kováts é uma ferramenta muito poderosa, entretanto não é totalmente determinante no caso de substâncias inéditas. Infelizmente, nenhuma destas opções estavam disponíveis para a execução desta tarefa e neste tópico de discussão dos resultados será descrito o que estamos tentando fazer de melhor no sentido de elaborar as melhores atribuições possíveis e excluir fontes óbvias de contaminações e artefatos.

O problema acima mencionado torna-se evidente durante a análise dos hidrocarbonetos de cadeia longa e os seus derivados oxigenados como será visto adiante. A ausência do pico do íon molecular na maioria dos espectros também se torna um desafio na identificação das substâncias presentes. No entanto, tentamos apresentar hipóteses razoáveis e justificáveis a respeito das substâncias encontradas nas folhas de *S. flexicaulis*. Diante deste contexto, vamos avançar para a discussão das várias substâncias identificadas no presente trabalho.

7.1 IMPUREZAS ENCONTRADAS NAS AMOSTRAS.

As análises realizadas por CG/MS das amostras obtidas revelou a presença de inúmeras substâncias conforme já descrito. Entretanto, dentre estas substâncias foi observado a presença de algumas impurezas que foram excluídas do tratamento dos dados, pois é de conhecimento que tais compostos não são oriundos da biossíntese de produtos naturais. Na tabela 6, podemos verificar quais impurezas foram encontradas em algumas de nossas amostras e conseqüentemente excluídas do tratamento dos dados.

Tabela 6 - Impurezas encontradas nas amostras e as suas possíveis fontes.

Impureza	Utilidades	Possíveis fontes / comentários
DIBP (Di-isobutil ftalato)	Plastificantes utilizados em polímeros para deixá-los mais macios e maleáveis ⁶² .	Possivelmente oriunda da bombona de água destilada. Suspeita de trazerem vários males à saúde humana ⁶³ .
Dioctil difenilamina	Fluído hidráulico ⁶⁴ .	Antioxidante para todos os tipos de óleos lubrificantes. Proveniente da bomba de vácuo do CG/EM
Difenil sulfona	Solvente utilizado na síntese do polímero PEEK ⁶⁵ .	Segundo o manual de instruções, na bomba da coluna <i>flash</i> contém o polímero PEEK.
Éter dicaprílico	Emoliente em cosméticos ⁶⁶ .	Sabonetes

<i>N</i> -Butil-benzeno sulfonamida (Plasthall BSA ou Uniplex 214)	Líquido plastificante utilizado na medicina, tintas para tingimento e impressão ⁶⁷ .	-
Ésteres de ácido oxálico	Usado na produção de produtos farmacêuticos, agrotóxicos e corantes ⁶⁸ .	-
Trimetil metoxisilano	Fase estacionária ⁶⁹ .	Podem ser originários do septo ou do sangramento da coluna ⁶⁹ .

7.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DETECTADOS NO EXTRATO HEXÂNICO DAS FOLHAS DE *S. FLEXICAULIS* POR TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.

A seguir, será descrita a caracterização, dos compostos detectados, por uma ou mais técnicas espectroscópicas supracitadas e uma discussão baseada no índice de retenção de Kovats para os alcanos lineares assim como uma tabela contendo todos os compostos encontrados para cada subdivisão criada, exceto para os carotenóides e taninos, segundo a biblioteca do instrumento, e algumas fórmulas estruturais representativas para cada grupo de compostos.

7.2.1 Carotenóides.

Os espectros de absorção no UV-Visível dos carotenóides têm um perfil característico entre 400 e 500 nm, com $\lambda_{\text{máx.}}$ por volta de 450 nm e normalmente dois “ombros” de cada lado. A posição exata dos máximos de absorção varia de pigmento para pigmento e é suficientemente diferente para a identificação de cada carotenóide⁷⁰. As colorações variam desde o amarelo, passando pelo laranja, até o vermelho intenso, e resultam das ligações duplas conjugadas na estrutura mais frequente, do tipo C-40³¹.

Os carotenóides obtidos foram reunidos com base no seu perfil de absorção no UV-Vis. resultando desta forma em oito frações C1F1 até C1F8. Como exemplo, pode-se citar a análise no UV da fração C1F7, utilizando-se como solvente a mistura binária clorofórmio 100%, (Figura 28) mostrou $\lambda_{\text{máx.}}$ próximo aos 450 nm, característica dos

carotenoides e a comparação com os valores da literatura indica que o principal caroteno presente é o β -caroteno⁷¹.

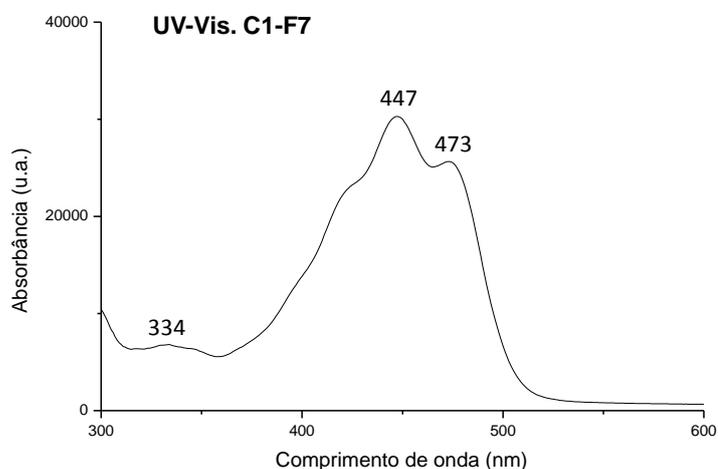


Figura 28 - Espectro de absorção no UV-Vis da fração C1F7 (solvente: clorofórmio 100%).

7.2.2 Taninos.

Foi construída uma curva de calibração e a partir desta curva foram determinados os parâmetros analíticos necessários para a construção da equação da reta por regressão linear, ferramenta necessária para o cálculo da concentração dos taninos. O teor de tanino encontrado foi significativo (653 mg/Kg), embora pequeno em relação a outras plantas como, por exemplo, a *Camellia sinensis*, chá preto, cujo teor relatado é de 250 mg/g⁷².

7.2.3 Alcanos.

A primeira fração que eluiu da coluna, denominada C1F0, foi constituída, segundo a biblioteca *NIST* do CG/EM quase exclusivamente de alcanos de cadeia longa (99,47%). Esta fração demonstrou a presença de 14 compostos diferentes como pode ser visto no cromatograma (Figura 29).

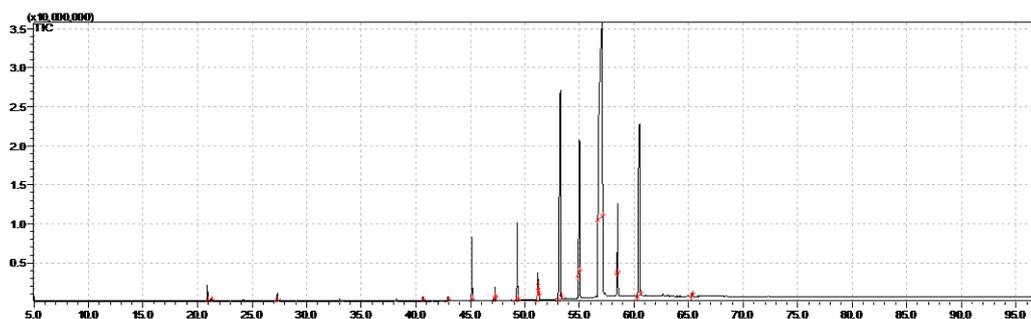
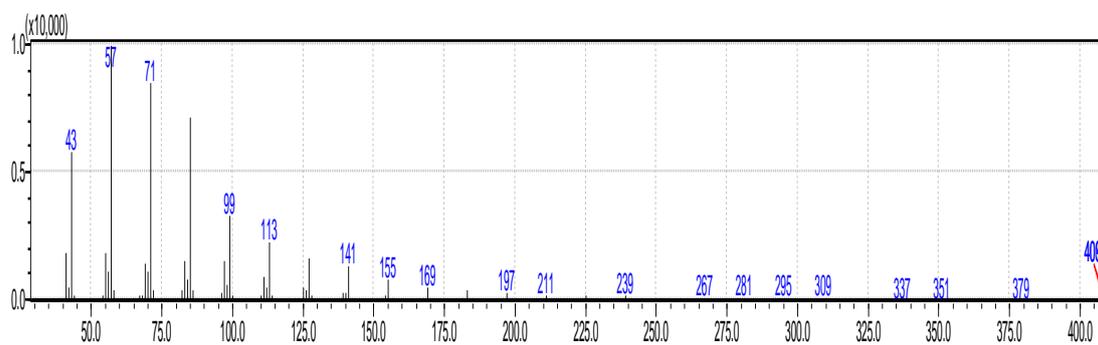


Figura 29 - Cromatograma da fração C1F0.

A biblioteca *NIST* do instrumento sugeriu com 94% de certeza que o pico com 51,40% de área e $T_r=57,104$ min. seja referente ao *n*-dotriacontano ($n\text{-C}_{32}\text{H}_{66}$); (MM = 450 g/mol). Embora o espectro de massas (Figura 30) desta substância não apresente um pico atribuível ao íon molecular, pode-se pressupor que se trata de um alcano de cadeia longa, pois este espectro apresentou fragmentações características desta classe de compostos, segundo dados da literatura, com perdas sucessivas de 14 unidades de massas⁷³.

A)



B)

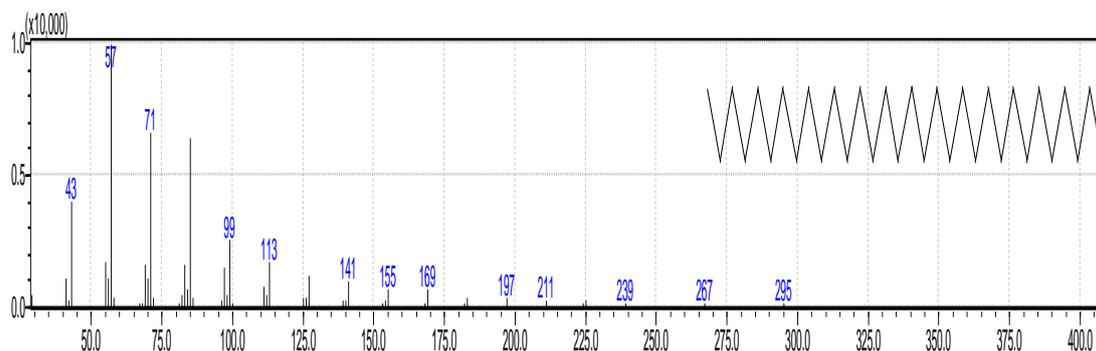


Figura 30 - Espectros de massas do *n*-dotriacontano. (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F0. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.

Uma ferramenta aliada no processo de identificação dos compostos presentes nesta fração seria o índice de retenção que é um número, obtido por interpolação, relacionando o tempo de retenção do componente em estudo com o tempo de retenção de dois padrões (geralmente hidrocarbonetos) eluídos antes e após o pico do composto de interesse⁷⁴.

Dentre os índices de retenção encontrados na literatura pode-se citar o índice Kováts e o índice de retenção linear (LRI) como sendo amplamente divulgados. O índice Kováts é sempre calculado sob condições isotérmicas de temperatura. Quando se utilizam temperaturas programadas de coluna, um valor similar pode ser calculado utilizando os números extraídos de seus algoritmos, sendo que este valor é chamado de índice de retenção linear – LRI⁴⁴. Entretanto, no caso de alcanos lineares o índice de retenção é igual ao seu número de carbonos multiplicado por 100. Por exemplo, *n*-dodecano (*n*-C₁₂H₂₆) tem índice de retenção de 1200s e o *n*-tridecano (*n*-C₁₃H₂₆) tem índice de retenção de 1300s. Portanto, um composto com tempo de retenção de 1225s deverá eluir entre o *n*-dodecano (*n*-C₁₂H₂₆) e o *n*-tridecano (*n*-C₁₃H₂₆)⁷⁵. Logo, analisando os dados obtidos oriundos da biblioteca do CG/EM (NIST-08) para esta fração (Tabela 7) pode-se observar a indicação do mesmo composto em tempos de retenção distintos, situação improvável de ocorrer.

Tabela 7 - Constituintes químicos presentes na fração C1F0 obtidos via a biblioteca NIST 8.0 da CG/EM.

Nº	Nome composto	CAS	T _r (min.)	Área (%)
1	<i>n</i> -pentadecano	629-62-9	20.910	0,50
2	<i>n</i> -pentadecano	629-62-9	27.312	0,26
3	<i>n</i> -heneicosano	629-62-9	40.624	0,13
4	<i>n</i> -heneicosano	629-62-9	42.931	0,14
5	<i>n</i> -heneicosano	629-62-9	45.149	2,15
6	<i>n</i> -heneicosano	629-94-7	47.257	0,35
7	<i>n</i> -dotriacontano	544-85-4	49.307	2,67
8	<i>n</i> -tetracontano	4181-95-7	53.123	0,13
9	<i>n</i> -tetrapentacontano	5856-66-6	53.250	14,87
10	<i>n</i> -tetrapentacontano	5856-66-6	55.014	9,76
11	<i>n</i> -dotriacontano	544-85-4	57.104	51,40
12	<i>n</i> -dotriacontano	544-85-4	58.490	3,73
13	<i>n</i> -tetrapentacontano	5856-66-6	60.505	13,38
14	1-heptacosanol	2004-39-9	61.081	0,49

Logo, analisando a substância que apresentou pico de maior área (51,4%) e tempo de retenção de 57,104 min. (3426,24s) podemos concluir, conforme mencionado, e baseando-se em dados da literatura⁷⁶ que o composto em questão é o *n*-tetratriacontano (C₃₄H₇₀). Neste sentido, analisando a tabela acima podemos constatar que a maioria das substâncias eluem em intervalos de tempo constantes devido ao aumento gradual (um ou mais grupos CH₂) da cadeia carbônica e conseqüentemente da massa molecular e isto nos dá indícios de que estas substâncias são pertencentes a uma série homóloga. Esta série se inicia, de acordo com o tempo de retenção, com um hidrocarboneto de 12 átomos carbonos e termina com outro de 37 átomos de carbono conforme pode ser visto na tabela 8.

Tabela 8 - Classificação dos constituintes químicos presentes na fração C1F0 baseando-se no índice de retenção de Kováts.

Nº	Composto	Fórmula Molecular	T _r (seg.) Experimental.	T _r (seg.) literatura.
1	<i>n</i> - dodecano	C ₁₂ H ₂₆	1254,60	1199 ⁷⁷
2	<i>n</i> -hexadecano	C ₁₆ H ₃₄	1638,72	1600 ⁷⁷
3	<i>n</i> -tetracosano	C ₂₄ H ₅₀	2437,44	2400 ⁷⁷
4	<i>n</i> -hexacosano	C ₂₆ H ₅₄	2575,86	2600 ⁷⁸
5	<i>n</i> -heptacosano	C ₂₇ H ₅₆	2708,94	2700 ⁷⁹
6	<i>n</i> - octacosano	C ₂₈ H ₅₈	2835,42	2800 ⁷⁹
7	<i>n</i> -nonacosano	C ₂₉ H ₆₀	2958,42	2900 ⁷⁹
8	<i>n</i> -triacontano	C ₃₁ H ₆₄	3187,38	3100 ⁸⁰
9	<i>n</i> -dotriacontano	C ₃₂ H ₆₆	3195,0	3200 ⁸¹

10	<i>n</i> -tritriacontano	C ₃₃ H ₆₈	3300,84	3300 ⁸¹
11	<i>n</i> -tetatriacontano	C ₃₄ H ₇₀	3426,24	3400 ⁸¹
12	<i>n</i> -pentatriacontano	C ₃₅ H ₇₂	3509,40	3500 ⁸¹
13	<i>n</i> -hexatriacontano	C ₃₆ H ₇₄	3630,30	3600 ⁸²
14	<i>n</i> -heptatriacontano	C ₃₇ H ₇₆	3664,86	3700 ⁸³

1. Adams, R.P., *Allured Publishing Corporation*, **1995**.
2. Spiewok, S., Schmolz, E., and Ruther, J., *J. Chem. Ecol.*, **2006**, *32*, 2777-2788.
3. Kaib, M., Jmhasly, P., Wilfert, L., Durka, W., Franke, S., Francke, W., Leuthold, R.H., and Brandl, R., *J. Chem. Ecol.*, **2004**, *30*, 365-385.
4. Carlson, D.A., Bernier, U.R., Hogsette, J.A., and Sutton, B.D., *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **2001**, *48*, 167-178
5. Zaikin, V.G., and Borisov, R.S., *J. Anal. Chem.*, **2002**, *57*, 544-551.
6. Mastelic, J., Jerkovic, I., and Mesic, M., *J. Flavour Fragr.*, **2006**, *21*, 306-313.
7. Von Kováts, E., *Helv. Chim. Acta*, **1958**, *41*, 7.

Portanto, observando-se os valores do índice de retenção calculado e o índice de retenção encontrado na literatura podemos perceber uma diferença ínfima entre estes valores e isso nos indica que a biblioteca não contém ou é incapaz de distinguir entre esta série homóloga devido à similaridade estrutural das moléculas.

Nesta mesma fração, a biblioteca do instrumento sugeriu, em menor quantidade (0,53%), álcoois de cadeia longa. Esta atribuição pode ter apoio no espectro no IV (Figura 31) onde observamos uma fraca absorção em torno de 3300 cm⁻¹. Além disso, podem-se observar duas bandas intensas em 2918 e 2848 cm⁻¹ que indicam a presença de ligação C-H de carbono sp³, a primeira está relacionada à deformação axial assimétrica, e a segunda à deformação axial simétrica, e em 719 cm⁻¹ existe a banda da deformação angular assimétrica de ligação C-H. Aproximadamente em 2960 cm⁻¹ há uma banda indicativa da presença de CH₃ e por volta de 1463 cm⁻¹ temos uma deformação angular simétrica no plano de CH₂⁶³.

