



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS –
PPGCN MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS - MCN



ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DA *Varronia dardani* (Taroda) J.S.
Mill (BORAGINACEAE)

MOSSORÓ –RN
2015

BÁRBARA ALESSANDRA MENDONÇA DUARTE

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Varronia*
dardani (Taroda) J.S. Mill (BORAGINACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Naturais.

Área de atuação: Tecnologia Ambiental

Orientador: Profº Dr. Francisco Arnaldo Viana.

MOSSORÓ – RN

2015

Catálogo da Publicação na Fonte.

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

Duarte, Bárbara Alessandra Mendonça
Estudo químico e biológico da *varronia dardani* (taroda) j.s. Mill
(boraginaceae. / Barbara Alessandra Mendonça Duarte. – Mossoró, RN, 2015.

64 p.

Orientador: Profa. Dr. Francisco Arnaldo Viana.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Universidade do Estado
do Rio Grande do Norte. Proó-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

1. *Varronia dardani* - Oleo essencial. 2. CG-DIC - CG-EM,. 3.
Atividade biológica. I. RodrigViana, Francisco Arnaldo. I. II.Universidade
do Estado do Rio Grande do Norte. III. Título.

UERN/BC

CDD 570

BÁRBARA ALESSANDRA MENDONÇA DUARTE

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill (BORAGINACEAE)

Dissertação apresentada à Universidade do Estado do Rio Grande do Norte-UERN
como um dos pré-requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências
Naturais no ano de 2015.

Aprovada em 30 de Julho de 2015

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^o. Francisco Arnaldo Viana
Orientador - UERN

Prof Dra. Guymmann Clay da Silva
Examinador - UFERSA

Prof Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque
Examinador - UERN

A Deus
Aos meus pais, Alex e Liduina.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, por toda bondade, fidelidade e bênçãos que tem derramado sobre a minha vida.

Aos meus pais, Alex e Liduina, por todo apoio, paciência e incentivo em todos os momentos.

Aos professores Arnaldo e Jaécio, por todo conhecimento transmitido, além do acolhimento e confiança depositada.

Aos colegas de laboratório, Simone e Adriano, que contribuíram diretamente para o desenvolvimento deste trabalho, sempre dispostos a ensinar e auxiliar no que fosse preciso.

A professora Cynthia e a todas as meninas do LCTV, Eleneide, Val, Géssyca, Keithy em especial a minha amiga Mônica, por sua amizade, dedicação e nunca negar ajuda quando precisei.

As minhas colegas e amigas Samylle, Thais e Kélia por estar comigo durante esse tempo e nunca me deixar abater pelas dificuldades.

Ao técnico Fábio Mesquita, por todo auxílio e orientação na atividade antifúngica do óleo.

As minhas amigas e companheiras de trabalho Ticiane e Lidiane, por me incentivar a vencer todos os obstáculos, me dando estímulo e contribuindo para o crescimento profissional e pessoal.

Aos meus amigos queridos Krys, Pablo, Marília, Erione e Costinha por estarem sempre presentes, nos momentos tristes e felizes, e nunca me deixar desanimar por coisa alguma. Agradeço a Deus por ter vocês na minha vida

*“O temor do Senhor é o princípio da ciência.
Os loucos desprezam a sabedoria e a instrução”.*

Pv 1:7

RESUMO

A caatinga, bioma exclusivo do Nordeste brasileiro abrange cerca de 9,92% da área total do Brasil, possuindo uma diversidade ainda pouco estudada. Alguns vegetais endêmicos deste bioma pertencem à família Boraginaceae, que é conhecida por possuir uma variedade de espécies de plantas com madeira de boa qualidade, resistente ao ataque de fungos, insetos e microrganismos, e muitas delas são produtoras de óleos essenciais. A espécie *Varronia dardani*, incluída nesta família, pertence ao gênero *Varronia* que segundo a literatura, possui muitas espécies que se destacam com um amplo espectro de atividades biológicas, tais como antifúngica, larvicida, antimicrobiana e analgésica. A partir das partes vegetativas de *V. dardani*, coletadas no município de Patu- RN foi realizada a extração do óleo essencial das folhas e preparados os extratos para a realização da prospecção fitoquímica e testes antifúngico e larvicida. O óleo essencial foi submetido à análise qualitativa e quantitativa em um cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama, acoplado a um espectrômetro de massas, onde possibilitou a identificação de mais de 97% da sua composição química, cujos compostos majoritários foram: limoneno (27,49%), 1,8-cineol (13,23%) e o linalol (10,54%). O estudo de prospecção das principais classes de metabólitos secundários, evidenciou a presença de taninos flavobênicos, flavononóis, catequinas e flavanonas e quinonas em sua composição. Na atividade antifúngica do extrato foliar, a inibição do crescimento micelial ocorreu no tratamento contendo 10 gL⁻¹ do extrato de *V.dardani*. A atividade antifúngica do óleo sobre o fungo *F. solani*, apresentou resultado positivo na concentração de 5μL de óleo de *V. dardani*, representando a maior média de inibição do crescimento micelial. No ensaio do óleo frente larvas de *Aedes Aegypti* em estágio 3; demonstrou resultado satisfatório, com CL₅₀ igual a 97,821. O estudo desenvolvido neste trabalho demonstrou resultado satisfatório contribuindo para o conhecimento químico e biológico dessa espécie.

Palavras Chaves: *Varronia dardani*, Oleo essencial, CG-DIC, CG-EM, Atividade biológica.

ABSTRACT

The caatinga, unique biome of northeastern Brazil covers approximately 9.92% of the total area of Brazil, having a poorly studied diversity. Some endemic plants of this biome belong to the Boraginaceae family, which is known to possess a variety of plant species with good quality wood, resistant to fungi, insects and microorganisms, many of which are producers of essential oils. The *Varronia dardani* species, included in this family, belongs to *Varronia* genre that according to the literature has many species that stand out with a broad spectrum of biological activities such as antifungal, larvicide, antimicrobial and analgesic. From the vegetative parts of *V. Dardani* collected in the municipality of Patu- RN, the extraction of the essential oil from the leaves was carried out and the extracts were prepared to perform the phytochemical screening and antifungal and larvicide tests. The essential oil was subjected to qualitative and quantitative analyses in a gas chromatograph with flame ionization detector, coupled to a mass spectrometer, which allowed us to identify more than 97% of its chemical composition, whose major compounds were: limonene (27.49%), 1,8-cineole (13.23%) and Linalool (10.54%). The screening study of the major classes of secondary metabolites showed a presence of flabobênicos , flavononóis, catechins and flavanones and quinones in its composition. In the antifungal activity of the leaf extract, the inhibition of the mycelial growth occurred in the treatment containing 10 gL^{-1}

V.dardani extract. The antifungal activity of oil on the fungus *F. solani*, was positive in the concentration of 5 μl of *V. Dardani* oil representing a higher average inhibition of the mycelial growth. In the trial of the oil with the *Aedes aegypti* larvae in Stage 3; It showed a satisfactory result, with LC50 equal to 97,821. The study developed in this project showed satisfactory results contributing to the chemical, biological and therapeutic knowledge of this species.

Keywords : *Varronia dardani*, essential oil, CG-DIC, CG-EM, biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Inflorescência de <i>Varronia dardani</i> (Taroda) J.S. Mill.....	18
Figura 02:	Folha de <i>Varronia dardani</i> (Taroda) J.S. Mill	19
Figura 03:	<i>Varronia dardani</i> (Taroda) J.S. Mill	19
Figura 04:	Estruturas químicas de alguns monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides encontrados em óleos essenciais.....	21
Figura 05:	Rotavapor para separação de solvente.....	25
Figura 06:	Meios em diferentes concentrações de extrato de <i>V.dardani</i>	29
Figura 07:	Meios sendo vertidos em placas de Petri.....	30
Figura 08:	Inoculação dos discos de micélio	30
Figura 09:	Medição do micélio em placa de petri.....	31
Figura 10:	Extração do óleo essencial por hidrodestilação	32
Figura 11:	Meio de cultura com o fungo <i>Fusarium solani</i>	34
Figura 12:	Adição do óleo essencial de <i>V.dardani</i> ao meio BDA	35
Figura 13:	Inoculação do fungo na placa de petri contendo o meio BDA	36
Figura 14:	Estrutura de quinona	39
Figura 15:	Estrutura de taninos	39
Figura 16:	Estrutura geral das Flavonas.....	39
Figura 17:	Cromatograma (CG-DIC) do óleo essencial das folhas de <i>Varronia dardani</i>	45
Figura 18	Cromatograma (CG-MS) do óleo essencial das folhas de <i>Varronia dardani</i>	45
Figura 19:	Espectro de massa do α -tugeno	46
Figura 20:	Espectro de massa do α -pineno	46
Figura 21:	Espectro de massa do o-cimeno.....	46
Figura 22:	Espectro de massa do limoneno.....	47

Figura 23:	Espectro de massa do 1,8 cineol.....	47
Figura 24:	Espectro de massa do β -ocimeno.....	47
Figura 25:	Espectro de massa de γ - terpineno.....	48
Figura 26:	Espectro de massa do linalol	48
Figura 27:	Espectro de massa de ND-1.....	48
Figura 28:	Espectro de massa do terpinen-4-ol.....	49
Figura 29:	Espectro de massa do α -terpineol.....	49
Figura 30:	Espectro de massa do acetil-borniol	49
Figura 31:	Espectro de massa do acetil-carviol.....	50
Figura 32:	Espectro de massa do α -copaeno	50
Figura 33:	Espectro de massa do acetil-geraniol.....	50
Figura 34:	Espectro de massa de α -muurolenol.....	51
Figura 35:	Espectro de massa do ND- 2.....	51
Figura 36:	Espectro de massa do δ -cadineno	51
Figura 37:	Espectro de massa do germacreno D	52
Figura 38:	Espectro de massa de ND-3.....	52
Figura 39:	Espectro de massa do epi- α -cadinol	52
Figura 40:	Espectro de massa do α - cadinol	53
Figura 41:	Espectro de massa do 2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> -farnesol.....	53
Figura 42:	Espectro de massa do benzoato de benzila.....	53
Figura 43:	Espectro de massa do 2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> -acetil-farnesol.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Coloração indicativa da presença de antocianinas, antocianidinas e flavonóides	26
Tabela 2:	Coloração indicativa da presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas	27
Tabela 3:	Prospecção fitoquímica para a detecção de metabólitos secundários em extratos de <i>Varronia dardani</i>	38
Tabela 4:	Inibição do micélio nos diferentes tratamentos do extrato foliar de <i>V. dardani</i>	40
Tabela 5:	Constituintes químicos do óleo essencial da <i>Varronia dardani</i>	42
Tabela 6:	Constituintes majoritários atribuídos a espécies do gênero <i>Cordia</i>	43
Tabela 7	Inibição do micélio nos diferentes tratamentos com o óleo essencial de <i>V. dardani</i>	54
Tabela 8:	Valores do percentual de mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> causada pelo óleo essencial de <i>V. dardani</i>	55

LISTA DE ABREVIATURAS

CG/DIC	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama
CG/EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CL ₅₀	Concentração Letal
DMSO	Dimetilsulfóxido
FeCl ₃	Cloreto Férrico
g	Gramas
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HCl	Ácido Clorídrico
IK	Índice de Kovats
L	Litros
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Na ₂ SO ₄	Sulfato de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NH ₄ OH	Hidróxido de Amônio
°C	Graus Célsius
OE	Óleo Essencial
OMS	Organização Mundial Da Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
ppm	Partes por Milhão
BDA	Batata-dextrose-ágar

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- Introdução.....	14
CAPÍTULO 2- Referencial Teórico.....	16
2.1 Considerações Botânicas.....	16
2.1.1 Família Boraginaceae.....	16
2.1.2 Gênero <i>Varronia</i> P. Browne.....	17
2.1.3 <i>Varronia Dardani</i> (Taroda) J.S. Mill.....	18
2.2 Óleos Essenciais.....	20
2.3 Atividade Fungicida e Larvicida.....	22
CAPÍTULO 3 - Metodologia.....	24
3.1 Coleta e Identificação.....	24
3.2 Obtenção dos Extratos	24
3.3 Prospecção Fitoquímica do Extrato de <i>V. Dardani</i>	25
3.3.1 Testes de Fenóis e Taninos.....	26
3.3.2 Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides.....	26
3.3.3 Teste para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas.....	27
3.3.4 Teste para Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas.....	27
3.3.5 Teste para Esteróides E Triterpenoides (Lieberman-Burchard).....	27
3.3.6 Teste para Saponinas.....	28
3.3.7 Teste para Alcaloides.....	28
3.3.8 Teste para Quinonas	28
3.4 Atividade Antifúngica do Extrato Hidroalcoólicos de Folhas.....	29
3.5 Extração do Óleo Essencial	32
3.5.1 Análise dos Óleos.....	33
3.5.2 Identificação dos Constituintes Químicos.....	33
3.6 Avaliação do Potencial Biológico do Óleo Essencial.....	34
3.6.1 Avaliação do Potencial Antifúngico do Óleo Essencial.....	34
3.6.2 Avaliação do Potencial Larvicida do Óleo Essencial	37
CAPÍTULO- 4 Resultados e Discussão.....	38
4.1 Perfil Fitoquímico dos Extratos.....	38
4.2 Atividade Antifúngica do Extrato Hidroalcoólico de Folhas.....	40
4.3 Análises Cromatográficas do Óleo Essencial.....	41
4.4 Avaliação do Potencial Fungicida do Óleo Essencial.....	54
4.5 Avaliação do Potencial Larvicida do Óleo Essencial.....	55
CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1 – INTRODUÇÃO

A caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro e cercado de preconceitos em relação a sua biodiversidade, no entanto, hoje sabemos que este bioma é rico em fauna, flora e endemismo. A Caatinga ocupa uma área aproximada de 844.453 Km², o que corresponde a 9,92% de área total do Brasil (IBGE, 2004), estendendo-se pelo estado do Ceará, Bahia, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Alagoas, Sergipe e uma pequena porção de Minas Gerais e Maranhão. A vegetação da Caatinga possui uma variedade de pelo menos 932 espécies registradas na região, sendo 318 delas endêmicas (GIULIETTI et al, 2004). São reconhecidas 12 tipologias diferentes, as quais despertam atenção especial pelos exemplos fascinantes de adaptação aos habitats semiáridos. Isto implica dizer que a relação entre os fatores abióticos como solo-clima-pluviosidade pode explicar, em parte, a grande diversidade de fisionomias aliada à composição florística, com muitas espécies vegetais endêmicas no bioma (MELO e DE ANDRADE, 2007).

A vegetação nativa da região semiárida da região Nordeste do Brasil apresenta uma diversidade biológica ainda pouco estudada, apresentando grande número de espécies e compostos com potencial farmacológico. No entanto, esta diversidade está ameaçada, pois esta vegetação foi reduzida em cerca de 50% de sua extensão original (CAMPELLO et al., 1999). Neste sentido, é essencial que sejam conduzidos estudos com o intuito de explorar a vegetação nativa da Caatinga remanescente de forma sustentável e para o benefício da população. Apesar da escassez de estudos visando à exploração desta vegetação, muitos produtos diretamente originários da vegetação nativa, especialmente plantas medicinais, contribuem significativamente para manter a qualidade de vida da população do semiárido nordestino (LUCENA et al, 2007).

Um desses produtos obtidos desta vegetação são os óleos essenciais, os quais são definidos pela ISO (International Standard Organization) como produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste a vapor, também são chamados de óleos essenciais e óleos etéreos. Eles são caracterizados por sua volatilidade, aroma agradável e intenso, solúveis em solvente orgânico, sabor acre e picante (SIMÕES E SPITZER, 2003).

