

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Farmácia  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO  
PRELIMINAR DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E  
ANTICOLINESTERÁSICA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE  
*Eupatorium* L. (ASTERACEAE)**

Dissertação de Mestrado

TIAGO JULIANO TASSO DE SOUZA

Porto Alegre, 2007



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Farmácia  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO  
PRELIMINAR DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E  
ANTICOLINESTERÁSICA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE  
*Eupatorium* L. (ASTERACEAE)**

Dissertação apresentada por Tiago  
Juliano Tasso de Souza para  
obtenção do GRAU DE MESTRE em  
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Profa. Dra. Amélia T. Henriques

Co-Orientador: Dra. Miriam Anders Apel

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovado em 25.09.2007, pela Comissão Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Gilsane von Poser

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Lílian Auler Mentz

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Melânia Palermo Manfron

Universidade Federal de Santa Maria

Profa. Dra. Solange Cristina da Silva Martins Hoelzel

Universidade Franciscana

S729d Souza, Tiago Juliano Tasso de  
Determinação da composição química e avaliação preliminar das atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae) – Porto Alegre : UFRGS, 2007. - 232, xxiv p.: il., tab.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Farmacologia. 2. *Eupatorium*. 3. Atividade antioxidante. 4. Óleos voláteis. I. Henriques, Amélia Teresinha. II. Apel, Miriam Anders. III. Título.

CDU: 547.9:582.998.2

Bibliotecárias responsáveis:

Cláudia da Silva Gonçalves, CRB 10/1012

Heloísa do Canto Canabarro, CRB 10/1036

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fitoquímica e na Central Analítica 2 do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Agradecemos a CAPES pelo suporte financeiro e pela bolsa recebida durante o desenvolvimento deste trabalho.



## AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meu reconhecimento à Dra. Amélia T. Henriques e à Dra. Miriam Apel pela orientação durante a execução deste projeto e por acreditarem que eu seria capaz de realizá-lo.

Às professoras Dra. Renata Limberger e Dra. Gilsane von Poser pela revisão e sugestões oferecidas durante a fase inicial deste projeto, bem como ao PPGCF e à Faculdade de Farmácia por propiciarem as condições físicas e operacionais para sua realização.

Aos botânicos que colaboraram com a execução do projeto, coletando e identificando o material vegetal estudado, Dra. Liliam Mentz e Dr. Sérgio Bordignon. E especialmente ao professor Nelson Matzenbacher, autor do trabalho que orientou esta dissertação, pela coleta e identificação das espécies, bem como pelo fornecimento de material bibliográfico.

A todos os meus colegas dos laboratórios de farmacognosia da UFRGS e da UFSM, em especial à Rafaela e ao Gilberto, pela amizade, companheirismo e colaboração.

Aos amigos das Casas de Estudante da UFRGS e da UFSM, por terem sido parte da minha família nos sete anos em que eu estou longe de casa. À Adriana, ao Daniel, ao Augusto e ao Carlos, pelo apoio e pela compreensão nesses últimos meses em que dediquei quase todo meu tempo a este trabalho.

Aos meus avós queridos e à minha mãe, por tudo que me ensinaram e por tudo que fizeram por mim.

À memória de meu pai.





## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xv</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>xix</b>
<b>LISTA DE ESQUEMAS.....</b>	<b>xxi</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xxiii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xxv</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1. OBJETIVO.....</b>	<b>5</b>
1.1 Objetivo geral.....	7
1.2 Objetivos específicos.....	7
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>9</b>
2.1 Óleos voláteis.....	11
2.1.1 Terpenóides.....	12
2.1.2 Monoterpenos.....	13
2.1.3 Sesquiterpenos.....	18
2.1.4 Propriedades farmacológicas.....	21
2.2 Considerações sobre a família Asteraceae .....	21
2.2.1 Considerações sobre a tribo Eupatorieae.....	22
2.2.2 Considerações sobre o gênero <i>Eupatorium</i> .....	23
2.2.2.1 Seções do gênero <i>Eupatorium</i> L. ....	26
2.2.3 Considerações sobre o gênero <i>Symphopappus</i> .....	27
2.3 Revisão química e biológica.....	31
2.4 Técnicas analíticas.....	37
2.5 Atividade antioxidante.....	37
2.6 Atividade anticolinesterásica.....	41
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
3.1 Material vegetal.....	49
3.2 Obtenção do óleo volátil.....	49
3.3 Análise em <i>Headspace</i> (espaço confinado) .....	49
3.4 Análise química.....	50
3.4.1 Cromatografia gasosa – Ionização de Chamas.....	50
3.4.2 Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas.....	50
3.4.3 Cromatografia gasosa – headspace HSS.....	51
3.4.4 Identificação dos componentes.....	51
3.5 Atividade antioxidante.....	52
3.6 Atividade anticolinesterásica.....	52
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>53</b>
4.1 Seção <i>Subimbricata</i> (DC.) O.Hoffm. ....	63
4.1.1 Óleo volátil.....	63

4.1.1.1	<i>Eupatorium inulifolium</i> Kunth.....	65
4.1.1.2	<i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC. ....	75
4.1.1.3	<i>Eupatorium tweedieanum</i> Hook. & Arn. ....	79
4.1.1.4	<i>Eupatorium spathulatum</i> Hook. & Arn. e <i>E. polystachyum</i> DC.....	83
4.1.1.5	<i>Eupatorium oblongifolium</i> (Spreng.) Baker, <i>E. tanacetifolium</i> Gillies ex Hook. & Arn., <i>E. ligulifolium</i> Hook. & Arn., <i>E. tremulum</i> Hook. & Arn. e <i>E. lanigerum</i> Hook. & Arn. ....	87
4.1.1.6	<i>Eupatorium picturatum</i> Malme, <i>E. buniifolium</i> Hook. ex Arn., <i>E. laetevirens</i> Hook. & Arn., <i>E. ericoides</i> DC., <i>E. serrulatum</i> DC. e <i>E. ascendens</i> Sch.Bip. ex Baker.....	94
4.1.1.7	Discussão dos resultados para as espécies de <i>Eupatorium</i> seção <i>Subimbricata</i> (DC.) O.Hoffm. ....	101
4.1.2	Headspace.....	102
4.1.3	Atividade antioxidante.....	107
4.1.4	Atividade anticolinesterásica.....	108
4.2	Seção <i>Cylindrocephala</i> DC. ....	111
4.2.1	Óleo volátil.....	112
4.2.1.1	<i>Eupatorium laevigatum</i> Lam. ....	112
4.2.1.2	<i>Eupatorium subhastatum</i> Hook. & Arn., <i>E. ivifolium</i> L., <i>E. pedunculatum</i> Hook. & Arn. e <i>E. congestum</i> Hook. & Arn. ....	119
4.2.1.3	Discussão dos resultados para as espécies de <i>Eupatorium</i> seção <i>Cylindrocephala</i> DC. ....	124
4.2.2	Headspace.....	125
4.2.3	Atividade antioxidante.....	127
4.2.4	Atividade anticolinesterásica.....	128
4.3	Seção <i>Eximbricata</i> (DC.) O.Hoffm. ....	130
4.3.1	Óleo volátil.....	131
4.3.1.1	<i>Eupatorium rufescens</i> P.W.Lund ex DC., <i>E. grande</i> Sch.Bip. ex Baker, <i>E. consanguineum</i> DC. ....	131
4.3.1.2	Discussão dos resultados para as espécies de <i>Eupatorium</i> seção <i>Eximbricata</i> (DC.) O.Hoffm. ....	135
4.3.2	Atividade antioxidante.....	136
4.3.3	Atividade anticolinesterásica.....	137
4.4	Seção <i>Dimorpholepis</i> G.M.Barroso.....	139
4.4.1	Óleo volátil.....	139
4.4.1.1	<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC., <i>E. nummularium</i> Hook. & Arn., <i>E. intermedium</i> DC. e <i>E. serratum</i> Spreng. ....	140
4.4.1.2	Discussão dos resultados para as espécies de <i>Eupatorium</i> seção <i>Dimorpholepis</i> G.M.Barroso.....	147
4.4.2	Headspace.....	147
4.4.3	Atividade antioxidante.....	148
4.4.4	Atividade anticolinesterásica.....	149
4.5	Seção <i>Praxelis</i> (Cass.) Benth. ....	150
4.5.1	Óleo volátil.....	150
4.5.1.1	<i>Eupatorium clematideum</i> Griseb. ....	150
4.6	Seção <i>Conoclinium</i> (DC.) Benth. ....	155
4.6.1	Óleo volátil.....	155
4.6.1.1	<i>Eupatorium betoniciforme</i> (DC.) Baker.....	155
4.6.2	Atividade antioxidante.....	158

4.6.3	Atividade anticolinesterásica.....	158
4.7	<i>Campuloclinium</i> (DC.) Benth. ....	159
4.7.1	Óleo volátil.....	160
4.7.1.1	<i>Eupatorium macrocephalum</i> Less. ....	160
4.7.1.2	<i>Eupatorium purpurascens</i> Sch.Bip. ex Baker.....	164
4.7.2	Atividade antioxidante.....	166
4.8	Seção <i>Hebeclinium</i> (DC.) Benth. ....	167
4.8.1	Óleo volátil.....	167
4.8.1.1	<i>Eupatorium hecatanthum</i> (DC.) Baker.....	167
4.8.2	Headspace.....	169
4.9	<i>Symphyopappus</i> Turcz.....	171
4.9.1	Óleo volátil.....	172
4.9.1.1	<i>Symphyopappus casarettoi</i> B.L.Rob. e <i>S. reticulatus</i> Baker .....	172
4.9.2	Headspace.....	176
4.9.3	Atividade antioxidante.....	177
4.9.4	Atividade anticolinesterásica.....	177
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>179</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>185</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>189</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>215</b>
	Anexo 1.....	217
	Anexo 2.....	218
	Anexo 3.....	220
	Anexo 4.....	225



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Radical 1,1-difenil-2-picrilidrazila e 1,1-difenil-2-picrilidrazina.....	40
Figura 4.1: Locais de coleta das espécies de <i>Eupatorium</i> L. (Asteraceae) no Estado do Rio Grande do Sul.....	56
Figura 4.2: Estrutura química do cadina-1(6),4-dieno, dos furanocadinenos verbocidentafurano e levigatina e dos compostos alifáticos ácido hexadecanóico e nonadecanal.....	93
Figura 4.3: Bioautografia dos óleos voláteis de <i>Eupatorium tremulum</i> Hook. & Arn.....	109
Figura 4.4: Propostas de estrutura para o composto NI2 de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.....	116
Figura 4.5: Espectro de massas da levigatina isolada do óleo volátil de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.....	116
Figura 4.6: Componentes majoritários do óleos voláteis de <i>Eupatorium ivifolium</i> L., <i>E. subhastatum</i> Hook. & Arn., <i>E. congestum</i> Hook. & Arn. e <i>E. pedunculatum</i> Hook. & Arn.....	123
Figura 4.7: Atividade antioxidante da levigatina e do óleo volátil de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam. em diferentes diluições.....	127
Figura 4.8: Componentes majoritários dos óleos voláteis das espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Eximbricata</i> (DC.) O.Hoffm.....	136
Figura 4.9: Componentes majoritários do óleo volátil das espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Dimorpholepis</i> G.M.Barroso.....	146
Figura 4.10: Componentes do óleo volátil de <i>Eupatorium clematideum</i> Griseb.....	154
Figura 4.11: Componentes do óleo volátil de <i>Eupatorium macrocephalum</i> Less.....	164
Figura 4.12: Componentes majoritários do óleo volátil de <i>Eupatorium hecatanthum</i> (DC.) Baker.....	169
Figura 4.13: Componentes majoritários dos óleos voláteis de espécies de <i>Symphyopappus</i> Turcz.....	175



## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Listagens das espécies de <i>Eupatorium</i> L. (Asteraceae) coletadas, com local e data de coleta, número de registro do Herbário ICN e observações de coleta.....	57
Tabela 4.2: Distribuição da espécies coletadas.....	62
Tabela 4.3: Dados de coleta e extração do óleo volátil de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Subimbricata</i> (DC.) O.Hoffm. com data e local de coleta, parte do vegetal extraída e rendimento do óleo volátil.....	64
Tabela 4.4: Composição química dos óleos voláteis de diferentes coletas de <i>Eupatorium inulifolium</i> Kunth.....	68
Tabela 4.5: Composição química dos óleos voláteis de duas coletas de <i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC.....	76
Tabela 4.6: Composição química dos óleos voláteis de diferentes coletas de <i>Eupatorium tweedieanum</i> Hook. & Arn.....	80
Tabela 4.7: Composição química dos óleos voláteis de <i>Eupatorium spathulatum</i> Hook. & Arn. e <i>Eupatorium polystachyum</i> DC.....	84
Tabela 4.8: Composição química dos óleos voláteis de <i>Eupatorium oblongifolium</i> (Spreng.) Baker, <i>E. tanacetifolium</i> Gillies ex Hook. & Arn., <i>E. ligulifolium</i> Hook. & Arn., <i>E. tremulum</i> Hook. & Arn. e <i>E. lanigerum</i> Hook. & Arn.....	90
Tabela 4.9: Composição química dos óleos voláteis de <i>Eupatorium picturatum</i> Malme, <i>E. buniifolium</i> Hook. ex Arn., <i>E. laetevirens</i> Hook. & Arn., <i>E. ericoides</i> DC., <i>E. serrulatum</i> DC. e <i>E. ascendens</i> Sch.Bip. ex Baker var. <i>parcisetosum</i> B.L.Rob.....	99
Tabela 4.10: Headspace de folhas e inflorescências de espécies de <i>Eupatorium</i> seção <i>Subimbricata</i> (DC.) O.Hoffm.....	105
Tabela 4.11: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de espécies de <i>Eupatorium</i> Seção <i>Subimbricata</i> (DC.) O.Hoffm.....	107
Tabela 4.12: Atividade anticolinesterásica do óleo volátil de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Subimbricata</i> (DC.) O.Hoffm.....	110
Tabela 4.13: Coletas de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Cylindrocephala</i> DC. utilizadas para extração do óleo volátil, com número de ICN, data e local de coleta, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil.....	111
Tabela 4.14: Composição química do óleo volátil de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam. oriundo de diferentes locais de coleta no Rio Grande do Sul.....	113
Tabela 4.15: Composição química do óleo volátil de <i>Eupatorium ivifolium</i> L., <i>E. subhastatum</i> Hook. & Arn., <i>E. congestum</i> Hook. & Arn. e <i>E. pedunculatum</i> Hook. & Arn.....	121
Tabela 4.16: Headspace das folhas e inflorescências de espécies de	