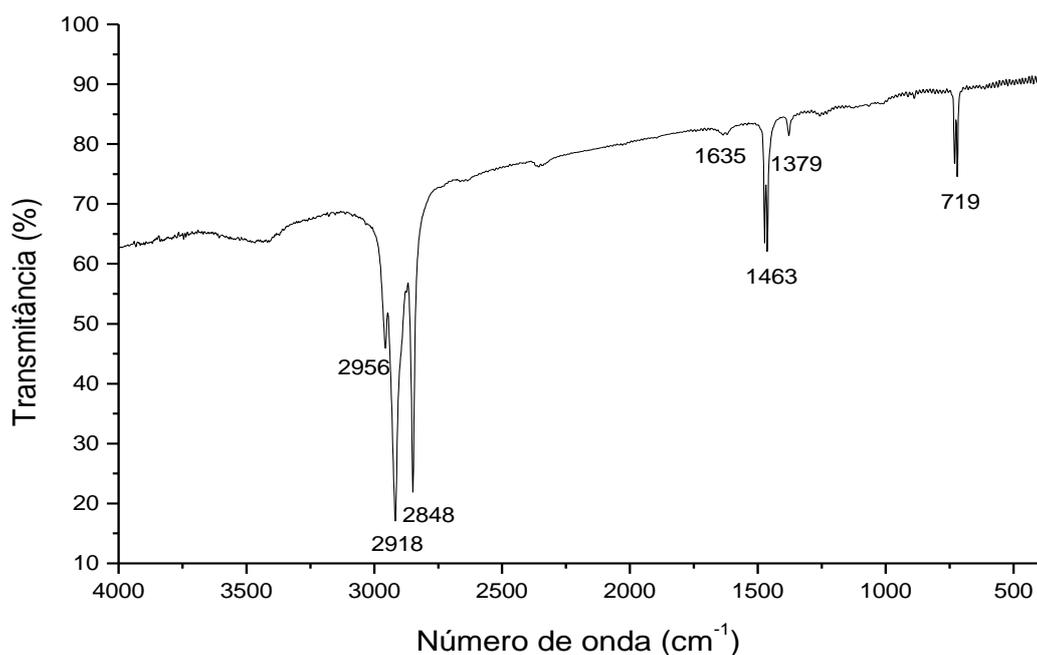


Figura 31 - Espectro no IV da fração C1F0.

O espectro de RMN de ¹H em CDCl₃ (Figura 32) demonstra um multipletto intenso em 1,25 ppm e um tripleto por volta de 0,85 ppm referentes aos hidrogênios metilênicos e metílicos de cadeia longa respectivamente. O deslocamento em δ1,25 indica, devido a sua integração, a presença de aproximadamente 32 hidrogênios correspondentes ao CH₂, o que reforça a ideia de tratar-se de uma mistura de hidrocarbonetos de cadeia longa.

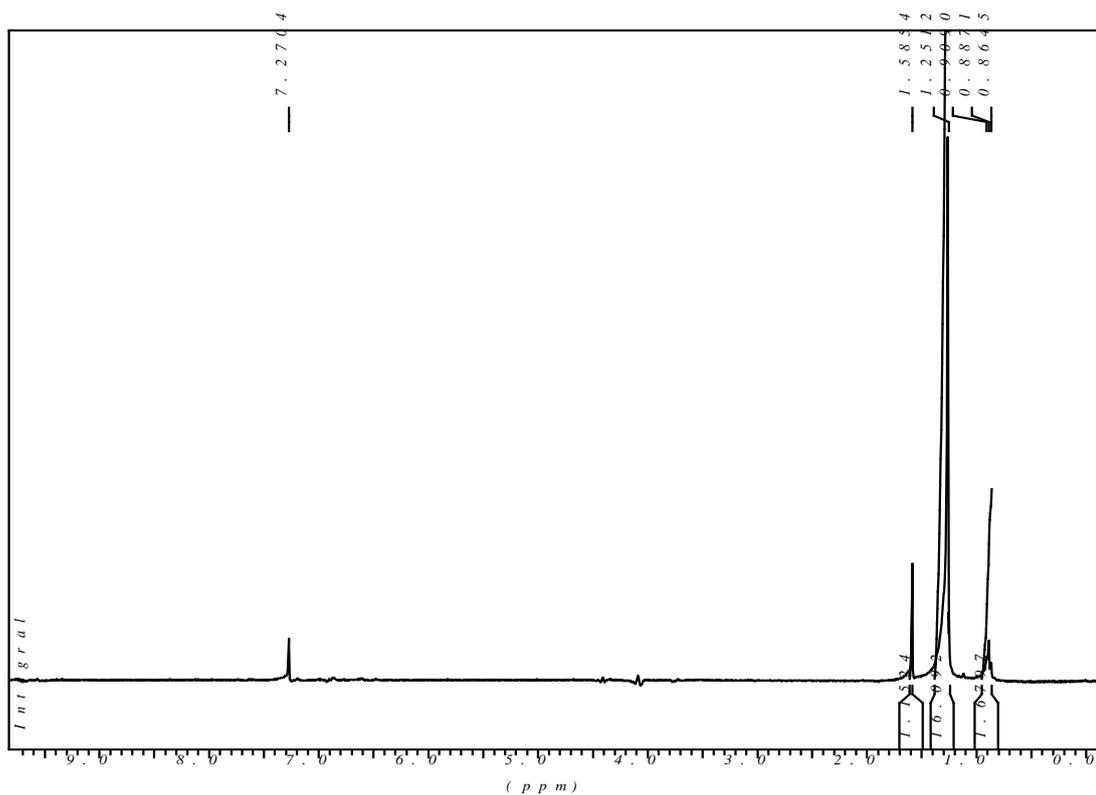


Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H da fração C1F0

O espectro de RMN de ^{13}C , mostrou sinais na região de 14 a 32 ppm (Figura 33). Dados da literatura confirmam que estes sinais são característicos de hidrocarbonetos de cadeia longa⁸⁴. Diante do conjunto de dados supracitados, e relatados na literatura acreditamos fortemente que a fração C1F0 consiste quase exclusivamente de *n*-alcanos de cadeia longa.

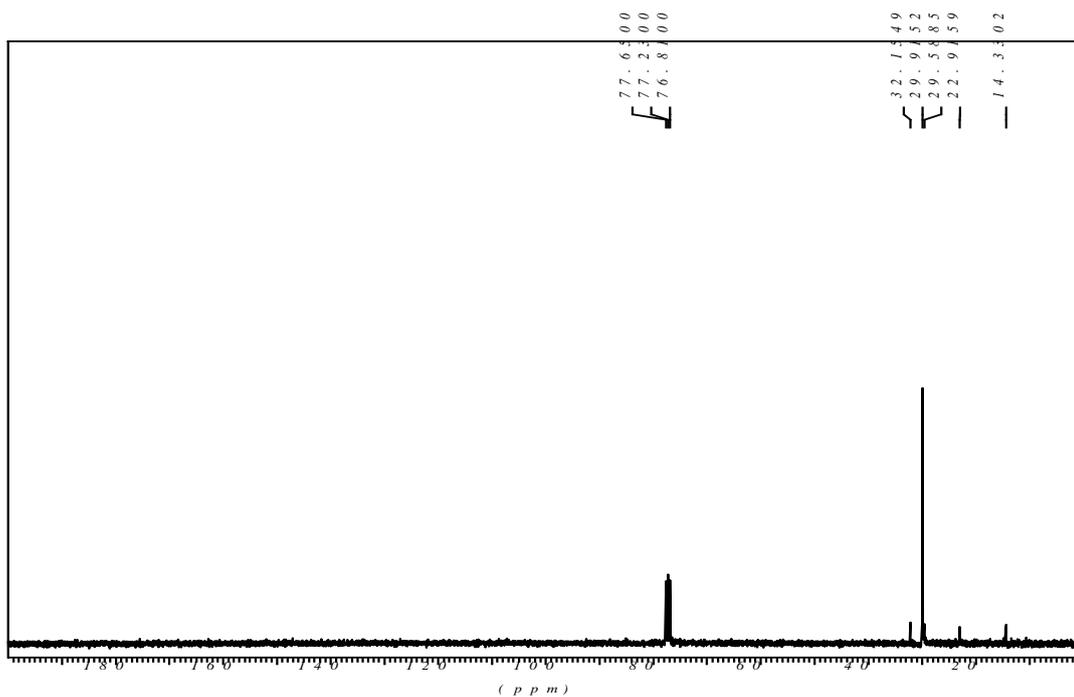


Figura 33 - Espectro de RMN de ^{13}C da fração C1F0.

Na tabela seguinte, (Tabela 9) podemos constatar a relação de todos os hidrocarbonetos encontrados, segundo a biblioteca *NIST* 08, no presente trabalho.

Tabela 9 - Relação dos hidrocarbonetos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do composto	T_r (min.)	Nº CAS
<i>n</i> -dodecano	13.747	112-40-3
<i>n</i> -tridecano	13.750	629-50-5
3-metil-5-undeceno	19.253	74630-67-4
3,7-dimetil-nonano	20.900	17302-32-8
<i>n</i> -tetradecano	20.903	629-59-4
<i>n</i> -pentadecano	20.910	629-62-9
5-eicoseno	27.433	74685-30-6
2,6,10-trimetil-dodecano	30.399	3891-98-3
1-propildecil-ciclohexano	32.013	13151-89-8
2,6,10,15-tetrametil-heptadecano	33.027	54833-48-6
3,5,24-trimetil-tetracontano	36.147	55162-61-3
2,4-dimetil-eicosano	36.981	75163-98-3
10-metil-nonadecano	38.218	56862-62-5
9-tricoseno	40.020	27519-02-4
<i>n</i> -heneicosano	40.624	629-94-7
8-hexil-pentadecano	45.120	13475-75-7
<i>n</i> -eicosano	45.123	112-95-8
<i>n</i> -dotriacontano	45.130	544-85-4
<i>n</i> -tetatriacontano	49.307	14167-59-0
<i>n</i> -tetracontano	53.123	4181-95-7
<i>n</i> -tetratetracontano	53.250	7098-22-8

<i>n</i> -tetrapentacontano	54.941	5856-66-6
13,17,21-trimetil-heptatriacontano	57.975	58668-40-9
1,3,5-trimetil-4- <i>n</i> -octadecil-ciclohexano	61.225	55282-34-3
17-pentatriaconteno	66.184	6971-40-0

Na figura 34, podemos observar a fórmula estrutural plana de alguns hidrocarbonetos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

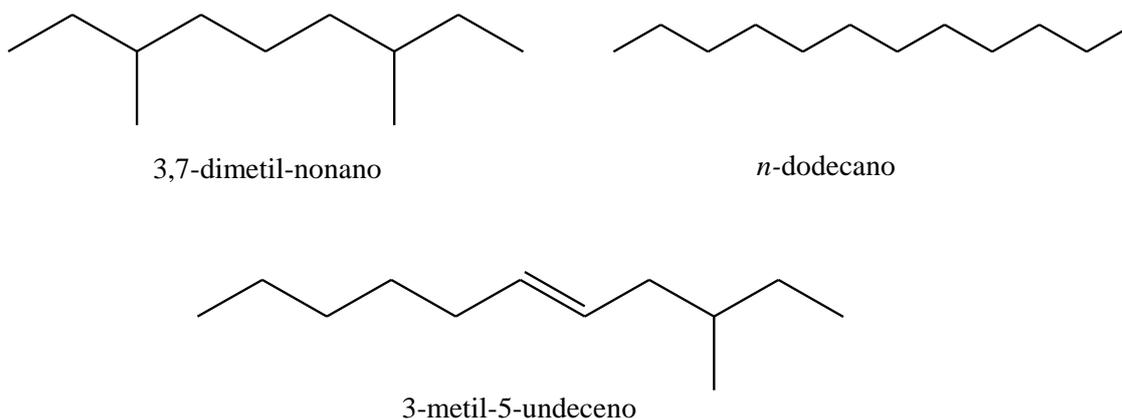


Figura 34 - Fórmulas estruturais de alguns hidrocarbonetos encontrados na fração C1F0.

Na tentativa de se observar a presença do íon molecular no espectro de massas desta fração a energia de ionização empregada foi alterada de 70 eV para 40 eV. Com esta alteração, a biblioteca do aparelho sugeriu exclusivamente a presença de alcanos (100%). No entanto, foi observado que além da ausência do íon molecular nos espectros, o cromatograma apresentou apenas 6 picos correspondentes a alcanos. Na figura 35, temos o cromatograma desta reanálise demonstrando a presença de 6 compostos diferentes.

Na figura 36, temos o espectro de massas do pico de maior área (72,49 %) e tempo de retenção de 56,699 min. (3401,94 s) correspondendo segundo a biblioteca *NIST* 08 ao *n*-tetrapentacontano ($C_{54}H_{110}$, MM 758 = g/mol) com 92% de similaridade.

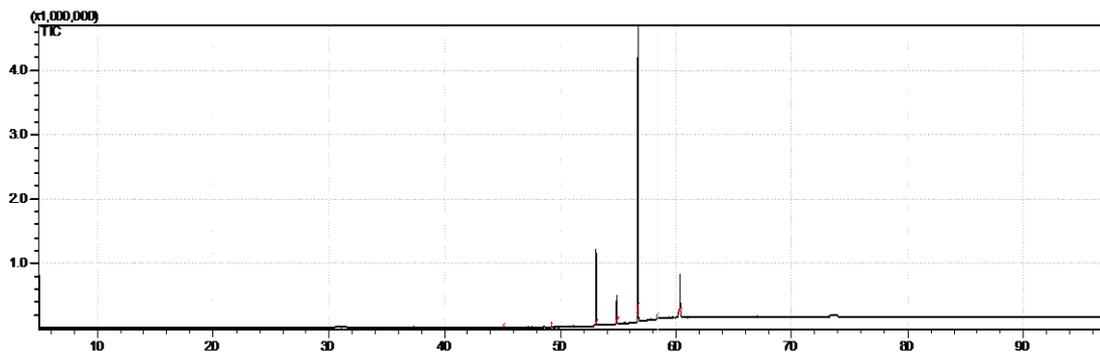
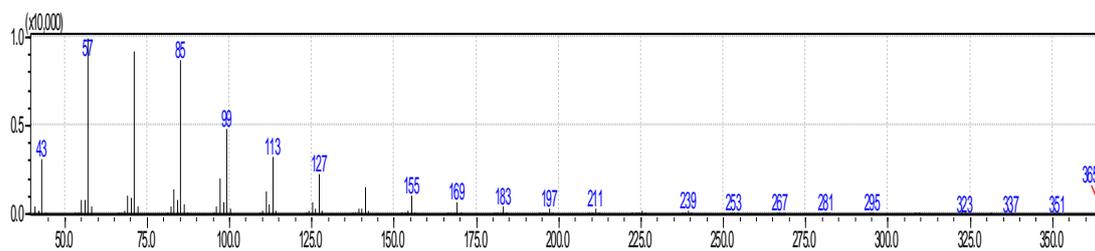


Figura 35 - Cromatograma da fração C1F0 com energia de ionização de 40 eV.

A)



B)

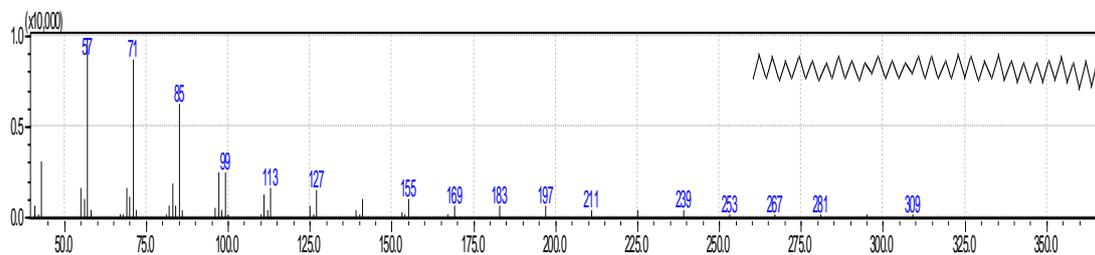


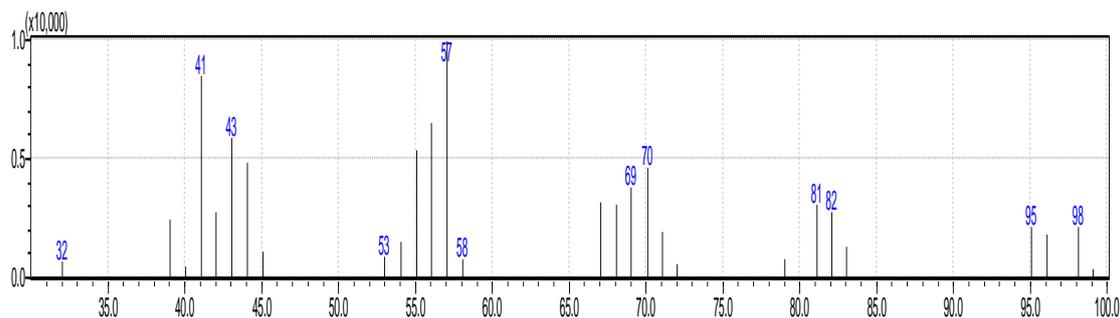
Figura 36 - Espectros de massas do *n*-tetrapentacontano com energia de ionização de 40eV (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F0. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.

7.2.4 Aldeídos e cetonas.

Na análise por CG/EM da fração C1F12 pode-se observar um pico com $T_r = 10,267$ min. referente, segundo a biblioteca do aparelho, ao *n*-nonanal $C_9H_{18}O$ (MM = 142 g/mol) com 94% de similaridade. O espectro de massas (Figura 37) desse composto apresentou um pico intenso em m/z 44 e outro m/z 57 proveniente de um rearranjo McLafferty e clivagem α e β , respectivamente, característico de aldeídos, como pode ser visto no esquema 1.

Entretanto, não foi possível observar outros fragmentos diagnósticos de aldeídos como, por exemplo: a quebra da ligação C–H e C–C vizinhas do átomo de oxigênio levando a formação de um pico $M - 1$ e um pico $M - R$ (m/z 29, CHO^+); $M - 18$ (perda de água) e $M - 28$ (perda de etileno) talvez devido à alta energia de ionização empregada e o comprimento da cadeia.

(A)



(B)

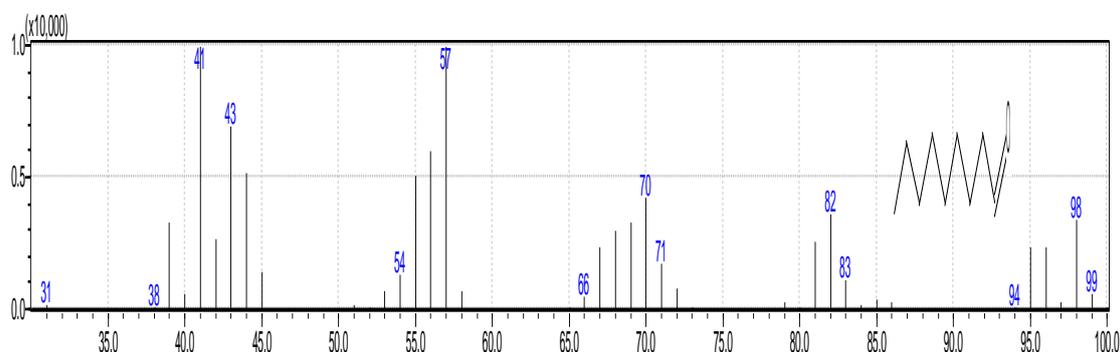


Figura 37 - Espectros de massas do *n*-nonanal. (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F12. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.