Os problemas ambientais e a contaminação de alimentos causados pela agricultura convencional ou industrial têm exigido cada vez mais a produção de culturas de forma ecológica, tendo em vista o benefício para o meio ambiente e a interação com a fauna local, onde o cultivo é feito através de um sistema de produção orgânico. A partir da última década, a conscientização sobre o uso indiscriminado e incorreto de defensivos agrícolas no ambiente rural e urbano, causando prejuízos aos ecossistemas e ao homem, tem motivado o desenvolvimento de métodos e produtos alternativos no controle de doenças de plantas (FERNANDES, 2002). Por isso, inúmeras plantas pertencentes à família Boraginaceae são utilizadas na medicina popular, muitas produtoras de óleos essenciais, outras são produtoras de madeira de boa qualidade, inclusive resistente ao ataque de fungos, insetos e microrganismos (SANTOS et al., 2006). Estudos disponíveis na literatura têm relatado que extratos e substâncias puras obtidas a partir de diferentes espécies do gênero *Varronia*, pertencente à família Boraginaceae, apresentam propriedades biológicas como: antifúngica (GUZZO et al, 2010; HERNANDEZ et al, 2007), larvicida (SANTOS et al, 2006; FREITAS, 2010), antimicrobiana (CARVALHO et al, 2004).

Os testes com os extratos e o óleo da *V.dardani* foram realizados, respectivamente, no *Fusarium Solani* e em larvas do *Aedes aegypti*, visto que o *Fusarium solani* é um fungo causador de danos no setor agrícola (GUIMARÃES, 2013) e o *Aedes aegypti* atua como vetor da febre amarela e da dengue, sendo esta uma doença infecciosa causada por um arbovírus e transmitida de uma pessoa doente a uma pessoa sadia através da picada da fêmea contaminada (SANTIAGO et al, 2005).

Baseados nesses dados, no conhecimento de plantas do gênero *Varronia* pertencente à família Boraginacea, no potencial fitoterapêutico do óleo essencial e na ausência de qualquer relato de estudo fitoquímico da espécie *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill na literatura, este trabalho analisou o teor, a composição química e atividade fungicida e larvicida do óleo essencial da *V. dardani*, bem como a prospecção fitoquímica dos extratos das partes do vegetal, afim de que se conheça mais sobre a espécie em estudo, e promova sua preservação na natureza.

2- REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1.1 Família Boraginaceae

A família Boraginaceae reúne aproximadamente 130 gêneros e 2.500 espécies, distribuídas em todo mundo, no entanto, as regiões que representam maior diversidade da família são a zona Norte Temperada, as regiões Turco-iraniana e Mediterrânea, e nos trópicos, a América Central e as regiões Noroeste e Central da América do Sul (MELO, PAULINO e OLIVEIRA, 2013).

Esta família é caracterizada por apresentar:

Plantas com porte variado. As folhas são simples geralmente alternadas. Flores hermafroditas e de sexos separados. Cálice gamossépalo, tubuloso, com lobos curtos ou meio profundos, corola tubulosa, infundibuliformes, campanulada, hipocrateriforme ou rotácea. Androceu com cinco estames livres, exsertos ou não, com filetes curtos ou longos, antera bilocular, rimosa, com lóculos globosos, ovóides, oblongos. Gineceu composto de dois a quatro carpelos, constituindo ovário súpero, com dois a quatro lóculos, uniovulados, raro, uniloculares, com quatro óvulos anátropos, estilete inteiro ou bipartido no ápice. Fruto indeiscente, carnosos, sendo raramente seco, constituindo uma drupa com dois a quatro lóculos ou pirenado por aborto ou um esquizocarpo dissolvido em quatro núculas livres ou condescidas duas a duas, com estrutura drupácea (LEITE, 2006).

No Brasil ocorrem nove gêneros de Boraginaceae e aproximadamente 125 espécies, *Varronia* é um dos mais numerosos, juntamente com *Cordia* e *Tournefortia* (VIEIRA et al, 2013).

2.1.2 Gênero *Varronia* P. Browne

O Gênero *Varronia* compreende cerca de 100 espécies neotropicais de arbustos multi-ramificados com inflorescências condensadas e folhas uniformemente serrilhadas. Há cerca de 30 espécies de *Varronia* no Brasil, que ocorrem em uma variedade de habitats de florestas, o "cerrado" e vegetação "caatinga" (STAPF, 2010).

Varronia tem sido descrito como um subgênero de *Cordia* (TARODA, 1984), no entanto, houve a segregação de *Varronia* dos outros membros de *Cordia*, sendo classificado assim devido a sua significância morfológica e evidências moleculares, corroborando para que *Varronia* seja um grupo monofilético distinto, sendo tratada como irmã de *Cordia* e reconhecida a nível genérico (MILLER e GOTTSCHLING, 2007).

A nomenclatura de algumas espécies que antes estavam posicionadas dentro do gênero *Cordia* foi atualizada para *Varronia* devido à mudança na filogenia, incluindo espécies como: *Varronia curassavica* Jacq (MELO, 2012a); *Varronia globosa* Jacq (MELO, 2012b); *Varronia leucocephala* (Moric.) J.S.Mill (MELO, 2012c); e *Varronia dardani* (MELO, 2012d), todas distribuídas no Nordeste do Brasil.

Este gênero está representado por plantas que apresentam:

Arbustos ou subarbustos, raramente lianas. Folhas alternas, pecioladas ou sésseis, margem frequentemente serrada ou denteada a crenada, raramente inteira, venação craspedódroma ou raramente broquidódroma. Inflorescências congestas, espiciformes ou capitadas (glomerosas ou raramente broquidódroma). Inflorescências congestas, espiciformes ou capitadas (glomerosas glomérulo-globosas). Flores com cálice geralmente campanulado, 5-lobado, lobos deltoides agudos, acuminados ou providos de apêndices filiformes, internamente glabros; corola branca, lobos rasos ou, mais ou menos profundos; estames inclusos ou não, tricomas presentes ou não no ponto de inserção na corola; ovário piriforme glabro. Drupa até 1 cm compr., cônica ou cilíndrica (MELO, PAULINO e OLIVEIRA, 2013).

As plantas que fazem parte deste gênero têm sido usadas na medicina popular, principalmente no tratamento de úlceras gástricas, como anti-inflamatórias, no tratamento de obesidade (ARREBOLA et al, 2004).

2.1.3 *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill

Esta espécie tem como basônimo *Cordia dardani* Taroda, endêmica da caatinga do Brasil, sendo distribuída em Estados do Nordeste do país como: Ceará, Pernambuco, Bahia, Alagoas, Paraíba e Rio Grande do Norte (MELO et al, 2012d).

Varronia dardani (Taroda) J.S. Mill foi descrita por apresentar:

Ramo subcilíndricos; Folhas alternas; pecíolo sulcado, viloso. Inflorescência espiciforme, congesta, terminal e axilar; pedúnculo densamente viloso, rufescente. Flores sésseis; cálice obcônico, tomentoso, lacínios diminutos, ovados; corola tubularsalverforme, alva a creme, pubescente externamente, internamente vilosa na região do tubo, lobos diminutos, truncados; estames subsésseis, anteras oblongas, divaricatas; ovário piriforme; ramos estigmáticos, estigmas foliáceos, vilosos (MELO, 2012).

Figura 01 - Inflorescência de *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill



Fonte: Autoria própria

Figura 02 - Folha de *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill



Fonte: Autoria própria

Figura 03 - *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill



Fonte: Autoria própria

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências. A ISO (International Organization for Standardization) os define como: “um produto obtido por destilação em água ou vapor, por destilação seca de materiais naturais ou por processos mecânicos de extração de pericarpos de frutos cítricos. Após a destilação, o óleo essencial é fisicamente separado da fase aquosa” (ISO 9235:1997).

O termo “óleo essencial” foi utilizado pela primeira vez no século XVI por Paracelsus, quem nomeou o componente efetivo de uma droga, “quinta essência”. Por volta do século XX, os óleos essenciais eram utilizados em perfumes, cosméticos e aromas alimentares, enquanto sua utilidade em preparações farmacêuticas tinha declinado (EDRIS, 2007). A evolução de conhecimentos técnicos sobre os óleos essenciais deu-se em meados do século XVIII, quando se iniciaram os estudos para suas caracterizações químicas. Atualmente é bastante grande o número de plantas conhecidas para a produção de óleos essenciais em bases econômicas. Tal ocorrência vai desde plantas rasteiras, como é o caso da hortelã, até plantas de porte arbóreo, como é o caso do eucalipto (VITTI e BRITO, 2003).

O Brasil tem lugar de destaque na produção de óleos essenciais. Esta posição deve-se aos óleos de cítricos, subprodutos da indústria de sucos. No passado, o país teve destaque como exportador de óleo essencial de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de importador (BIZZO, HOVELL e REZENDE, 2009).

Óleos essenciais são extraídos de plantas através de técnicas de arraste de vapor, na grande maioria das vezes, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanóides, metabolitos que conferem suas características organolépticas (BIZZO, HOVELL e REZENDE, 2009).

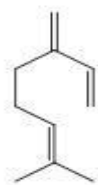
Os terpenóides são os principais constituintes dos óleos essenciais de plantas, mas muitos destes óleos também são compostos por outros produtos químicos como fenilpropanóides. Quase todos os óleos essenciais são extremamente complexos na

composição, no que diz respeito à presença de uma grande variedade de entidades químicas altamente funcionalizadas, que pertencem a diferentes classes químicas (monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides), como mostra a figura 04 (SANGWAN et al. 2001).

Figura 04: Estruturas químicas de alguns monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides encontrados em óleos essenciais.

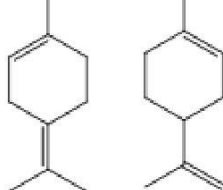
Monoterpenos

Acíclicos



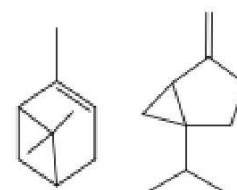
Mirceno

Monocíclicos



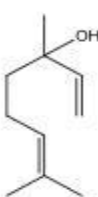
Terpinoleno Limoneno

Bicíclicos



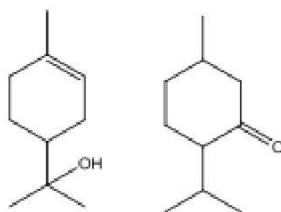
α-Pineno Sabineno

Acíclicos Oxigenados



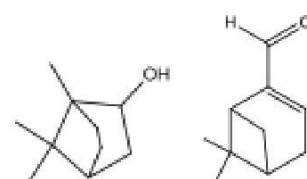
Linalol

Monocíclicos Oxigenados



α-Terpineol Mentona

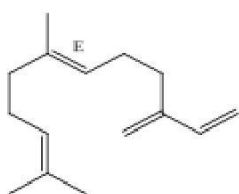
Bicíclicos Oxigenados



Borneol Mirtenal

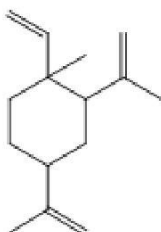
Sesquiterpenos

Acíclicos



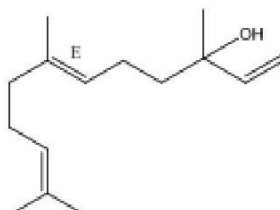
(E) – β- Farneseno

Monocíclicos



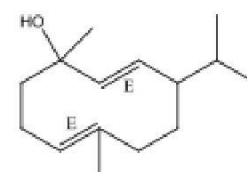
β - Elemeno

Acíclicos Oxigenados



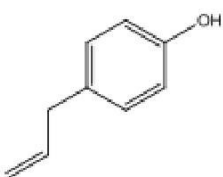
(E) - Nerolidol

Monocíclicos Oxigenados

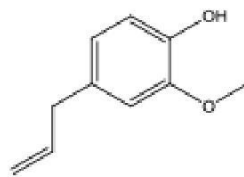


Germacrene – D- 4- ol

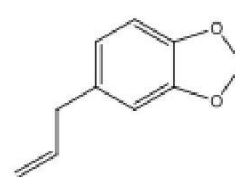
Fenilpropanóides



Chavicol



Eugenol



Safrol

2.3. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E LARVICIDA

Desde 1977, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado o estudo de plantas tradicionalmente conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da utilização de medicamentos fitoterápicos e de conhecer, ao mesmo tempo, os riscos de seu uso indevido (LOGUERCIO *et al.*, 2005).

A OMS ainda reconhece que grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (BRASIL, 2006).

O aumento na procura de plantas medicinais frente à oferta insuficiente das mesmas conduziu a uma queda de sua qualidade. Muitos produtores desconhecem os cuidados que se deve ter nas diversas etapas para a obtenção de matérias-primas e/ou produtos de qualidade adequada e não contam com a orientação de profissionais capacitados (ZARONI *et al.*, 2004). As plantas medicinais são amplamente utilizadas na medicina popular de muitos países para o tratamento de diferentes condições inflamatórias e, em particular, inflamações da pele. No entanto, para muitas das plantas utilizadas, a eficácia real e os princípios ativos relevantes são desconhecidas (FALCÃO *et al.*, 2005).

A atividade fungicida e larvicida de extratos e óleos essenciais de partes das plantas têm sido estudadas constantemente (BIGATON *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2011; SANTOS *et al.* 2012; LIMA *et al.*, 2014; FURTADO *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2006).

Os metabólitos secundários são os princípios ativos responsáveis pelos efeitos terapêuticos e biológicos das plantas, funcionando como sinais químicos ou defesa contra herbívoros, patógenos ou competidores. As três principais classes de compostos vegetais secundários são: os alcalóides, os terpenóides e os compostos fenólicos (HAVEN, 2007). O conteúdo desses compostos na planta depende de fatores como: sazonalidade, ritmo circadiano, idade e desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica e a Indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

As principais funções ecológicas de metabólitos secundários em espécies de plantas é a sua proteção contra vírus, fungos e doenças bacterianas, pastagem, atração ou repulsão dos outros organismos e resistência a estresses ambientais (ALMEIDA-CORTEZ, SHIPLEY e ARNASON, 2003).

3 – METODOLOGIA

3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO

As partes do vegetal de *Varronia dardanoi* (Taroda). J.S.Mill foram coletadas durante seu estágio de floração, em maio de 2012, no município de Patu, estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Esta planta foi identificada pelo Prof. Dr. José Iranildo Miranda de Melo pertencente ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Campina Grande. Uma exsicata correspondente à coleta da planta (MOSS 13755) encontra-se arquivada no Herbário Dardano de Andrade Lima, Universidade Federal do Semiárido - UFERSA.

3.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As diferentes partes do vegetal foram secos em estufa (40°), triturados mecanicamente e pesados obtendo 54,6 g de galhos, 198,7 g de raízes e 368,6 g de folhas. Foram colocados em frascos de vidro, sendo assim submetidos a três extrações exaustivas com solução hidroalcoólica (etanol/água a 70%) a frio, durante um período médio de 72h cada uma.

Os extratos hidroalcoólicos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo (rotavapor) sob pressão reduzida à temperatura de 80 °C, para separação do solvente (figura 05), obtendo-se 5,4g; 7,6g e 37,8g, respectivamente de extrato hidroalcoólicos de raiz, galhos e folhas, respectivamente.

Esses extratos hidroalcoólicos foram concentrados e reservados para a prospecção fitoquímica das principais classes de metabólitos secundários, bem como da avaliação do potencial fungicida e larvicida.