<i>Eupatorium</i> sect. <i>Cylindrocephala</i> .....	126
Tabela 4.17: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Cylindrocephala</i> .....	128
Tabela 4.18: Atividade anticolinesterásica da levigatina e dos óleos voláteis das folhas de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam., <i>E. subhastatum</i> Hook. & Arn., <i>E. ivifolium</i> L., indicando o local e época de coleta.....	129
Tabela 4.19 : Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Eximbricata</i> .....	130
Tabela 4.20: Composição química do óleo volátil das espécies de seção <i>Eximbricata</i> (DC.) O.Hoffm.....	132
Tabela 4.21: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Eximbricata</i> .....	137
Tabela 4.22: Atividade anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Eximbricata</i> .....	138
Tabela 4.23: Data e coleta, número de registro ICN, parte do vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Dimorpholepis</i> G.M.Barroso.....	139
Tabela 4.24: Composição química dos óleos voláteis de <i>Eupatorium gaudichaudianum</i> e <i>E. nummularium</i> .....	141
Tabela 4.25: Composição química dos óleos voláteis de <i>Eupatorium intermedium</i> DC. e <i>E.serratum</i> Spreng.....	143
Tabela 4.26: Headspace de folhas e inflorescências de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Dimorpholepis</i> .....	148
Tabela 4.27: Atividade antioxidante de óleos voláteis de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Dimorpholepis</i> .....	149
Tabela 4.28: Atividade anticolinesterásica de óleos voláteis de espécies de <i>Eupatorium</i> sect. <i>Dimorpholepis</i> .....	149
Tabela 4.29: Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil de <i>Eupatorium clematideum</i> Griseb. ( <i>Eupatorium</i> sect. <i>Praxelis</i> (Cass.) Benth.).....	150
Tabela 4.30: Composição química dos óleos voláteis de <i>Eupatorium clematideum</i> Griseb.....	151
Tabela 4.31: Coleta de <i>Eupatorium betoniciforme</i> (DC.) Baker ( <i>Eupatorium</i> sect. <i>Conoclinium</i> (DC.) Benth.).....	156
Tabela 4.32: Composição química do óleo volátil de <i>Eupatorium betoniciforme</i> (DC.) Baker.....	156
Tabela 4.33: Atividade antioxidante do óleo volátil de <i>Eupatorium</i>	



<i>betoniciiforme</i> (DC.) Baker.....	158
Tabela 4.34: Atividade anticolinesterásica do óleo volátil de <i>Eupatorium betoniciiforme</i> (DC.) Baker.....	159
Tabela 4.35: Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies <i>Eupatorium</i> sect. <i>Campuloclinium</i> (DC.) Benth.....	160
Tabela 4.36: Composição do óleo volátil de <i>Eupatorium macrocephalum</i> Less..	162
Tabela 4.37: Composição química do óleo volátil de <i>Eupatorium purpurascens</i> Sch.Bip. ex Baker.....	165
Tabela 4.38: Atividade antioxidante do óleo volátil de <i>Eupatorium macrocephalum</i> Less.....	166
Tabela 4.39: Coleta de <i>Eupatorium hecatanthum</i> ( <i>Eupatorium</i> sect. <i>Hebeclinium</i> (DC.) Benth.).....	167
Tabela 4.40: Composição química do óleo volátil de <i>Eupatorium hecatanthum</i> (DC.) Baker.....	168
Tabela 4.41: Análise em headspace das folhas de <i>Eupatorium hecatanthum</i> (DC.) Baker.....	170
Tabela 4.42: Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies de <i>Symphyopappus</i> Turcz..	171
Tabela 4.43: Composição química do óleo volátil de <i>Symphyopappus casarettoi</i> B.L.Rob. e <i>S. reticulatus</i> Baker.....	173
Tabela 4.44: Análise em headspace das folhas e inflorescências de <i>Symphyopappus reticulatus</i> Baker.....	176
Tabela 4.45: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de <i>Symphyopappus casarettoi</i> B.L.Rob. e <i>S. reticulatus</i> Baker.....	177
Tabela 4.46: Atividade anticolinesterásica do óleo volátil de <i>Symphyopappus casarettoi</i> B.L.Rob.....	177



## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 2.1: Subfamílias, tribos e número de gêneros de Asteraceae.....	21
Quadro 2.2: Subfamílias e tribos de Asteraceae, com números aproximados de gêneros e espécies, segundo BREMER <i>et al.</i> (1994).....	22
Quadro 2.3: A tribo Eupatorieae, segundo CABRERA & KLEIN (1989).....	23
Quadro 2.4: A tribo Eupatorieae segundo KING e ROBINSON (1987).....	23
Quadro 2.5: Espécies dos gêneros <i>Eupatorium</i> L. e <i>Symphyopappus</i> Turcz. ocorrentes no Rio Grande do Sul, segundo MATZENBACHER (1979) e CABRERA e KLEIN (1989).....	28
Quadro 2.6: Núcleos de algumas classes de compostos isolados de espécies de <i>Eupatorium</i> L.....	35



## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 2.1: Vias de formação do isopreno: via do mevalonato (a) e 1-desoxixilulose-5-fosfato (b) para biossíntese de IPP/DMPP.....	13
Esquema 2.2: A via dos isoprenóides em plantas.....	14
Esquema 2.3: Algumas estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos.....	17
Esquema 2.4: Ciclização do pirofosfato de farnesila por terpeno ciclases origina diversos núcleos sesquiterpênicos.....	19
Esquema 2.5: Estruturas formadas pela ação da enzima $\delta$ -selineno sintase, isolada de <i>Abies grandis</i> (Pinaceae) sobre o pirofosfato de farnesila (FPP).....	20
Esquema 2.6: Oxidação da vitamina C e redução do DPPH.....	40
Esquema 4.1: Produtos da ciclização 1,10 e 1,11 do pirofosfato de farnesila....	78
Esquema 4.2: Formação de felandrenos, pinenos, limoneno e <i>p</i> -cimeno, monoterpênicos majoritários nos óleos voláteis de <i>Eupatorium tweedieanum</i> Hook. & Arn.....	82
Esquema 4.3: Formação dos pinenos, limoneno, $\alpha$ -tujeno, mirceno e ( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno, principais monoterpênicos presentes nos óleos voláteis de <i>Eupatorium spathulatum</i> Hook. & Arn. e <i>Eupatorium polystachyum</i> DC.....	86
Esquema 4.4: Formação do cátion bisabolila (1) e de seus derivados pela ciclização 1,6 da conformação cisóide do pirofosfato de nerolidila.....	94
Esquema 4.5: Formação dos germacrenos e rearranjo térmico de Cope, originando os elementos correspondentes.....	97
Esquema 4.6: Derivados oxigenados de núcleo pinano presentes no óleo volátil de <i>Eupatorium ascendens</i> Sch.Bip. ex Baker.....	98
Esquema 4.7: Rota de síntese do 2-careno e do 3-careno a partir dos cátions linalila e $\alpha$ -terpinila.....	104
Esquema 4.8: Derivados humulanos, cariofilanos, germacranos e cadinanos presentes no óleo volátil de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.....	117
Esquema 4.9: Derivados bisabolanos, santalanos e bergamotanos presentes no óleo volátil de <i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.....	118



## RESUMO

O gênero *Eupatorium* (Asteraceae), amplamente distribuído no Rio Grande do Sul, foi investigado visando o estabelecimento da composição química de óleos voláteis obtidos por hidrodestilação das folhas e inflorescências frescas, bem como pela técnica de *headspace*. Foram coletadas, em diversas localidades do Estado do Rio Grande do Sul, 33 espécies, distribuídas em oito seções. Duas espécies de outro gênero estreitamente relacionado, *Symphyopappus*, foram também analisadas. A composição química dos óleos e da fração volátil foi determinada por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas. Os óleos voláteis das espécies analisadas apresentaram um padrão qualitativo recorrente, com compostos acíclicos ou de núcleo pinano e *p*-mentano entre os monoterpenos majoritários e de compostos de núcleo cariofilano, germacrano, aromadendrano e cadinano entre os sesquiterpenos. Além desses, foram observados esporadicamente sesquiterpenos de núcleo bisabolano, santalano, elemano e compostos alifáticos entre os principais constituintes dos óleos. As variações quantitativas observadas entre os óleos foram relevantes, com muitas diferenças tanto na proporção entre monoterpenos e sesquiterpenos, como entre sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados. A fração volátil analisada por *headspace* foi composta principalmente por monoterpenos, sendo majoritários os mesmos componentes observados na fração monoterpênica dos óleos voláteis. Adicionalmente, foram avaliadas as atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos obtidos. A ação antioxidante foi determinada por bioautografia frente ao radical 1,1-difenil-2-picrilidrazila (DPPH). A grande maioria dos óleos avaliados apresentou resultado positivo, sendo este bem pronunciado para o óleo de *E. laevigatum*, do qual foi isolado o sesquiterpeno furânico levigatina, também apresentando marcada atividade. A ação anticolinesterásica dos óleos voláteis foi avaliada por bioautografia frente à enzima Acetilcolinesterase. Muitos óleos voláteis exerceram atividade inibitória, especialmente aqueles contendo grande percentual de monoterpenos.

Palavras-chave: *Eupatorium*, *Symphyopappus*, Asteraceae, óleo volátil, atividade antioxidante, atividade anticolinesterásica.





## **ABSTRACT**

The *Eupatorium* genus (Asteraceae), widely distributed in Rio Grande do Sul State, was investigated with the aim of determining the chemical composition of volatile oils obtained by hydrodistillation from fresh leaves and flowers, as well as by the headspace technique. Thirty-three species, ascribed to eight sections were collected at several localities in the Rio Grande do Sul State. Two other species from a closely related genus, *Symphiopappus*, were also analyzed. The chemical composition of essential oils and of the volatile fraction was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The essential oils from the analyzed species showed a recurrent qualitative pattern, with acyclic monoterpenes or such ones bearing pinane or *p*-menthane nucleus among the main monoterpenes, and with compounds bearing caryophyllane, germacrane, aromadendrane and cadinane nuclei among the sesquiterpenes. Beyond these, it was sporadically observed sesquiterpenes bearing a bisabolane, santalane or elemene nucleus, or still some aliphatic ones among the majority compounds. Quantitative variations observed among the oils were relevant, with several differences as much in the proportion within the monoterpenes and sesquiterpenes, as to among hydrocarbon and oxygenated sesquiterpenes. The volatile fraction analyzed in headspace was mainly composed by monoterpenes, being majoritarian the same compounds observed in the monoterpenic fraction of the essential oils. Additionally, antioxidant and anticholinesterasic activities were performed with the obtained oils. The antioxidant action of essential oils was determined in a bioautographic assay against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Most evaluated oils showed positive result, especially pronounced for *E. laevigatum* essential oils, from which the isolated furan sesquiterpene laevigatin also showed strong activity. Anticholinesterasic activity of essential oils was also evaluated by bioautographic assay against Acetylcholinesterase enzyme. Many essential oils exerted inhibitory activity on the enzyme, especially those ones containing high percentage of monoterpenes.

**Key-words:** *Eupatorium*, *Symphiopappus*, Asteraceae, essential oil, antioxidant activity, anticholinesterasic activity.







As plantas são fontes naturais ricas em compostos capazes de exercer as mais diversas ações farmacológicas. Essa característica, aliada à sua grande diversidade química, faz dos produtos de origem vegetal excelente matéria-prima para a síntese de novos fármacos. Derivados da 4-hidroxicumarina, por exemplo, podem ser utilizados na síntese do anticoagulante dicumarol e a pulegona, cetona monoterpênica, é matéria-prima para a síntese da artemisinina, composto com atividade antimalárica (AVERY et al., 1992).

Apesar de ensaios randômicos também serem realizados na busca de compostos ativos em extratos vegetais, uma abordagem promissora é a etnofarmacológica, a qual, orientada pelos usos populares da flora medicinal, tem maior facilidade na eleição das espécies submetidas a triagem química e farmacológica e maiores chances de descoberta de princípios ativos novos (CORDELL e COLVARD, 2005).

Entre os produtos do metabolismo vegetal mais promissores e de mais fácil acesso para a pesquisa de compostos ativos encontram-se os óleos voláteis ou essenciais. Estes, segundo definição da ANVISA (BRASIL, 1999) “são produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico e podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados”. Podem ser encontrados em todas as estruturas vegetais, sendo mais freqüente em folhas, flores, frutos e menos em raízes, rizomas, lenhos, córtex ou sementes. Ocorrem em diversos gêneros de plantas superiores, inferiores e microrganismos e constituem uma mistura complexa de substâncias, apresentando estruturas químicas heterogêneas (BRENNAN et al., 2003). São obtidos por diferentes processos, dependendo da localização no vegetal, da quantidade e das características requeridas para o produto final. As técnicas mais usuais para sua obtenção são: prensagem ou expressão, extração com solventes orgânicos ou com gorduras, com fluído supercrítico, destilação por arraste de vapor ou, ainda, por *headspace* (HENRIQUES et al., 2007). Os mesmos compostos químicos extraídos pela destilação e pela expressão podem ser obtidos por extração com solventes de baixa polaridade ou com CO<sub>2</sub> supercrítico, diferindo estes últimos produtos, de um lado pela presença de compostos lipofílicos não voláteis, e de outro, pela ausência de compostos que se formam pelo aquecimento em presença de água durante a extração de algumas drogas vegetais, produtos estes que podem ser desejáveis ou

não (como formação do camazuleno no óleo de camomila e de uma série de derivados do sabineno – terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineno,  $\gamma$ -terpineno e terpinoleno – em plantas que produzam esse monoterpene) (SANDRA e BICCHI, 1987).