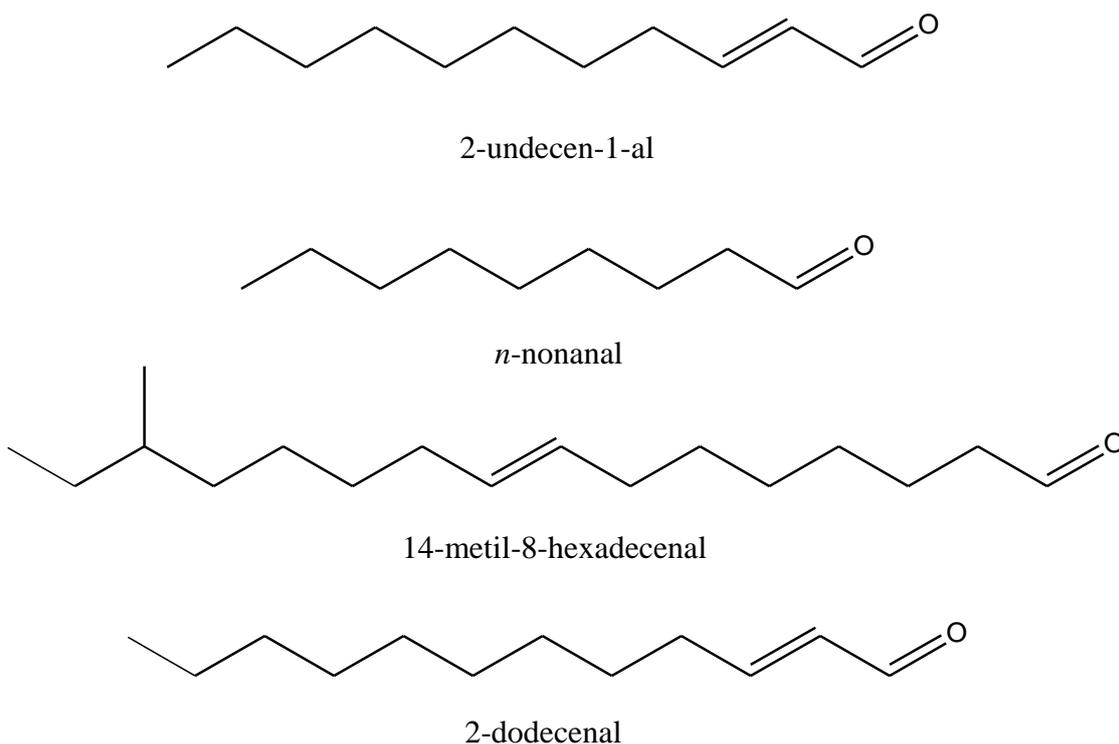
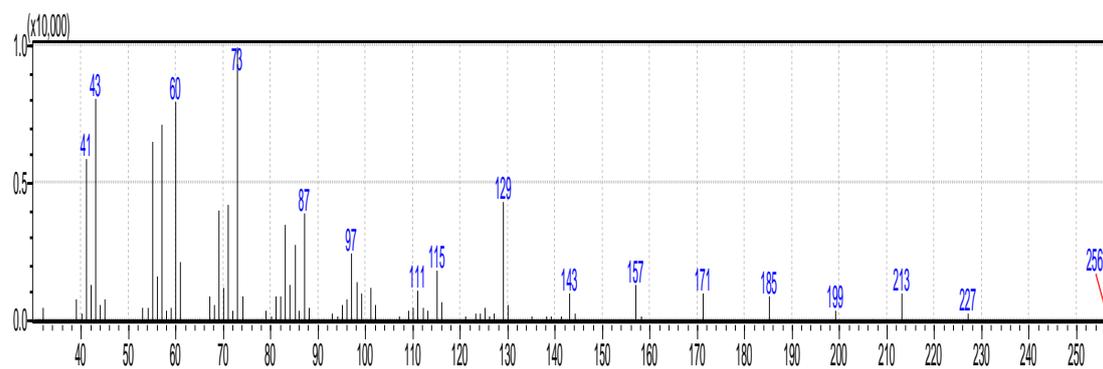


Figura 38 - Fórmulas estruturais de alguns aldeídos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

7.2.5 Ácidos carboxílicos e ésteres.

Na análise por CG/EM da fração C1F12, a biblioteca *NIST* 08 sugeriu no $T_r = 37,297$ min. a molécula do ácido hexadecanóico ($C_{16}H_{32}O_2$), (MM = 256 g/mol) com 93% de similaridade. O espectro de massas (Figura 39) da molécula em questão apresentou pico do íon molecular em m/z 256, pico a m/z 60 referente a um rearranjo de McLafferty e um pico intenso em m/z 73 conforme demonstrado no esquema 2. O espectro também nos mostra que existe uma perda regular de íons com 14 u.m.a. indicando que não existem ramificações e nenhum outro grupo funcional presente.

(A)



(B)

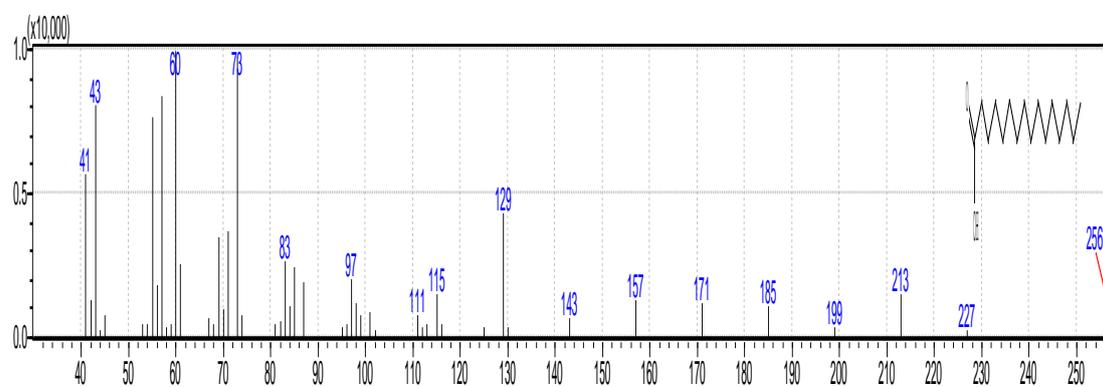
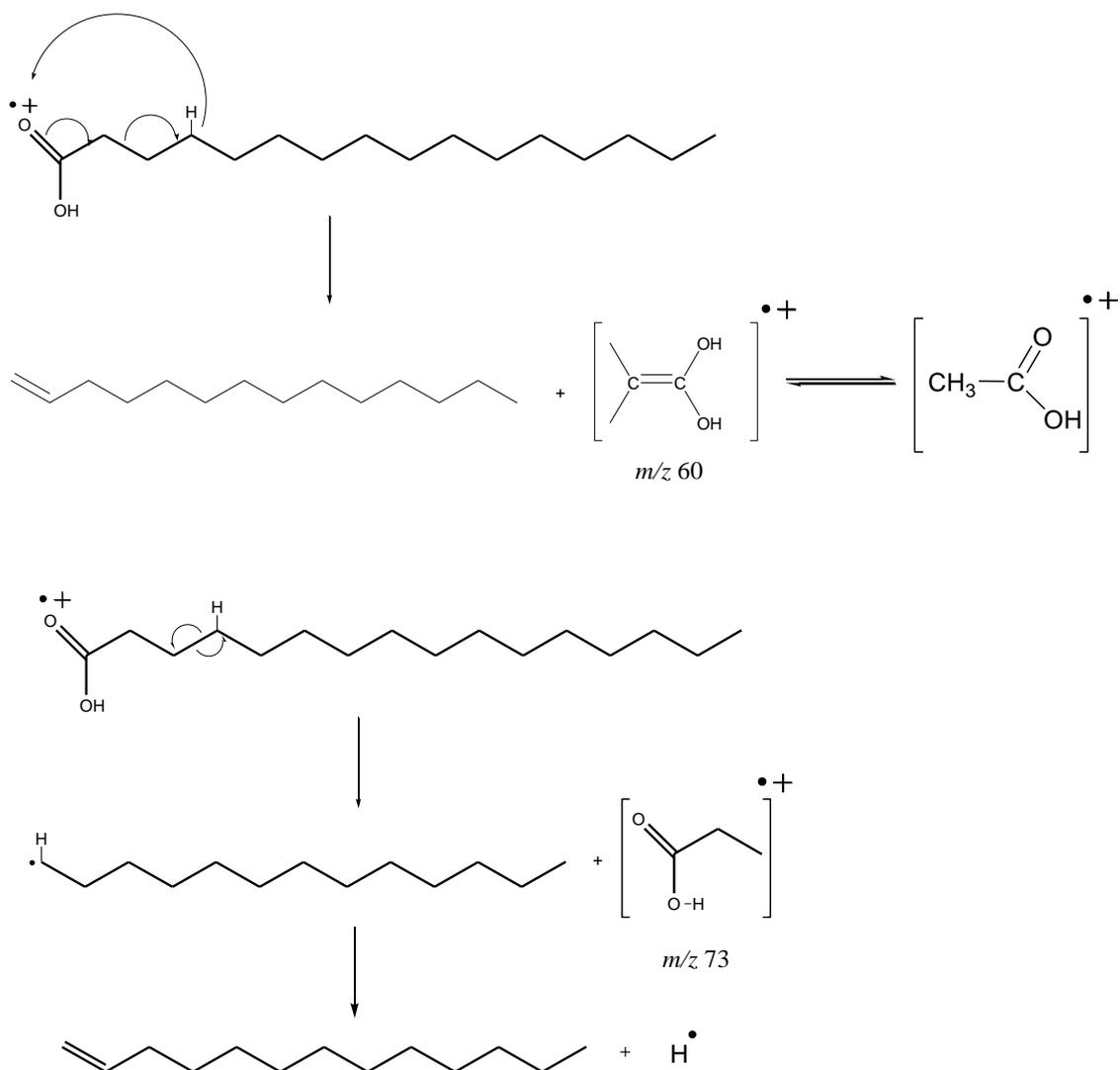


Figura 39 - Espectros de massas do ácido hexadecanóico. (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F12. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.



Esquema 2- Proposta de formação dos fragmentos m/z 60 e 73 a partir do ácido hexadecanóico.

Na tabela seguinte, (tabela 11) podemos constatar a relação de todos os ácidos carboxílicos encontrados, segundo a biblioteca *NIST* 08, no presente trabalho.

Tabela 11 - Relação dos ácidos carboxílicos e esteres encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do composto	T_r (min.)	Nº CAS
nonadioato de dimetila	25.812	1732-10-1
ácido tetradecanóico	31.993	544-63-8
ácido pentadecanóico	32.014	1002-84-2
ácido hexadecanóico	37.323	57-10-3
ácido octadecanóico	37.326	57-11-4
ácido eicosa-5,8,11,14,17-pentenóico	39.448	10417-94-4
ácido-9Z,12Z-octadecadienoico	40.588	60-33-3
11,14,17-eicosatrienato de metila	40.768	55682-88-7
octacosanoato de metila	41.305	55682-92-3

tridocosahexaenoína	45.479	11094-59-0
ácido-10,12-pentacosadiinóico	46.882	66990-32-7
ácido <i>p</i> -(dodeciloxi) benzóico	56.389	2312-15-4
acetato de octacosila	63.041	18206-97-8
ácido-22-tricosenóico	69.389	65119-95-1

Na figura 40, podemos observar a fórmula estrutural plana de alguns ácidos carboxílicos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

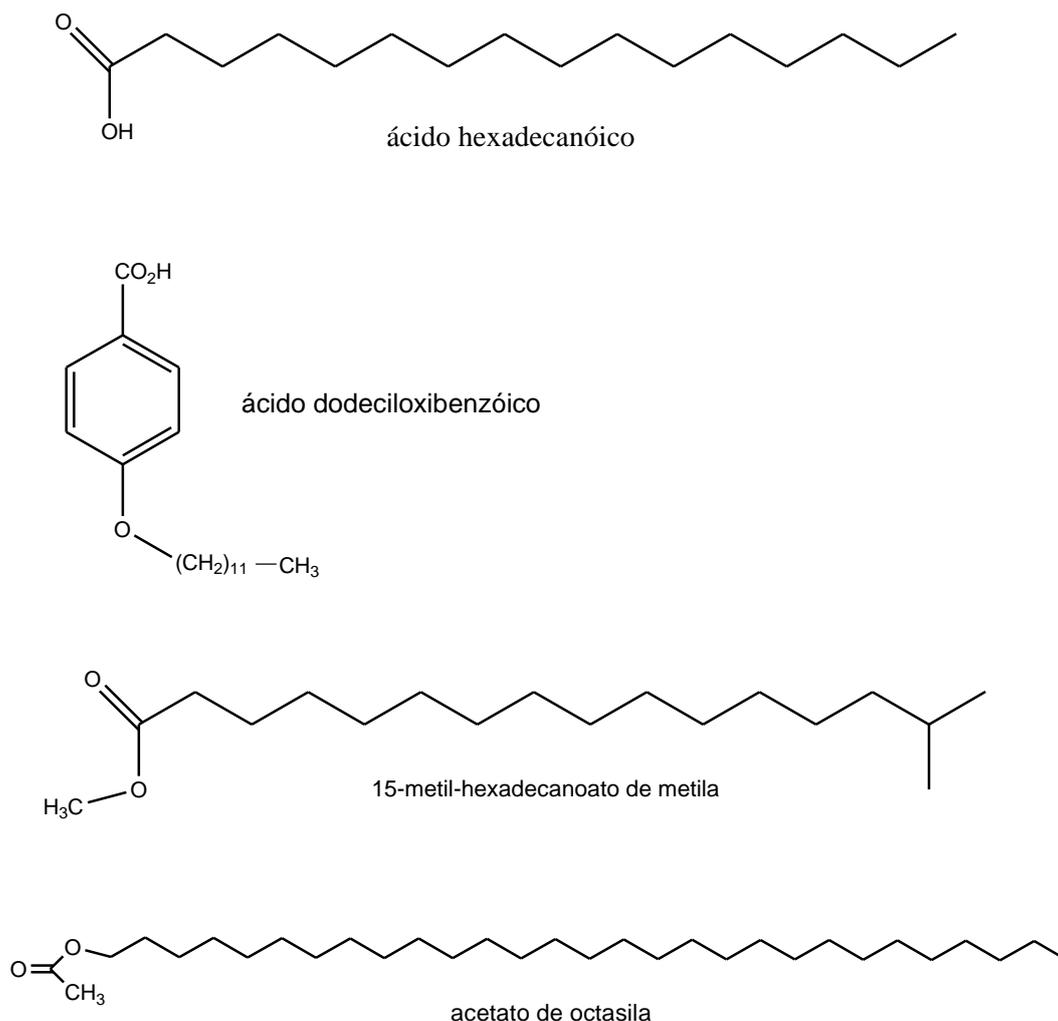


Figura 40 - Fórmulas estruturais de alguns ácidos e ésteres encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Para a análise da composição dos ácidos graxos presentes na cera cuticular de *S. flexicaulis* foi realizado um processo de derivatização utilizando-se de metóxido de sódio 0,2% e ácido sulfúrico ambos em metanol conforme já descrito nos itens 4.2.5 e 4.2.6. Após a transformação dos ácidos graxos a ésteres metílicos, empregou-se a técnica de CG/EM utilizando as mesmas condições analíticas empregadas para todas as

amostras. Os dados obtidos a partir da derivatização com metóxido de sódio e ácido sulfúrico estão apresentados nas tabelas 12 e 13 respectivamente.

Tabela 12- Relação dos ésteres metílicos, derivatizados com metóxido de sódio na cera cuticular de *S. flexicaulis*.

Nome do composto	T _r (min.)	Nº CAS
pentadecanoato de metila	19.641	7132-64-1
9Z,12Z -octadecadienoato de metila	25.306	112-63-0
(E)-9-octadecenoato de metila	25.495	1937-62-8
11-octadecenoato de metila	25.830	52380-33-3
octadecanoato de metila	26.391	112-61-8

Tabela 13- Relação dos ésteres metílicos, derivatizados com ácido sulfúrico na cera cuticular de *S. flexicaulis*.

Nome do composto	T _r (min.)	Nº CAS
tetradecanoato de metila	16.257	124-10-7
hexadecanoato de metila	21.089	112-39-0
9Z,12Z -octadecadienoato de metila	25.319	112-63-0
(E)-9-octadecenoato de metila	25.510	1937-62-8
octadecanoato de metila	26.403	112-61-8

Comparando-se os dados contidos nas tabelas 12 e 13 podemos perceber que, independente do método de derivatização das amostras, temos três compostos em comum, a saber: octadecanoato de metila, 9Z,12Z-octadecadienoato de metila e (E)-9-octadecenoato de metila.

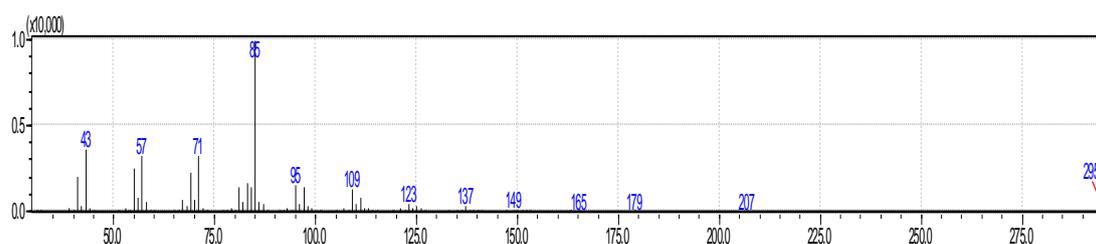
Analisando os dados presentes nas tabelas 11, 12 e 13 pode-se fazer uma correlação da presença dos ácidos livres presentes nas folhas e os seus respectivos ésteres presentes na cera cuticular de *S. flexicaulis*. Logo, podemos perceber que os compostos que se correlacionam são: 1) ácido tetradecanóico e tetradecanoato de metila; 2) ácido pentadecanóico e pentadecanoato de metila; 3) ácido hexadecanóico e hexadecanoato de metila; 4) ácido octadecanóico e octadecanoato de metila; 5) ácido-9Z,12Z-octadecadienoico e 9Z,12Z-octadecadienoato de metila.