Figura 05- Rotavapor para separação de solvente

Fonte: Autoria própria

3.3 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DE *V. dardani*

Os extratos foram submetidos à prospecção fitoquímica dos principais grupos metabólitos secundários baseados na coloração e precipitação das amostras. Para os testes fitoquímicos foram empregados uma série de método descrito por Matos (1997). Como procedimento preliminar, os extratos foram dissolvidos em solução hidroalcoólica e distribuídos em sete porções com 3mL em cada tubo de ensaio numerado. Foram separadas ainda, duas porções de 10mL em béqueres rotulados, sendo um deles tarado, que foram deixados em banho maria para secar e reservados para testes posteriores. O restante do extrato foi concentrado em banho- maria até obter a metade do volume. A solução foi acidulada a pH 4, filtrada e reservada. Os tubos de ensaio foram usados para os seguintes testes:

3.3.1 Testes de fenóis e taninos

No tubo 1, foram adicionadas 3 gotas de solução de FeCl_3 . Após agitado, observou-se alguma variação de cor ou precipitação, quando comparado com o teste em branco (água + FeCl_3).

O aparecimento da cor variável entre azul e vermelho, indica a presença fenóis, sendo o teste branco negativo. Se surgir o precipitado escuro com tonalidade azul, é indicio da presença de taninos hidrolisáveis; e verde, a presença de taninos condensados.

3.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

O tubo 2 foi acidulado com HCl a 5% ate pH3; o tubo 3 foi alcalinizado com NaOH ate pH8,5; e o tubo 4 ate pH11.

De acordo com a tabela 1, observou-se a mudança na coloração do material.

Tabela 1 – Coloração indicativa da presença de antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Constituintes	Cor em meio		
	Ácido (3)	Alcalino (8,5)	Alcalino (11)
Antocianinas e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e Auronas	Vermelha	-	Verm. púrpura
Flavanonóis	-	-	Verm. Laranja

Fonte: Matos (1997).

3.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

Os tubos de número 5 e 6 foram respectivamente acidulados com HCl até pH 3 e alcalinizado com NaOH até pH 11. Depois de aquecido por 3 minutos, foi observado qualquer alteração de cor, comparando com os tubos do teste anterior.

Tabela 2 - Coloração indicativa da presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

Constituintes	Cor do meio	
	Ácido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelha	-
Catequinas (taninos catéquicos)	-	-
Flavanonas	Pardo - amarela	Verm, laranja

Fonte: Matos (1997).

3.3.4 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Ao tubo 7, foram adicionados algumas centigramas de magnésio granulado e 0,5mL de HCl concentrado. Após a reação de efervescência, pôde ser observada alguma mudança na cor da mistura, se comparado ao tubo 5, também acidificado.

O aparecimento da cor vermelha indica a presença de flavonóis, flavanonas e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

3.3.5 Teste para esteroides e triterpenoides (Lieberman-Burchard)

O resíduo seco do becker foi extraído com clorofórmio, sendo posteriormente filtrado com um funil fechado com algodão, coberto com alguns decigramas de Na₂SO₄ anidro. À solução filtrada, foi adicionado 1mL de anidro acético, agitado e acrescentado 3 gotas de H₂SO₄ concentrado. Após nova agitação, observou-se desenvolvimento de cores.

A coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteroides livres. Coloração parda até vermelha indica triterpenoides pentacíclicos livres.

3.3.6 Teste para saponinas

O resíduo insolúvel em clorofórmio, que estava separado, foi redissolvido em 10mL de água destilada e filtrado. O tubo de ensaio contendo a solução foi agitado por alguns minutos para a observação de espuma. Caso a espuma fosse persistente e abundante, indicaria a presença de saponinas (heterosídeos saponínicos).

3.3.7 Teste para alcalóides

À porção da solução aquosa, obtida anteriormente, foi acrescentado NH_4OH até pH 11 e extraído as bases orgânicas com três porções de 30,20 e 10mL da mistura de éter-cloroformio (3+1), em um funil de separação. Em seguida, foi retirada a solução éter-cloroformio e tratada com Na_2SO_4 anidro (para eliminação de água). Uma porção do filtrado foi acidulado com três porções sucessivas de HCl diluído e depois repartida em 3 tubos de ensaio, adicionando a cada um deles, respectivamente, 3 gotas do reagente de Dragendorff, Mayer e Wagner. O surgimento de precipitado floculoso é indicativo de alcaloides.

3.3.8 Teste para quinonas

À 5mL de solução etérea em um tubo de ensaio, foi adicionado 2mL de solução 6N de NH_4OH . Após agitado, deixou-se separar em duas fases. Observou-se então o aparecimento de coloração da fase aquosa. A cor vermelha na camada aquosa alcalina indica a presença de quinona.

3.4 ATIVIDADE ANTIFUNGICA DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DE FOLHAS

Para o teste antifúngico do extrato, foi utilizado o *Fusarium solani*, obtidos da coleção de fungos do Laboratório de Cultura e Tecido Vegetal – LCTV da UERN. Os fungos foram cultivados em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e mantidos em estufa (BOD) a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob alternância luminosa (12 h claro / 12 h escuro) para obtenção do inóculo.

O extrato preparado anteriormente, foi pesado e diluído no meio BDA nas concentrações 6; 8 e 10 gL^{-1} (Figura 6), sendo autoclavado por 20 minutos.

Figura 06 – Meios em diferentes concentrações de extrato de *V.dardani*



Fonte: Autoria própria

Em seguida, os meios foram levados à câmara de fluxo laminar onde foram vertidos em placas de petri (Figura 7). Discos de micélio do fungo com aproximadamente 3 mm de diâmetro foram retirados de culturas com 15 dias de crescimento e inoculados no centro da placas contendo o meio BDA (Figura 8), identificando assim os seguintes tratamentos: T1 (meio de cultura apenas com o meio, sem extrato), controle negativo; T2 (meio com fungicida comercial Norkill®), controle

positivo; T3 (6 gL-1 do extrato foliar de *V.dardani*); T4 (8 gL-1 do extrato foliar de *V.dardani*) e T5 (10 gL-1 do extrato foliar de *V.dardani*).

FIGURA 07 – Meios sendo vertidos em placas de Petri



Fonte: Autoria própria

FIGURA 08- Inoculação dos discos de micélio



Fonte: Autoria própria

As avaliações tiveram início 48h posteriores à montagem do experimento e foram realizadas diariamente através de medição do diâmetro do micélio (média de duas medidas perpendiculares) com o auxílio de um paquímetro (FIGURA 9).

FIGURA 09- Medição do micélio em placa de petri

Fonte: Autoria própria

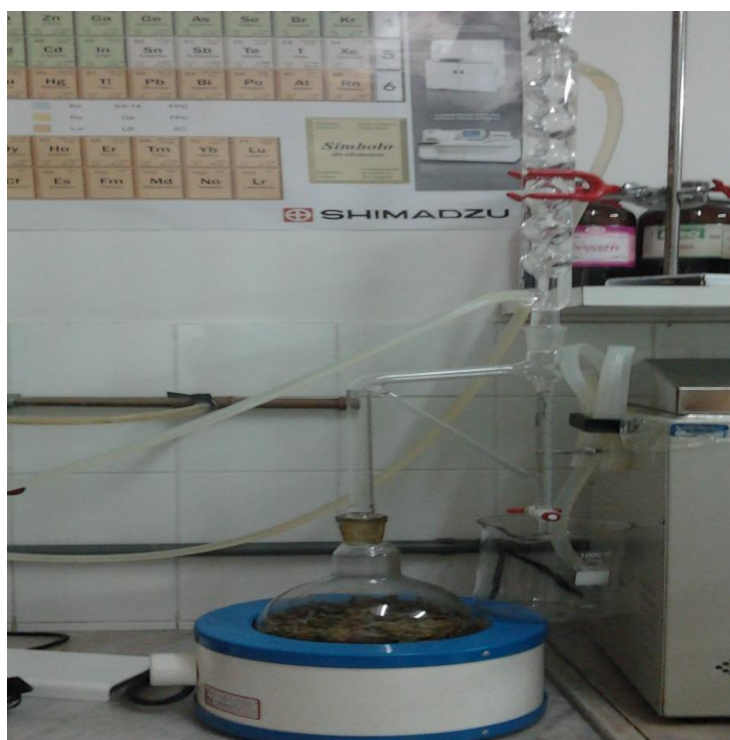
O término das avaliações ocorreu com o total crescimento do fungo na placa correspondente ao tratamento controle positivo. O delineamento experimental utilizado foi do tipo inteiramente casualizado, sendo 5 tratamentos e 5 repetições, totalizando 25 placas. A percentagem de inibição foi determinada através dos dados do crescimento micelial individual de cada fungo, sendo estes aplicados na fórmula adaptada de Edington et al (1971): $I = [(CFC - CFT) / CFC] \times 100$, Onde: I = percentagem de inibição; CFC = crescimento do fungo no controle; CFT = crescimento do fungo no tratamento. Os dados foram analisados estatisticamente pela análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As folhas de *Varronia dardani* foram coletadas no município de Patu- RN e levadas ao laboratório de Cromatografia (UERN) onde foram pesadas, obtendo 222,72g de massa de folhas para a extração do óleo essencial (OE). O método utilizado para a extração foi a hidrodestilação usando um aparelho do tipo Clevenger modificado, onde as folhas foram colocadas em balão de fundo redondo com capacidade de 2L contendo água destilada, este, foi acoplado ao aparelho de Clevenger (Figura 10).

A extração foi realizada pelo período de 2 horas, controlando-se a temperatura para aproximadamente 100°C, para evitar a perda de constituintes voláteis do OE por evaporação. Após a hidrodestilação, os óleos foram secos com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e armazenados em frascos de vidro fechados cobertos com papel alumínio e mantidos sob refrigeração (próximo de 5°C) antes da análise cromatográfica e testes biológicos. O rendimento do óleo foi calculado utilizando a equação: $\text{TO} = (\text{M óleo} \setminus \text{M folha}) \times 100$, sendo: TO – teor de óleo; M óleo – massa do óleo; M folha – massa das folhas.

Figura 10- Extração do óleo essencial por hidrodestilação



Fonte: Autoria própria

3.5.1 Análise do óleo essencial

A análise qualitativa do óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), em espectrômetro modelo GCMS/QP2010 Ultra - Shimadzu, equipado com coluna apolar de sílica Rtx-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Os experimentos foram realizados nas seguintes condições: ionização por impacto de elétrons a 70 eV; hélio como gás de arraste e fluxo de 1,7 mL/min; injetor no modo *split* (1:100); gradiente crescente de temperatura de 4 °C/min, de 40 a 180 °C e 20 °C/min de 180 a 280 °C. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 e 290 °C, respectivamente. Os espectros foram obtidos numa faixa m/z 10 – 460 Da. A análise quantitativa do óleo foi realizada em cromatógrafo GC 2010, da Shimadzu, equipado com um detector de chama e coluna capilar apolar de sílica Rtx-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Os parâmetros utilizados foram semelhantes aos descritos acima, hélio como gás de arraste e fluxo de 1,7 mL/min; injetor no modo *split* (1:100); gradiente crescente de temperatura de 4 °C/min, de 40 à 180 °C e 20 °C/min de 180 à 280 °C. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 e 290 °C, respectivamente.

3.5.2 Identificação e quantificação dos constituintes químicos do óleo essencial de *V.dardani*.

O teor de cada componente foi determinado com base na área de cada pico relacionada com a área total dos picos no cromatograma. Cada componente do óleo foi identificado com base no índice de retenção (considerando-se uma série homóloga de n-alcanos C8-C26), índice de Kovats, corrigido por regressão linear, também por comparação do padrão de fragmentação próprio de cada componente, com espectros de massa de banco de dados virtual (Biblioteca NIST/EPA/NIH, 2011) e, ainda, por comparação visual com espectros de massa registrados na literatura (Adams, 2012).

3.6 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL

A busca por substâncias de origem natural com potencial biológico, foram selecionados dois métodos com destacada relevância, o de atividade antifúngica e o larvicida, especificamente das larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

3.6.1 Avaliação do potencial antifúngico do óleo essencial

O teste da atividade antifúngica do óleo essencial de *V.dardani* foi realizado no do Laboratório de Cultura e Tecido Vegetal – LCTV da UERN, de onde obtido o *Fusarium solani*, fungo utilizado no experimento (Figura 11).

Figura 11- Meio de cultura com o fungo *Fusarium solani*



Fonte: Autoria própria

Os fungos foram cultivados em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e mantidos em estufa (BOD) a 25 ± 2 °C, sob alternância luminosa (12 h claro / 12 h escuro) para obtenção do inóculo. O OE, extraído anteriormente, foi diluído no meio BDA nas concentrações 1; 2; 3; 4 e 5 µl/mL (Figura 12), sendo autoclavados por 20 minutos.

Figura 12- Adição do óleo essencial de *V.dardani* ao meio BDA

Fonte: Autoria própria

Posteriormente, os meios foram levados à câmara de fluxo laminar onde foram vertidos em placas de petri. Discos de micélio do fungo com aproximadamente 3 mm de diâmetro foram retirados de culturas com 15 dias de crescimento e inoculados no centro da placas contendo o meio BDA (FIGURA 13), identificando assim os seguintes tratamentos: T1 (meio de cultura apenas com o meio, sem óleo), controle negativo; T2 (meio com fungicida comercial Cercobin®), controle positivo; T3 (1µl do OE de *V.dardani*); T4 (2 µl do OE de *V.dardani*); T5 (3 µL do OE de *V.dardani*); T6 (4 µl do OE de *V.dardani*) e T7 (5 µl de OE de *V.dardani*). Para o preparo do controle negativo, foi diluído no meio 3g/L do fungicida.

Figura 13- Inoculação do fungo na placa de petri contendo o meio BDA



Fonte: Autoria própria

As avaliações tiveram início 48h posteriores à montagem do experimento, sendo estas realizadas diariamente com o auxílio de um paquímetro, através de medição do diâmetro do micélio (média de duas medidas perpendiculares). As avaliações foram concluídas com o total crescimento do fungo na placa correspondente ao tratamento controle positivo (T1).

O delineamento experimental utilizado foi do tipo inteiramente casualizado, sendo 7 tratamentos e 7 repetições, totalizando 49 placas. A percentagem de inibição foi determinada através dos dados do crescimento micelial individual de cada fungo, sendo estes aplicados na fórmula adaptada de Edington et al (1971): $I = [(CFC - CFT) / CFC] \times 100$, Onde: I = percentagem de inibição; CFC = crescimento do fungo no controle; CFT = crescimento do fungo no tratamento. Os dados foram analisados estatisticamente pela análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.6.2 Avaliação do potencial larvicida do óleo essencial

Os testes de atividade larvicida do óleo essencial das folhas de *V.dardani* foram realizados no laboratório de Entomologia do Núcleo de Endemias da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará, utilizando a metodologia descrita por Torres (2008). Alíquota de 5 a 500 mg/mL do óleo essencial foram colocadas em um béquer (50 mL) e dissolvidas em H₂O:DMSO (8,5:1,5). Em cada béquer foram distribuídas 50 larvas do *Aedes aegypti* no terceiro estágio da vida. A contagem das larvas inoperantes ocorreu 24h depois em temperatura ambiente, e posteriormente calculado a concentração letal, sendo que o controle continha apenas DMSO e água. Para cada amostra foram realizados três experimentos independentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

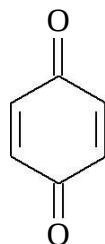
4.1 PERFIL FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS

Através dos testes fitoquímicos realizados, foram detectados diferentes compostos químicos (Tabela 3). Os resultados mostraram que todos os extratos (raíz, galhos e folhas) apresentaram taninos flabobênicos, flavononóis, catequinas e flavanonas e quinonas.