Devido à sua freqüente presença nos vegetais e variedade de composição química, os óleos essenciais constituem objeto de extensivos estudos visando identificar atividades biológicas e os resultados apontam um potencial terapêutico importante. Acheflan<sup>®</sup>, produzido com extratos de erva-baleeira (*Cordia verbenacea* DC. - Boraginaceae) contendo  $\alpha$ -humuleno, com indicação como antiinflamatório de uso tópico para o tratamento de tendinite crônica e dores miofasciais é um exemplo de produto recentemente lançado no mercado farmacêutico (HENRIQUES *et al.*, 2007). No Brasil, grande parte da diversidade vegetal ainda não foi explorada e poderia, eventualmente, tornar-se uma fonte valiosa de produtos químicos com utilização terapêutica ou industrial. Nesse sentido, abordaremos neste trabalho a composição química dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae) ocorrentes no Rio Grande do Sul e realizaremos uma avaliação preliminar de suas atividades antioxidante e anticolinesterásica, utilizando ensaios em placa cromatográfica.

## **1. OBJETIVOS**

---

---





## 1.1 Objetivo Geral

Tendo em vista a importância dos óleos voláteis, o presente trabalho visou a análise da composição química do óleo volátil das espécies de *Eupatorium* L. do Rio Grande do Sul e a avaliação de suas atividades antioxidante e anticolinesterásica.

## 1.2 Objetivos específicos

- Análise da composição química de óleos voláteis extraídos de folhas e inflorescências frescas, de espécies de *Eupatorium* coletadas no Rio Grande do Sul:

\*Extração por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger;

\*Quantificação dos componentes do óleo volátil por cromatografia gasosa, acoplada a detector por ionização de chama;

\*Identificação dos componentes do óleo volátil por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas;

\*Análise das folhas e inflorescências em *headspace* para determinação de perfis químicos voláteis.

- Avaliação da atividade antioxidante dos óleos voláteis utilizando ensaio colorimétrico com DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila).

- Avaliação da atividade anticolinesterásica dos óleos voláteis utilizando ensaio colorimétrico por bioautografia.



## ***2. REVISÃO DA LITERATURA***

---

---



## 2.1 Óleos voláteis

Os óleos voláteis não apresentam distribuição muito ampla no reino vegetal, sendo encontrados em aproximadamente 50 famílias. Dentre elas, Lamiaceae (*Mentha* spp.), Myrtaceae (*Psidium* spp.), Poaceae (*Cymbopogon* spp.), Lauraceae (*Cinnamomum* spp.), Rosaceae (*Rosa* spp.) e Asteraceae (*Matricaria* spp., *Calendula* spp.) são bastante conhecidas por suas propriedades aromáticas relacionadas a eles.

A composição química de óleos voláteis pode variar amplamente, desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com nitrogênio e enxofre. Toda essa diversidade funcional, no entanto, pode ser agrupada em duas séries principais: a série aromática e a série terpênic.

Na série aromática são classificados os derivados do fenilpropano (C6-C3), oriundos do metabolismo do ácido chiquímico. Esses compostos são formados por reações de transaminação enzimática da fenilalanina e da tirosina que originam os ácidos cinâmico e *p*-cumárico, respectivamente. Os derivados mais comuns em óleos voláteis são as cumarinas e alguns aldeídos aromáticos (GEISSMAN e CROUT, 1969; GUIGNARD *et al.*, 1985).

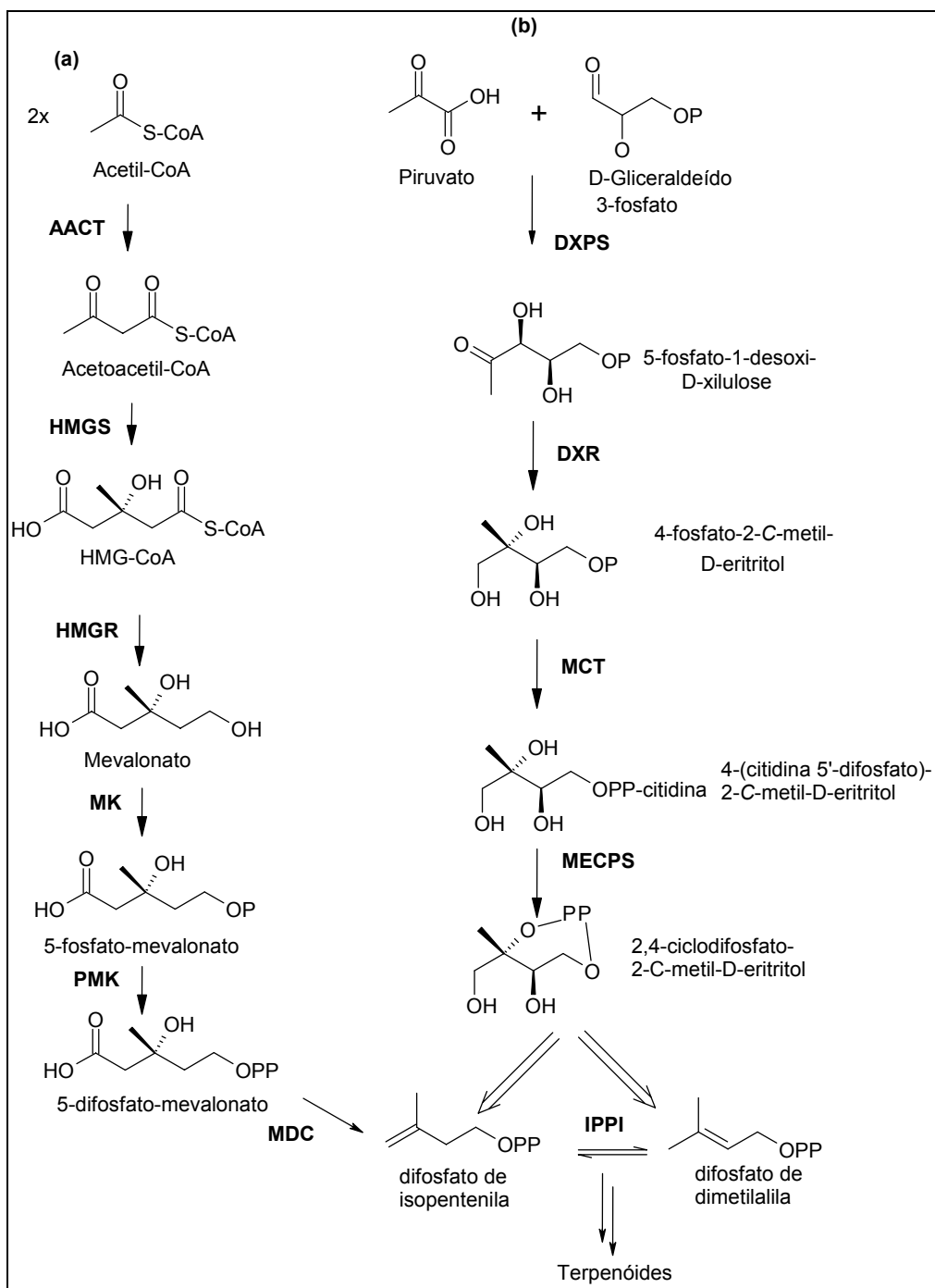
Na série terpênic, quantitativamente mais numerosa e qualitativamente mais variada encontram-se os monoterpenos, compostos cujo esqueleto é formado por 10 átomos de carbono e os sesquiterpenos, com 15 átomos, arranjados em estruturas acíclicas, monocíclicas, bicíclicas e tricíclicas (CROTEAU, 1987; CANE, 1990).

### 2.1.1 Terpenóides

Os terpenóides são um grande grupo de metabólitos vegetais, biossinteticamente originados da condensação enzimática de unidades isoprênicas (com 5 átomos de carbono) geralmente unidas por ligações cabeça-cauda (regra do isopreno). Esses compostos servem a diferentes funções: transporte de elétrons (quinonas), componentes de membranas, regulação subcelular (prenilação de proteínas), pigmentos fotossintéticos (carotenóides), hormônios, compostos de defesa (monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos), fotoproteção, termotolerância e resistência ao estresse oxidativo (carotenos e monoterpenos). Acredita-se que a termotolerância oferecida pelos monoterpenos deva-se justamente à sua capacidade de captar radicais derivados do oxigênio oriundos do processo fotossintético (PEÑUELAS e LLUSIÀ, 2002; PEÑUELAS e MUNNÉ-BOSCH, 2005).

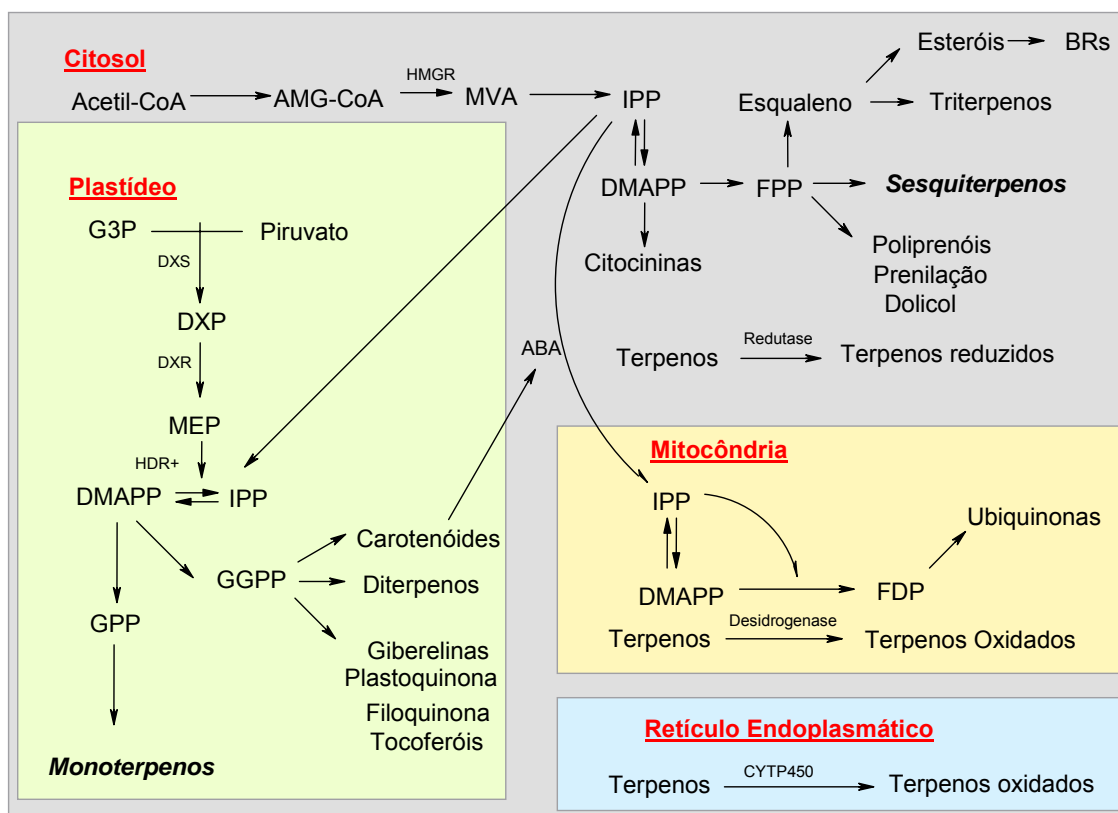
Os terpenóides podem ser formados pela condensação de duas até milhares de unidades isoprênicas, como ocorre na borracha (McGARVEY e CROTEAU, 1995), entretanto, o primeiro passo para a formação de qualquer uma dessas estruturas é a condensação enzimática de duas unidades (pirofosfato de dimetilalila, DMAPP, e seu isômero pirofosfato de isopentenila, IPP) para formar pirofosfato de geranila (GPP), o primeiro intermediário comum da série terpênica, com 10 átomos de carbono.

Existem duas vias possíveis para a formação do isopreno: a via do mevalonato e a via da desoxixilulose-5-fosfato. A primeira via para formação do IPP, em animais e leveduras, inicia com a acetilcoenzima-A (acetil-CoA) e procede através do ácido mevalônico (MEV) como intermediário. Mais recentemente foram descobertos em eubactérias e em plastídeos de algas e plantas superiores alguns compostos derivados de IPP sintetizados pela condensação de piruvato e gliceraldeído 3-fosfato via 1-desoxixilulose-5-fosfato (DOXP) (LICHTENTHALER *et al.*, 1997; SCHWENDER *et al.*, 1997; DUBEY *et al.*, 2003) (Esquema 2.1).



Esquema 2.1: Vias de formação do isopreno: via do mevalonato (a) e 1-desoxixilulose-5-fosfato (b) para biossíntese de IPP/DMPP. AACT: Acetil-CoA:acetil-CoA C-acetiltransferase; CMK: 4-(citidina-5'-difosfo)-2-C-metileritritol quinase; DXPS: 1-desoxixilulose-5-fosfato sintase; DXR: 1-desoxixilulose-5-fosfato redutoisomerase; HMGR: 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA redutase; HMGS: 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA sintase; IPPI: pifosfato de isopentenila isomerase; MCT: 2-C-metileritritol-4-fosfato citidiltransferase; MDC: mevalonato-5-fosfato descarboxilase; MECPS: 2-C-metileritritol-2,4-ciclodifosfato sintase; MK: mevalonato quinase; PMK: fosfomevalonato quinase (adaptado de MAHMOUD e CROTEAU, 2002).

Estudos posteriores com marcação radioisotópica dos precursores químicos evidenciaram que essa segunda via é amplamente distribuída nos vegetais, atuando paralelamente à via do mevalonato, mas de forma compartimentalizada. A via DOXP é ativa no interior dos plastídeos formando IPP utilizado na síntese de monoterpenos e diterpenos. Na formação de sesquiterpenos pode ser utilizado IPP oriundo da via MEV, que atua no citoplasma, da via DOXP, ou ainda podem concorrer ambas as vias (Esquema 2.2) (UMLAUF *et al.*, 2004; HAMPEL *et al.*, 2005).