7.2.6 Álcoois.

Na análise por CG/EM da fração C1F12, a biblioteca *NIST* 08 sugeriu no T_r = 37,308 min. a molécula de fitol (C₂₀H₄₀O), (3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol) (MM = 296 g/mol) com 94% de similaridade. A ausência do pico do íon molecular neste espectro (figura 41) já era esperada, pois é de conhecimento que este pico em

álcoois primários é usualmente pouco intenso e de difícil observação. Neste caso, onde temos um espectro de um álcool contendo grupos metila como ramificação era prevista a presença de um pico razoavelmente intenso em $M - 33$ resultante da perda de um grupo metila e água⁷³. No entanto, como se trata de um álcool de cadeia longa, a fragmentação é dominada pela sequência de fragmentações característica dos hidrocarbonetos conforme pode ser visto na figura 41.

(A)



(B)

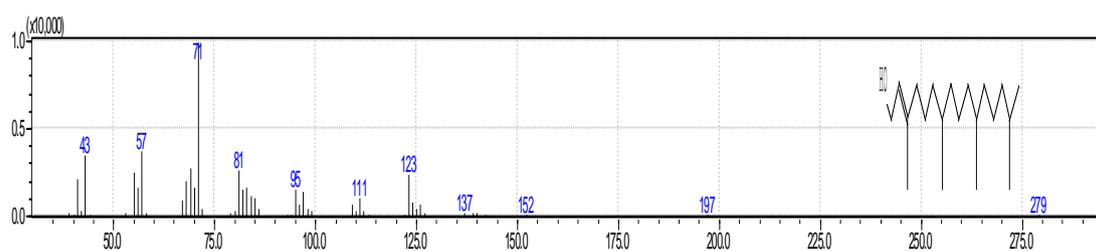


Figura 41 - Espectros de massas do fitol (3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol). (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F12. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.

Na tabela seguinte, (tabela 14) podemos constatar a relação de todos os álcoois encontrados no presente trabalho.

Tabela 14 - Relação dos álcoois encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do composto	T _r (min.)	Nº CAS
2-metileno-ciclopentano-propan-1-ol	18.114	53544-48-2
1-hexadecanol	29.015	36653-82-4
2-etil-1-pentanol	30.577	27522-11-8
3,7,11-trimetil-1-dodecanol	31.126	6750-34-1
(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	34.126	102608-53-7
3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecen-3-ol	36.965	505-32-8
2-hexil-1-decanol	38.243	2425-77-6

1-pentacontanol	38.381	40710-43-8
2-hidroxi-1,1,10-trimetil-6,9-epidioxidecalin	40.374	108511-85-9
2,4,4-trimetil-ciclopentanol	40.786	56470-83-8
3,7,11-trimetil-2,6-dodecadien-1-ol	41.732	20576-58-3
1-isopropenil-4-metil-1,4-ciclohexanediol	42.808	61465-23-4
1-tetracosanol	47.161	506-51-4
1-pentacosanol	61.081	26040-98-2
1-heptacosanol	61.194	2004-39-9
1-heptatriacontanol	69.078	105794-58-9
2-hexil-1-decanol	38.243	2425-77-6

Na figura 42, podemos observar a fórmula estrutural plana de alguns álcoois encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

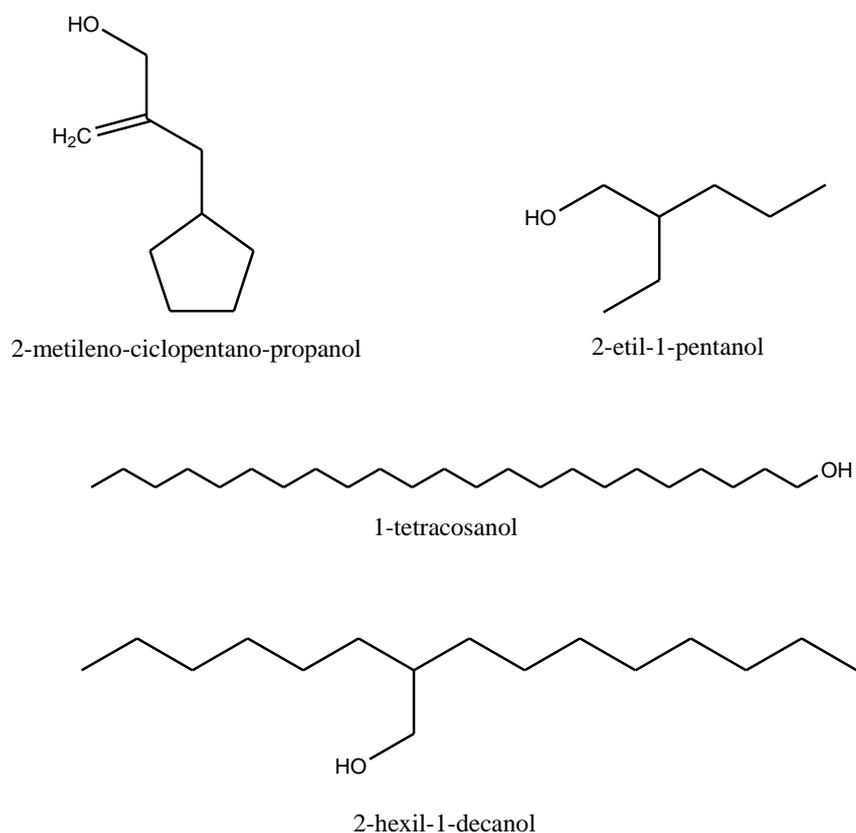


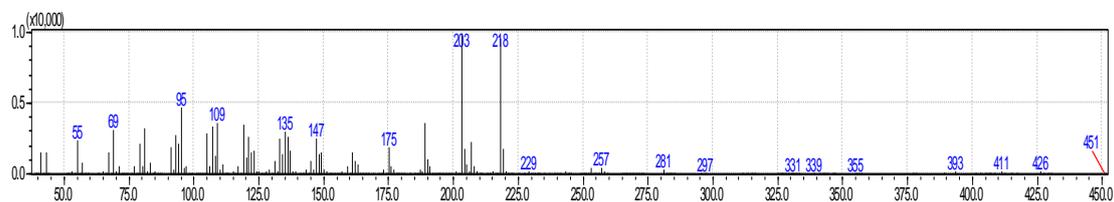
Figura 42 - Fórmulas estruturais de alguns álcoois encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

7.2.7 Triterpenos.

A análise da fração C1F9 por CG/EM mostrou que os terpenos representam 96,28% desta amostra. Na análise por CG, pode-se observar um pico com 20,67% de área que foi atribuído pela biblioteca do aparelho ao acetato de α -amirina $C_{32}H_{52}O_2$ (MM = 468 g/mol) com 80% de similaridade e eluído no $T_r = 68,522$ min.

O espectro de massas (Figura 43) do composto não apresentou o pico do íon molecular, entretanto julgando a partir de picos oriundos de fragmentações típicas de triterpenos pentacíclicos conforme visto no esquema 4 podemos suspeitar que a substância em questão seja o acetato de α -amirina⁸⁵.

(A)



(B)

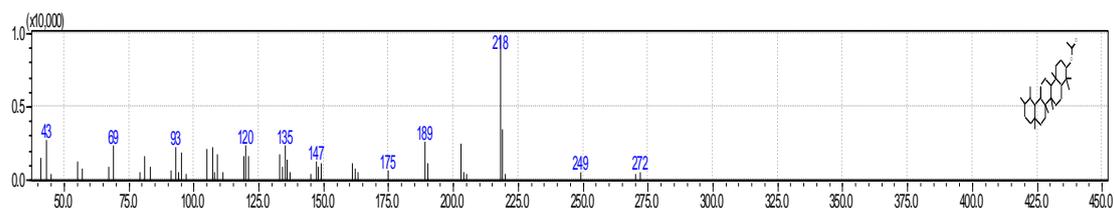
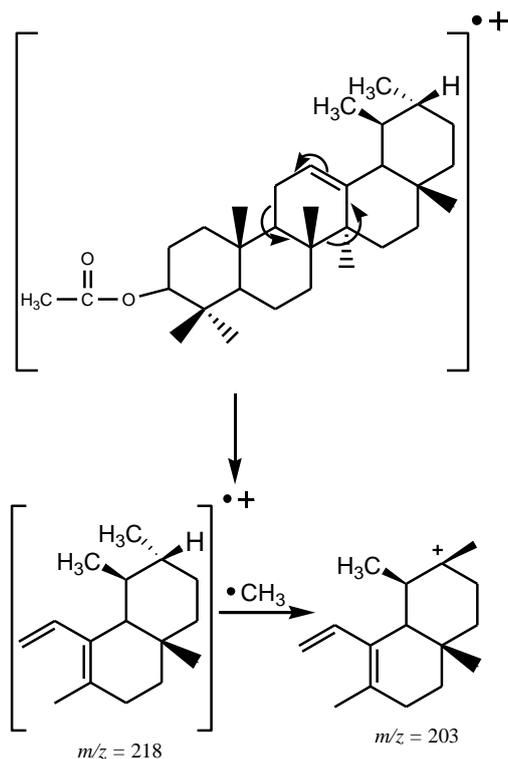


Figura 43 - Espectros de massas do acetato de α -amirina (A) Espectro de massas obtido da amostra C1F9. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.



Esquema 3- Fragmentação tipo reação *retro*-Diels-Alder do composto acetato de α -amirina.

Na tabela seguinte, (tabela 15) podemos constatar a relação de todos os triterpenos encontrados no presente trabalho.

Tabela 15 – Relação dos terpenos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do Composto	T _r (min.)	Nº CAS
4,12,12-trimetil-9-metileno-5-oxatriciclo[8.2.0.0(4,6)-]dodecano	26.203	1139-30-6
2,6-dimetil-2,7-octadien-1,6-diol	40.600	64142-78-5
geranilgeraniol	55.606	24034-73-9
esqualeno	55.607	7683-64-9
colesta-3,5-dieno	57.217	747-90-0
3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	60.638	14214-69-8
4,14-dimetil-(3- β -4- α -5- α)-ergosta-8,24(28)-dien-3-ol	66.540	16910-32-0
colesterato de metila	67.341	1174-92-1
acetato-5- α -stigmasta-7,22-dien-3- β -ol	67.455	4651-46-1
acetato de α -amirina	68.522	863-76-3
3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	68.640	1153-34-0
lupeol	69.081	545-47-1
acetato de lupeol	70.127	1617-68-1
betulinol	70.186	473-98-3
colesta-3,5-dien-7-one	70.262	567-72-6
friedelan-2-ona	70.416	17947-04-5
24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	71.188	1449-09-8

Na figura 44, podemos observar a fórmula estrutural plana de alguns terpenos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

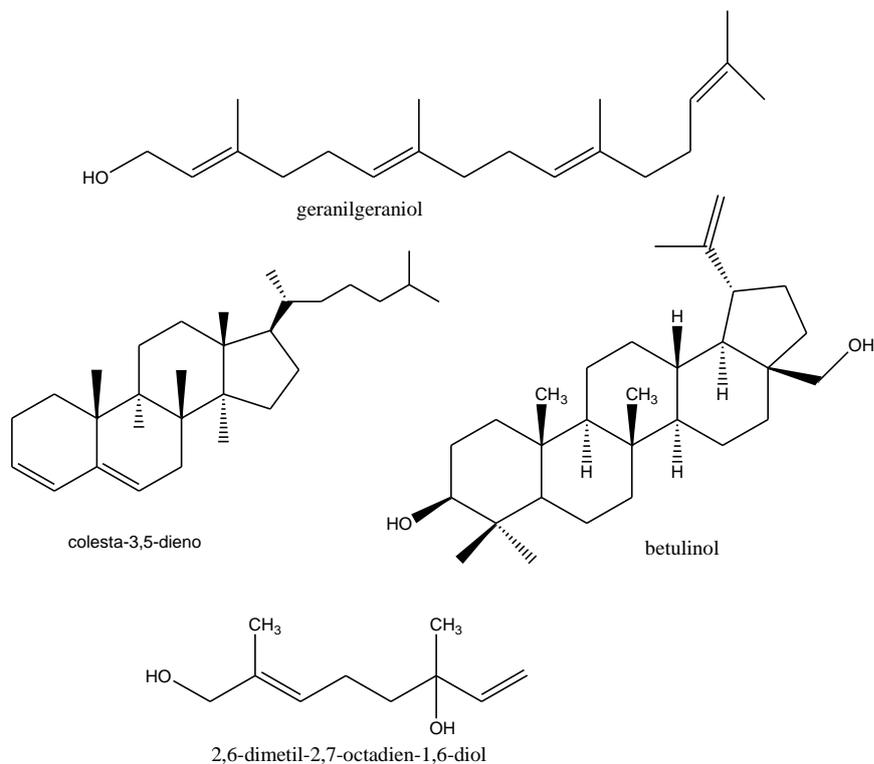


Figura 44 - Fórmulas estruturais de alguns terpenos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

7.2.8 Outros.

Conforme já mencionado no texto, as subdivisões foram criadas com o intuito de facilitar à explanação dos dados. E dentro dessa subdivisão “outros” a maioria das substâncias foram identificadas com baixa porcentagem relativa e as principais classes funcionais inseridas nesta classificação foram as amidas, furanonas e os epóxidos que serão descritos em maiores detalhes na sequência.

As amidas foram identificadas na coluna I (frações 9, 12 e 13) e na coluna III (fração 2) com uma área relativa máxima de 2,69% na fração C1F9. Os nomes das substâncias o tempo de retenção e o nº CAS destes compostos podem ser vistos na tabela 16.

Tabela 16- Relação das amidas encontradas na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do Composto	T _r (min.)	Nº CAS
(Z)-13-docosenamida	46.623	112-84-5
<i>n</i> -tetradecanamida	47.134	638-58-4

Esta função química já foi previamente descrita na literatura, em várias famílias do reino vegetal, em especial nas plantas da família Piperaceae. Estas substâncias sendo oriundas do metabolismo secundário apresentam diversas funções específicas entre elas a estratégia de defesa contra o ataque de insetos⁸⁶. O gênero *Piper* se destaca dentro da família por conter espécies que apresentam substâncias, como ligninas e amidas, usadas na defesa contra a herbivoria⁸⁷.

As furanonas foram identificadas em todas as colunas realizadas com uma área relativa máxima de 1,88% para o composto 4,4,7- α -trimetil-2(4H)-5,6,7,7- α -tetraidrobenzofuranona na fração C2F2. Uma lista completa com todas as furanonas encontradas pode ser vista na tabela 17.

Tabela 17 - Relação das furanonas encontradas na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do Composto	T _r (min.)	Nº CAS
2,5-diidro-2,2-dimetil-5-(1-metil-etil)-3-(1,5-isopropenil-3-isopropil-2,2-dimetil)-2,5-diidrofurano	23.419	77822-53-8
5,6,7,7- α -tetraidro-4,4,7- α -trimetil-benzofuranona	25.499	15356-74-8
3-dodecenil-2,5-furanodiona	42.837	19780-11-1
5-metil-5-(4,8,12-trimetil-tridecil)diidro-2(3H)-furanona	46.474	96168-15-9
4,4,7- α -trimetil-hexaidro-1-benzofuran-2(3H)-ona	58.355	16778-27-1
3-[2-[decaidro-6-hidroxi-5-(hidroximetil)-5,8- α -dimetil-2-metileno-1-naftalenil]etilid-2(3H)-furanona	67.260	5508-58-7

As furanonas são inéditas neste gênero, porém já foram registrados relatos de ocorrência natural⁷¹. Dentre as furanonas bioativas que apresentam comprovada atividade antimicrobiana destacam-se as furanonas pertencentes a classe dos γ -alquilidenobutenolídeos⁷¹. Diversos estudos mostraram que furanonas bromadas inibem a formação de biofilmes em várias espécies de bactérias. As substâncias conhecidas como fimbrolídeos, isoladas da alga vermelha *Delisea pulchra*, são inibidoras da formação de biofilmes em *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epideridis* e *Streptococcus spp*⁸⁸.

Os epóxidos foram identificados em todas as colunas analisadas sendo que na fração C3F2 pudemos observar o composto 3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-

epoxinaftoxepina com área relativa máxima de 17,10%. Os epóxidos encontrados estão descritos na tabela 18.

Tabela 18- Relação dos epóxidos encontrados na fração hexânica das folhas de *S. flexicaulis*.

Nome do Composto	T _r (min.)	Nº CAS
1,2-epoxi-hexadecano	30.280	7320-37-8
1,2-epoxi-dodecano	35.809	2855-19-8
1-(dodeciloxi)-2,3-epoxi-propano	36.151	2461-18-9
1,2-epoxi-3-(hexadeciloxi)-propano	36.156	15965-99-8
7-(acetiloxi)-decahidro-2,9,10-trihidroxi-3,6,8,8,10 α -pentametil-1 β ,4 α -epoxi-2h-ciclopenta(3,4)ciclopropa(8,9)cicoundec(1,2- β)oxiran-5(6H)-ona	55.200	77573-08-1
dodecil- <i>cis</i> -9,10-epoxi-octadecanoato	56.243	92332-53-1
epoxido hexadecil-oxirano	55.695	7390-81-0
14,15-epoxi-3-hidroxi-(3 β ,5 β ,15 β)-bufa-20,22-dienolido	64.973	465-39-4
dodecahidro-3,8,8,11- α -tetrametil-[3S-(3 α ,5 α ,7 α ,11 β ,11 α)]-epoxinaft[2,1-c]oxepin	67.548	1153-34-0

Sabe-se que os epóxidos são comuns na natureza, como por exemplo, temos a conversão enzimática linalol ao seu epóxido correspondente em várias plantas⁸⁹. Além disso, esta classe de compostos está envolvida em um importante passo no processo de biossíntese do colesterol a partir do esqualeno⁹⁰. No entanto, mesmo tomando todas as precauções acessíveis para evitar que estas amostras fossem oxidadas ou decompostas, não podemos certificar de que todos os epóxidos identificados nas amostras sejam oriundos da biossíntese de produtos naturais uma vez que, durante a execução das colunas cromatográficas algumas frações permaneceram imersas em solvente durante aproximadamente 12 hr o que pode ter levado algumas substâncias a um processo oxidação ou até mesmo decomposição. Na figura 45 pode-se visualizar a fórmula estrutural plana de algumas substâncias enquadradas dentro dessa classificação denominada de outros.