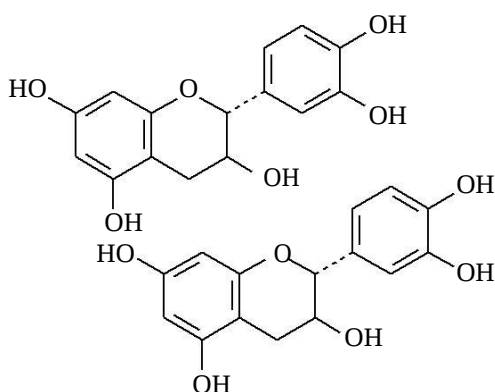
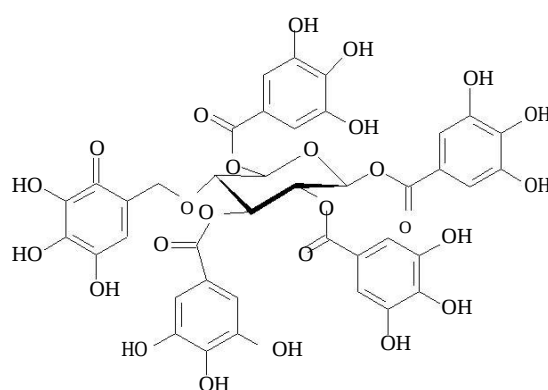
Tabela 3 - Prospecção fitoquímica para a detecção de metabólitos secundários em extratos hidroalcoólicos de *Varronia dardani*

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	RESULTADO		
	EXTRATO DAS RAIZES (Hidroalcoólico)	EXTRATO DE GALHOS (Hidroalcoólico)	EXTRATO DE FOLHAS (hidroalcoólico)
FENÓIS E TANINOS	POSITIVO PARA TANINOS FLOBABÊNICOS	POSITIVO PARA TANINOS FLOBABÊNICOS	POSITIVO PARA TANINOS FLOBABÊNICOS
ANTOCIANINAS, ANTOCIANIDINAS E FLAVONOIDES	POSITIVO PARA FLAVANONÓIS	POSITIVO PARA FLAVANONÓIS	POSITIVO PARA FLAVANONÓIS
LEUCOANTOCIANIDINAS, CATEQUINAS E FLAVANONAS	POSITIVO PARA CATEQUINAS E FLAVANONAS	POSITIVO PARA CATEQUINAS E FLAVANONAS	POSITIVO PARA CATEQUINAS E FLAVANONAS
FLAVONÓIS, FLAVANONÓIS E XANTONAS	INDETERMINADO	INDETERMINADO	PRESENÇA DE FLAVANOIS, FLAVANONAS, FLAVANONÓIS E/OU XANTONAS, LIVRES OU SEUS HETEROSÓDIOS
ESTERÓIDES E TRITERPENÓIDES	POSITIVO PARA ESTERÓIDES E TRITERPENÓIDES PENTACÍCLICOS	POSITIVO PARA ESTERÓIDES LIVRES	POSITIVO PARA TRITERPENÓIDES PENTACÍCLICOS
SAPONINAS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
ALCALÓIDES	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
QUINONAS	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
CUMARINAS	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Ciocan e Bara (2007) caracterizam alguns desses grupos de metabólitos: As quinonas são anéis aromáticos com duas substituições de cetonas. Eles estão na natureza e são caracteristicamente altamente reativos, além de proporcionar uma fonte de radicais livres e possuírem uma gama de efeitos antimicrobianos e anti-hemorragicos, como por exemplo, a vitamina K, um complexo de naftoquinona importante por possuir esta propriedade.

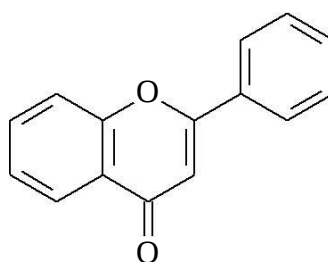
Figura 14- Estrutura de quinona

Os taninos podem ser hidrolisáveis ou condensados. Eles são encontrados em quase todas as partes da planta: casca, madeira, folhas, frutos e raízes. A eles são atribuídos à ação antimicrobiana, bem como muitas atividades fisiológicas humanas e anti-infecciosas.

Figura 15 – Estrutura de Taninos**Tanino Hidrolisado****Tanino condensado**

Além dos grupos de metabólitos já citados, o extrato foliar apresentou flavonóis, flavanonóis e xantonas.

Os flavonóides também substâncias fenólicas, hidroxilados, conhecidos por ser sintetizado por plantas em resposta a uma infecção microbiana, sendo obtidos por sua eficácia contra uma ampla variedade de microorganismos.

Figura 16- Estrutura geral das Flavonas

Ao longo do tempo, foram atribuídas as Xantonas uma série de propriedades biológicas e farmacêuticas, como antioxidante (SANTOS, 2003), anti-inflamatória (LIBROWSKI, 2005), anticancerígena (AKAO et al, 2008), doenças cardiovasculares (JIANG, DAI e LI, 2004), dentre outras citadas na literatura.

4.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DE FOLHAS

Nos testes realizados *in vitro* verificou-se que todos os extratos obtiveram médias significantes em relação ao T1 (controle negativo), aferindo que houve inibição do micélio nas diferentes concentrações do extrato. Entre os tratamentos T3 (6 gL^{-1}); T4 (8 gL^{-1}) e T5 (10 gL^{-1}) não houve significância, no entanto, quando comparado ao T2 (controle positivo) o qual apresentava o fungicida comercial, a significância ocorreu, visto que o mesmo inibiu completamente o crescimento dos micélios, como pode ser observado na Tabela 4. O T5, tratamento com a maior concentração, obteve uma média de inibição maior do que os demais tratamentos com concentração inferior, então, a concentração do extrato é proporcional à inibição do micélio.

Tabela 4- Inibição do micélio nos diferentes tratamentos do extrato foliar de *V. dardani*

Inibição do crescimento micelial	
Tratamentos	Médias
T1	.0000 C
T2	83.2000 A
T3	19.0000 B
T4	24.6000 B
T5	25.4000 B

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados corroboram com Venturoso et al. (2011), onde revelaram que o efeito do extrato de alho para *F. solani* também foi dependente das concentrações

utilizadas, constatando-se maior atividade antifúngica com o aumento das concentrações.

Através dos testes realizados por Pacheco et al (2011) utilizando o extrato aquoso de *Emilia sonchifoli*, observou-se atividade antifúngica sobre *F.solani* numa concentração de 125,0 µg/mL.

Ishida et al (2011) utilizou extratos etanólicos e hexânicos extraídos a partir de cascas, folhas e galhos de *Copaifera duckei*, *Copaifera martii* e *Copaifera reticulata*.

Todos os extratos etanólicos interferiram no crescimento de *F. solani* proporcionando inibição acima de 40%.

4.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial das folhas de *V. dardani* foi investigado pela primeira vez. O rendimento do óleo (m/m), calculado sobre o peso fresco do material vegetal, foi de 0,16%. A composição química do óleo foi realizada em um cromatógrafo gasoso com um detector de ionização de chama, espectrômetro de massa acoplado a cromatógrafo gás-líquido, enquanto o teor de cada componente foi determinado em espectrômetro equipado com detector de ionização de chama. Na Tabela 5, estão sumarizados os constituintes químicos identificados, seus teores e respectivos índices kovats.

O óleo essencial das folhas de *V. dardani* forneceu um óleo fluido e amarelado exibindo as seguintes propriedades físicas: $[\alpha]_D^{20} = 21,9$ ($c = 0,05$, CHCl_3), $n_D^{25} = 1,008$, $d_4^{25} = 0,8873$ g/mL. A análise por cromatografia gasosa do óleo resultou na presença de 25 substâncias onde foram identificados e quantificados 22 constituintes químicos totalizando um percentual acima de 96% da composição química do óleo. Dentre os 22 constituintes identificados, 12 pertencem à classe dos monoterpenoides onde são representados por 6 hidrocarbonetos monoterpenos (40,76%), 4 monoterpenoides oxigenados (35,81%) e 2 monoterpenoides acetilados (1,20%). Cerca de 9 substâncias compreende os sesquiterpenoides, dos quais 3 são hidrocarbonetos sesquiterpenos (3,87%), 4 são sesquiterpenoides oxigenados (8,74%) e 2 sesquiterpenoides acetilado (7,64%). Além disso, o óleo apresentou traços de um derivado fenólico, representada por um único constituinte químico o benzoato de benzila (0,20%).

Tabela 5 – Constituintes químicos do óleo essencial da *Varronia dardani*

	Constituintes ^a	IK ^b	OEVD (%)
1	α -turgeno	928	2,68
2	α -pineno	934	2,08
3	o-cimeno	1023	3,83
4	d-Limoneno	1026	27,49
5	1,8 cineol	1030	13,23
6	β -ocimeno(Z)	1041	0,48
7	γ -terpineno	1058	4,20
8	Linalol	1100	10,54
9	ND-1	-	0,84
10	terpinen-4-ol	1182	5,77
11	α -terpineol	1196	6,27
12	acetil-borniol	1294	0,60
13	acetil-carviol	1344	0,60
14	α -copaeno	1382	0,55
15	acetil-geraniol	1386	0,97
16	α -muuroleno	1509	0,41
17	ND-2	-	1,41
18	δ -cadineno	1567	1,50
19	germacreno-D	1589	0,60
20	ND-3	-	0,85
21	epi- α -cadinol	1619	0,94
22	α -cadinol	1630	0,86
23	2E,6E- farnesol	1679	6,34
24	benzoato de benzila	1711	0,20
25	2E,6E-acetil-farnesol	1742	6,67
Teor de monoterpeno			78,59
Teor de sesquiterpeno			19,04
Teor total identificado			96,9

^a Constituintes químicos listados de acordo com ordem de eluição em coluna Rtx-5ms. ^b IK = Índices de Kovats corrigido para o óleo OEVD ^a Percentual obtido por CG-DIC.
ND = Não Determinado

Dos hidrocarbonetos monoterpenos destaca-se o d-limoneno (27,49%) como sendo o composto majoritário do óleo seguido pelos monoterpenos oxigenados o 1,8 cineol (13,23%), o linalol (10,54%) e o α -terpineol (6,27%). Outros majoritários são os derivados sesquiterpenos o (*E,E*) farnesol (6,34%) e o (*E,E*) acetil de farnesol (6,67%). Os demais constituintes apresentam teores abaixo de 6%. Duas (3) substâncias denominada ND-1, ND-2 e ND-3 não foram identificadas totalizando um percentual de 3,1%.

A tabela 6 evidencia os principais constituintes químicos de óleo essencial presentes em diferentes espécies do gênero *Cordia* encontradas na literatura.

Tabela 6 - Constituintes majoritários atribuídos a espécies do gênero *Cordia*.

Espécies	IK ^b	Referências
<i>C. curassavica</i>	α -pineno (20,5% - 10,4%)	Santos et. al, 2006; Oliveira et. al, 2007
<i>hastes e folhas</i>	Espatuleno (27,1% hastes)	
	Trans-sesquisabineno hidrato (11,0% hastes)	
	Viridifloros (10,7% hastes)	
	β -felandreno (25,3%)	
	cubebol (23,9%)	
	β -pineno (13,1%)	
	<i>E</i> -cariofileno (12,4%)	
	Biclogermacreno (13,8%)	
<i>C. cylindrostachya</i> Roem. & Schult	tricicleno (58,0%)	Fun & Svendsen, 1990
	canfeno (12,0%)	
	α -pineno (11,0%)	

<i>C.globosa</i> (Jacq.) H.B.K.	Biciclogermacreno (22,7%)	Menezes, et.al, 2006; Oliveira et. al, 2007
	1-endo-bourbonanol (20,2%)	
	Linalil butirato (14,7%)	
	α -humuleno (12,1%)	
	β -cariofileno (39,0%)	
<i>C. leucocephala</i> Moric.	β -cariofileno (39,0%)	Diniz, et.al, 2008
	Biciclogermacreno (25,9%)	
<i>C. leucomalloides</i>	δ -cadineno (17,4%)	Santos et. al, 2006
	<i>E</i> -cariofileno (15,7%)	
	biciclogermacreno (12,5%)	
	germacreno-d (11,2%)	
<i>C. multispicata</i> Cham.	β -cariofileno	Graças, et. al, 2010
	β -felandreno	
<i>C. nítida</i> Vahl.	butirato de etila (45,5%)	Pino, et. al, 2002
	acetato de etila (11,9%)	
<i>C. sebestena</i>	nonil-ciclopropano (12,42%)	Adeosun, et. al, 2013
	9-octadeceno(<i>E</i>) (20,26%)	
	5-octadeceno (<i>E</i>) (19,91%)	
	9-eicosano (13,99%)	
<i>C. verbenaceae</i> D.C.	α -peneno (29,69%)	Carvalho Jr., et. al, 2004
	trans-cariofileno (25,27%)	
	Aloaromadendreno (9,99%)	

Comparando os teores dos constituintes químicos do óleo essencial de *V. dardani* com outras espécies pertencentes à família Boraginácea, percebe-se que os constituintes majoritários presentes no óleo são incomuns nos demais óleos essenciais de outras espécies de plantas do mesmo gênero.

As figuras 17 e 18 apresentam os cromatogramas das análises quantitativa e qualitativa, CG-DIC e CG-EM, respectivamente do óleo essencial das folhas de *Varronia dardani*.

O perfil cromatográfico e os espectros de massas dos 25 constituintes químicos detectados, dos quais 22 foram identificados por CG-EM do óleo essencial da *V. dardani*, estão representados nas figuras 19 a 43.

Figura 17: Cromatograma (CG-DIC) do óleo essencial das folhas de *Varronia dardani*.