Esquema 2.2: A via dos isoprenóides em plantas. Flechas sólidas, flechas tracejadas com traços curtos e flechas tracejadas com traços longos representam passos enzimáticos simples e múltiplos e transporte, respectivamente. Enzimas selecionadas são mostradas. Abreviações: ABA, ácido abscísico; BRs, brassinosteróides; CYTP450, citocromo P450 hidroxilases; DMAPP, pirofosfato de dimetilalila; DXP, deoxixilulose-5-fosfato; DXR, DXP redutoisomerase; DXS, DXP sintase; FPP, pirofosfato de farnesila; GPP, pirofosfato de geranila; GGPP, pirofosfato de geranylgeranila; G3P, gliceraldeído 3-fosfato; HDR+, pirofosfato de hidroximetilbutenila redutase e várias outras enzimas que são necessárias para gerar DMAPP e IPP a partir de MEP; HMG-CoA, hidroximetilglutaril CoA; HMGR, HMG-CoA redutase; IPP, pirofosfato de isopentenila; MEP, metileritritol 4-fosfato; MVA, ácido mevalônico. 'Terpenos' inclui terpenos de todas as classes e originários de várias organelas (Adaptado de AHARONI *et al.*, 2005).



### 2.1.2 Monoterpenos

A formação dos terpenos tem início com a isomerização do pirofosfato de dimetilalila (DMAPP) a pirofosfato de isopentenila (IPP). Posteriormente, sob a ação de uma enzima prenil transferase, pirofosfato de geranila sintase, ocorre a ionização do DMAPP e o ataque simultâneo do carbono 5 do IPP ao carbono 1 ionizado do DMAPP (adição eletrofílica), com eliminação de um hidrogênio, formando GPP. Outra enzima, pirofosfato de farnesila sintase, atua de modo semelhante, mas nesse caso o processo continua com a adição de mais uma unidade IPP ao GPP formado, originando pirofosfato de farnesila (FPP), o precursor dos sesquiterpenos, com 15 átomos de carbono. Como nessa enzima a segunda adição é mais eficiente que a primeira, o intermediário GPP não se acumula e apenas FPP é detectado (CROTEAU, 1987).

O GPP pode ionizar-se propiciando a formação do seu isômero constitucional pirofosfato de linalila (LPP). A livre rotação do grupo alila de LPP seguida de nova ionização leva a formação do isômero conformacional, pirofosfato de nerila (NPP). Todos os três isômeros podem originar monoterpenos acíclicos por captura de oxigênio ou por perda de hidrogênios (geraniol, linalol, neral e  $\beta$ -mirceno, entre outros) (BELL e CHARLWOOD, 1980).

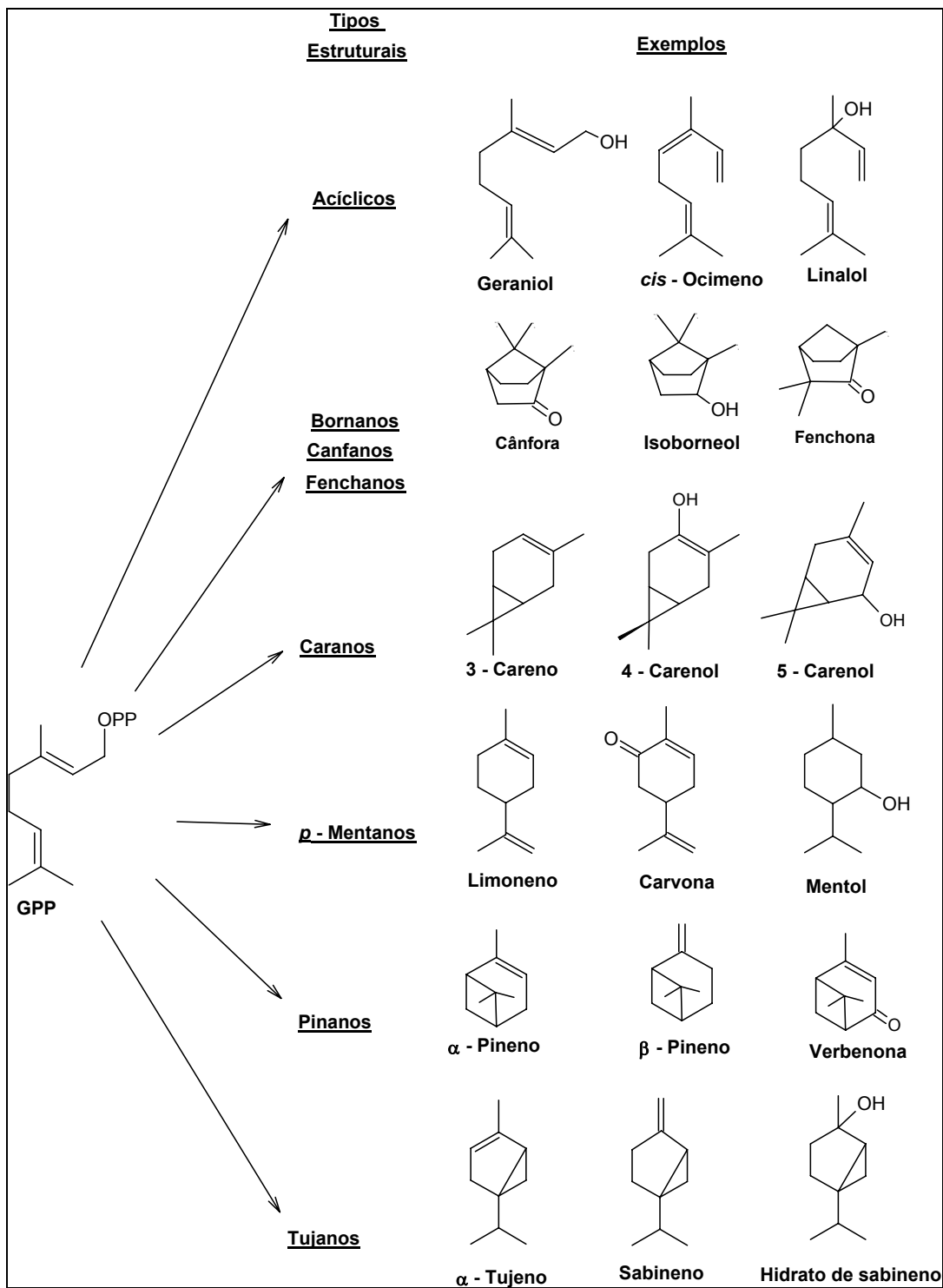
Entretanto, a grande diversidade estrutural dos monoterpenos é oriunda de reações de ciclização enzimaticamente catalisadas. As monoterpeno ciclases, ou monoterpeno isomerase ciclases são enzimas capazes de isomerizar e ciclizar o GPP, seu substrato natural. Esse processo ocorre com o auxílio de um cátion metálico divalente, formando o isômero alílico terciário ligado à enzima, 3*R*- ou 3*S*-pirofosfato de linalila. A conformação *R* ou *S* de LPP dependerá da orientação inicial de GPP, a qual por sua vez deve-se à topologia enzimática. Após sofrer rotação para o conformero *s-cis*, o LPP ioniza e é ciclizado na forma *anti,endo* ao cátion correspondente 4*R*- ou 4*S*-terpinila (CROTEAU, 1987; DEWICK, 1997; BOHLMANN *et al.*, 1998). A partir desse intermediário a reação pode seguir diferentes rotas incluindo adições à dupla ligação restante (originando os núcleos pinano e bornano), migração de hidrogênio formando terpinen-4-ila (tujanos) ou rearranjo tipo Wagner-Meerwein (fenchanos), antes que o carbocátion seja desprotonado ou capturado

pela água, formando hidrocarbonetos e álcoois, respectivamente. Algumas estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos são apresentadas no Esquema 2.3.

Dezenas de monoterpêno ciclases já foram isoladas de organismos vegetais e caracterizadas física e quimicamente. De forma geral elas apresentam propriedades semelhantes: além da necessidade de um íon metálico divalente, a maioria dessas enzimas é capaz de sintetizar não apenas um, mas uma série de produtos, normalmente de mesma configuração enantiomérica (BOHLMANN, 1998; LU *et al.*, 2002; LÜCKER *et al.*, 2002). Sendo assim, a presença de duas séries enantioméricas na composição monoterpênica de um mesmo indivíduo, como é comum em vegetais, sugere a existência de dois sistemas enzimáticos estereoespecíficos que as produzam (RUIZ Del CASTILLO *et al.*, 2004).

O conhecimento da configuração enantiomérica dos compostos presentes nos óleos voláteis é de especial importância para a indústria farmacêutica, de alimentos e de perfumaria uma vez que diferentes enantiômeros podem ter comportamentos diferentes quando interagem com organismos vivos, que são sistemas quirais (NORIN, 1996). Por exemplo, o (+)-limoneno, principal isômero presente no óleo de limão, tem odor de laranja, enquanto o (-)-limoneno tem odor de terebintina; o (+)-linalol tem odor de *petitgrain* (folhas de laranjeira), enquanto (-)-linalol tem odor de lavanda.

Os isômeros ópticos de outros compostos, além de diferenças qualitativas, podem apresentar diferenças quantitativas no limiar ou na menor concentração da substância (no ar) que pode ser consistentemente distinguida do ar puro (BRENNAN *et al.*, 2003). A cromatografia a gás, utilizando colunas quirais de ciclodextrinas modificadas, tem permitido avaliar a composição quiral de óleos voláteis, garantindo um controle de qualidade mais rigoroso, uma vez que alterações sensíveis na razão entre enantiômeros podem ser resultado de adulterações.

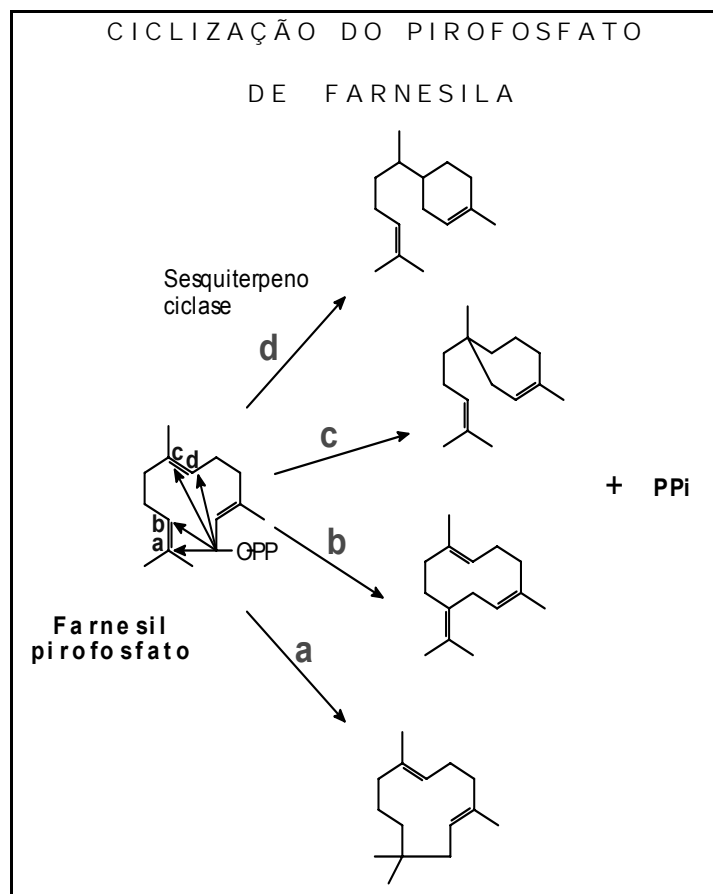


Esquema 2.3: Algumas estruturas representativas dos principais núcleos monoterpênicos: GPP, pirofosfato de geranila (adaptado de MAHMOUD e CROTEAU, 2002).

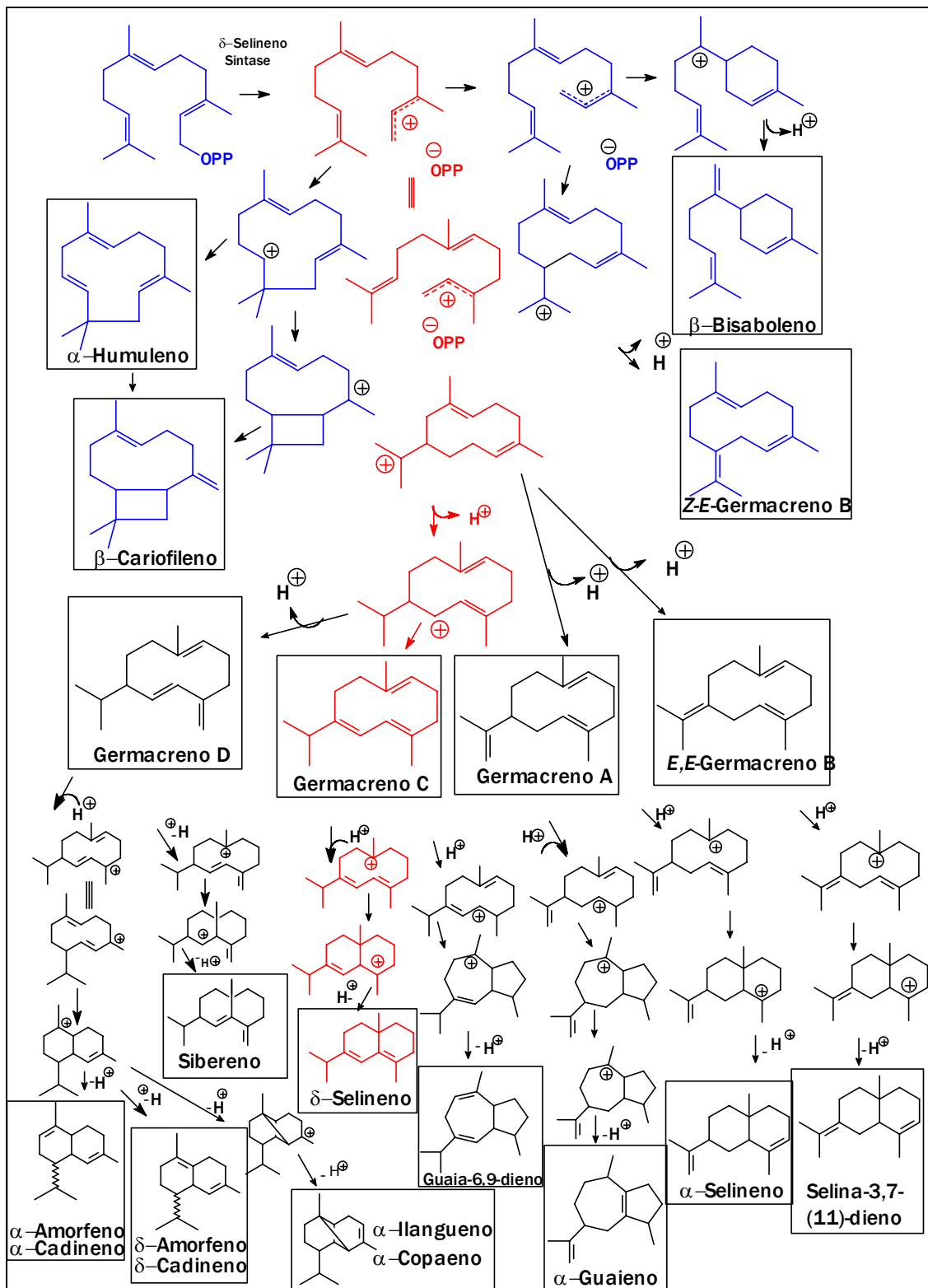
### 2.1.3 Sesquiterpenos

Compostos terpênicos com 15 átomos de carbono são denominados sesquiterpenos. Mais de 300 esqueletos sesquiterpênicos distintos já foram identificados e milhares de derivados oxidados ou modificados de alguma outra maneira foram isolados de plantas, fungos e bactérias (FELICETTI e CANE, 2004). Esses compostos são formalmente derivados do pirofosfato de farnesila (FPP), formado pela adição enzimaticamente catalisada de uma unidade IPP ao GPP. O FPP pode dar origem a compostos com núcleos de 6 átomos de carbono (bisabolano), 7 (carotano), 10 (germacrano) ou 11 (humulano), representados na Esquema 2.4, os quais após adição às duplas ligações, migração de hidrogênio ou rearranjos originam uma gama de estruturas incluindo  $\delta$ -cadineno,  $\delta$ -selineno, germacreno D,  $\beta$ -cariofileno e  $\beta$ -selineno, entre outros.