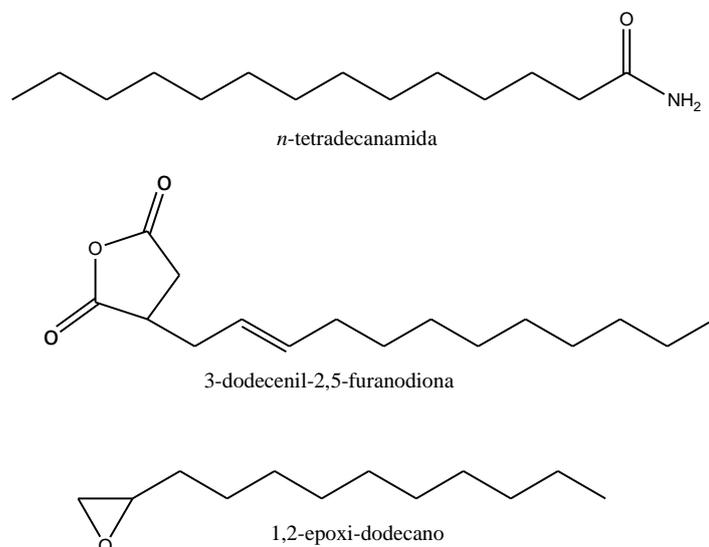
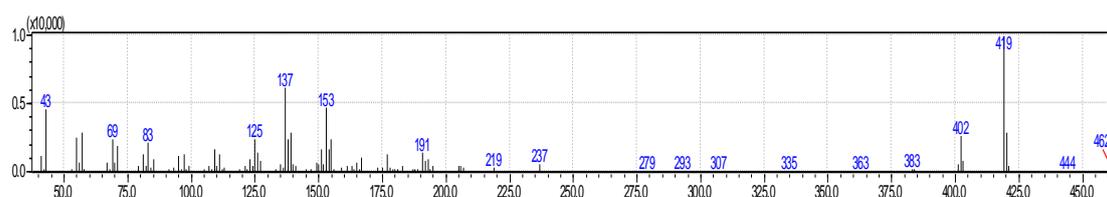


Figura 45- Fórmulas estruturais de algumas substâncias enquadradas dentro da subdivisão outros.

Existem alguns compostos dentro dessa subdivisão denominada de outros que não se enquadram dentro da classificação das amidas, epóxidos e furanonas. A título de exemplo, podemos citar a presença de α e δ -tocoferol.

Outro fato interessante a ser abordado neste tópico é a aparição de um pico em 56,656 minutos com 17,17% de área no cromatograma da fração C3F5. A biblioteca do instrumento acusou para esse pico a molécula de 1,2,3,5-tetraisopropil-ciclohexano (MM= 252 g/mol); (CAS: 0-00-0) com 63% de similaridade. No entanto, conforme pode ser visto no espectro de massas referente a esse pico (figura 46) podemos perceber certa inconformidade pelo que foi sugerido pela biblioteca *NIST 08* uma vez que observamos um pico intenso em m/z 419.

(A)



(B)

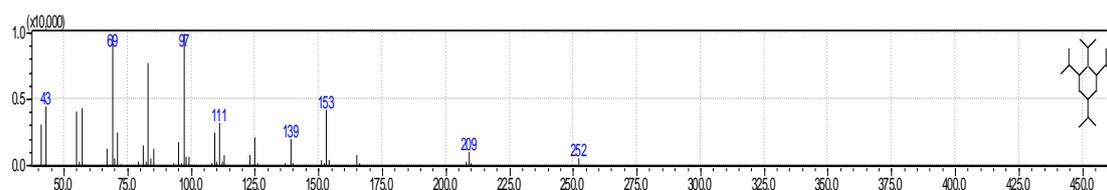


Figura 46-Espectros de massas de uma substância desconhecida e inserida dentro da subdivisão outros. (A) Espectro de massas obtido da amostra C3F5. (B) Espectro de massas obtido da biblioteca do instrumento.

Na tentativa de interpretar este espectro realizamos uma busca, na biblioteca *NIST 08*, dos espectros de massas dos compostos que apresentam massa molecular de 462 g/mol e 419 g/mol. Em seguida, realizamos uma análise visual e a subtração dos espectros através do próprio programa e constatamos que o espectro em questão não era similar com nenhum dos presentes no banco de dados. Logo, devido a este fato podemos supor que o espectro em questão trata de uma mistura de compostos ou até mesmo de um composto inédito. No entanto, analisando o T_r desse pico percebemos que ele esta muito próximo ao T_r dos terpenos encontrados apesar de não mostrar o padrão de fragmentação carecterística dos fitoesteroídes. Na ausência de quantidades maiores de amostra, este composto, por enquanto, permanecerá não identificado conclusivamente.

8. CONCLUSÕES.

O estudo fitoquímico do extrato hexânico das folhas de *S. flexicaulis* resultou na identificação por CG/EM de 125 compostos sem relatos na literatura para esta espécie.

Diante dos resultados obtidos, pudemos perceber que houve uma separação eficiente dos constituintes químicos presentes no extrato hexânico bruto das folhas de *S. flexicaulis*, através de cromatografia em coluna *flash*, pois os gráficos construídos na seção 5 (resultados) nos mostraram uma coerência em relação às frações coletadas, uma vez que realizando a segunda coluna cromatográfica a partir da fração C1F9, que

apresentou 96,28% de terpenos, a maioria das frações obtidas na coluna II apresentou os terpenos como constituintes predominantes. O mesmo pode ser dito da coluna III, que foi oriunda da fração C2F4, com 54,68% de terpenos e que originou 3 das 5 frações tendo os terpenos como constituintes majoritários.

Durante a execução deste trabalho, foram encontrados alguns obstáculos a começar pelas impurezas presentes nos solventes P.A. que devido a alta sensibilidade do CG/EM tivemos que destilar todos os solventes utilizados além de utilizarmos de uma solução de hidróxido potássico alcoólica para a devida limpeza das vidrarias utilizadas. Porém, mesmo tomando estas medidas preventivas pudemos perceber a presença de algumas impurezas como, por exemplo, a difenil sulfona que é um solvente utilizado na síntese do polímero PEEK que esta presente na bomba da coluna *flash*. Logo, mesmo verificando as impurezas nas amostras pudemos identificar as suas origens o que nos possibilitou a remoção destas substâncias nas análises dos resultados com segurança.

Outro obstáculo encontrado foi durante a análise dos dados no CG/EM onde percebemos algumas limitações da biblioteca *NIST 08*, que em vários casos, identificou a mesma substância em tempos de retenção distintos, pois a biblioteca não contém ou é incapaz de distinguir substâncias com uma elevada similaridade estrutural. Para reverter esta situação, seria necessária a injeção padrões de referência, mas no contexto do presente trabalho essa prática não foi viável.

Desta forma, de acordo com os resultados apresentados, pode-se constatar que a metodologia analítica utilizada mostrou-se eficaz para a identificação das substâncias presentes no extrato hexânico das folhas de *S. flexicaulis*.

9. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.

Diante da contribuição das plantas superiores para o desenvolvimento, de forma direta ou indireta, de quimioterápicos a partir de seus metabólitos secundários, o estudo com a espécie *S. flexicaulis* abre espaço para a continuação deste trabalho em busca da atividade biológica das substâncias identificadas e suas aplicações, tendo em vista o seu uso popular e o fato de ser uma espécie medicinal sem estudo.

REFERÊNCIAS

- ¹ Calixto, J. B.; Kassuya, C. A. L.; André, E.; Ferreira, J.; *Pharmacology & Therapeutics*, **2005**, *106*, 179-208.
- ² Cordell, G.A.; *Phytochemistry*, **1995**, *40*, 1585-1612.
- ³ Disponível em: www.science.siu.edu/parasiticplants/Loranthaceae/index.html,
Acessado: 08/08/2011.
- ⁴ Rizzini, C.T.; **Lorantáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, **1968**, *44*. (Flora Ilustrada Catarinense).
- ⁵ Barney, C. W.; Hawksworth, F. G.; Geils, B. W.; *European Journal of Forest Pathology*, **1998**, *28*, 187-208.
- ⁶ Tsopelas, P.; Angelopoulos, A.; Economou, A.; Soulioti, N. *Forest Ecology and Management*, **2004**, *202*, 59-65.
- ⁷ Zee cheng, R. K. Y.; *Drug Future*, **1997**, *22*, 519-530.
- ⁸ Fernández, T.; Wagner, M. L.; Varela, B. G.; Ricco, R. A.; Hajos, S. E.; Gurni, A. A.; Alvarez, E.; *Journal of Ethnopharmacology*, **1998**, *62*, 25-34.
- ⁹ Ohashi, K.; Winarno, H.; Mukai, M.; Inoue, M.; Prana, M. S.; Simanjuntak, P.; Shibuya, H.; *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **2003**, *51*, 343-345.
- ¹⁰ Ishizu, T.; Tsujino, E.; Winarno, H.; Ohashi, K.; Shibuya, H.; *Tetrahedron Letters*, **2001**, *42*, 6887-6889.
- ¹¹ Lohézic-le-évéhat, F.; Tomasi, S.; Fontanel, D.; Boustie, J.; *Zeitschrift Fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, **2002**, *57*, 1092-1095.

-
- ¹² Disponível em: <http://botanical.com/botanical/mgmh/m/mistle40.html>. Acessado em: 12/01/2012.
- ¹³ Stein, G. M.; Schietzel, M.; Büssing, A.; *Anticancer Research*, **1998**, *18*, 3247-3250.
- ¹⁴ Kienle, G. S.; *Alternative Therapies in Health and Medicine*, **1999**, *5*, 34-46.
- ¹⁵ Bocci, V.; *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, **1993**, *7*, 1-6.
- ¹⁶ Kuttan, G.; Kuttan, R.; *Immunological Investigations*, **1992**, *21*, 285-296.
- ¹⁷ Rodríguez-Cruz, M. E.; Pérez-Ordaz, L.; Serrato-Barrajas, B. E.; Jaréz-Oropeza, M. A.; Mascher, D.; Paredes-Cabajal, M. C.; *Journal of Ethnopharmacology*, **2003**, *86*, 213-218.
- ¹⁸ Coe, F. G.; Anderson, G. J.; *Phytochemistry*, **1996**, *60*, 365-371.
- ¹⁹ Vieira, O. A. C.; Santos, M. H.; Silva, G. A.; Siqueira, A. M.; *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **2005**, *15*, 149-154.
- ²⁰ Disponível em:
www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Struthanthus_flexicaulis.htm Acessado em: 09/11/2011.
- ²¹ Rodrigues, V.E.G.; Carvalho, D.A. *Plantas Mediciniais no Domínio dos Cerrados*, UFLA: Lavras **2001**.
- ²² Salatino, A.; Kraus, J.E.; Salatino, M.L.F.; *Annals of Botany*, **1993**, *72*, 409-414.
- ²³ Pereira, C.E.; Felcman, J.; *Biological Trace Element Research*, **1998**, *65*, 251-259.

-
- ²⁴ Otero, R.; Núñez, V.; Jiménez, S.L.; Fonnegra, R.R.; Osorio, G.; García, M.E.; Díaz, A.; *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, *71*, 505-511.
- ²⁵ Otero, R.; Núñez, V.; Barona, J.; Fonnegra, R.; Jiménez, S. L.; Osorio, R.; Saldarriaga, G.M.; Díaz, A.; *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, *73*, 233-241.
- ²⁶ Núñez, V.; Otero, R.; Barona, J.; Saldarriaga, M.; Osorio R.; Fonnegra, R.; Jiménez, S.L.; Díaz, A.; Quintana, J.C.; *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, **2004**, *37*, 969-77
- ²⁷ Garcia, X.; Magos, G.; Lorenzana-Jiminez, M.; Gijon, E.; Proceedings of the Western Pharmacology Society, **2006**, *49*, 55-57.
- ²⁸ Lorenzana-jimenez, M.; Guerrero, G.; Gonzalez, X.G.; Granados, E.G.; Cassani, *Journal of Pharmacology online*, **2006**, *3*, 359-364.
- ²⁹ Oliveira, D.F.; Pereira, A.C.; Figueiredo, H.C.P.; Carvalho, D.A.; Silva, G.; Nunes, A.S.; Alves, D.S.; Carvalho, H.W.P.; *Fitoterapia*, **2007**, *78*, 142-145.
- ³⁰ Vieira, O.M.C.; Santos, M.H.; Silva, G.A.; Siqueira, A.M.; *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2005**, *15*, 149-154.
- ³¹ Grazul, R.; Carvalhaes, R. Extração e identificação dos principais constituintes da espécie *Struthanthus flexicaulis*. Semana do ICE, **2009**, Pesquisa não publicada.
- ³² Fabri, R.; Scio, E.; Grazul, R. Estudo da atividade antimicrobiana da espécie *Struthanthus flexicaulis*. **2009**, Pesquisa não publicada.

³³ Mansky, P. J.; Grem, J.; Wallerstedt, D. B.; Monahan, B. P.; Blackman, M. R.; *Integrative Cancer Therapies*, **2003**, 2, 345-352.

³⁴ Disponível em:

<http://www.cancer.gov/Cancertopics/Pdq/Cam/Mistletoe/Healthprofessional> Acessado em: 09/01/2012.

³⁵ Still, W.K.; Kahn, M.; Mitra, A.; *Journal of Organic Chemistry*, **1978**. 43, 2923.

³⁶ Disponível em:

http://www.inrb.pt/fotos/editor2/inia/prestacao_de_servicos_analises/lml_metodos_laboratoriais.pdf Acessado dia 25/5/2012.

³⁷ Disponível em: www.cfs.purdue.edu/fn/bot/downloads/pdf/polyphenolSOP.pdf.

Acessado em: 11/06/2012.

³⁸ Chaudhry, Y.; Carotenoids-Natural Food Colors and Health Benefits-Symposium 12-Interaction of Natural Colors with Other Ingredients, **2003**.

³⁹ Fontana, J. D.; Mendes, S.V.; Persike, D.S.; Peracet, L. F.; Passos, M. CAROTENÓIDES - Cores Atraentes e Ação Biológica, **1997**.

⁴⁰ Rodrigues, B. B. A Guide to Carotenoid Analysis in Food, OMNI Research, ILSI Human Nutritional Institute, Washington, **2001**, 64-72

⁴¹ Bobbio, P.A.; Bobbio, F.O. Química do processamento de alimentos. **2001**, 3, 103-118.

⁴² Pais, M.P.; Valor Nutritivo e Investimento em Defesas em folhas de *Didymopanax vinosum* E.March e sua Relação com a herbivoria em três fisionomias de Cerrado. 1998.

106p. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

⁴³ Li, J.; Maplesden, F.; *Ipenz Transactions*, **1998**, 25,46-52.

⁴⁴ Dicarlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A. A.; Capasso, F.; *Life Sciences*, **1999**, 65, 337-353.

⁴⁵ Robards, K.; Antolovich, M; *Analytical Chemistry of Bioflavonoids, A Review*, **1997**, 122.

⁴⁶ Winkel-shiirley, B.; *Plant Physiology*, **2001**, 126, 484-493.

⁴⁷ Dixon, R. A.; Achnine, L.; Kota, P.; Liu, C. J.; Srinivasa, M.S.; Wang, L.; *Molecular Plant Pathology*, **2002**,3, 371-390.

⁴⁸ Disponível em: <http://sbfgnosia.org.br/Ensino/taninos.html> Acessado em: 07/05/2021

⁴⁹ Temmink, J.H.M.; *Water Research*, **1989**, 23, 341-344.

⁵⁰ Takechi, M.; Tanaka, Y.; Takehara, M.; Nonaka, G.; Nishioka, I.; *Phytochemistry*, **1985**, 24, 2245-2250.

⁵¹ Zuanazzi, J.A.S.; Montanha, J.A.; *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*, 5º ed., Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1102 p., 2004.

⁵² Otero, M. J.; Hidalgo, L.G.; *Livestock Research for Rural Development*, **2004**, 16, 1-9.

⁵³ Heil, M.; Baumann, B.; Andary, C.; Linsenmair, K.; Mckey, D.; *Naturwissenschaften journal*, **2002**, 89, 519-524.

⁵⁴ Haslam, E.; *Journal of Natural Products*, **1996**, 59, 205-215.

⁵⁵ Okuda, T.; *Phytochemistry*, **2005**, 66, 2012-2031.

⁵⁶ Disponível em:

http://www.ufv.br/dbv/pgfvg/BVE684/htms/pdfs_revisao/metabolismo/cera.pdf

Acessado em: 10/06/2012.

⁵⁷ Connolly, J.D.; Mill, R.A.; *Natural products Reports*, **1989**, 6, 475.

⁵⁸ Harbone, J.B.; Turner, B.L.; *Plant Chemosystematics*, **1984**, 16, 751.

⁵⁹ Peres, L. E. P.; Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, **2004**, 1-10.

⁶⁰ Mann J.; *Chemical Aspects of Biosynthesis*. Oxford Chemistry Primers- Oxford Science Publications, **1994**.

⁶¹ Bruneton, J.; *Pharmacognosie: Phytochimie - Plantes Medicinales. Technique et Documentation* – Lavoisier, 2^a Edicao, **1993**.

⁶² Gui-bin jiang, Y.C.; Liu, J.; Zhou, Q.; *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 494 ,149.

⁶³ Loureiro, R.I.; Moreira, I.; A importância e ocorrência de ftalatos em Água potável e no ecossistema da Baía de Guanabara Rio de Janeiro. 2002. 143p. Tese de Doutorado. Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, **2002**.

⁶⁴ Disponível em: <http://es.patents.com/us-3994948.html>. Acesso: 12/12/2011.

⁶⁵ Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/PEEK>. Acesso: 12/12/2011.

⁶⁶ Disponível em: <http://www.spectrumquimica.com.br/PDF/SQ.pdf>. Acesso em: 12/12/2011.

⁶⁷ Benelli, P.; Agregação de valor ao bagaço de laranja (CITRUS SINENSISL. OSBECK) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração. Dissertação (Mestrado em Química). CENTRO TECNOLÓGICO, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, Santa Catarina, **2010**. 223 f.

⁶⁸ Disponível em: <http://www.borsodchem-cz.com/getdoc/dd280ea5-67ad-4464-96ad-257946fdbbc9/default.aspx>. Acesso: 05/06/2012

⁶⁹ Pedersen, J.A.; Yeager, M.A.; Suffet, I.H.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, *51*, 1360–1372.

⁷⁰ Harbone, J. B.; *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*, 2nd ed., Chapman and Hall: London, **1984**, 55-136.