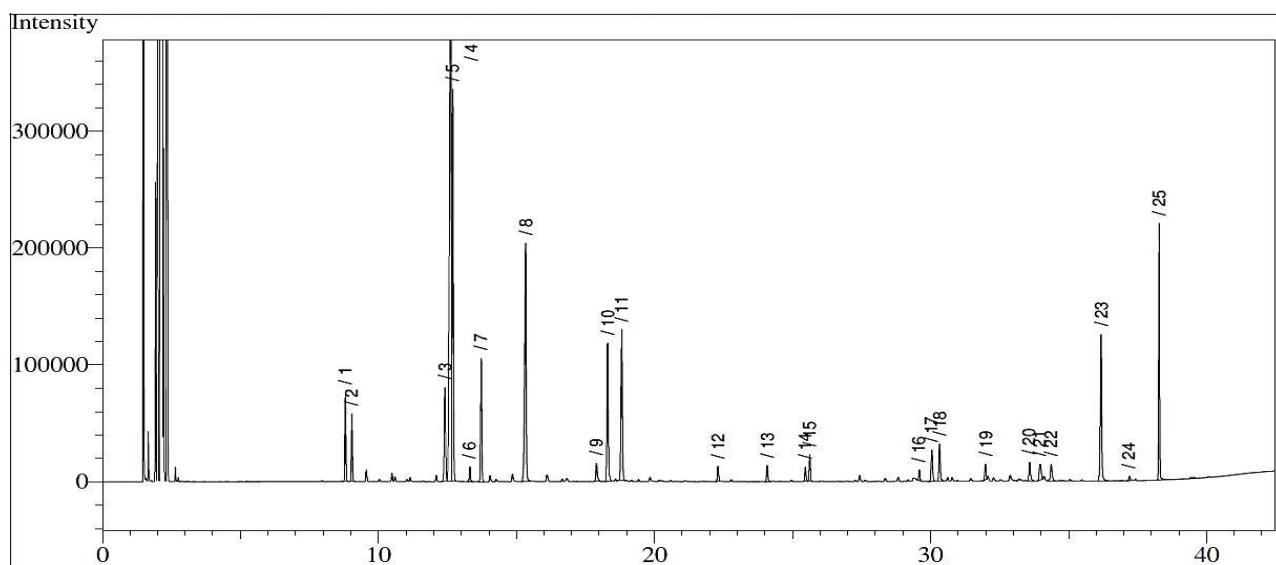


Figura 18: Cromatograma (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *Varronia dardani*

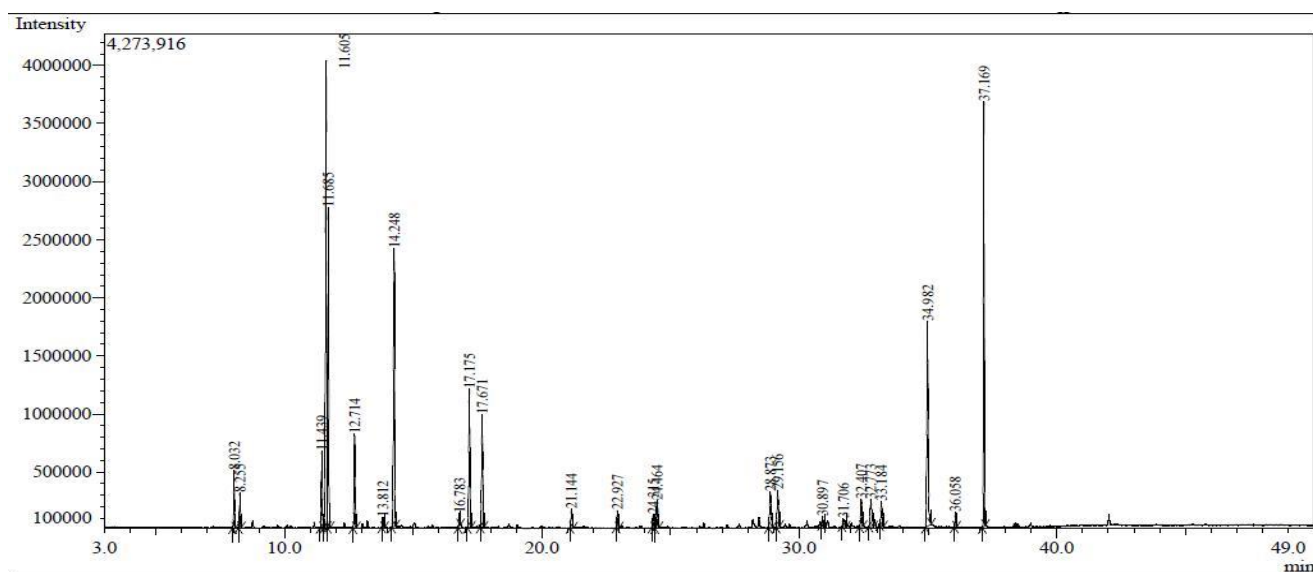
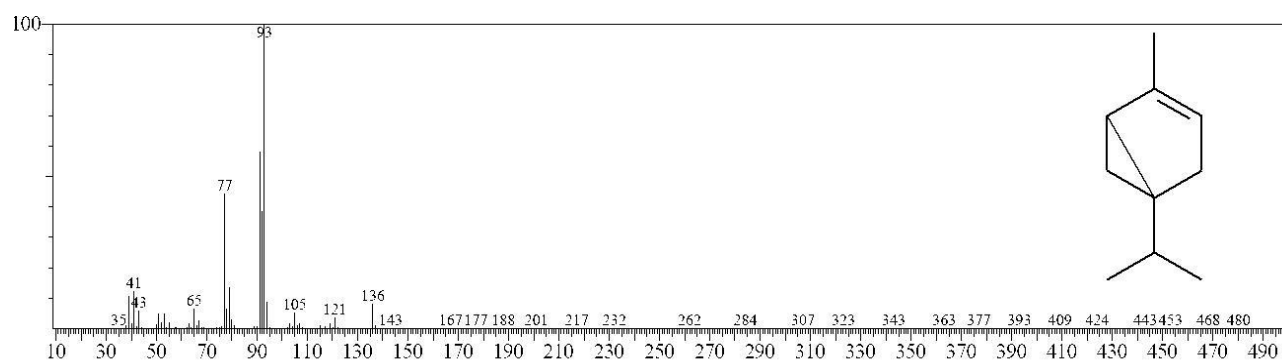
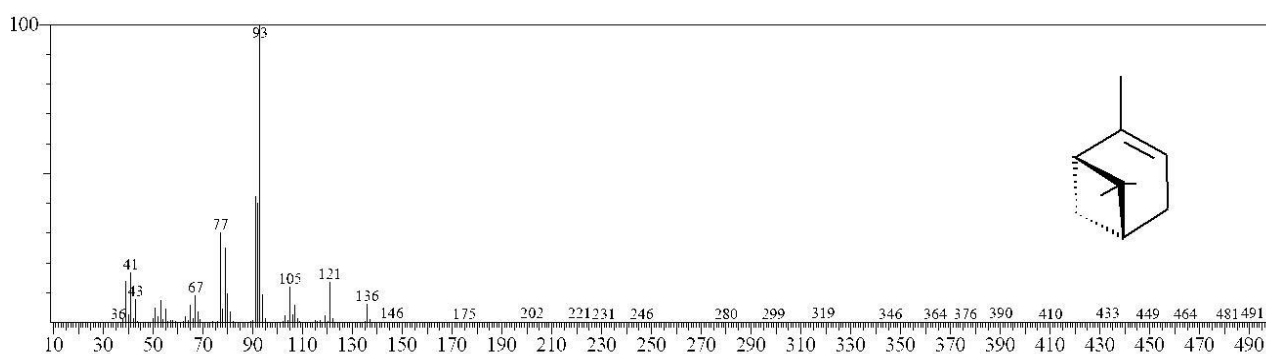


Figura 19: Espectro de massa do α -tugeno



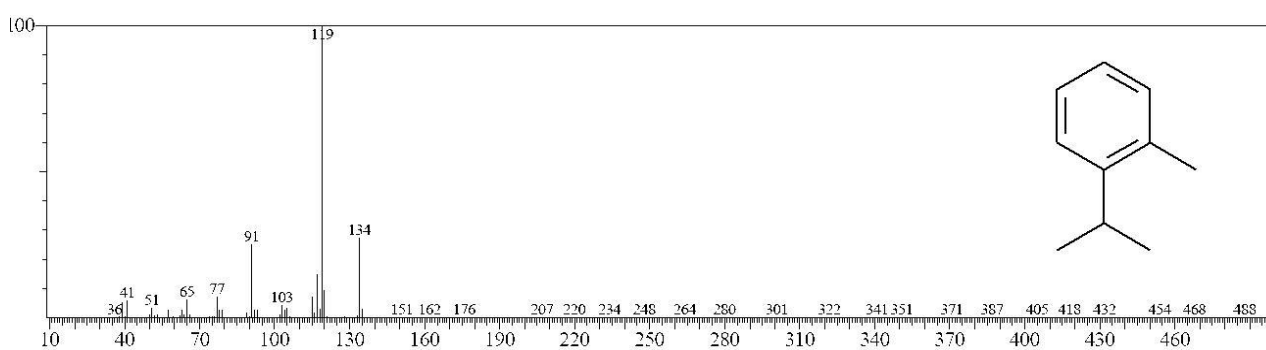
Formula: $C_{10}H_{16}$; massa molecular: 136

Figura 20: Espectro de massa do α -pineno



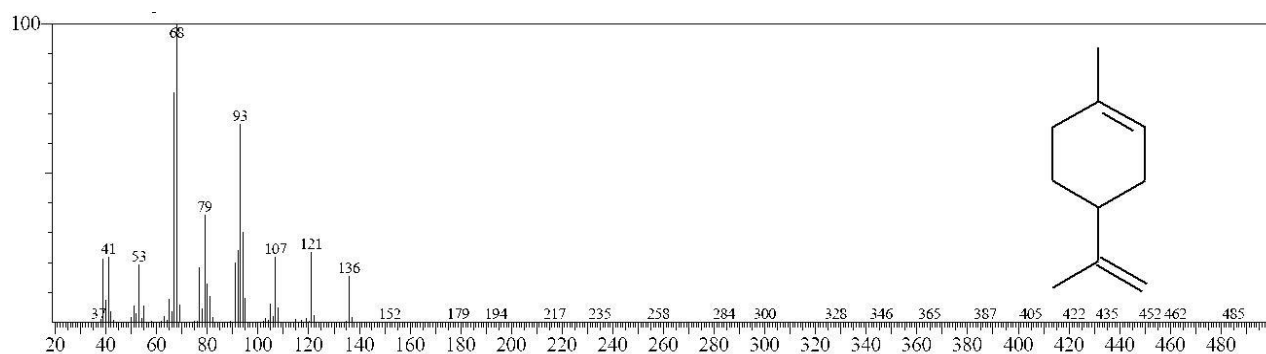
Formula: $C_{10}H_{16}$; massa molecular: 136

Figura 21: Espectro de massa do o-cimeno



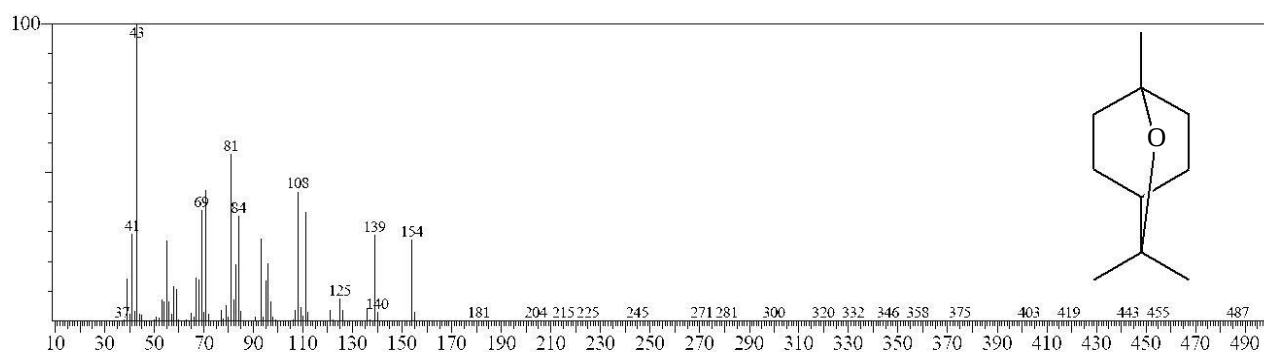
Formula: $C_{10}H_{14}$; massa molecular: 134

Figura 22: Espectro de massa do d-limoneno



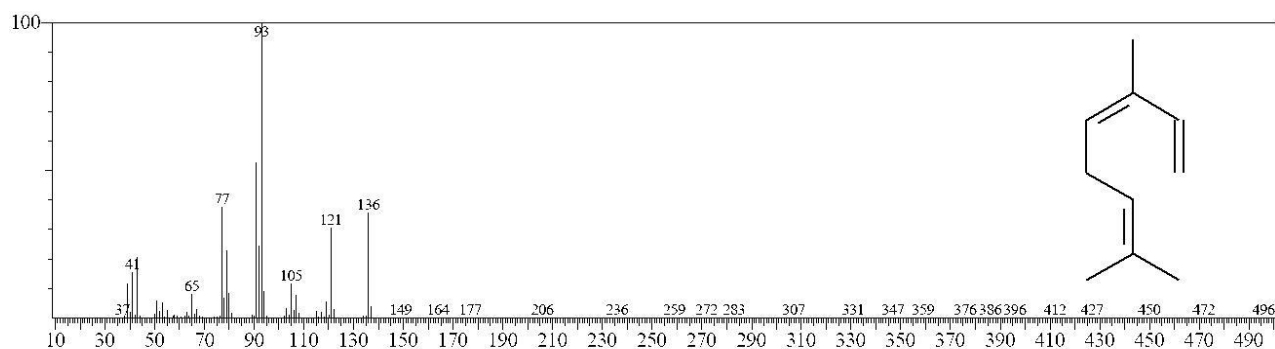
Formula: $C_{10}H_{16}$; massa molecular: 136

Figura 23: Espectro de massa do 1,8 cineol



Formula: $C_{10}H_{18}O$; massa molecular: 154

Figura 24: Espectro de massa β -ocimeno(Z)



Formula: $C_{10}H_{16}$; massa molecular: 136

Figura 25: Espectro de massa do γ -terpineno

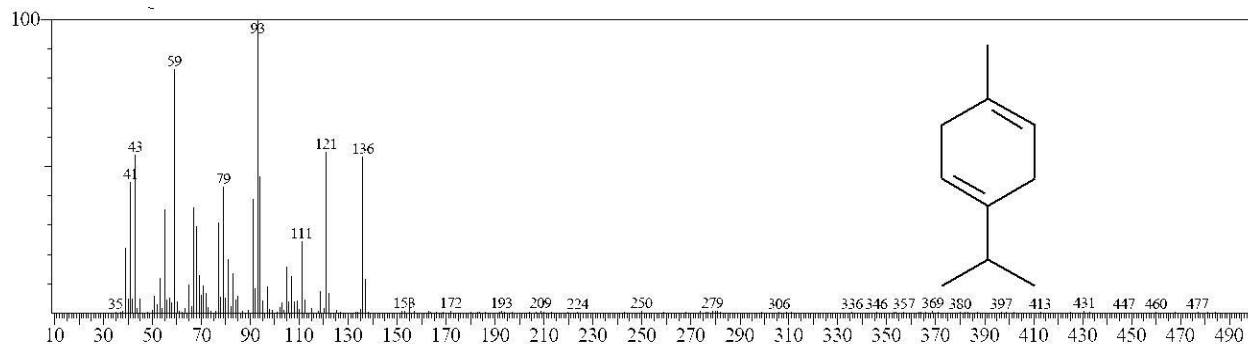
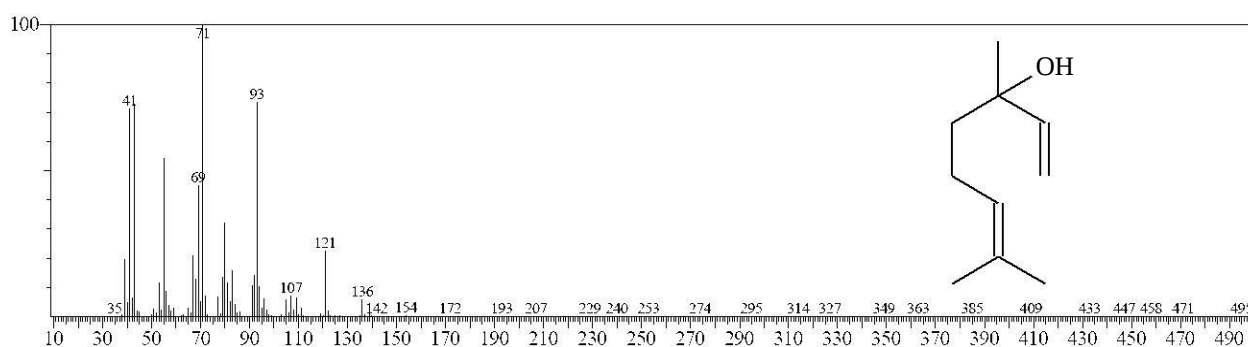
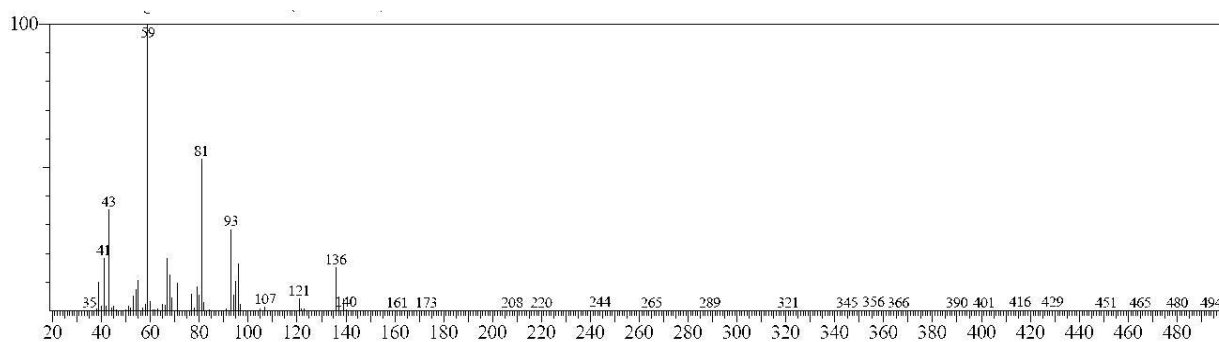