Enzimas sesquiterpeno ciclases já foram isoladas e caracterizadas. Muitas delas catalisam a formação de dezenas de compostos simultaneamente, como é o caso para  $\delta$ -selineno sintase e  $\gamma$ -humuleno sintase, isoladas de *Abies grandis* (Pinaceae). A enzima  $\delta$ -selineno sintase catalisa a formação de  $\delta$ -selineno como um de seus três produtos majoritários juntamente com mais de 30 outros sesquiterpenos (Esquema 2.5).



Esquema 2.4: Ciclização do pirofosfato de farnesila por terpeno ciclases origina diversos núcleos sesquiterpênicos: PPi: pirofosfato; a – grupo humulano (anel de 11 membros); b – grupo germacrano (anel 10 membros); c – grupo carotano (anel de 7 membros); d – grupo bisabolano (anel de 6 membros) (CHAPPELL, 1995).



Esquema 2.5: Estruturas formadas pela ação da enzima  $\delta$ -selineno sintase, isolada de *Abies grandis* (Pinaceae) sobre o pirofosfato de farnesila (FPP): OPP: pirofosfato (STEELE, 1998).

### 2.1.4 Propriedades farmacológicas

Muitas atividades farmacológicas são atribuídas aos óleos voláteis, mas devido à complexidade de sua composição química é difícil relacionar tal atividade a um único composto. Destacam-se as seguintes ações: anestésica para acetato de linalila, terpineol, (*E*)-anetol, linalol,  $\beta$ -cariofileno (GHELARDINI *et al.*, 1999; GHELARDINI *et al.*, 2001); analgésica para 4 $\alpha$ -7 $\alpha$ -7 $\alpha$ -nepetalactona (AYDIN *et al.*, 1998) e  $\beta$ -mirceno (LORENZETTI *et al.*, 1991); antimalárica para (*E*)-nerolidol (LOPES *et al.*, 1999); antiinflamatória para camazuleno (SAFAYHI *et al.*, 1994) e  $\alpha$ -pineno (APEL, 2001).

## 2.2 Considerações sobre a família Asteraceae Bercht. & J. Presl

As espécies da família Asteraceae (= Compositae) são ervas, arbustos ou árvores que freqüentemente apresentam canais resinosos ou laticíferos. Na sua composição química encontram-se poliacetilenos, óleos voláteis terpênicos e lactonas sesquiterpênicas, não sendo encontrados iridóides (JUDD *et al.*, 1999).

Existem muitos sistemas de classificação que abordam essa família vegetal. Segundo CABRERA (1963), as Asteráceas podem ser divididas em duas subfamílias: Tubuliflorae e Liguliflorae, sendo a primeira composta por 12 tribos e a segunda por uma única (Quadro 2.1).

Quadro 2.1: Subfamílias, tribos e número de gêneros de Asteraceae.

Família	Asteraceae			
Subfamília	Tubuliflorae	nº. de gêneros	Liguliflorae	nº. gêneros
Tribo	Vernonieae	1	Cichorieae	15
	<b>Eupatorieae</b>	5		
	Astereae	12		
	Inuleae	12		
	Heliantheae	18		
	Helenieae	9		
	Anthemideae	9		
	Senecioneae	2		
	Calenduleae	1		
	Actotideae	1		
	Cynareae	8		
	Mutisieae	13		

Utilizando características genéticas (conservação de uma região de DNA cloroplástico que se encontra invertida em todo o restante dos representantes da família) e em caracteres anatômicos, um pequeno grupo de gêneros sul-americanos foi elevado à categoria de subfamília (Barnadesioideae). O Quadro 2.2 apresenta essa nova divisão e algumas outras alterações na distribuição tribal de Asteraceae, incluindo dados globais (BREMER *et al.*, 1994; JUDD *et al.*, 1999).

Quadro 2.2: Subfamílias e tribos de Asteraceae, com números aproximados de gêneros e espécies, segundo BREMER *et al.* (1994).

Família	Asteraceae (Compositae)		
Subfamílias	Tribos	Gêneros	Espécies
Barnadesioideae	Barnadesieae	9	92
Cichoroideae	Mutisieae	76	970
	Carduceae	83	2500
	Lactuceae	98	1550
	Vernonieae	98	300
	Liabeae	14	160
Asteroideae	Arctoteae	16	200
	Inuleae	38	480
	<b>Eupatorieae</b>	170	2400
	Plucheeae	28	220
	Gnaphalieae	180	2000
	Calenduleae	8	110
	Astereae	170	3000
	Anthemideae	109	1740
	Senecioneae	120	3000
	Helenieae	110	800
	Heliantheae	189	2500

### 2.2.1 Considerações sobre a tribo Eupatorieae Cass.

A tribo Eupatorieae caracteriza-se por suas flores lilases, violáceas, roxas, purpúreas, rosadas, azuis ou brancas, não apresentando flores amarelas, que podem ser encontradas nas demais tribos. Em estudo taxonômico das Eupatorieae do estado de Santa Catarina, CABRERA e KLEIN (1989) agrupam os gêneros de Eupatorieae em quatro subtribos, incluindo o gênero *Eupatorium* na subtribo Ageratinae (Quadro 2.3). BREMER (1994), apresenta uma classificação bem mais fragmentada de Eupatorieae, com 16 subtribos, baseando-se em trabalhos anteriores de KING e ROBINSON (1987). Nessa classificação alternativa, o gênero *Eupatorium* apresenta-se fragmentado e as espécies mencionadas por CABRERA e



KLEIN (1989) e MATZENBACHER (1979) encontram-se distribuídas em outros gêneros, reunidos em diferentes subtribos (Quadro 2.4).

Quadro 2.3: A tribo Eupatorieae, segundo CABRERA & KLEIN (1989).

Tribo	Subtribos	Gêneros
Eupatorieae	Piquerinae	<i>Ophryosporum</i>
	Adenostemmatinae	<i>Adenostemma</i>
	<b>Ageratinae</b>	<i>Eupatorium, Ageratum, Stevia, Mikania</i>
	Kuhlniinae	<i>Kanimia</i>

Distribuição de subtribos e gêneros da tribo Eupatorieae na Flora Catarinense, segundo CABRERA e KLEIN (1989).

## 2.2.2 Considerações sobre o gênero *Eupatorium* L.

O gênero *Eupatorium* foi criado em 1753 por Linnaeus e seu nome é dedicado a Mithradates Eupator, Rei de *Pontus*, 132-63 A.C., o qual teria usado uma espécie do gênero com fins medicinais. Muitos botânicos trabalharam com o gênero desde sua criação, descrevendo novas espécies, organizando as já descritas ou mesmo criando novos gêneros para agrupar tais espécies (MATZENBACHER, 1979; KING e ROBINSON, 1987; CABRERA e KLEIN, 1989).

Quadro 2.4: A tribo Eupatorieae segundo KING e ROBINSON (1987).

Tribo	subtribos	Gn	Esp	Gêneros abrigando espécies de <i>Eupatorium</i> no RS após a reclassificação de KING e ROBINSON (1987)
Eupatorieae	Hofmeisteriinae	1	12	
	<b>Oxylobinae*</b>	9	330	<i>Kaunia</i>
	Mikaniinae	1	430	
	Trichocoroniinae	3	4	
	Adenostemmatiinae	3	34	
	Ageratiinae	22	350	
	Fleischmaniinae	2	81	
	<b>Praxelinae*</b>	7	190	<i>Chromolaena</i>
	<b>Gyptidinae*</b>	27	135	<i>Barrosoa, Conoclinium, Campuloclinium, Urolepis, Vittetia</i>
	Liatrinae	6	52	
	<b>Eupatoriinae*</b>	4	78	<i>Austroeupatorium, Hatschbachiella, Stomatanthes</i>
	<b>Disynaphiinae*</b>	6	43	<i>Acanthostyles, Raulinoreitzia, Campovasouria, Disynaphia, Grazielia</i>
	<b>Ayapaninae*</b>	12	57	<i>Heterocondylus</i>
	Alomiinae	20	170	
	<b>Critoniinae*</b>	39	340	<i>Koanophyllon, Malmeanthus, Neocabreria</i>
Hebecliniinae	8	100		

\* Subtribos que abrigam gêneros para os quais foram transferidas as espécies de *Eupatorium* ocorrentes no Rio Grande do Sul, na classificação de KING e ROBINSON (1987). Gn: Número aproximado de gêneros no mundo, Esp: número de espécies.

De CANDOLLE (1836), botânico do século XIX, dividiu o gênero em três séries considerando características do capítulo floral, do involúcro e das brácteas involucrais (séries I. *imbricata*; II. *subimbricata* e III. *eximbricata*) criando ainda quatro seções a partir da série I., das quais a seção *Cylindrocephala* DC. seria a única com representantes no Brasil. Quase no final daquele século HOFFMANN (1897) utilizaria as outras duas séries para criar as seções *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm. e *Eximbricata* (DC.) O.Hoffm., juntamente com outras seis seções (*Imbricata* DC., *Chromolaena* DC., *Campuloclinium* DC., *Conoclinium* DC., *Praxelis* Cass. e *Hebeclinium* DC.). Anteriormente a isso, quando da passagem de algumas espécies de três outros gêneros para dentro de *Eupatorium*, o botânico Benth, criara seções em *Eupatorium* com os nomes dos seus antigos gêneros para acomodá-las (*Conoclinium* (DC.) Benth., *Campuloclinium* (DC.) Benth. e *Hebeclinium* (DC.) Benth.) (MATZENBACHER, 1979).

Outro botânico que trabalhou com o gênero foi B. L. Robinson, a partir do início do século XX, realizando um estudo sistemático de *Eupatorium* na Colômbia, Peru e Bolívia e descrevendo também uma variedade do Rio Grande do Sul (*E. ascendens* Sch. Bip. ex Baker var. *parcisetosum* B.L.Rob.). Sua proposta para a sistematização do gênero foi a divisão das seções *Cylindrocephala* DC., *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm., *Eximbricata* (DC.) O.Hoffm., *Praxelis* Cass., *Conoclinium* DC., *Campuloclinium* DC. e *Hebeclinium* DC. Em 1950, a botânica Graziela Maciel Barroso, apresentou uma revisão do gênero na Flora Brasileira, citando aproximadamente 225 espécies, 45 das quais eram comuns à flora do RS. Em seus estudos taxonômicos essa autora dividiu o gênero *Eupatorium* em 10 seções: I - *Cylindrocephala* DC., II – *Chromolaena* DC., III – *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm., V – *Dimorpholepis* G.M.BARROSO, V – *Sphaereupatorium* O.Hoffm., VI - *Eximbricata* (DC.) O.Hoffm., VII - *Praxelis* (CASS.) Benth., VIII – *Conoclinium* DC., IX – *Campuloclinium* DC., X – *Hebeclinium* (DC.) Benth. das quais apenas as seções II e V não estavam representadas no Rio Grande do Sul (BARROSO, 1950).

CABRERA, no início da década de 1960, após trabalhar com os *Eupatorium* da Argentina (CABRERA, 1956), fez um levantamento desse gênero no estado de Santa Catarina, identificando 67 espécies, as quais foram agrupadas segundo os

critérios de B. L. Robinson, adicionando às seções já existentes a seção *Dimorpholepis* G.M.Barroso e sinonimizando as espécies do gênero *Symphyopappus* Turcz., como já havia feito Steyermark em 1956 (CABRERA e VITTET, 1963; KING e ROBINSON, 1987).

A partir de 1970, King e Robinson realizaram uma extensa revisão da tribo Eupatorieae descrevendo aproximadamente 100 dos 170 gêneros que a compõem, e organizando-os em novas subtribos (KING e ROBINSON, 1987). Nesse trabalho os autores transferiram as espécies de *Eupatorium* que ocorrem na América do Sul para muitos outros gêneros reabilitados ou criados com base em microcaracterísticas anatômicas. Foram mantidas no gênero *Eupatorium* apenas 45 espécies com distribuição eurasiática e norte-americana (KING e ROBINSON, 1987). Os gêneros novos ou reabilitados para as espécies que ocorrem no Rio Grande do Sul foram *Austroeupatorium*, *Stomathantes*, *Hatchbachiella*, *Heterocondylus*, *Neocabreria*, *Chromolaena*, *Barrosoa*, *Raulinoreitzia*, *Acanthostyles*, *Grazielia*, *Dimorpholepis*, *Disynaphia*, *Campovassouria* (MATZENBACHER, 1979), *Malmeanthus*, *Vittetia*, *Kaunia*, *Koanophyllon* e *Urolepis* (KING e ROBINSON, 1987, ver Quadro 2.4).