⁷¹ Zeraik, L.M.; Yariwake, J.H.; *Química Nova*, **2008**, *31*, 1259-1262.

⁷² Disponível em: http://en.wikipedia.org/wiki/Phenolic_content_in_tea#cite_note-USDA-5 Acessado em: 19/06/2012

⁷³ Silverstein, R. M.; Bassler, F. X.; Morrill, T.; C. 5^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **1994**.

⁷⁴ Inczedy, J.; Lengyel, T.; Ure, A. M.; *Compendium of Analytical Nomenclature. Definitive Rules 1997*, “The Orange Book”, 3^a ed., Blackwell Science: Oxford, 1998.

⁷⁵ Disponível em:

[http://eco.com.ua/sites/eco.com.ua/files/lib1/english_book/The Troubleshooting and Maintenance Guide for Gas Chromatographers.pdf](http://eco.com.ua/sites/eco.com.ua/files/lib1/english_book/The_Troubleshooting_and_Maintenance_Guide_for_Gas_Chromatographers.pdf) Acessado em: 10/06/2012.

⁷⁶ Zaikin, V.G.; Borisov, R.S.; *Journal of Analytical Chemistry*, **2002**, *57*, 544-551.

⁷⁷ Adams, R.P.; *Allured Publishing Corporation*, **1995**.

⁷⁸ Spiewok, S.; Schmolz, E.; Ruther, J.; *Journal of Chemical Ecology*, **2006**, *32*, 2777-2788.

⁷⁹ Kaib, M.; Jmhasly, P.; Wilfert, L.; Durka, W.; Franke, S.; Francke, W.; Leuthold, R.H.; Brandl, R.; *Journal of Chemical Ecology*, **2004**, *30*, 365-385.

⁸⁰ Carlson, D.A.; Bernier, U.R.; Hogsette, J.A.; Sutton, B.D.; *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **2001**, *48*, 167-178

⁸¹ Zaikin, V.G.; Borisov, R.S.; *Journal of Analytical Chemistry*, **2002**, *57*, 544-551.

⁸² Mastelic, J.; Jerkovic, I.; Mesic, M.; *Flavour and Fragrance Journal*, **2006**, *21*, 306-313.

⁸³ Von Kováts, E.; *Helvetica Chimica Acta*, **1958**, *41*, 7.

⁸⁴ Siddiqui, B. S.; *Zeitschrift für Naturforschung*, **2004**, *59*, 104-112.

⁸⁵ Disponível em: <http://pr.hec.gov.pk/Chapters/426-9.pdf> Acessado em: 05/01/2012

⁸⁶ Villalobos, M.J.P.; *Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estadio actual de la investigación*. Madrid, España: Monografías INIA, **1996**, 21

⁸⁷ Miranda, J.E.; Oliveira, J.E.M.; Bortoli, S.A.; Navickiene, H.M.D. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas*, **2002**, 6, 557-56.

⁸⁸ Barbosa, L.C.A.; Maltha, C.R.A; Demuner, A.J.; Pinheiro, P.F.; Varejão, J.O.S.; Montanari, R.M.; Andrade, N.J.; *Química Nova*, **2010**, 33, 2020-2026.

⁸⁹ Disponível em: http://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/notes_eadds_pt05.pdf
Acessado dia 11/06/2012.

⁹⁰ Barros, F. M. C.; Zambarda, E. O. ; Heinzmann, B.M.; Mallmann, C.A.; *Química Nova*, **2009**, 32, 4.

APÊNDICES

Apêndice A-Dados brutos obtidos da fração C1FO por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

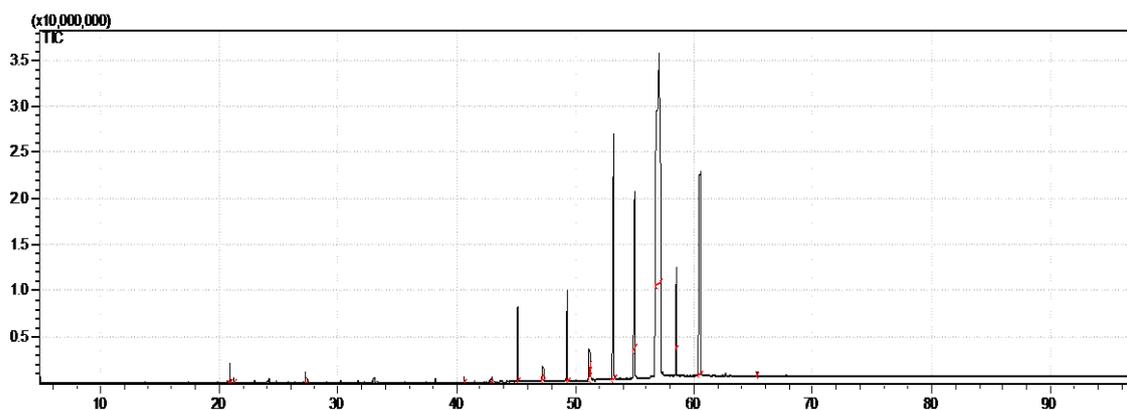


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C1FO.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
97	<i>n</i> -pentadecano	0,50	20.910	629-62-9
96	<i>n</i> -pentadecano	0,26	27.312	629-62-9
96	<i>n</i> -heneicosano	0,13	40.624	629-94-7
96	<i>n</i> -heneicosano	0,14	42.931	629-94-7
95	<i>n</i> -heneicosano	2,15	45.149	629-94-7
90	1-tetracosanol	0,04	47.161	506-51-4
95	<i>n</i> -heneicosano	0,35	47.257	629-94-7
94	<i>n</i> -dotriacontano	2,67	49.307	544-85-4
94	1-heptacosanol	0,49	51.177	2004-39-9
92	<i>n</i> -tetrapentacontano	14,87	53.250	5856-66-6
92	<i>n</i> -tetrapentacontano	9,76	55.014	5856-66-6
94	<i>n</i> -dotriacontano	51,40	57.104	544-85-4
95	<i>n</i> -dotriacontano	3,73	58.490	544-85-4
94	<i>n</i> -tetrapentacontano	13,38	60.505	5856-66-6
93	<i>n</i> -tetracontano	0,13	65.303	4181-95-7

Apêndice B-Dados brutos obtidos da fração C1F9 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

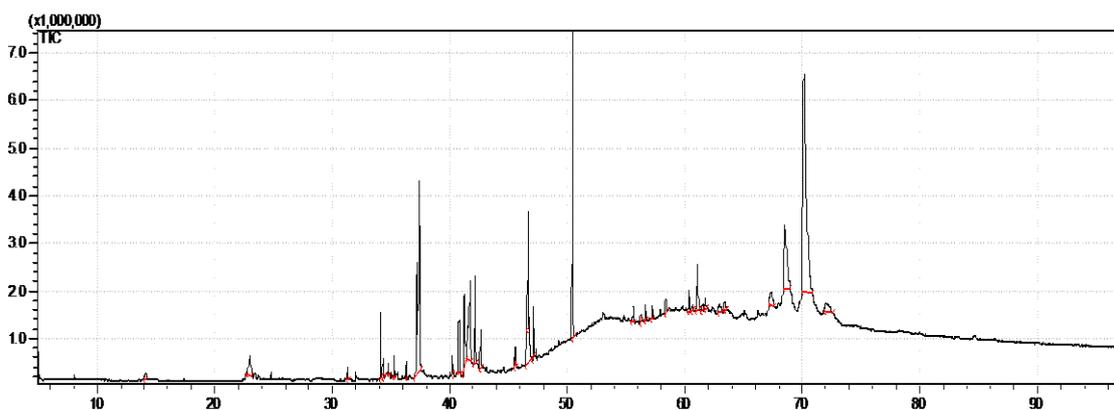


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C1F9.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
91	<i>n</i> -tetradecanamida	2,69	47.134	638-58-4
90	esqualeno	1,02	55.607	7683-64-9
63	dodecil cis-9,10-epoxi-octadecanoato	0,46	56.243	92332-53-1
68	17-pentatriaconteno	2,69	56.641	6971-40-0
87	colestá-3,5-dieno	1,02	57.217	747-90-0
77	colestá-3,5-dieno	0,46	60.339	747-90-0
79	3-β-colestá-4,6-dien-3-ol	0,57	60.638	14214-69-8
83	colestá-3,5-dieno	4,16	61.096	747-90-0
82	colestato de metila	2,80	67.341	1174-92-1
80	acetato de α-amirina	20,67	68.522	863-76-3
82	acetato de lupeol	64,15	70.127	1617-68-1

Apêndice C-Dados brutos obtidos da fração C1F11 por CG/EM:

CROMATOGRAMA

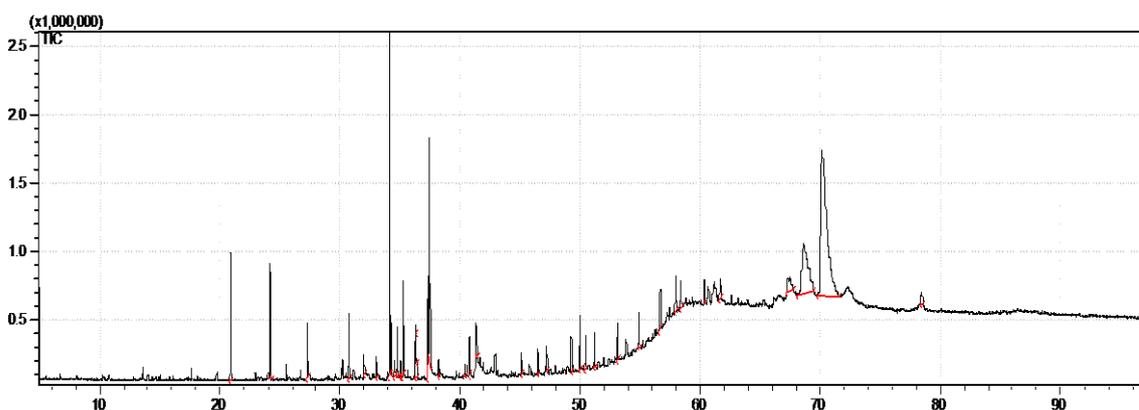


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C1F11.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
96	<i>n</i> -tetradecano	3,16	20.903	629-59-4
96	<i>n</i> -tetradecano	2,67	24.195	629-59-4
94	<i>n</i> -tetradecano	1,40	27.303	629-59-4
95	tetradecanal	2,15	30.746	124-25-4
89	ácido esteárico	0,50	32.014	57-11-4
90	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	9,21	34.126	102608-53-7
88	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	1,29	34.305	502-69-2
86	14-metil-8-hexadecenal	0,56	34.541	60609-53-2
92	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1,38	34.784	102608-53-7
92	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,71	35.261	102608-53-7
86	7-hexadecenal	2,04	36.316	56797-40-1
94	ácido hexadecanóico	2,57	37.323	57-10-3
92	<i>n</i> -heneicosano	0,43	38.206	629-94-7
83	1,1,10-trimetil-2-hidroxi-6,9-epidioxidecalina	0,37	40.374	108511-85-9
82	1,1,10-trimetil-2-hidroxi-6,9-epidioxidecalina	1,38	40.785	108511-85-9
83	1,1,10-trimetil-2-hidroxi-6,9-epidioxidecalina	2,00	41.319	108511-85-9
92	<i>n</i> -heneicosano	0,59	45.122	629-94-7
87	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olide	0,69	46.474	96168-15-9
93	<i>n</i> -heneicosano	0,58	47.247	629-94-7
92	<i>n</i> -heneicosano	0,98	49.280	629-94-7
94	<i>n</i> -octadecanal	1,61	49.990	638-66-4
93	<i>n</i> -heneicosano	0,94	51.235	629-94-7
92	<i>n</i> -eicosano	1,04	53.121	112-95-8
91	<i>n</i> -eicosano	0,98	54.936	112-95-8
91	<i>n</i> -tetracontano	1,53	56.688	4181-95-7
89	<i>n</i> -tetracontano	0,99	58.422	4181-95-7
88	<i>n</i> -tetrapentacontano	0,71	60.371	5856-66-6
84	vitamina E	0,95	61.667	59-02-9
70	colesta-3,5-dieno	2,19	67.481	747-90-0
81	3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	13,02	68.640	1153-34-0
84	betulinol	39,41	70.186	473-98-3

Apêndice D-Dados brutos obtidos da fração C1F12 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

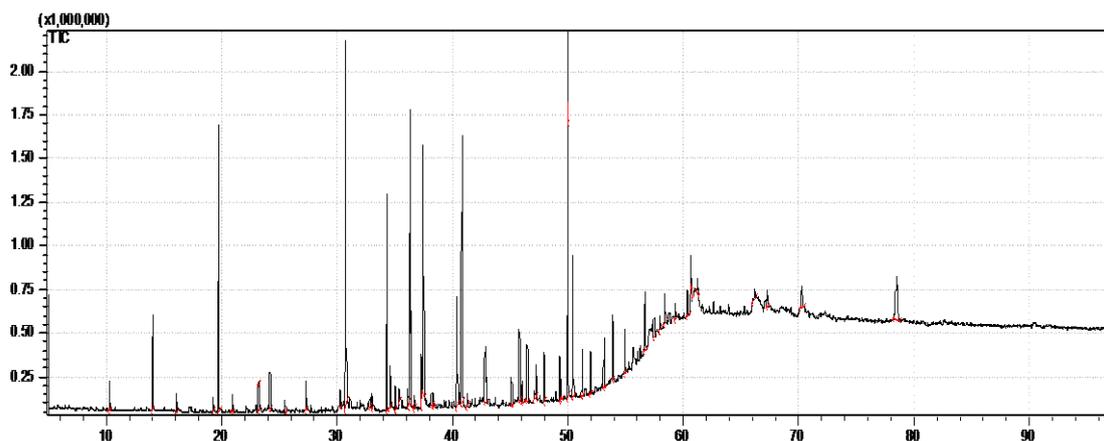


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C1F12.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
94	<i>n</i> -nonanal	0,97	10.270	124-19-6
95	<i>n</i> -decanal	2,81	14.030	112-31-2
87	(<i>E</i>)-2-dodecenal	0,50	16.111	20407-84-5
84	3-metil-5-undeceno	0,40	19.253	74630-67-4
94	2-undecenal	8,01	19.749	2463-77-6
90	2-dodecenal	0,78	23.200	4826-62-4
95	<i>n</i> -tetradecano	0,92	24.201	629-59-4
93	<i>n</i> -tetradecano	0,87	27.305	629-59-4
91	<i>n</i> -nonadecano	0,84	30.252	629-92-5
96	tetradecanal	12,33	30.750	124-25-4
94	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	6,12	34.313	502-69-2
88	14-metil-8-hexadecenal	1,35	34.605	60609-53-2
91	<i>n</i> -heptanofenona	0,33	35.400	1671-75-6
82	1,2-epoxi-3-(hexadeciloxi)-propano	0,44	36.156	15965-99-8
87	7-hexadecenal	11,60	36.323	56797-40-1
93	ácido hexadecanóico	1,38	37.297	57-10-3
89	10-metil-nonadecano	0,43	38.218	56862-62-5
84	1-pentacontanol	0,37	38.381	40710-43-8
84	(2 <i>E</i> , 7 <i>R</i> , 11 <i>R</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	8,49	40.803	150-86-7
86	octanosato de metila	0,52	41.305	55682-92-3
82	2-(2-dodeceno-1-il)-anidrido succinico	3,03	42.814	19780-11-1
92	<i>n</i> -eicosano	0,86	45.130	112-95-8
93	<i>n</i> -octadecanal	2,08	45.803	638-66-4
88	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	1,83	46.482	96168-15-9
82	<i>n</i> -tetradecanamida	0,25	47.134	638-58-4
93	<i>n</i> -heneicosano	0,81	47.250	629-94-7
93	<i>n</i> -octadecanal	1,50	47.941	638-66-4
93	<i>n</i> -heneicosano	1,25	49.285	629-94-7
94	<i>n</i> -octadecanal	10,99	49.999	638-66-4
92	<i>n</i> -heneicosano	1,38	51.243	629-94-7

92	<i>n</i> -octadecanal	1,41	51.967	638-66-4
92	<i>n</i> -eicosano	1,54	53.126	112-95-8
93	<i>n</i> -octadecanal	1,98	53.870	638-66-4
92	<i>n</i> -eicosano	1,27	54.943	112-95-8
92	<i>n</i> -tetratetracontano	2,09	56.694	7098-22-8
81	<i>n</i> -octadecanal	0,73	57.468	638-66-4
72	13,17,21-trimetil-heptatriacontano	0,54	57.975	58668-40-9
90	<i>n</i> -tetracontano	1,03	58.431	4181-95-7
85	<i>n</i> -octadecanal	0,58	59.312	638-66-4
89	tetrapentacontano	1,01	60.370	5856-66-6
81	3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	0,99	60.655	14214-69-8
79	17-pentatriaconteno	0,81	66.184	6971-40-0
66	andrografolido	0,94	67.260	5508-58-7
74	colesta-3,5-dien-7-ona	1,66	70.262	567-72-6

Apêndice E-Dados brutos obtidos da fração C1F13 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

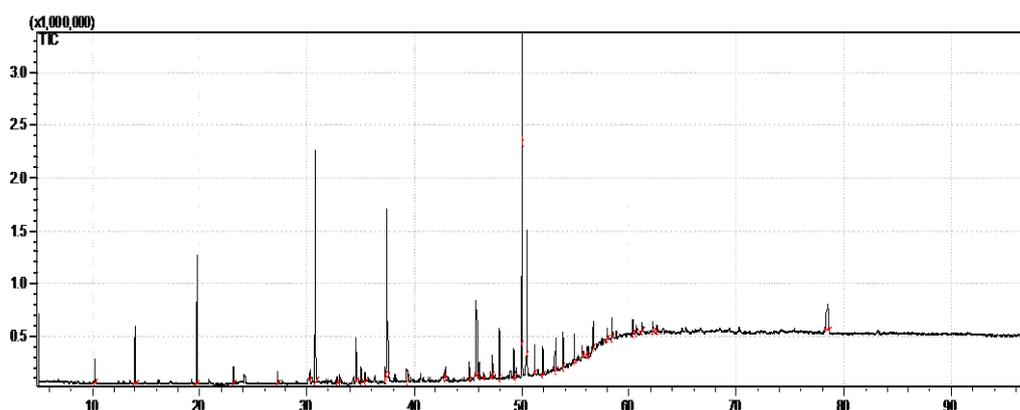


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C1F13.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
95	<i>n</i> -nonanal	1,80	10.265	124-19-6
95	<i>n</i> -decanal	4,11	14.026	112-31-2
93	2-undecenal	8,47	19.743	2463-77-6
90	2-dodecen-1-al	1,21	23.193	4826-62-4
88	1,2-epoxi-hexadecano	0,95	30.280	7320-37-8
96	tetradecanal	19,85	30.743	124-25-4
88	14-metil-8-hexadecenal	2,98	34.599	60609-53-2
82	5-metil-1-fenil-5-hexen-1-ona	0,94	35.409	94227-05-1
90	ácido hexadecanóico	0,62	37.280	57-10-3
65	1-isopropenil-4-metil-1,4-ciclohexanediol	0,30	42.808	61465-23-4
94	<i>n</i> -heneicosano	0,68	42.916	629-94-7
92	<i>n</i> -tetratriacontano	1,24	45.123	14167-59-0
94	<i>n</i> -octadecanal	5,21	45.795	638-66-4
82	3,5,24-trimetil tetracontano	0,39	46.476	55162-61-3
82	<i>n</i> -tetradecanamida	0,28	47.129	638-58-4
93	<i>n</i> -heneicosano	1,27	47.247	629-94-7