Figura 26: Espectro de massa do linalol



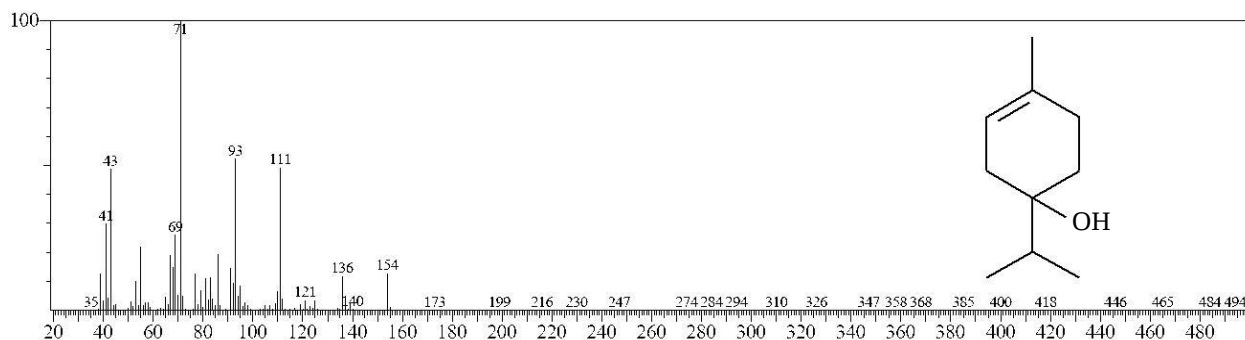
Formula: $C_{10}H_{18}O$; massa molecular: 154

Figura 27: Espectro de massa do ND-1



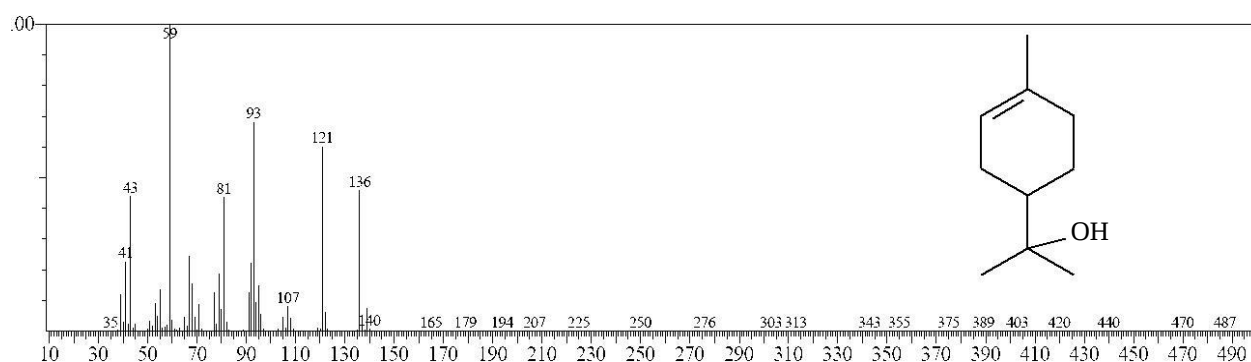
Formula: $C_{10}H_{18}O$; massa molecular: 154

Figura 28: Espectro de massa do terpinen-4-ol



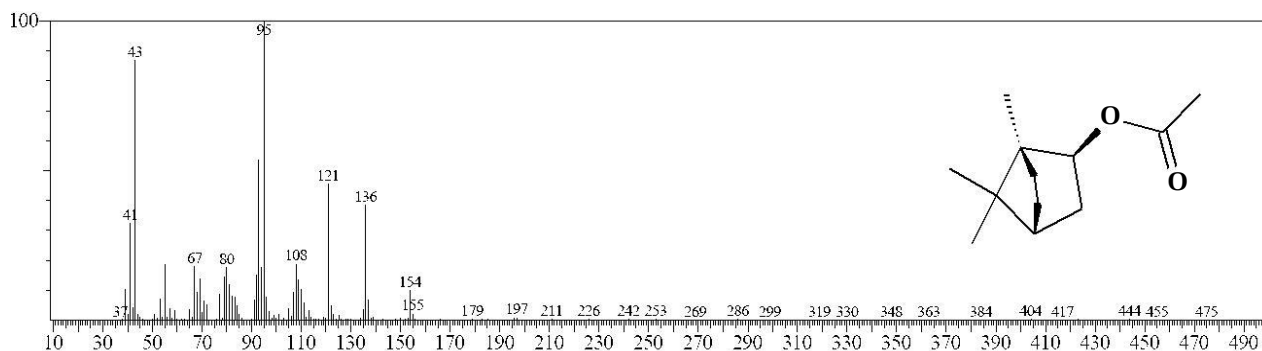
Formula: $C_{10}H_{18}O$; massa molecular: 154

Figura 29: Espectro de massa do α -terpineol



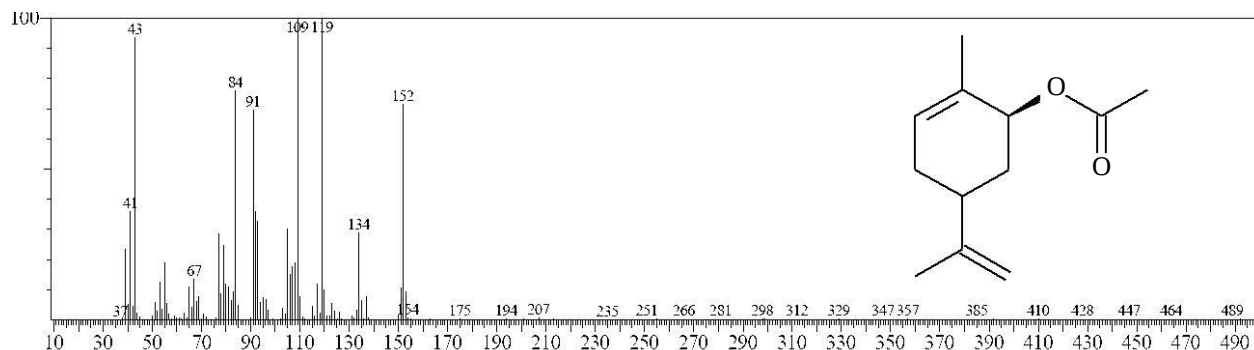
Formula: $C_{10}H_{18}O$; massa molecular: 154

Figura 30: Espectro de massa do acetil-borniol



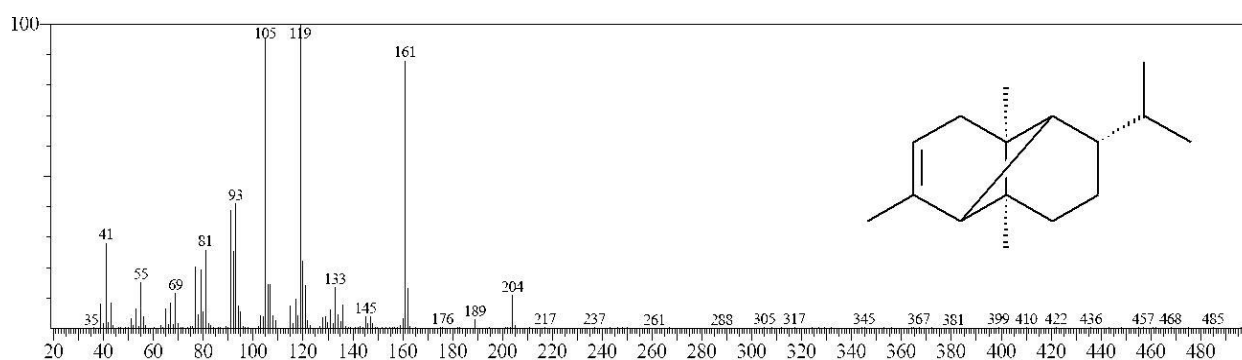
Formula: $C_{12}H_{20}O_2$; massa molecular: 196

Figura 31: Espectro de massa do acetil-carviol



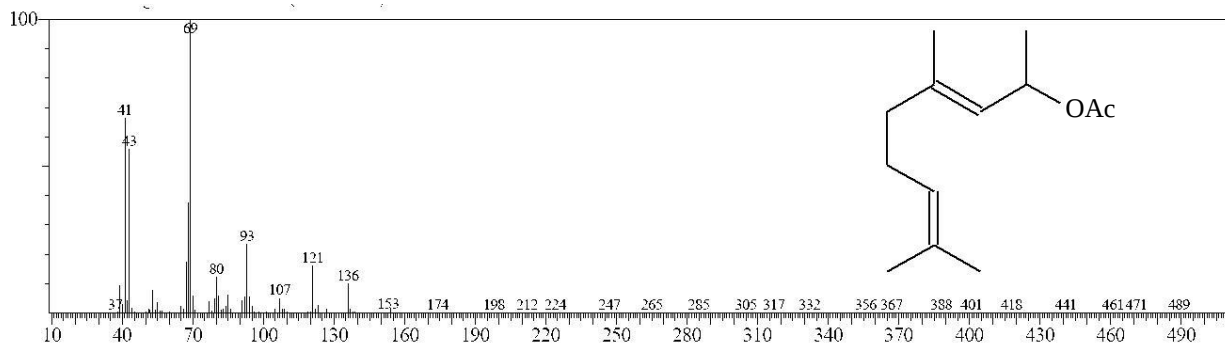
Formula: $C_{12}H_{18}O_2$; massa molecular: 194

Figura 32: Espectro de massa do α -copaeno



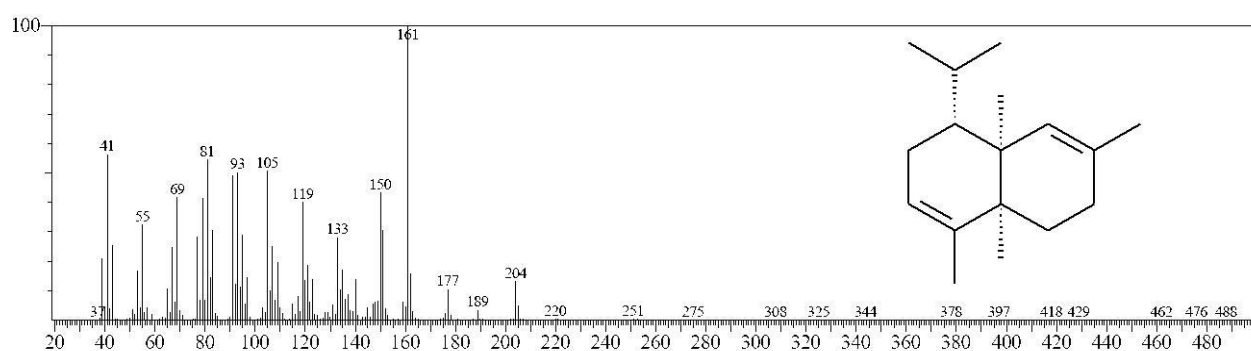
Formula: $C_{15}H_{24}$; massa molecular: 204

Figura 33: Espectro de massa do acetil-geraniol



Formula: $C_{12}H_{20}O_2$; massa molecular: 196

Figura 34: Espectro de massa do α -muuroleno



Formula: $C_{15}H_{24}$; massa molecular: 204

Figura 35: Espectro de massa do ND-2

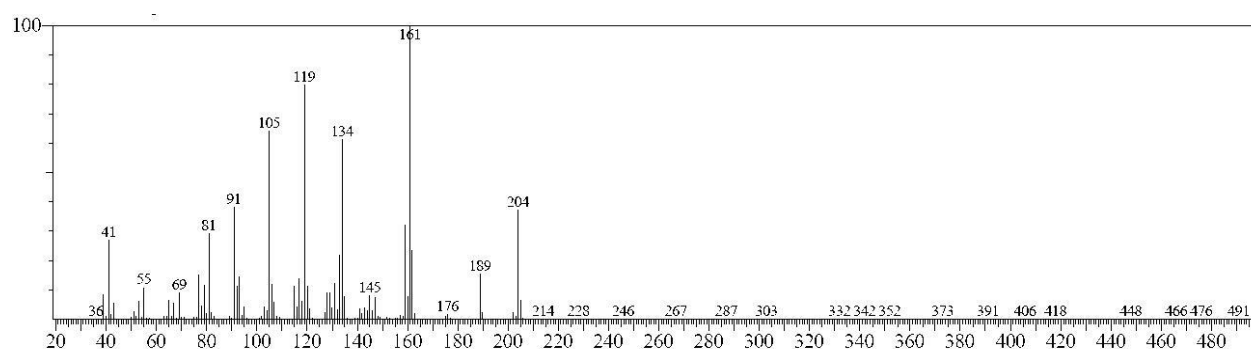
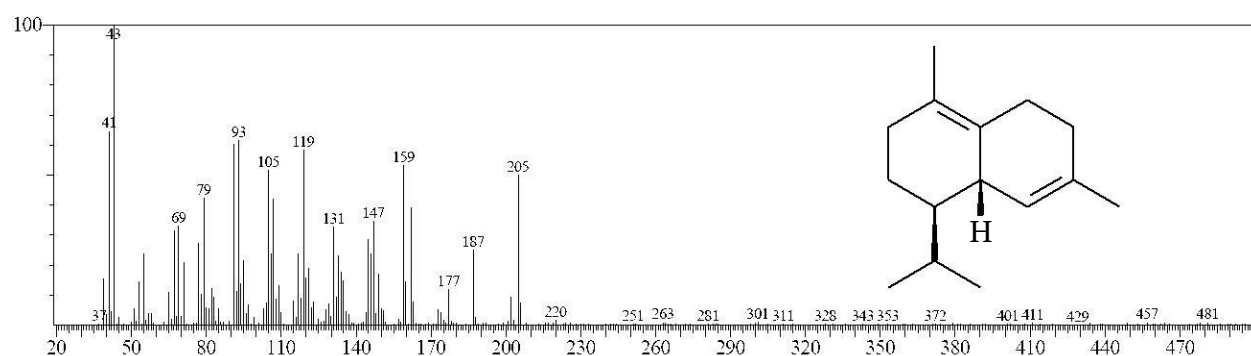
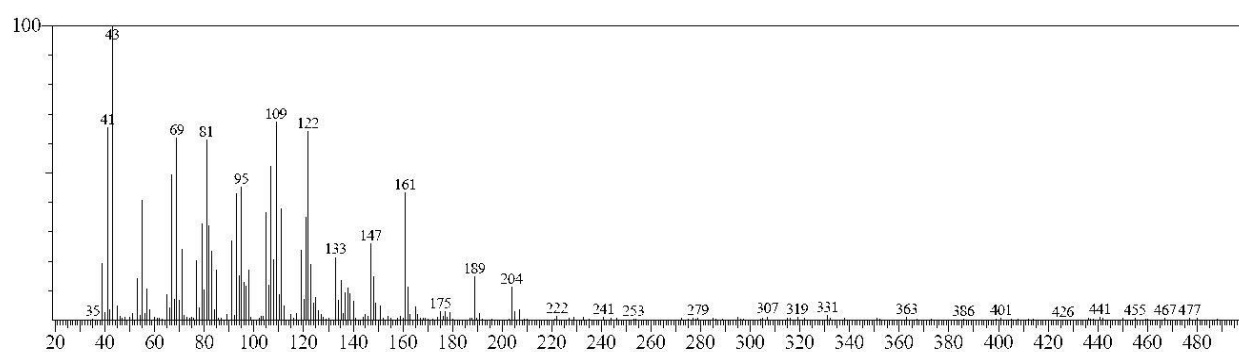