Muitos dos gêneros propostos apresentam apenas uma, duas ou três espécies: *Hatchbachiella*, *Raulinoreitzia*, *Campovassouria*, *Urolepis*, *Malmeanthus* e *Vittetia* são alguns exemplos.

Em 1979, MATZENBACHER realizou um estudo do gênero *Eupatorium* no Rio Grande do Sul, utilizando as seções propostas por BARROSO (1950) e mantendo a validade do gênero *Eupatorium* para as espécies sul-americanas, assim como a do gênero *Symphyopappus* Turcz., anteriormente sinonimizado por Steyermark, mas já restabelecido por R. M King e H. Robinson. No trabalho de Matzenbacher foram coletadas 49 espécies de *Eupatorium* no Estado do Rio Grande do Sul (MATZENBACHER, 1979).

CABRERA e KLEIN (1989) dividiram as espécies do gênero *Eupatorium* de Santa Catarina em 16 seções, incluindo a seção *Symphyopappus* (Turcz.) Cabrera,

e reconhecendo o *status* de seção para alguns dos gêneros propostos por KING e ROBINSON (1987): *Raulinoreitzia*, *Campovassouria*, *Dysinaphia*, *Heterocondylus*, *Austroeupatorium*, *Macropodina*, entre outros.

Em virtude de o trabalho de MATZENBACHER (1979) ter sido a última revisão de *Eupatorium* no Rio Grande do Sul, adotaremos a sua divisão do gênero e incluiremos neste trabalho as 49 espécies descritas para o Estado por esse autor. Em sua revisão a seguinte descrição é apresentada para o gênero *Eupatorium*:

“*Ervas, subarbustos ou arbustos, raras vezes sub-arborescentes, perenes ou anuais. Folhas opostas (com menor frequência são alternas), sésseis ou pecioladas, denteadas a profundamente lobuladas. Capítulos de tamanho variável, dispostos em cimeiras corimbiformes, em panículas ou solitários. Invólucro cilíndrico, campanulado ou hemisférico; brácteas involucrais em várias séries, espiraladas, apertadamente ou frouxamente imbricadas, as exteriores gradualmente menores, às vezes alongadas, subuladas ou todas mais ou menos do mesmo tamanho. Receptáculo plano, convexo, cônico-ovalado ou cônico, glabro ou coberto por cerdas curtas (piloso). Flores 5 a numerosas, alvas, rosadas, lilases, violáceas, roxas, purpúreas ou azuis; isomorfas, hermafroditas, corola tubulosa com limbo penta-denteado ou penta-lobado. Anteras obtusas na base, com apêndices conetivais ovalados. Ramos do estilete lineares ou clavados, obtusos no ápice, densa e curtamente papilosos ou às vezes com papilas alongadas. Aquênios com 5 ângulos bem marcados, raramente 6 ou 7, truncados no ápice, com ou sem carpopódio. Pápus formado por numerosos pêlos ou cerdas rígidas, curtamente barbeladas, dispostas em uma só série.*” (MATZENBACHER, 1979, p.54).

#### 2.2.2.1 Seções do gênero *Eupatorium* L.

Em sua minuciosa revisão do gênero *Eupatorium* no Rio Grande do Sul, MATZENBACHER (1979) apresenta as sinonímias, descrições botânicas, localização e época de floração para cada uma das 49 espécies identificadas,

agrupando-as ainda em 8 seções: *Cylindrocephala* DC., *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm., *Dimorpholepis* G.M.Barroso, *Eximbricata* (DC.) O.Hoffm., *Praxelis* (Cass.) Benth., *Conoclinium* (DC.) Benth., *Campuloclinium* (DC.) Benth. e *Hebeclinium* (DC.) Benth. (Quadro 2.5).

### 2.2.3 Considerações sobre o gênero *Symphyopappus* Turcz.

O botânico J. A. Steyermark reduziu o gênero *Symphyopappus* Turcz. à sinonímia de *Eupatorium* L. (MATZENBACHER, 1979) e CABRERA e KLEIN (1989) mantiveram essa abordagem, tratando-o como uma seção de *Eupatorium*: *Eupatorium* sect. *Symphyopappus* (Turcz.) Cabrera. Entretanto, KING e ROBINSON (1987) e MATZENBACHER (1979) discordam dessa abordagem, considerando *Symphyopappus* Turcz. um gênero independente. As principais características distintivas deste gênero em relação a *Eupatorium* são o aspecto glabro, viscoso e coriáceo das folhas e o concrecimento das cerdas do pápus formando um largo e grosso anel (*symphyo-pappus*). As folhas apresentam aparência envernizada como em *Eupatorium* e *Baccharis*, com material secretado na região sub-epidérmica em idioblastos e não em tricomas glandulares como é comum em toda a família Asteraceae (METCALFE e CHALK, 1965) Quatro espécies de *Symphyopappus*, aceitas por CABRERA e KLEIN (1989) como pertencentes ao gênero *Eupatorium* (seção *Symphyopappus*) serão incluídas nesse trabalho, são elas: *Symphyopappus lymansmithii* B.L.Rob. (= *E. lymansmithii* (B.L.Rob.) Steyermark.), *S. compressus* (Gardner) B.L.Rob. (= *E. compressum* Gardner = *S. polystachyus* Baker), *S. casarettoi* B.L.Rob. (= *E. casarettoi* (B.L.Rob.) Steyermark.) e *S. reticulatus* Baker (= *E. reitzii* Cabrera).

Quadro 2.5: Espécies dos gêneros *Eupatorium* L. e *Symphypappus* Turcz. ocorrentes no Rio Grande do Sul, segundo MATZENBACHER (1979) e CABRERA e KLEIN (1989); a sinonímia na classificação de KING e ROBINSON (1987) e a época de floração (MATZENBACHER, 1979) são apresentadas quando disponíveis.

	Seções	Espécies	Sinonímia na classificação de King & Robinson (1979)	Época da floração
Eupatorium	Sect. Cylindrocephala	<i>E. laevigatum</i> Lam.	<i>Chromolaena laevigata</i> (Lam.) R.M.King & H.Rob.	JAN-JAN
		<i>E. verbenaceum</i> DC.	<i>Chromolaena verbenacea</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	DEZ-MAI
		<i>E. ulei</i> Hieron.	<i>Chromolaena ulei</i> (Hieron.) R.M.King & H.Rob.	DEZ-MAR
		<i>E. pedunculatum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena pedunculata</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	FEV-ABR
		<i>E. ivifolium</i> L.	<i>Chromolaena ivifolia</i> (L.) R.M.King & H.Rob.	ver-out
		<i>E. subhastatum</i> Hook. & Arn.		ver-out
		<i>E. squarulosum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena squarulosa</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	NOV-ABR
		<i>E. congestum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena congesta</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	JAN-MAR
		<i>E. congestum</i> Hook. & Arn. var. <i>hirsutum</i> (Hook. & Arn.) Cabrera	<i>Chromolaena hirsuta</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	
		<i>E. umbelliforme</i> Dusén	<i>Chromolaena umbelliformis</i> (Dusén) R.M.King & H.Rob.	MAR
		<i>E. ascendens</i> Sch-Bip. var. <i>parcisetosum</i> B.L.Rob.	<i>Chromolaena ascendens</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.	JAN-MAR
		<i>E. angusticeps</i> Malme	<i>Chromolaena angusticeps</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.	FEV-ABR
		<i>E. margaritense</i> Hassl.	<i>Chromolaena margaritensis</i> (Hassl.) R.M.King & H.Rob.	MAR
	Sect. Subimbricata	<i>E. buniifolium</i> Hook. & Arn.	<i>Acanthostyles buniifolius</i> (Hook. ex Arn.) R.M.King & H.Rob.	out
		<i>E. tremulum</i> Hook. & Arn.	<i>Raulinoreitzia tremula</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	out
		<i>E. polystachyum</i> DC.	<i>Raulinoreitzia crenulata</i> (Sprengel) R. M.King et H.Rob.	JAN-MAI
		<i>E. bupleurifolium</i> DC. var. <i>bupleurifolium</i>	<i>Campovassouria bupleurifolia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	OUT-FEV
		<i>E. bupleurifolium</i> var. <i>microcephalum</i> Hieron.	<i>Campovassouria bupleurifolia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	
		<i>E. bupleurifolium</i> var. <i>asclepiadeum</i> (DC.) Baker	<i>Campovassouria bupleurifolia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	
		<i>E. bupleurifolium</i> var. <i>linifolium</i> (DC.) Baker	<i>Campovassouria bupleurifolia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	OUT-DEZ
		<i>E. multicrenulatum</i> Sch.Bip. ex Baker	<i>Disynaphia multicrenulata</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.	out
		<i>E. ligulifolium</i> Hook. & Arn.	<i>Disynaphia ligulifolia</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	JAN-ABR
		<i>E. spathulatum</i> Hook. & Arn.	<i>Disynaphia spathulata</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	JAN-ABR
		<i>E. commersonii</i> (Cass.) Hieron.		MAR-ABR
		<i>E. tanacetifolium</i> Gill. ex Hook. & Arn.		OUT-JAN
		<i>E. tanacetifolium</i> forma <i>albiflorum</i> Matzenb.		
		<i>E. subintegerrimum</i> Malme	<i>Malmeanthus subintegerrimus</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.	NOV-JAN
<i>E. niederleinii</i> Hieron.	<i>Neocabreria malacophylla</i> (Klatt) R.M.KING & H.Rob.	OUT-JAN		

Continua Quadro 2.5

Eupatorium	Sect. Subimbricata	<i>E. tweedieanum</i> Hook. & Arn.	<i>Hatschbachiella tweedieana</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob. = <i>Austroeupatorium tweedieanum</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	out
		<i>E. laetevirens</i> Hook. & Arn.	<i>Austroeupatorium laetevirens</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	out
		<i>E. ericoides</i> DC.	<i>Disynaphia ericoides</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	OUT-MAR
		<i>E. lanigerum</i> Hook. & Arn.	<i>Gyptis lanigera</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	SET-ABR
		<i>E. picturatum</i> Malme	<i>Austroeupatorium picturatum</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.	NOV-ABR
		<i>E. inulifolium</i> Kunth	<i>Austroeupatorium inulifolium</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.	out
		<i>E. serrulatum</i> DC.	<i>Neocabreria serrulata</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	DEZ-JAN
		<i>E. oblongifolium</i> Sch.Bip. ex Baker var. <i>oblongifolium</i>	<i>Stomatanthes oblongifolius</i> (Sch.Bip. ex Baker) H.Rob.	MAR-MAI
		<i>E. oblongifolium</i> (Sch.Bip. ex Baker) var. <i>oxyodontum</i> B.L.Rob.		MAR-MAI
		<i>E. oblongifolium</i> (Sch.Bip. ex Baker) var. <i>elongatum</i> (Hook. & Arn.) Baker		FEV-MAR
	Sect. Dimorpholepis	<i>E. intermedium</i> DC.	<i>Grazielia intermedia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	NOV-MAI
		<i>E. serratum</i> Spreng.	<i>Grazielia serrata</i> (Spreng.) R.M.King & H.Rob.	NOV-MAR
		<i>E. gaudichaudianum</i> DC. var. <i>gaudichaudianum</i>	<i>Grazielia gaudichaudeana</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	ver-out
		<i>E. gaudichaudianum</i> var. <i>leucodon</i> (Sch.Bip.) Baker		
		<i>E. nummularium</i> Hook. & Arn.	<i>Grazielia nummularia</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	JAN-ABR
		<i>E. calyculatum</i> Hook. & Arn.	<i>Disynaphia calyculata</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	ver-out
		<i>E. multifidum</i> DC.	<i>Grazielia multifida</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	JAN-MAR
	Sect. Eximbricata	<i>E. orbiculatum</i> DC.	<i>Vittetia orbiculata</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	FEV-MAR
		<i>E. rufescens</i> P.W.Lund ex DC. var. <i>glabratum</i> Hieron. ex Kuntze	<i>Kaunia rufescens</i> (P.W.Lund ex DC.) R.M.King & H.Rob.	JUN-NOV
		<i>E. consanguineum</i> DC.	<i>Koanophyllon consanguineum</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	JUN-SET
		<i>E. grande</i> Sch.Bip. ex Baker	<i>Heterocondylus grandis</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.	ver-out
	Sect. Praxellis	<i>E. missionum</i> Malme	<i>Praxelis missiona</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.	SET-DEZ
		<i>E. kleinioides</i> Kunth		SET-NOV
		<i>E. subglabratum</i> (Hieron.) Cabrera & Vittet		DEZ-ABR

Continua Quadro 2.5

Eupatorium	Sect. Conoclinium	<i>E. candolleanum</i> Hook. & Arn.	<i>Barrosoa candolleana</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.	ver-out
		<i>E. betoniciforme</i> (DC.) Baker var. <i>betoniciforme</i>		DEZ-ABR
		<i>E. betoniciforme</i> (DC.) Baker var. <i>hastatum</i> Baker	<i>Barrosoa betonicaeformis</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	DEZ-MAR
		<i>E. tubaraoense</i> Hieron.	<i>Campuloclinium tubaraoense</i> (Hieron.) R.M.King & H.Rob.	ABR-MAI
	Sect. Campuloclinium	<i>E. macrocephalum</i> Less.	<i>Campuloclinium macrocephalum</i> (Less.) DC.	ver-out
	Sect. Hebeclinium	<i>E. hecatanthum</i> (DC.) Baker	<i>Urolepis hecatantha</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	prim-out
	Symphyopappus	<i>S. lymansmithii</i> B.L.Rob.	<i>Eupatorium lymansmithii</i> (B.L.Rob.) Steyerm.	
<i>S. compressus</i> (Gardner) B.L.Rob.		<i>Eupatorium compressum</i> Gardner = <i>Symphyopappus polystachyus</i> Baker		
<i>S. casarettoi</i> B.L.Rob.		<i>Eupatorium casarettoi</i> (B.L.Rob.) Steyerm.		
<i>S. reticulatus</i> Baker		<i>Eupatorium reitzii</i> Cabrera = <i>Symphyopappus reitzii</i> (Cabrera) R.M.King & H.Rob.		