94	<i>n</i> -octadecanal	3,65	47.937	638-66-4
93	<i>n</i> -heneicosano	1,98	49.282	629-94-7
93	<i>n</i> -octadecanal	24,61	49.996	638-66-4
93	<i>n</i> -heneicosano	2,16	51.238	629-94-7
92	<i>n</i> -octadecanal	1,99	51.963	638-66-4
93	<i>n</i> -tetratetracontano	2,36	53.123	7098-22-8
93	<i>n</i> -octadecanal	2,54	53.864	638-66-4
92	<i>n</i> -eicosano	2,01	54.938	112-95-8
93	<i>n</i> -tetracontano	2,04	56.694	4181-95-7
69	13,17,21-trimetil-heptatriacontano	0,89	57.973	58668-40-9
90	<i>n</i> -tetratetracontano	1,55	58.426	7098-22-8
91	<i>n</i> -tetrapentacontano	1,32	60.368	5856-66-6
72	3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	0,64	60.653	14214-69-8
73	2,4,6-trimetil-1- <i>n</i> -octadecil-ciclohexano	0,82	61.225	55282-34-3
85	<i>n</i> -tetracontano	0,60	62.614	4181-95-7

Apêndice F-Dados brutos obtidos da fração C2F1 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

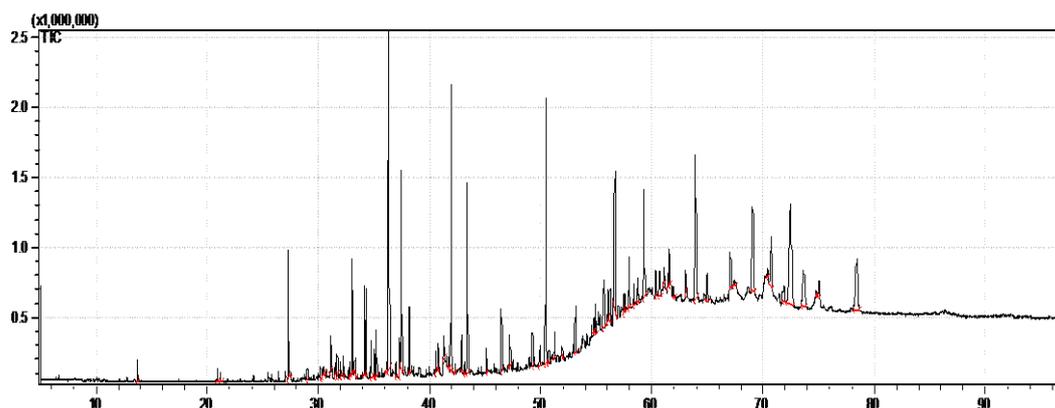


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C2F1.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
94	<i>n</i> -dodecano	0,01	13.750	112-40-3
92	3,7-dimetil-nonano	0,35	20.900	17302-32-8
95	<i>n</i> -pentadecano	2,84	27.303	629-62-9
86	5-eicoseno	0,16	27.433	74685-30-6
90	hexadecan-1-ol	0,27	29.015	36653-82-4
90	2,6,10-trimetil-dodecano	0,18	30.399	3891-98-3
90	3,7,11-trimetil-1-dodecanol	0,92	31.126	6750-34-1
92	2,6,10-trimetil dodecano	0,41	31.506	3891-98-3
90	2,4-dimetil-eicosano	0,50	31.695	75163-98-3
76	(1-propildecil) ciclohexano	0,34	32.013	13151-89-8
92	<i>n</i> -heneicosano	0,42	32.239	629-94-7
96	<i>n</i> -heneicosano	2,55	33.028	629-94-7
91	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,07	34.117	102608-53-7
93	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	2,10	34.302	502-69-2
91	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1,08	34.770	102608-53-7

91	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1,08	35.252	102608-53-7
84	3,5,24-trimetil tetracontano	0,27	36.147	55162-61-3
87	7-hexadecenal	10,31	36.318	56797-40-1
90	2,4-dimetil-eicosano	0,36	36.981	75163-98-3
92	ácido hexadecanóico	0,87	37.293	57-10-3
95	<i>n</i> -heneicosano	1,70	38.205	629-94-7
79	2,6-dimetil-2,7-octadiene-1,6-diol	0,38	40.600	64142-78-5
86	linoleato de metila	0,88	40.761	301-00-8
85	octanosato de metila	0,74	41.305	55682-92-3
79	11-hexadecenal	0,32	41.735	53939-28-9
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	6,87	41.944	102608-53-7
95	heneicosano	0,82	42.916	629-94-7
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	4,62	43.422	102608-53-7
92	8-hexil-pentadecano	0,62	45.120	13475-75-7
90	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	1,62	46.469	96168-15-9
93	<i>n</i> -heneicosano	0,92	47.243	629-94-7
91	<i>n</i> -heneicosano	0,79	49.279	629-94-7
87	<i>n</i> -octadecanal	0,86	49.977	638-66-4
92	<i>n</i> -heneicosano	0,64	51.234	629-94-7
90	<i>n</i> -octadecanal	0,22	51.955	638-66-4
93	<i>n</i> -tetratetracontano	1,29	53.118	7098-22-8
89	<i>n</i> -heneicosano	0,62	54.934	629-94-7
89	hexadecil-oxirano	3,72	55.695	7390-81-0
93	<i>n</i> -dotriacontano	3,70	56.689	544-85-4
83	<i>n</i> -octadecanal	0,48	57.465	638-66-4
92	1-heptacosanol	0,36	57.601	2004-39-9
87	<i>n</i> -tetratetracontano	0,65	58.416	7098-22-8
87	17-pentatriaconteno	0,76	58.724	6971-40-0
92	hexadecil-oxirano	3,38	59.307	7390-81-0
83	<i>n</i> -pentatriacontano	0,95	60.364	630-07-9
76	colest-3,5-dieno	0,56	61.105	747-90-0
87	hexadecil-oxirano	0,37	61.431	7390-81-0
93	1-heptacosanol	1,32	61.585	2004-39-9
91	acetato de octasila	0,73	63.041	18206-97-8
92	hexadecil-oxirano	5,97	63.916	7390-81-0
93	1-heptacosanol	1,42	67.064	2004-39-9
63	acetato-5- α -stigmasta-7,22-dien-3-beta-ol	0,36	67.455	4651-46-1
79	1-heptatriacontanol	5,18	69.078	105794-58-9
80	friedelan-2-ona	0,29	70.416	17947-04-5
82	3,8,8,11-tetrametil-dodecahidro-epoxinaftoxepina	3,05	70.716	1153-34-0
82	3,8,8,11-tetrametil-dodecahidro-epoxinaftoxepina	1,12	71.874	1153-34-0
85	betulinol	10,63	72.484	473-98-3
82	betulinol	3,13	73.676	473-98-3
86	hexadecil-oxirano	0,76	75.042	7390-81-0

Apêndice G-Dados brutos obtidos da fração C2F2 por CG/EM

CROMATOGRAMA:

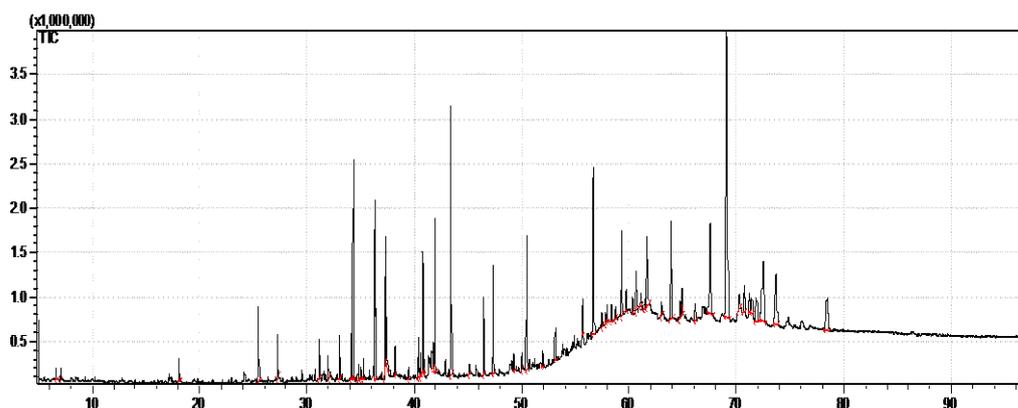


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C2F2.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
91	2,4-heptadien-1-al	0,28	6.674	4313-03-5
92	2,4-heptadien-1-al	0,31	7.103	4313-03-5
85	2-metileno-ciclopentano-propan-1-ol	0,58	18.114	53544-48-2
89	4,4,7- α -trimetil-2(4H)-5,6,7,7- α -tetraidrobenzofuranona	1,88	25.499	15356-74-8
95	<i>n</i> -tetradecano	0,91	27.296	629-59-4
91	3,7,11-trimetil-1-dodecanol	0,95	31.122	6750-34-1
92	ácido pentadecanóico	0,57	32.004	1002-84-2
96	<i>n</i> -heneicosano	0,85	33.023	629-94-7
91	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,97	34.112	102608-53-7
94	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	4,86	34.300	502-69-2
91	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,44	34.769	102608-53-7
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,49	35.250	102608-53-7
87	7-hexadecenal	6,24	36.312	56797-40-1
94	ácido pentadecanóico	3,38	37.326	1002-84-2
94	2,4-heptadien-1-al	1,08	37.482	4313-03-5
91	tetatriacontano	0,76	38.207	14167-59-0
76	ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	0,27	39.448	10417-94-4
88	ácido octadecadienóico	0,50	40.588	60-33-3
88	11, 14, 17-eicosatrienato de metila	3,66	40.768	55682-88-7
83	3,7,11-trimetil-2,6-dodecadien-1-ol	1,08	41.732	20576-58-3
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	3,35	41.939	102608-53-7
91	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	6,06	43.421	102608-53-7
85	8-hexilpentadecano	0,47	45.123	13475-75-7
92	4,8,12,16-tetrametil-lheptadecan-4-olídeo	1,86	46.466	96168-15-9
86	<i>n</i> -eicosano	0,43	49.277	112-95-8
92	<i>n</i> -octadecanal	0,46	49.977	638-66-4
91	<i>n</i> -octadecanal	0,38	51.954	638-66-4
93	<i>n</i> -tetratetracontano	0,76	53.113	7098-22-8
93	<i>n</i> -dotriacontano	4,84	56.686	544-85-4
87	hexadecil-oxirano	0,34	57.457	7390-81-0
74	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olide	0,29	57.788	96168-15-9

88	acetato de octasila	0,32	58.716	18206-97-8
92	hexadecil-oxirano	2,41	59.302	7390-81-0
77	3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	1,63	60.651	14214-69-8
92	hexadecil-oxirano	0,29	61.415	7390-81-0
92	vitamina E	3,39	61.662	59-02-9
96	vitamina E	0,48	63.034	59-02-9
92	hexadecil-oxirano	3,79	63.906	7390-81-0
69	5,5-dimetil-4-(3-oxobutil)-spiro[2.5]octano.	0,78	66.133	77143-32-9
81	acetato de lupeol	20,20	69.087	1617-68-1
83	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	1,06	71.188	1449-09-8
81	3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	1,71	71.861	1153-34-0
86	betulinol	5,69	72.467	473-98-3
85	betulinol	4,21	73.689	473-98-3

Apêndice H-Dados brutos obtidos da fração C2F3 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

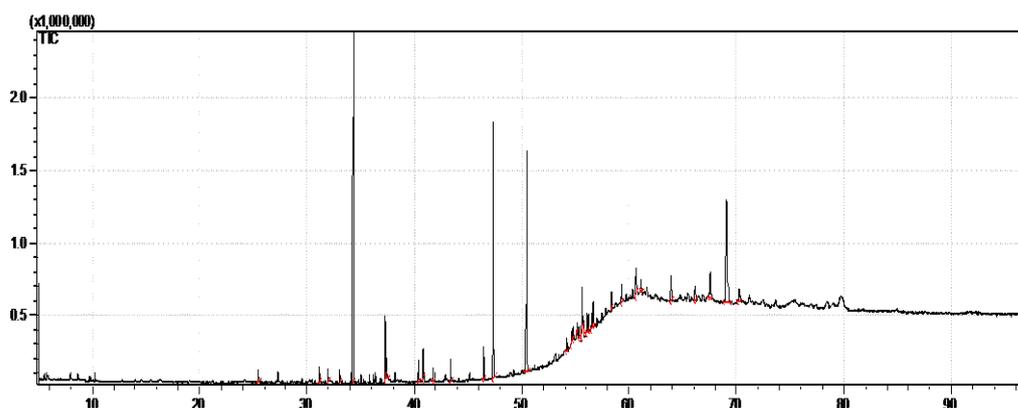


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C2F3.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
88	4,4,7- α -trimetil-2(4H)-5,6,7,7- α -tetraidro-benzofuranona	1,24	25.503	15356-74-8
90	3,7,11-trimetil-1-dodecanol	1,35	31.120	6750-34-1
89	ácido tetradecanóico	1,13	31.993	544-63-8
94	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	27,49	34.300	502-69-2
93	ácido hexadecanóico	5,89	37.293	57-10-3
84	2,4,4-trimetil-ciclopentanol	2,62	40.786	56470-83-8
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1,85	43.414	102608-53-7
88	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olide	2,90	46.465	96168-15-9
82	geranilgeraniol	4,76	55.606	24034-73-9
89	<i>n</i> -dotriacontano	2,98	56.686	544-85-4
67	4,4,7 α -trimetil-hexahidro-1-benzofuran-2(3H)-ona	1,74	58.355	16778-27-1
87	hexadecil-oxirano	1,81	59.302	7390-81-0
82	3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	3,87	60.643	14214-69-8
78	colesta-3,5-dieno	1,02	61.098	747-90-0

88	hexadecil-oxirano	3,59	63.901	7390-81-0
69	colesta-3,5-dieno	2,34	66.132	747-90-0
80	3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	4,81	67.548	1153-34-0
82	lupeol	25,57	69.081	545-47-1
67	colesta-3,5-dien-7-ona	2,61	70.212	567-72-6

Apêndice I-Dados brutos obtidos da fração C2F4 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

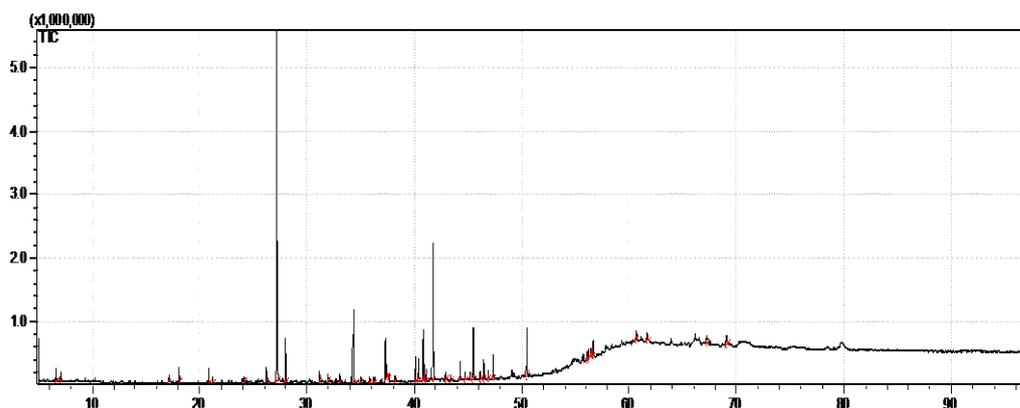


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C2F4.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
93	2,4-heptadien-1-al	1,68	6.668	4313-03-5
91	2,4-heptadien-1-al	1,02	7.099	4313-03-5
95	<i>n</i> -tetradecano	1,40	20.898	629-59-4
92	3,7-dimetil-nonano	0,38	24.192	17302-32-8
89	4,11,11-trimetil-8-metileno-oxatriciclo(8.2.0.0(4,6))dodecano	1,63	26.203	1139-30-6
93	4,11,11-trimetil-8-metileno-oxatriciclo(8.2.0.0(4,6))dodecano	45,50	27.192	1139-30-6
83	3,5-dimetil-ciclohex-1-ene-4-carboxaldeído	4,97	27.990	6975-94-6
91	3,7,11-trimetil-1-dodecanol	1,23	31.126	6750-34-1
89	ácido pentadecanóico	0,91	32.004	1002-84-2
92	2,6,10,15-tetrametil-heptadecano	0,83	33.027	54833-48-6
93	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	7,56	34.303	502-69-2
85	1,2-epoxi-dodecano	0,78	35.809	2855-19-8
84	1-(dodeciloxi)-2,3-epoxi-propano	0,67	36.151	2461-18-9
84	2-(2-dodecene-1-il)-anidrido succinico	0,55	36.313	19780-11-1
94	ácido hexadecanóico	4,62	37.309	57-10-3
89	10-metil-nonadecano	0,50	38.207	56862-62-5
84	2,4,4-trimetil-ciclopentanol	5,49	40.797	56470-83-8
75	linoleato de metila	0,67	45.242	301-00-8
75	tridocosahexaenoína	6,92	45.479	11094-59-0
90	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	2,11	46.474	96168-15-9
75	ácido-10,12-pentacosadienóico	0,90	46.882	66990-32-7
67	ácido <i>p</i> -(dodeciloxi)-benzóico	0,66	56.389	2312-15-4