Figura 36: Espectro de massa do δ -cadineno



Formula: $C_{15}H_{24}$; massa molecular: 204

Figura 37: Espectro de massa do germacreno-D



Formula: $C_{10}H_{26}O$; massa molecular: 222

Figura 38: Espectro de massa de ND-3

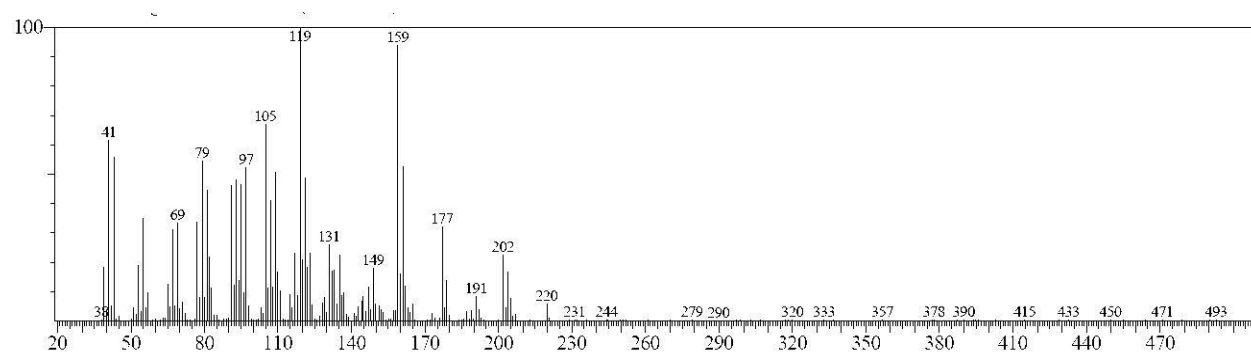
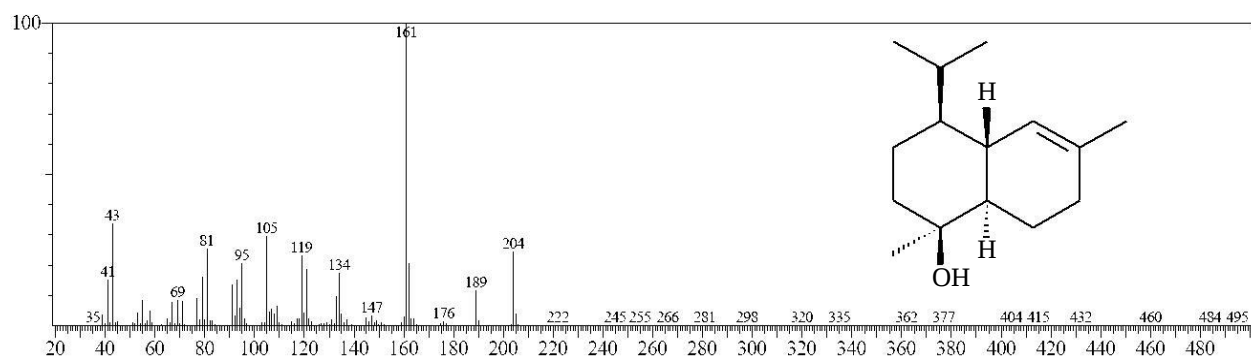


Figura 39: Espectro de massa do epi- α -cadinol



Formula: $C_{15}H_{26}O$; massa molecular: 222

Figura 40: Espectro de massa do α -cadinol

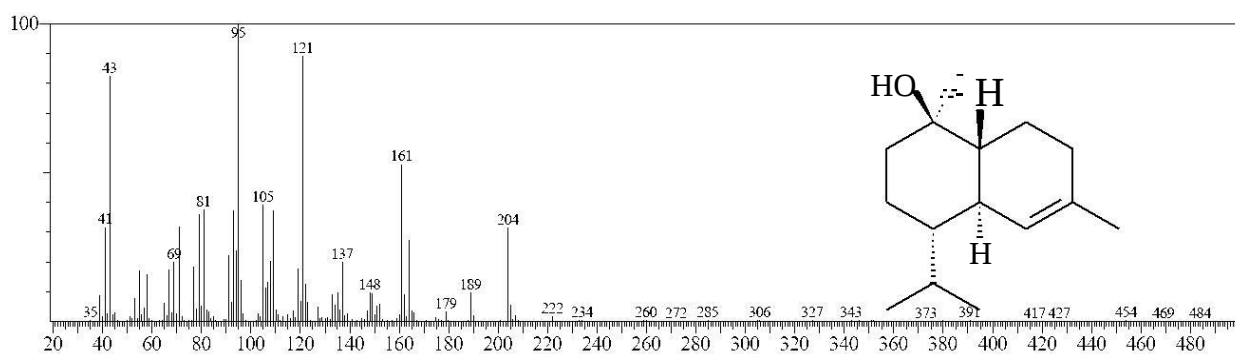


Figura 41: Espectro de massa do 2*E*,6*E*-farnesol

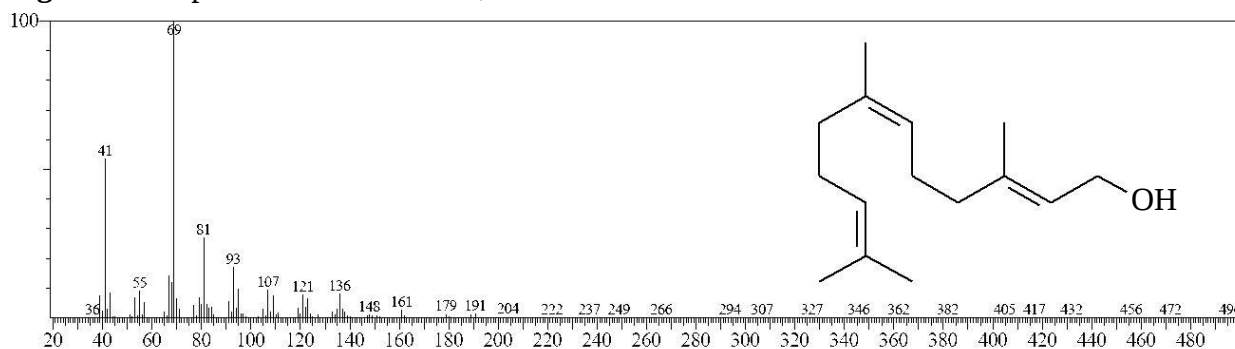


Figura 42: Espectro de massa do benzoato de benzila

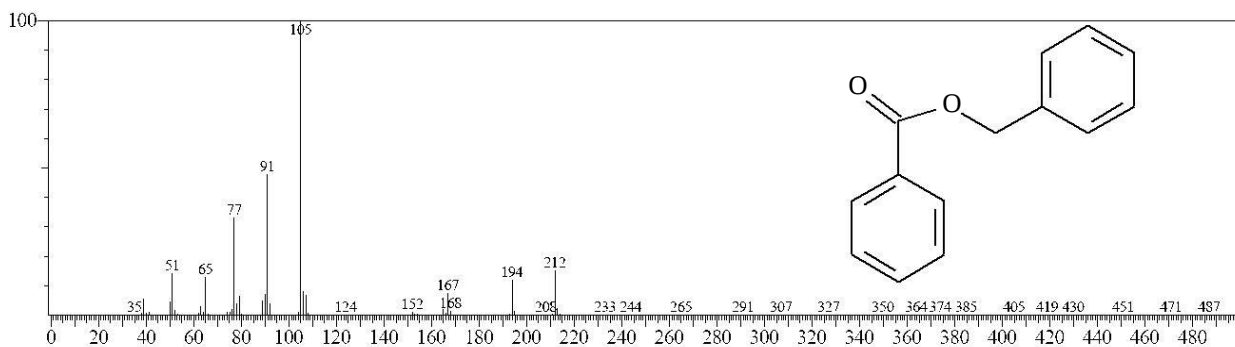
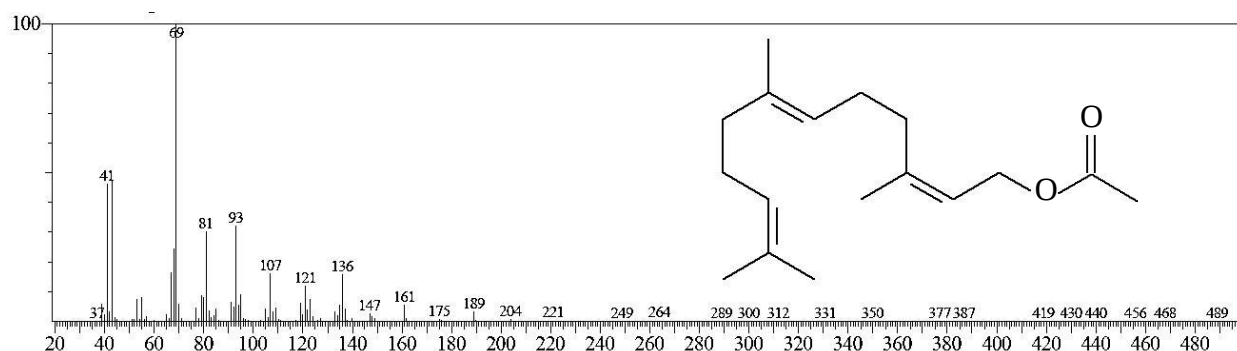


Figura 43: Espectro de massa do 2*E*,6*E*-acetil-farnesol

Formula: C₁₇H₂₈O₂; massa molecular: 264

4.4 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FUNGICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL

O resultado teste da atividade antifúngica do OE de *Varronia dardani* mostrou que a maior média de inibição apresentada foi do T7 (5µl do OE de *Varronia dardani*), o tratamento que apresentava a maior concentração, diferindo significativamente dos outros tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7 - Inibição do micélio nos diferentes tratamentos com o óleo essencial de *V. dardani*

Inibição do crescimento micelial		
Tratamentos	Médias	
T1	.0000	F
T2	30.1843	E
T3	49.9529	CD
T4	39.1100	DE
T5	57.0657	C
T6	71.9771	B
T7	84.9086	A

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Verificou-se uma tendência de aumento nos índices de inibição do desenvolvimento micelial proporcional ao aumento das concentrações ensaiadas, o que

ocorreu também no teste de atividade antifúngica do óleo essencial de *Cordia verbenacea* (= *Varronia curassavica*) no controle do fungo *C. gloeosporioides*, realizado por GUZZO et al (2010).

AQUINO (2011) avaliou a ação fungistática dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Ocimum gratissimum* sobre o fungo *C. gloeosporioides*. O óleo essencial de *C. citratus* proporcionou a maior inibição do crescimento micelial em todas as concentrações testadas. O óleo de *C. citratus* foi o que mais reduziu o índice de velocidade do crescimento micelial do patógeno e, já na concentração de $5\mu\text{L.mL}^{-1}$ o patógeno parou de crescer, bem como no teste realizado neste trabalho.

4.5 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial apresentou atividade contra as larvas do mosquito *A. aegypti*. A concentração letal a 50% (CL₅₀) foi calculado pelo método Spearman-Kärber (Costa et al 2008) resultando em 97,821 ppm (Tabela 8). Este resultado foi satisfatório em comparação com o O.E da *C. polycephala*, que se apresentou fracamente ativo em ensaios com as larvas obtendo valores de CL₅₀ igual a 127,6 ppm (FREITAS, 2010). Santiago et al (2005) avaliou as saponinas isoladas de *Cordia piauiensis*, mas não houve atividade larvicida sobre as larvas de *A.aegypti*.

Tabela 8 - Valores do percentual de mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* causada pelo óleo essencial de *V. dardani*

Conc. (ppm)	Mortalidade (%)	CL ₅₀ (ppm)
500	99,9	97,821
250	93,33	
100	51,33	
50	16,67	
25	-	
12,5	-	
6,25	-	
3,12	-	

Os resultados também se mostraram positivos utilizando o óleo *Varronia curassavica* (= *Cordia curassavica*) contra o *A. aegypti*, no qual foi estimado o valor de CL₅₀ de 87,70 e 97,7 ppm em Acirole (2009) e Santos (2006), respectivamente, que testou ainda o óleo de *Cordia leucomalloides* mostrando-se mais eficiente por matar cerca de 98,7% das larvas numa concentração de 100 ppm e CL₅₀ igual a 63,1 ppm .

As plantas são fontes naturais de substâncias inseticidas, pois são produzidas pelas mesmas em resposta a um ataque patogênico. Terpenos e fenilpropanóides voláteis sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedade atrativas (alimentação, polinização) e/ou inseticidas, como defesa contra herbívoros (SIMAS et al, 2004).

5- CONCLUSÃO

Sabendo que na literatura não se encontra nenhum estudo relacionado à *Varronia dardani*, vê-se a importância do estudo químico e atividade biológica desta espécie. O estudo fitoquímico mostrou a presença de taninos flavobênicos, flavononóis, catequinas e flavanonas e quinonas em sua composição, indicando grupos metabólicos secundários importantes por serem responsáveis pelos efeitos biológicos e farmacêuticos das plantas. A análise cromatográfica do óleo essencial da *V.dardani* possibilitou a identificação de mais de 97% da sua composição química, com destaque para a presença dos compostos majoritários: limoneno, 1,8-cineol e o linalol, cujos estudos relatam uma contribuição relevante nas áreas: biológica, farmacêutica e cosmética.

O estudo biológico do extrato e do óleo aplicados sobre o *Fusarium solani* e as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, respectivamente, foram ambos positivos. A inibição do crescimento micelial ocorreu com a maior concentração (T5) em relação aos 5 tratamentos realizados, sendo eles: T1 (meio de cultura apenas com o meio, sem extrato), controle negativo; T2 (meio com fungicida comercial Norkill®), controle positivo; T3 (6 gL⁻¹ do extrato foliar de *V.dardani*); T4 (8 gL⁻¹ do extrato foliar de *V.dardani*) e T5 (10 gL⁻¹ do extrato foliar de *V.dardani*). O óleo essencial desta espécie também mostrou eficácia no teste antifúngico, possuindo a maior média de inibição micelial numa concentração de 5µl do OE de *Varronia dardani*. A atividade larvicida testada com o óleo essencial foi satisfatória, apresentando CL₅₀ igual a 97,821.

Podemos concluir que a *Varronia dardani* apresenta atividade antifúngica e larvicida, podendo ser eficaz no controle de fungos e das larvas do mosquito causador da dengue e febre amarela, o *Aedes aegypti*. No entanto, maiores investigações necessitam ser realizadas para que se possam desvendar os mediadores destas respostas, e contribuir ainda mais para o conhecimento biológico e terapêutico desta espécie.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACIOLE, S. D. G. **Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).** 2009. 72p. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) - Departamento de Biologia Animal, Universidade de Lisboa, Lisboa. 2009.