Abreviações: JAN (janeiro), FEV (fevereiro), MAR (março), ABR (abril), MAI (maio), JUN (junho), AGO (agosto), SET (setembro), OUT (outubro), NOV (novembro), DEZ (dezembro), prim (primavera), ver (verão), out (outono).



### 2.3 Revisão química e biológica

O conhecimento inicial da química de Eupatorieae, como no caso da maioria dos grupos de plantas, originou-se de muitas observações gerais e usos acumulados desde tempos remotos. Alguns membros da tribo, incluindo espécies de *Eupatorium*, como *E. cannabinum* são usadas na Índia contra icterícia, escorbuto, inflamações e úlceras, e na Itália na medicina homeopática. *Eupatorium odoratum* é utilizado na Índia e na América do Sul como ictiotóxico, e muitas outras espécies tem uso medicinal no México (KING e ROBINSON, 1987). *Eupatorium perfoliatum* tem sido usado contra febres, doenças respiratórias, inflamações e verminoses. *Eupatorium adenophorum* tem uso como anticoagulante. Outras aplicações de espécies de *Eupatorium* incluem ação diurética, antiespasmódica, contra náuseas, diarreia e difteria, como hepatoprotetor, anti-herpético, antitumoral, antileucêmico, estimulante cardíaco, hemostático, expectorante, emenagogo, antissifilítico, antimalárico, anti-hemorrágico e no tratamento de doenças de pele (SHARMA *et al.*, 1998). No Brasil, espécies de *Eupatorium* foram descritas como melíferas (*E. bupleurifolium*), aconselhadas nas moléstias broncopulmores (*E. oblongifolium*), usadas como aromáticas, emolientes e excitantes (*E. ballotifolium*), tônicas, estimulantes, sudoríficas, estomáquicas, digestivas, antidiarréicas, antidisentéricas, adstringentes, no combate ao cólera, tétano e em picadas de cobra (*E. triplinerve*) e no tratamento de feridas (*E. laevigatum*) (PIO-CORRÊA, 1984).

A utilização dos dados etnofarmacológicos de *Eupatorium* tem orientado cada vez mais pesquisas na busca de novos princípios ativos como alternativa ao arsenal terapêutico já existente, especialmente por suas atividades antimicrobiana, citotóxica, antitumoral, anti-inflamatória e imunomoduladora. Extratos diclorometano de *E. hecatanthum* e etanólico de *E. perfoliatum* demonstraram atividade citotóxica, sendo que para o primeiro foi comprovada a capacidade de ligação ao DNA, evidenciando potencial antitumoral (MONGELLI *et al.*, 1996; HABTEMARIAM e MacPHERSON, 2000; MONGELLI *et al.*, 2000). Extratos aquoso e etanólico de *E. laevigatum* apresentaram, além de atividade citotóxica (MONKS *et al.*, 2002), atividade anti-inflamatória *in vivo* (CLAVIN *et al.*, 2000). Uma formulação contendo o extrato dessa planta foi clinicamente avaliada para o tratamento de aftas bucais e

apresentou boa tolerabilidade pelos usuários, eliminando a doença (PAULO *et al.*, 2000).

O extrato aquoso de *E. odoratum* estimulou a produção de fatores de adesão celular em queratinócitos, essenciais para o processo de cicatrização, além de estimular o crescimento de fibroblastos e células endoteliais e exercer atividade antioxidante contra danos provocados por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e pela hipoxantina-xantina oxidase (*in vitro*). Esse extrato, sob a denominação Eupolin, foi liberado pelo governo Vietnamita para uso clínico em queimaduras e ferimentos (HUGHES *et al.*, 1998; PHAN *et al.*, 1998; PHAN *et al.*, 2001; THANG *et al.*, 2001). Outras espécies, *E. articulatum* junto com *E. odoratum*, também já tiveram ação anti-inflamatória comprovada (de las HERAS *et al.*, 1998; TAIWO *et al.*, 2000).

Estudos com extratos diclorometano, metanólico e aquoso de espécies do gênero comprovaram também a atividade imunomoduladora e analgésica (PAYÁ *et al.*, 1996; CLAVIN *et al.*, 2000; FERNÁNDEZ *et al.*, 2002; MIÑO *et al.*, 2005), antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fitodermatófitos (CÁCERES *et al.*, 1995; IROBI, 1997; MUSCHIETTI *et al.*, 2001; GUPTA *et al.*, 2002; NAVARRO GARCÍA *et al.*, 2003; SASIKUMAR *et al.*, 2005), antiviral (ABAD *et al.*, 1999), inseticida (DEY *et al.*, 2005), tripanocida (ARIAS *et al.*, 1995), antiprotozoária (BLAIR *et al.*, 2002; TALEB-CONTINI *et al.*, 2004) e antiviral (HNATYSZYN *et al.*, 1999).

Muitas substâncias isoladas de espécies de *Eupatorium* por fracionamento biomonitorado foram avaliadas quanto ao seu potencial farmacológico. Entre essas substâncias encontram-se flavonóides, lactonas sesquiterpênicas, benzofuranos e diterpenos com atividade antimicrobiana, citotóxica, anti-inflamatória ou alergênica (RÜCKER *et al.*, 1997; BÁEZ *et al.*, 1998; HABTEMARIAN *et al.*, 1998; URZUA *et al.*, 1998; HABTEMARIAN *et al.*, 2001; MUSCHIETTI *et al.*, 2001; EI-SEEDI *et al.*, 2002; ROSAS-ROMERO *et al.*, 2002; RIOS *et al.*, 2003; SUKSAMRARN *et al.*, 2004; YUE *et al.*, 2004; SHEN *et al.*, 2005).

Atividades tóxicas também foram relatadas. Bovinos e eqüinos quando alimentados com folhas de *Eupatorium adenophorum*, ou ratos tratados com extrato metanólico dessa planta, apresentaram hepatotoxicidade ou toxicidade pulmonar espécie-específica (SHARMA *et al.*, 1998; KATOCH *et al.*, 2000; KAUSHAL *et al.*, 2001). A investigação dessa atividade levou a identificação da toxina 9-oxo-10,11-desidroageroforona, uma dicetona sesquiterpênica de núcleo cadinano como composto tóxico. *Eupatorium riparium* e *E. inulifolium* apresentaram atividades semelhantes em ensaios *in vivo*. Já *E. odoratum* apresentou níveis muito tóxicos de nitratos, os quais convertidos a nitritos oxidam o ferro da hemoglobina formando metemoglobina, que não pode reagir com oxigênio e leva o animal à morte por anóxia. A toxicose causada por *E. rugosum* é um pouco diferente. Ocorre inibição de enzimas do ciclo do ácido cítrico, resultando em acúmulo de acetil-CoA e formação de corpos cetônicos, tanto em animais (bovinos e caprinos) quanto em humanos que se alimentem do leite de animais intoxicados. É provável que alguns benzofuranos isolados dessa espécie (tremetona, hidroxitremetona e desidrotremetona) sejam os responsáveis pelas alterações (SHARMA *et al.*, 1998).

Um grande número de flavonóides foi isolado em espécies do gênero *Eupatorium*, especialmente flavonas, flavonóis, flavononas, diidroflavonas e diidroflavonóis (FERRARO *et al.*, 1987; KING e ROBINSON, 1987; HERZ *et al.*, 1995; VOIRIN *et al.*, 1995; HERZ, 2001; HERZ, 2003; HERZ, 2004). Para *E. odoratum* também foi relatada a presença de auronas e chalconas (KING e ROBINSON, 1987). Muitos desses compostos apresentam um substituinte metoxila na posição seis do anel A, característica comum a várias Asteráceas (STEVENS *et al.*, 1995). Apesar de apresentarem muitos flavonóides, aqueles presentes nas flores não demonstram refletância em comprimentos de onda equivalentes à luz amarela, o que se torna uma característica distintiva de Eupatorieae (flores azuladas, roxas até avermelhadas, mas nunca amarelas). É bastante provável que compostos relacionados, os antocianos, sejam responsáveis pela coloração das flores em *Eupatorium* e nas demais espécies dessa tribo (KING e ROBINSON, 1987).

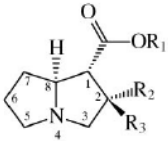
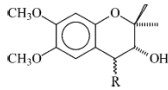
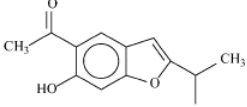
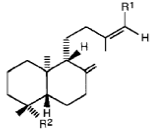
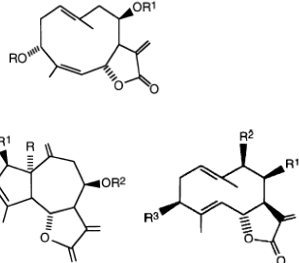
Compostos nitrogenados também são relatados entre os metabólitos secundários de algumas espécies de *Eupatorium*. São alcalóides pirrolizidínicos

monoesterificados, alguns na forma de N-óxidos, que se concentram nas flores e nas raízes dessas plantas. Alcalóides pirrolizidínicos monoesterificados também ocorrem em Boraginaceae, entretanto, são diferentes dos alcalóides presentes em espécies de outra tribo desta família, Senecioneae, os quais se assemelham mais aos alcalóides presentes em *Crotalaria* (Fabaceae), ambos apresentando moléculas diesterificadas (KING e ROBINSON, 1987; BILLER *et al.*, 1994). Apesar de algumas vezes atribuir-se a toxicidade de extratos de *Eupatorium* à presença de alcalóides pirrolizidínicos (SHARMA *et al.*, 1998) foram encontrados muitos destes compostos destituídos de toxicidade em *E. semialatum* (LANG *et al.*, 2001).

Quanto aos compostos terpênicos, podem ser encontrados em *Eupatorium*, além de mono e sesquiterpenos, uma grande variedade de lactonas sesquiterpênicas e diterpenos. As lactonas sesquiterpênicas são consideradas estruturalmente bastante simples por KING e ROBINSON (1987), que mantêm no gênero apenas uma pequena fração das espécies consideradas por outros autores. Dessa forma, estariam representados em *Eupatorium* apenas germacranolídeos, guaianolídeos, heliangolídeos e algumas poucas espécies produziram lactonas do núcleo labdano (KING e ROBINSON, 1987; HERZ, 2001). Entretanto, a revisão da composição química do gênero revela a presença de germacradienolídeos, elemanolídeos, elemadienolídeos, eudesmanolídeos, melampolídeos, partenolídeos, cronquistiolídeos, grazielolídeos e isoguaiagrazielolídeos em várias espécies, além dos núcleos já citados (HERZ *et al.*, 1995; HERZ, 2001; TORI *et al.*, 2002; HERZ, 2004; HUO *et al.*, 2004; YUE *et al.*, 2004). Os diterpenos encontrados em *Eupatorium* são dos tipos caurano, labdano e covalano (KING; ROBINSON, 1987; CARRERAS *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 1999; HERZ, 2001) e um triterpeno, isolado de *E. cannabinum* apresenta núcleo friedelano modificado (TALAPATRA *et al.*, 2003). Os núcleos estruturais de algumas moléculas isoladas de espécies de *Eupatorium* são apresentados no Quadro 2.6.

Bastante atenção tem sido dada, especialmente nos últimos anos, ao óleo volátil obtido de espécies de *Eupatorium*, seja por sua composição química peculiar, seja por suas atividades biológicas como larvicida, virucida, antiprotozoária, antimicrobiana e inseticida. O óleo volátil de espécies de *Eupatorium* pode

apresentar cromenos, cumarinas e compostos relacionados, como os benzofuranos, além de mono e sesquiterpenos (KING e ROBINSON, 1987). Também são encontrados alguns terpenos raros, como ésteres de longipineno (HERZ, 2001) e derivados do timol. De *E. fortunei*, espécie comum no Japão, foram isolados e caracterizados 16 derivados do timol, compostos que também são encontrados em *E. cannabinum* e em *E. adenophorum* (DING *et al.*, 1994; TORI *et al.*, 2001; PAOLINI *et al.*, 2005).

	Alcalóides pirrolizidínicos monoesterificados
	Cromenos
	Benzofuranos
	Diterpenos: labdano
	Lactonas sesquiterpênicas: Heliangolídeos, guaianolídeos, germacranolídeos

Quadro 2.6: Núcleos de algumas classes de compostos isolados de espécies de *Eupatorium* L. (HERZ, 2001; HERZ, 2003; HERZ, 2004).

Entre os sesquiterpenos são característicos os do grupo cadinano, sendo o principal composto responsável pela elevada toxicidade de *E. adenophorum* o 9-oxo-10,11-deidroageraforano (SEAWRIGHT *et al.*, 1998; BHARDWAJ *et al.*, 2001). O ácido cóstico, também um composto de núcleo cadinano, isolado de *E. capillifolium* apresenta atividade antibacteriana (SHARMA *et al.*, 1998). Ainda são de interesse,

apesar de bastante raros, os sesquiterpenos tricíclicos de núcleo isocomano, silfinano, silfiperfolano e modfano relatados em *E. cannabinum* e *E. albicaule* (HERZ, 2004; PAOLINI *et al.*, 2005). Outros sesquiterpenos como nerolidol,  $\alpha$ -curcumeno,  $\alpha$ -zingibereno, germacreno D, germacreno B,  $\alpha$ - e  $\beta$ -cubebeno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -humuleno,  $\beta$ -cariofileno e seu derivado, óxido de cariofileno, foram relatados em muitas espécies de *Eupatorium* (BOHLMANN *et al.*, 1982; BAILAC *et al.*, 2000; ALBUQUERQUE *et al.*, 2001; ALBUQUERQUE *et al.*, 2004; HERZ, 2004; PAOLINI *et al.*, 2005).

Benzofuranos e diidrobenzofuranos são particularmente representados em *E. acuminatum*, *E. bishopii*, *E. rimbachii*, *E. kuntzei*, *E. glutinosum*, *E. heptanthum*, *E. chachapoyense*, *E. axilliflorum*, *E. piquerioides*, *E. cannabinum*, *E. purpureum*, *E. fistulosum* e *E. corumbense* (GUTIERREZ *et al.*, 2001; HERZ, 2001; HERZ, 2004). Os cromenos foram encontrados em *E. piquerioides*, *E. heptanthum*, *E. axilliflorum*, *E. chilca*, *E. chinense*, *E. fortunei*, *E. africanum*, *E. chaparense*, *E. inulifolium*, *E. lancifolium*, *E. toppingianum* e em *E. corumbense* (HERZ, 2001; HERZ, 2004). O composto 2,2-dimetil-6-vinilcroman-4-ona, isolado de *E. betoniciforme* apresentou atividade larvívica contra *Aedes aegypti* L. (Diptera) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2004) e o metiliripariocromeno, isolado das raízes de *E. riparium*, apresentou ação antifúngica contra *Cladosporium cladosporioides* (SHARMA *et al.*, 1998).