88	<i>n</i> -tetratetracontano	2,12	56.688	7098-22-8
66	3- β -colesta-4,6-dien-3-ol	1,48	60.669	14214-69-8
86	vitamina E	1,67	61.679	59-02-9
67	acetato de stigmasta-5,22-dien-3-ol	1,59	67.263	4651-48-3
77	acetato de lupeol	2,15	69.101	1617-68-1

Apêndice J-Dados brutos obtidos da fração C2F5 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

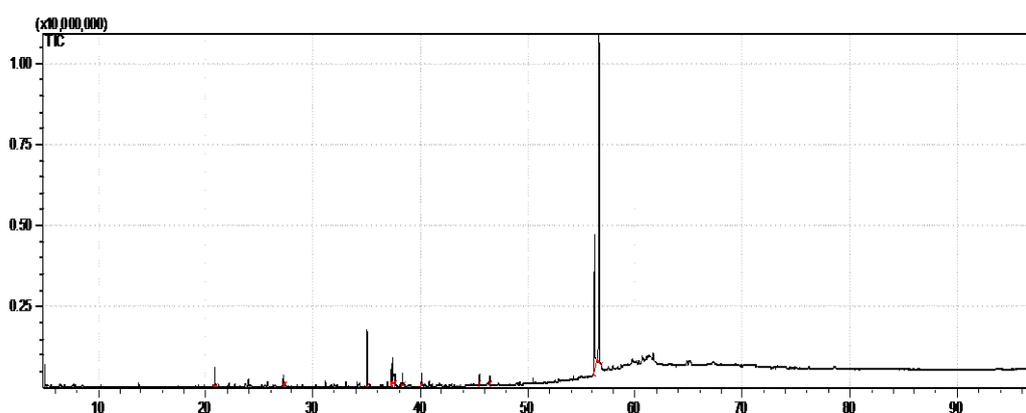


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C2F5.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
96	<i>n</i> -tetradecano	2,77	20.907	629-59-4
89	4,11,11-trimetil-8-metileno-oxatriciclo(8.2.0.0(4,6))dodecano	1,00	27.192	1139-30-6
95	<i>n</i> -tetradecano	1,57	27.308	629-59-4
94	ácido hexadecanóico	3,20	37.319	57-10-3
87	7-hexadecenal	1,92	38.381	56797-40-1
77	ácido-eicosa-5,8,11,14,17-pentenóico	1,45	45.486	10417-94-4
90	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olide	1,09	46.485	96168-15-9
57	σ -tocoferol	86,99	56.665	119-13-1

Apêndice K-Dados brutos obtidos da fração C3F1 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

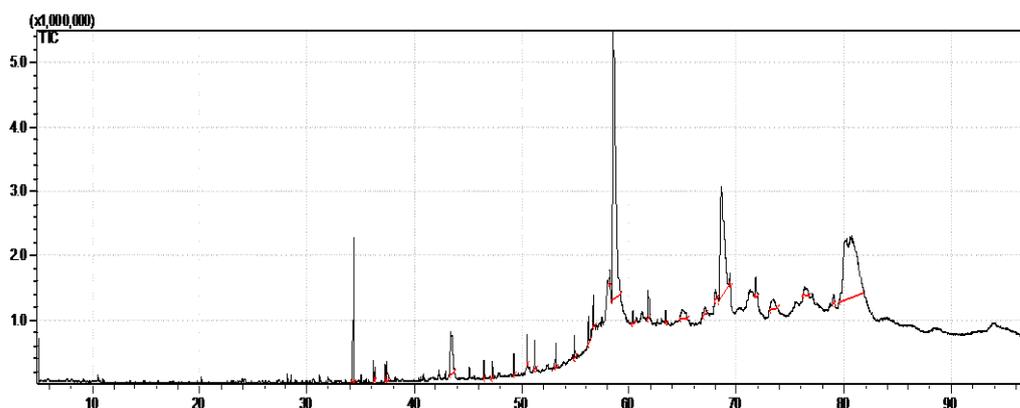


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C3F1.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
94	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	3,98	34.313	502-69-2
88	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	0,63	36.159	502-69-2
87	7-hexadecenal	0,26	36.323	56797-40-1
92	ácido pentadecanóico	0,47	37.300	1002-84-2
87	(2E, 7R, 11R) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	4,45	43.415	150-86-7
90	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	0,50	46.482	96168-15-9
94	<i>n</i> -heneicosano	0,46	47.254	629-94-7
93	<i>n</i> -heneicosano	0,61	49.291	629-94-7
92	<i>n</i> -tetratetracontano	0,97	51.244	7098-22-8
93	<i>n</i> -eicosano	0,71	53.131	112-95-8
93	<i>n</i> -tetratetracontano	0,63	54.952	7098-22-8
92	<i>n</i> -dotriacontano	1,16	56.702	544-85-4
78	Acetato de 4,14-dimetil-9-cicloergost-24(28)-en-3-ol	0,44	58.169	10376-42-8
81	9,19-ciclo-9-β-lanostane-3-β-2,5-diol	36,28	58.544	26525-84-8
89	<i>n</i> -tetratetracontano	0,57	60.380	7098-22-8
75	bufogenina	1,87	64.973	465-39-4
78	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	0,65	68.036	1449-09-8
87	17-pentatriaconteno	0,56	69.391	6971-40-0
88	4-colesten-3-ona	1,19	71.819	601-57-0
75	2,2-dimetilcolest-7-en-3-ol	2,09	73.369	64519-13-7
78	2,2-dimetilcolest-7-en-3-ol	1,30	76.370	64519-13-7
73	lanost-9-en-12-ona	0,65	79.026	52474-76-7
85	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	39,58	80.652	1449-09-8

Apêndice L-Dados brutos obtidos da fração C3F2 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

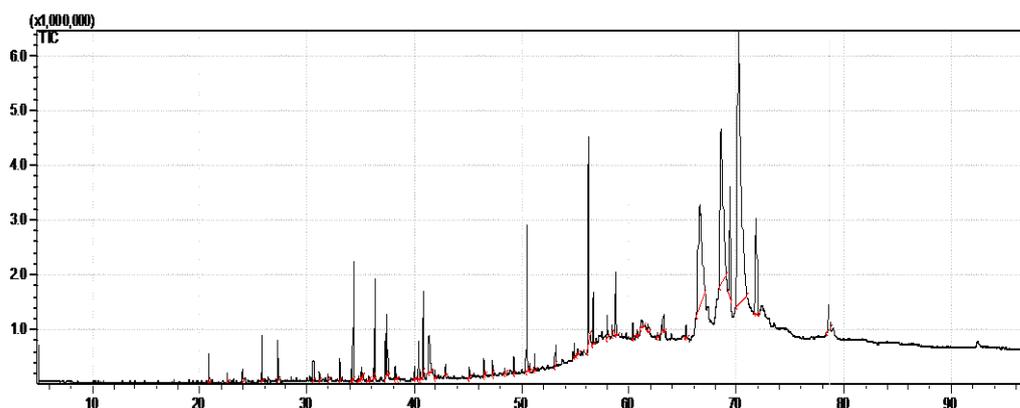


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C3F2.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
96	<i>n</i> -tetradecano	0,51	20.910	629-59-4
92	azelato de metila	0,90	25.812	1732-10-1
96	<i>n</i> -tetradecano	0,73	27.310	629-59-4
66	2-etil-1-pentanol	0,62	30.577	27522-11-8
91	3,7,11-trimetil-1-dodecanol	0,20	31.136	6750-34-1
89	ácido octanodecanóico	0,17	32.011	57-11-4
96	<i>n</i> -heneicosano	0,41	33.036	629-94-7
91	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,24	34.125	102608-53-7
94	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	2,36	34.313	502-69-2
90	(2 <i>E</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,14	34.781	102608-53-7
94	<i>n</i> -hexadecan-1-ol	0,14	35.156	36653-82-4
92	<i>n</i> -heneicosano	0,11	35.684	629-94-7
86	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	0,08	35.809	502-69-2
87	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	0,23	36.159	502-69-2
87	7-hexadecenal	1,90	36.324	56797-40-1
95	ácido hexadecanóico	0,96	37.316	57-10-3
94	<i>n</i> -heneicosano	0,29	38.210	629-94-7
84	7-hexadecenal	0,10	38.380	56797-40-1
94	9-tricoseno	0,21	40.020	27519-02-4
92	<i>n</i> -heneicosano	0,14	40.620	629-94-7
84	2,4,4-trimetil-ciclopentanol	1,73	40.805	56470-83-8
96	(2 <i>E</i> , 7 <i>R</i> , 11 <i>R</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,81	41.354	150-86-7
93	<i>n</i> -heneicosano	0,23	42.919	629-94-7
92	<i>n</i> -heneicosano	0,22	45.130	629-94-7
90	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	0,33	46.479	96168-15-9
84	(<i>Z</i>)-13-docosenamida	0,07	46.623	112-84-5
93	<i>n</i> -heneicosano	0,27	47.251	629-94-7
93	<i>n</i> -heneicosano	0,32	49.283	629-94-7
92	<i>n</i> -tetratetracontano	0,40	51.238	7098-22-8
93	<i>n</i> -tetratetracontano	0,41	53.123	7098-22-8
91	<i>n</i> -tetracontano	0,30	54.941	4181-95-7

94	<i>n</i> -dotriacontano	1,43	56.691	544-85-4
90	<i>n</i> -dotriacontano	0,19	58.427	544-85-4
85	14-metil-8-hexadecenal	2,02	58.733	60609-53-2
93	<i>n</i> -dotriacontano	0,42	60.373	544-85-4
81	1-pentacosanol	0,47	61.194	26040-98-2
88	<i>n</i> -tetrapentacontano	0,18	62.651	5856-66-6
93	<i>n</i> -dotriacontano	0,44	65.308	544-85-4
81	4,14-dimetil-(3- β -4- α -5- α)-ergosta-8,24(28)-dien-3-ol	13,49	66.540	16910-32-0
82	3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	17,28	68.560	1153-34-0
86	ácido-22-tricosenóico	4,82	69.389	65119-95-1
84	acetato de lupeol	34,44	70.172	1617-68-1
91	4-colesten-3-ona	5,56	71.835	601-57-0
86	9-hexacoseno	1,65	78.627	71502-22-2

Apêndice M-Dados brutos obtidos da fração C3F3 por CG/EM:

CROMATOGRAMA

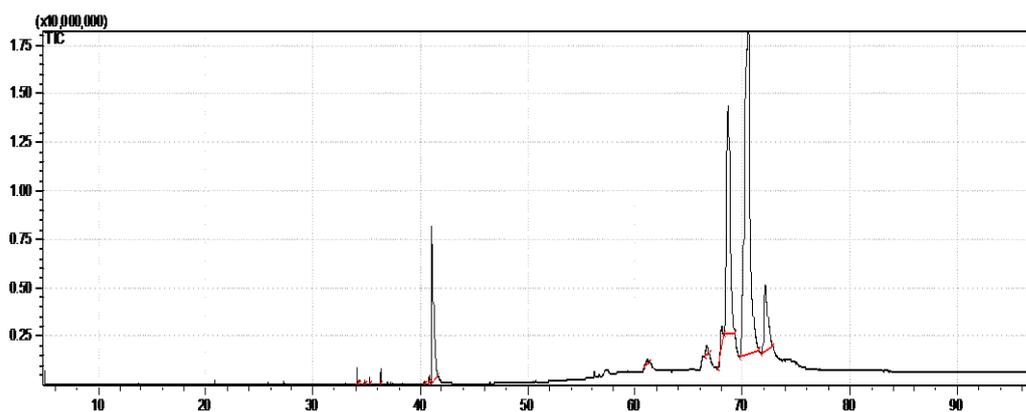


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C3F3.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
91	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,27	34.114	102608-53-7
93	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	0,07	34.301	502-69-2
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,06	34.775	102608-53-7
92	(2E) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,10	35.252	102608-53-7
87	7-hexadecenal	0,26	36.313	56797-40-1
97	(2E, 7R, 11R) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	8,98	41.084	150-86-7
91	1-heptacosanol	0,38	61.081	2004-39-9
82	4,14-dimetil-(3- β -4- α -5- α)-ergosta-8,24(28)-dien-3-ol	0,63	66.652	16910-32-0
84	acetato de α -amirina	1,49	68.092	863-76-3
83	acetato de α -amirina	25,59	68.698	863-76-3
83	acetato de lupeol	54,21	70.554	1617-68-1
90	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	7,94	72.111	1449-09-8

Apêndice N-Dados brutos obtidos da fração C3F4 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

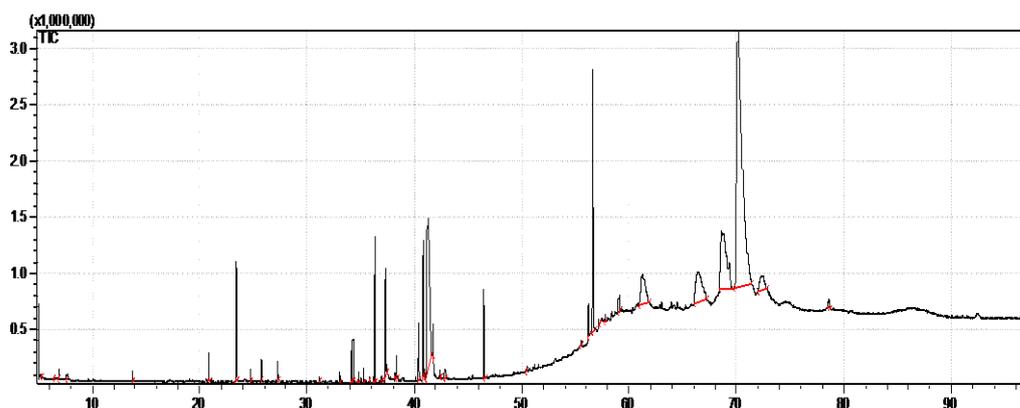


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C3F4.

% Similaridade	Nome composto	Área %	T _r	CAS
93	<i>n</i> -tridecano	1,13	13.747	629-50-5
96	<i>n</i> -pentadecano	1,72	20.899	629-62-9
73	5-isopropenil-3-isopropil-2,2-dimetil-2,5-diidrofurano	1,92	23.414	77822-53-8
94	<i>n</i> -tetradecano	2,24	27.300	629-59-4
90	(2 <i>E</i>)3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,52	34.113	102608-53-7
85	ciclopentadecanona	2,53	34.287	502-72-7
88	(2 <i>E</i>)3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,57	34.775	102608-53-7
91	(2 <i>E</i>)3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,60	35.251	102608-53-7
85	2-nonadecanona	2,64	35.796	629-66-3
87	7-hexadecenal	2,68	36.315	56797-40-1
82	3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecen-3-ol	2,73	36.965	505-32-8
95	ácido pentadecanóico	2,76	37.315	1002-84-2
88	10-metil-nonadecano	2,82	38.209	56862-62-5
87	7-hexadecenal	2,83	38.370	56797-40-1
84	2,4,4-trimetil-ciclopentanol	3,01	40.794	56470-83-8
80	3,7,11-trimetil-2,6-dodecadien-1-ol	3,02	40.930	20576-58-3
96	(2 <i>E</i> , 7 <i>R</i> , 11 <i>R</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	3,05	41.282	150-86-7
80	2-(5-oxohexil)-ciclopentanona	3,08	41.735	15674-93-8
78	(2 <i>E</i> , 7 <i>R</i> , 11 <i>R</i>) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	3,13	42.417	150-86-7
84	2-(2-dodecene-1-il)-anidrido succinico	3,16	42.837	19780-11-1
92	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	3,74	46.471	96168-15-9
67	17-pentatriaconteno	4,53	56.235	6971-40-0
89	17-pentatriaconteno	4,93	61.254	6971-40-0
93	17-pentatriaconteno	5,35	66.407	6971-40-0
82	3,8,8,11-tetrametil-dodecaidro-epoxinaftoxepina	5,53	68.615	1153-34-0
82	betulinol	5,65	70.137	473-98-3
81	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	5,83	72.345	1449-09-8
80	17-pentatriaconteno	6,33	78.586	6971-40-0

Apêndice O-Dados brutos obtidos da fração C3F5 por CG/EM:

CROMATOGRAMA:

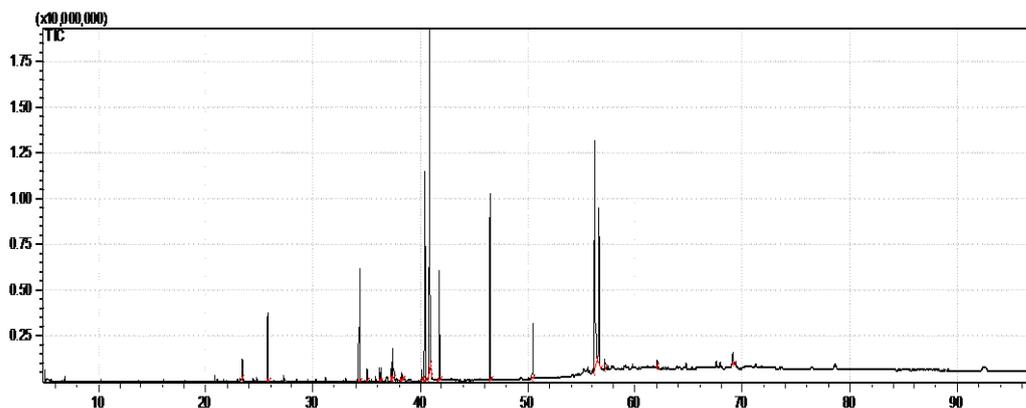


Tabela contendo todas as substâncias identificadas pelo CG/EM na fração C3F5.

% Similaridade	Nome composto	Área	T _r	CAS
74	5-isopropenil-3-isopropil-2,2-dimetil-2,5-diidrofurano	2,97	23.419	77822-53-8
94	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	19,41	34.314	502-69-2
89	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	2,11	36.154	502-69-2
87	7-hexadecenal	2,22	36.318	56797-40-1
94	ácido pentadecanóico	2,65	37.325	1002-84-2
87	2-hexil-1-decanol	1,25	38.243	2425-77-6
86	7-hexadecenal	1,04	38.377	56797-40-1
88	(2E, 7R, 11R) 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	2,02	40.170	150-86-7
81	3,7,11-trimetil-2,6-dodecadien-1-ol	4,20	40.962	20576-58-3
80	2-(5-oxohexil)-ciclopentanona	20,21	41.755	15674-93-8
92	4,8,12,16-tetrametil-heptadecan-4-olídeo	36,66	46.502	96168-15-9
87	17-pentatriaconteno	1,25	62.041	6971-40-0
82	acetato de lupeol	4,01	69.116	1617-68-1