ADAMS, R. P.; *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*, 4th edition, Allured Business media: Illinois, 2012.

ADEOSUN, C.B.; OLASEINDE, S.; OPEIFA A.O.; ATOLANI, O.; *Essencial oil from the stem bark of Cordia Sebestena scavenges free radicals*; **Journal of Acute Medicine** v.3; p. 138-141; 2013.

AKAO Y, NAKAGAWA Y, IINUMA M, NOZAWA Y. Anti-cancer effects of xanthones from pericarps of mangosteen. **International Journal of Molecular Sciences**. 2008.

ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; SHIPLEY, B.; ARNASON, J. T. Effects of nutrient availability on the production of pentayne, a secondary compound related to defense, in *Rudbeckia hirta*. **Plant Species Biology**, v.18, n.1, p.85-89, 2003.

AQUINO, C.F: **Ação de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (penz) do maracujazeiro-amarelo.** 2011. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - programa de pós-graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros. 2011.

ARREBOLA, M. R. B; CARVALHO, P. de O ; PETERLINI, M ; RODRIGUES, R. Estudo dos componentes lipídicos de três espécies de sementes do gênero *Cordia* L.. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brasil, v. 14, n.1, p. 56-65, 2004.

BIGATON, D ; BACCHI, L. M.A. ; FORMAGIO, A. S. N. ; GAVASSONI, W. L ; ZANELLA, C. S. Avaliação da atividade fungicida de extratos e óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja. **Revista Ciência Agronômica** (UFC. Online), 2013.

BIZZO, H. R. ; HOVELL, A. M. C. ; REZENDE, C. M. . Óleos Essenciais no Brasil: Aspectos Gerais, Desenvolvimento e Perspectivas. **Química Nova** (Impresso), v. 32, p. 588-594, 2009.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** Brasília, 2006. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 14 mai.14.

- CAMPELLO, F.B., GARIGLIO, M.A., SILVA, J.A., LEAL, A.M.A. 1999. **Diagnóstico florestal da região nordeste**. Natal, Projeto IBAMA/PNUD/BRA/93/033, p.16 (Boletim técnico n.2).
- CARVALHO JR, P. M.; RODRIGUES, R. F. O.; SAWAYA, A. C. H. F.; MARQUES, M. O. M.; SHIMIZU, M. T. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D. C. **J. Ethnopharmacol**, v. 95, p. 297-301, 2004.
- CARVALHO JR., P.M. DE; RODRIGUES, R.F.O.; SAWAYA, A.C.H.F.; MARQUES, M.O.M.; SHIMIZU, M.T.; *Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Cordia verbenaceae D.C.*; **Journal of Ethnopharmacology**, 95, p.297-301, 2004.
- CICCIA, G; COUSSIO, J; MONGELLI, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. **J Ethnopharmacol** 72: 185-189.
- CIOCAN, I.D; BARA, I. Plant products as antimicrobial agents. Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, **Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară**, TOM VIII, 2007. 8:151 – 156.
- COSTA, C. R; OLIVI,P; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008
- DE-JIAN JIANG; ZHONG DAI; YUAN-JIAN LI. Pharmacological Effects of Xanthenes as Cardiovascular Protective Agents. **Cardiovascular Drug Reviews**. Neva Press, Branford, Connecticut Vol. 22, No. 2, pp. 91–102, 2004.
- DINIZ, J. C.; VIANA, F.A.;OLIVEIRA, O.F.; SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O.D.L. *Chemical Composition of the Leaf Essential Oil of the Cordia leucocephala Moric from Northeast of Brazil*. **Journal of Essencial Oil Research** v.20; p.495-496; 2008.
- EDINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, v. 61, n. 1, p. 42-44, 1971.
- EDRIS, A.E. Pharmaceutical and therapic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Reserch**, v.21, p.308-323, 2007.
- FALCÃO, H. de S. ; LIMA, I. O. ; SANTOS, V. L. dos ; DANTAS, H. de F. ; DINIZ, M. F. F. M. ; BARBOSA FILHO, J. M. ;BATISTA, L. M. Review of the plants with anti-inflammatoy activity studied in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** (Impresso), v. 15, p. 381-391, 2005.
- FERNANDES, A. **Biodiversidade da Caatinga**. Recife: Imprensa Universitária – UFRPE, 42 – 44, 2002.
- FREITAS, H. P. S de. **Estudo químico e farmacológico de Cordia polycephala (Lam.) I. M. Johnston (Boraginaceae)**. 2010. 167p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Orgânica E Inorgânica, Universidade Federal Do Ceará, Fortaleza, 2010.

FUN, C.E; BAERHEIM SVENDSEN, A. *The Essential Oil of Cordia Cylandrostachya Roem. & Schult. Grown on Aruba*. **Journal of Essential Oil Research** v.2; p. 209-210, July-August 1990;

FURTADO, R. F. ; LIMA, M. G. A. ; BEZERRA, J. N. S. ; ANDRADE NETO, M. ; SILVA, M. G. V. . Atividade larvica de óleos essenciais sobre o *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology** (Impresso), v. 34, n.5, p. 843-847, 2005

GIULIETTI, A.M., et al. 2004. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: J.M.C. Silva, M. Tabarelli, M.T. Fonseca & L.V. Lins (orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. DF: Brasília, 2003. parte 2, pag. 48-90.

GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P . Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova** (Online), v. 30, p. 374-381, 2007.

GRAÇAS, M.DAS; ZOGHBI, B.; ANDRADE, E.H.A.; PEREIRA, R.A.; OLIVEIRA, J.; Volatiles of the *Cordia multispicata* Cham.: a Weed Medicinal Brazilian Plant; **Journal of Essential Oil Research**, v.22, p. 543-545, 2010.

GUIMARÃES, P. G. **Atividade antimicrobiana in vitro de extratos de *Schinopsis brasiliensis* e *Euphorbia trigona* contra microrganismos fitopatogênicos de interesse na agricultura**. 2013. 63p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga. 2013.

GUZZO, R. N. ; MACHADO, L. ; SANTOS dos, R.B ; LACERDA Jr., V. ; GRECO, S.J. ; COLE, E.R.. Extração e estudo da atividade biológica do óleo essencial de *Cordia verbenacea* (erva-baleeira). In: **33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010, Águas de Lindóia, 2010.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007

HERNANDEZ. T.; CANALES. M.; TERAN. B.; AVILA. O.; DURAN. A.; GARCIA. A.M.; HERNANDEZ. H.; ANGELES-LOPEZ. O.; FERNANDEZ-ARAIZA. M.; AVILA. G. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). *Journal Ethnopharmacol.* v.111, p.137-41, 2007.

IBGE. 2004. **Mapa de Biomas do Brasil, primeira aproximação**. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível: < www.ibge.gov.br>. Acesso em: 10 abr. 2013.

International Organization for Standardization. ISO 9235:1997 **Aromatic natural raw materials** – Vocabulary. 8p. 1997.

ISHIDA, A. K. N. ; BARATA, D.S. ; GURGEL, E.S.C. ; SOUZA FILHO, A.P. ; TREMACOLDI, C.R. ; SILVA, C.T.B. . Atividade antifúngica de extratos etanólicos de espécies de *Copaifera* sobre *Fusarium solani* f.sp. *Piperis* e *Fusarium oxysporum*. In: **XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, 2011, Bento Gonçalves. Tropical Plant Pathology, 2011. v. 36. p. 856.

LEITE, K. G. **Abordagem taxonômica da família Boraginacea Juss.** Na Ilha Grande, Angra dos Reis – RJ. p. 1-21.2006

LIBROWSKI, T; CZARNECKI, R; CZEKAJ, T; MARONA, H. New xanthone derivatives as potent anti-inflammatory agents. **Medicina** (Kaunas) **41**: 54-58. 2005.

LIMA, D. K. S. ; LIMA, R.A ; TEXEIRA, C. D. ; FACUNDO, V.A ; Gama, F.C ; SANTOS, M.R.A . Potencial fungicida do extrato etanólico obtido das sementes de *Pachira aquatica* AUBL. sobre *Fusarium sp.* **Ciência e Natura**, v. 36, p. 114-119, 2014.

LOGUERCIO, A. P. ; HENZEL, A. ; VARGAS, A. C. ; WITT, N. M. ; BATTISTIN, Alice ; SILVA, M. S. E. Atividade Antibacteriana de Extrato Hidro-Alcoolico de Folhas De Jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.2, p. 371-376, 2005.

LUCENA, R.F.P., ALBUQUERQUE, U.P., MONTEIRO, J.M., ALMEIDA, C.F.C.B.R., FLORENTINO, A.T.N., FERRAZ, J.S.F., Useful plants of the semi-arid northeastern region of Brazil – a look at their conservation and sustainable use. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 125, p. 281-290, 2007.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: UFC, 1997. MELO, J. I. M. ; PAULINO, R. C. ; OLIVEIRA, R. C. . Flora do Rio Grande do Norte: Boraginaceae. **Sitientibus serie Ciencias Biologicas** (SCB), v. 13, p. 01-40, 2013.

MELO, J. I. M.; SILVA, L. C.; STAPF, M. N. S.; RANGA, N. T. Boraginaceae. In: FORZZA, R. C. et al. (Org.). **Lista de espécies da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2012a. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105435>> Acesso em: 16 Jul. 2014.

MELO, J. I. M.; SILVA, L. C.; STAPF, M. N. S.; RANGA, N. T. Boraginaceae. In: FORZZA, R. C. et al. (Org.). **Lista de espécies da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2012b. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105525>> Acesso em: 16 Jul. 2014.

MELO, J. I. M.; SILVA, L. C.; STAPF, M. N. S.; RANGA, N. T. Boraginaceae. In: FORZZA, R. C. et al. (Org.). **Lista de espécies da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2012c. Disponível em:

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105425>> Acesso em: 16 Jul. 2014.

MELO, J. I. M.; SILVA, L. C.; STAPF, M. N. S.; RANGA, N. T. Boraginaceae. In: FORZZA, R. C. et al. (Org.). **Lista de espécies da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2012d. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105417>> Acesso em: 25 Jun. 2014.

MELO, J.I.M. , ANDRADE W.M. Boraginaceae s.l. A.Juss. em uma área de Caatinga da ESEC Raso da Catarina, BA, Brasil. **Acta bot. bras.**, v. 21, n. 2, p. 369-378, 2007.

MENEZES, J.E.S.A.; LEMOS, T.L.G.; SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O.D.L.; SANTIAGO, G.M.P.; NASCIMENTO, R.F. **Journal of Essential Oil Research** v.18; p. 253-255, may-june 2006.

MILLER J.S. & GOTTSCHLING M. Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales): Resurrection of the genus Varronia P.Br. **Taxon** 56: 163 – 169, 2007.

OLIVEIRA, J.C.S.; CAMARA, C.A.G.; SCHWARTZ M.O.E.; *Volatile Constituents of the Stem and Leaves of Cordia Species from Mountain Forests of Pernambuco (Noutheastern Brazil)* **Journal of Essential Oil Research** v.19; p. 444-448 september/october 2007.

PACHECO, T. F. ; CAMPOS, M. S. T. ; SANTANA, A. S. O. ; BELINELO, V. J. ; PÁDUA, S. A. P. . Avaliação in Vitro da Atividade Antifúngica de Extrato Aquoso de *Emilia sonchifolia* (L.) DC. (Asteraceae). **Enciclopédia biosfera**, v. 7, p. 1-8, 2011.

PINO, J.A.; BELLO A.; URQUIOLA A.; MARBOL R.; *Fruit Volatiles from Cordia nitida Vahl*. **Journal of Essential Oil Research** v.14; p. 118-119 march-april 2002.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 7a ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2007. p.30.

RODRIGUES, A. M. S. ; DE PAULA, J. E. ; DEGALLIER, N. ; MOLEZ, J. F; ESPÍNDOLA, L. S. . **Larvicidal activity of some cerrado plant extracts against Aedes aegypti**. Journal of the American Mosquito Control Association, v. 22, p. 314-317, 2006.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 3–21, 2001.

SANTIAGO, G. M. P.; VIANA, F. A. ; PESSOA, O. D. L.; BRÁZ FILHO, R. ; ANDRADE NETO, M. . Avaliação da atividade larvívica de saponinas triterpênicas isoladas de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Fresen (Boraginaceae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia** (Impresso), Brasil, v. 15, n.3, p. 187-190, 2005.

SANTOS, L.C; PIACENTE, S; MONTORO, P; PIZZA, C; VILEGAS, W. Atividade antioxidante de xantonas isoladas de espécies de *Leiothrix* (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, V. 13, n. 2, p.67-74, 2003.

SANTOS, M. R. A. ; LIMA, R. A. ; FERNANDES, C. F. ; SILVA, A. G. ; FACUNDO, V. A. Antifungal activity of *Piper marginatum* L. (PIPERACEAE) essential oil against *Fusarium oxysporum* (SCHLECHT) in vitro. **Saúde e Pesquisa**, v. 4, p. 9-13, 2011.

SANTOS, R. P. ; NUNES, E. P. ; NASCIMENTO, R. F. ; SANTIAGO, G. M. P. ; MENEZES, G. H. A. ; SILVEIRA, E. R. ; PESSOA, O. D. L. . Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the northeast of Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, p. 1027-1030, 2006.

SANTOS, V. M. S. ; ROSSI, Maria Helena ; GONÇALEZ, E. ; Felício, J. D. Óleos essenciais de *Leonurus sibiricus* e *Porophyllum ruderale* composição química e atividade fungicida. In: **35 Reunião da Sociedade Brasileira de Química**, 2012, Águas de Lindóia. Anais da 35 Reunião da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: SBA, 2012

SIMAS, N. K; LIMA, E.C; CONCEIÇÃO, S. R; Kuster, R. M.; Oliveira Filho, A. M.; Lage, C. L. S. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvívica de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilterpenóides. **Química Nova**. Fev. 2004, vol. 27, nº01, p. 46-49.

SIMÕES, C. M. O. ; SPITZER, V. . Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/Editora da UFRGS, 2003, v. 1, p. 467-497.

STAPF, M. N. S. Nomenclatural notes on *Varronia* (Boraginaceae s.l.) in Brazil. **Rodriguésia** (Online), v. 61, p. 133-135, 2010.

TARODA, N. Taxonomic studies on Brazilian species of *Cordia* L. (Boraginaceae). **Philosophy Doctor Thesis**, University of Saint Andrews, Saint Andrews. 1984

TORRES, M. C. M: **Estudo Químico e Biológico de *Croton regelianus* (var. *Matossi*) - Euphorbiaceae**. 2008. 210p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - programa de pós-graduação em química orgânica , Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2008.

VENTUROSO, L. R. ; BACCHI, L. M. A. ; GAVASSONI, W. L. ; CONUS, L. A. ; PONTIM, B. C. A. ; SOUZA, F. R. . Inibição do crescimento in vitro de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico** (Impresso), v. 78,p. 89-95, 2011.

VIEIRA, D. D. ; CONCEIÇÃO, A.S. ; MELO, J. I. M. ; STAPF, M. N. S. A família Boraginaceae sensu lato na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Rodriguésia** (Online), v. 64, p. 151-168, 2013.

VITTI, A. M. S. ; BRITO, J. O. **Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2003 (Documento Técnico)

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FAVERO, M. L. D.; CORREIA JÚNIOR, C.; STREMEL, D. P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, n. 1, p. 29-39, 2004.