O óleo volátil de *E. patens* apresentou atividade virúcida contra HVS-1 (*Herpes simplex*) e DEN-2 (vírus da dengue) (GARCIA *et al.*, 2003). O óleo volátil obtido de outras espécies foi avaliado quanto à sua atividade antimicrobiana. Para *E. odoratum* foi evidenciada atividade contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Enquanto o óleo de *E. triplinerve* apresentou atividade contra *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *Salmonella stanley*, *S. pullorum*, *S. richmond* e *Staphylococcus aureus* (SHARMA *et al.*, 1998). O óleo volátil das espécies *E. odoratum* e *E. conyzoides* foi avaliado como um agente para o controle de pragas em armazéns de grãos por sua atividade insetívica (BOUDA *et al.*, 2001). De *E. rufescens* foram isolados e caracterizados dois peróxidos sesquiterpênicos, zingibereno-3,6- $\alpha$ -endoperóxido e zingibereno-3,6-

$\beta$ -endoperóxido, ambos com atividade esquizonticida contra *Plasmodium falciparum* (RÜCKER *et al.*, 1996).

## 2.4 Técnicas analíticas

As técnicas mais utilizadas na identificação da composição química de óleos voláteis são a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e a ressonância magnética nuclear (RMN). Pelo menos uma dessas técnicas, ou ambas, foram utilizadas na caracterização do óleo volátil de *E. adenophorum*, na Índia, e *E. cannabinum*, na França, além de espécies típicas do Brasil e da Argentina, como *E. pauciflorum*, *E. ballotifolium*, *E. argentinum*, *E. subhastatum*, *E. hecatanthum*, *E. macrophyllum*, *E. laevigatum*, *E. squalidum*, *E. amygdalinum*, *E. conyzoides*, *E. triplinerve*, *E. verbenaceum* e *E. marginatum* (BAMBA *et al.*, 1982; DING *et al.*, 1994; COLOSSI *et al.*, 1995; ZYGADLO *et al.*, 1996; MAIA *et al.*, 2002; GUPTA *et al.*, 2004; PAOLINI *et al.*, 2005).

## 2.5 Atividade antioxidante

A patologia de várias doenças, incluindo câncer, doenças cardíacas, inflamação e doenças degenerativas, como as doenças de Parkinson e de Alzheimer, envolvem danos oxidativos a componentes celulares. Espécies reativas de oxigênio, como os ânions superóxido, peróxido de hidrogênio e os radicais hidroxila, óxido nítrico e peroxinitrito têm um papel importante no estresse oxidativo relacionado à patogênese dessas doenças, mas em condições normais nosso organismo é capaz de controlar sua ação através do sistema de defesa antioxidante. Caso quantidades excessivas desses radicais sejam formadas, o nível antioxidante é depletado e tem lugar o dano oxidativo. Sabe-se, entretanto, que os antioxidantes podem eliminar diretamente as espécies reativas de oxigênio e frear as reações oxidativas mediadas por radicais, sendo de primeira importância na prevenção de doenças (APÁTI *et al.*, 2003; CHIANG *et al.*, 2004; TEPE *et al.*, 2005; YU *et al.*, 2005).

Muitos compostos de origem vegetal possuem potente atividade antioxidante. Além disso, a ação antioxidante de óleos voláteis de muitas espécies é objeto constante de interesse científico, visando encontrar novos antioxidantes naturais para a indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos (SACCHETTI *et al.*, 2005).

Recentemente foi comprovada a ação provedora de termotolerância, fotoprotetora e antioxidante de monoterpenos de plantas, relacionadas especialmente à sua capacidade de captar radicais de oxigênio oriundos do processo fotossintético (PEÑUELAS e LLUSIÀ, 2002; PEÑUELAS e MUNNÉ-BOSCH, 2005).

Devido à grande importância atribuída aos compostos com atividade antioxidante, foram desenvolvidas diversas metodologias para avaliação do potencial antioxidante de substâncias químicas isoladas e extratos; muitos desses ensaios, como o de lipoperoxidação (hidroperóxidos do ácido linoléico) e o de captura de radicais livres (DPPH - 1,1-difenil-2-picrilidrazila) auxiliam na previsão dos efeitos de tais substâncias sobre sistemas biológicos (BLOIS, 1958; RUBERTO e BARATTA, 2000; MOLYNEUX, 2004; TEPE *et al.*, 2007).

A atividade antioxidante de muitos óleos voláteis têm sido avaliada em diferentes sistemas-teste. O óleo volátil de *Achillea millefolium* (Asteraceae), por exemplo, foi avaliado em alguns sistemas, incluindo o de DPPH (CANDAN *et al.*, 2003). A sua atividade foi superior aos dos padrões antioxidantes ácido ascórbico, curcumina e BHT, entretanto, quando avaliados isoladamente, seus componentes majoritários eucaliptol, cânfora,  $\beta$ -pineno, borneol, terpinen-4-ol e  $\alpha$ -pineno não apresentaram atividade.

O óleo volátil de *Clinopodium vulgare* (Lamiaceae) também foi avaliado em dois sistemas-teste (DPPH e  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico). Apesar de algumas diferenças quantitativas entre os dois ensaios, em ambos foi demonstrada a atividade antioxidante bastante pronunciada dos componentes majoritários timol e  $\gamma$ -terpineno, enquanto outro componente majoritário, o *p*-cimeno, não exerceu nenhum



efeito. Entretanto, em um dos sistemas (DPPH) a ação dos compostos majoritários isolados foi maior do que a atividade do óleo volátil, enquanto no outro ( $\beta$ -caroteno/ácido linoléico) a atividade da mistura foi maior. Isso demonstra que os resultados obtidos podem depender do sistema-teste utilizado (TEPE *et al.*, 2007).

Diversos outros óleos voláteis têm sido avaliados. Óleos de sálvia e de espécies condimentares, por exemplo, foram avaliados simultaneamente por suas propriedades antioxidante e anticolinesterásica (FERREIRA *et al.*, 2006; MATA *et al.*, 2007).

Além disso, RUBERTO e BARATTA (2000) avaliaram a atividade antioxidante de dezenas de componentes isolados de óleos voláteis. Nesse trabalho, foi evidenciada o efeito antioxidante de monoterpenos (terpinoleno,  $\alpha$ -terpineno,  $\gamma$ -terpineno e sabineno). Em particular, a atividade do  $\alpha$ -terpineno e do  $\gamma$ -terpineno foi comparável à do  $\alpha$ -tocoferol e de compostos fenólicos. Pinenos, limoneno e outros monoterpenos hidrocarbonados avaliados não foram tão efetivos. Dentre os monoterpenos oxigenados foram avaliados fenóis, álcoois, aldeídos, éteres e cetonas, dentre os quais apresentaram atividade mais pronunciada os fenóis (timol e carvacrol); além destes, muitos álcoois exerceram atividade antioxidante (nerol e geraniol).

Os mesmos autores avaliaram ainda a atividade antioxidante de sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados. Os primeiros não exerceram atividade apreciável, enquanto os álcoois sesquiterpênicos exerceram atividade semelhante àquela dos álcoois monoterpênicos.

Dentre os sistemas mais utilizados para avaliação da atividade antioxidante pode ser citado o que utiliza o radical DPPH derivado da 1,1-difenil-2-picrilidrazina (Figura 2.1) como indicador de atividade antioxidante. Esse radical apresenta coloração violeta, em contraste com a substância na forma não radicalar, com coloração amarelada (MOLYNEUX, 2004).

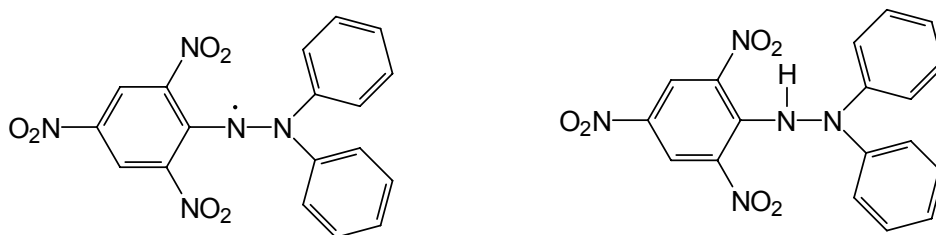
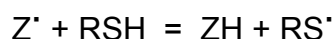


Figura 2.1: Radical 1,1-difenil-2-picrilidrazila e 1,1-difenil-2-picrilidrazina.

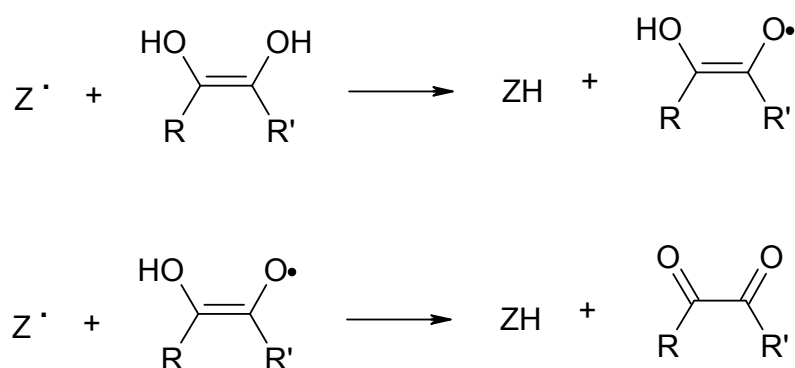
Esse radical reage com substâncias capazes de doar um hidrogênio, formando 1,1-difenil-2-picrilidrazina e um radical livre derivado da substância que doou o hidrogênio. Sendo  $Z^{\bullet}$  o radical DPPH e RSH um doador de hidrogênio (a cisteína, no trabalho original de BLOIS (1958)) a reação inicial é:



Posteriormente, dois radicais  $RS^{\bullet}$  reagem entre si formando um dímero e, como resultado final da reação, duas moléculas do antioxidante reduzem duas moléculas de DPPH (estequiometria 1:1):



Caso haja dois sítios doadores de hidrogênio adjacentes numa mesma molécula, os dois são abstraídos seqüencialmente, como ocorre com a vitamina C, numa reação com estequiometria 2:1 (MOLYNEUX, 2004), conforme Esquema 2.6.



Esquema 2.6: Oxidação da vitamina C e redução do DPPH.

## 2.6 Atividade anticolinesterásica

A doença de Alzheimer é uma das causas mais comuns de demência senil, uma desordem crônica que progride lentamente e se caracteriza pela perda da função intelectual. Estão associadas a ela perdas neuronais, e conseqüente alteração da neurotransmissão em vários sistemas centrais, especialmente no sistema colinérgico, o que fundamenta a hipótese colinérgica dessa doença. O declínio cognitivo observado em pacientes afetados é devido a uma perda extensiva de neurônios colinérgicos, especialmente no neocórtex, no hipocampo e na tonsila. De forma complementar, a hipótese amilóide sugere que a morte desses neurônios seja devida à formação, durante os estágios iniciais da doença, de placas amilóides, densos depósitos contendo a proteína  $\beta$ -amilóide como principal componente. Foi provado também, que a acetilcolinesterase (AChE), enzima que degrada a acetilcolina, está envolvida na agregação de  $\beta$ -amilóide, através do seu sítio iônico periférico. Dessa forma, a utilização experimental de fármacos que tenham como alvo o sítio iônico da acetilcolinesterase inibe a formação dos depósitos  $\beta$ -amilóides (LANE *et al.*, 2005).

A terapia dessa doença baseia-se principalmente na utilização de agentes anticolinesterásicos, capazes de combater a deficiência do neurotransmissor acetilcolina nas sinapses do córtex cerebral. Muitos anticolinesterásicos de origem vegetal já são comercializados e existe grande interesse na determinação de atividade anticolinesterásica de terpenos. O grupo dos pinenos, por exemplo, já foi avaliado em ensaios preliminares e apresentou atividades muito promissoras como inibidor da enzima acetilcolinesterase, trazendo novas perspectivas na busca de fármacos para o tratamento de doenças neurodegenerativas, como o Mal de Alzheimer (SAVELEV *et al.*, 2003; MIYAZAWA e YAMAFUJI, 2005).

A Doença de Alzheimer é uma doença complexa, multifatorial e heterogênea que se caracteriza pela perda da memória e de múltiplas funções cognitivas com o avanço da idade. Tais perdas estão associadas, principalmente, com a presença intracelular de emaranhados neurofibrilares (intracellular neurofibrillary tangles - NFTs na sigla em inglês) e extracelular de placas  $\beta$ -amilóides ( $A\beta$ ), perda de

subpopulações neuronais e de fibras colinérgicas, além de disfunções mitocondriais. Existem duas formas da doença: uma forma familiar (FAD – Familiar Alzheimer Disease) de causa genética conhecida que corresponde a 2-3% dos casos, manifestando-se antes dos 65 anos de idade; e uma forma esporádica (SAD – Sporadic Alzheimer Disease), de causa desconhecida, responsável pela grande maioria dos casos e que se manifesta após os 65 anos de idade (ANEKONDA *et al.*, 2005).

Na FAD alterações genéticas levam ao acúmulo de peptídeos  $\beta$ -amilóides de 4 kDa, monoméricos ou oligoméricos, os quais se tornam fibrilas insolúveis e depósitos  $\beta$ -amilóides. Esses depósitos estão associados com respostas inflamatórias causadoras de danos oxidativos (KITAZAWA *et al.* 2004). Acredita-se também que o peptídeo  $\beta$ -amilóide possa interagir negativamente com as mitocôndrias, interrompendo o transporte de elétrons, gerando espécies reativas de oxigênio e inibindo o ATP celular. A exposição crônica às espécies reativas de oxigênio pode resultar em dano oxidativo às mitocôndrias, proteínas celulares, lipídios e ácidos nucleicos, diminuindo a produção mitocondrial de ATP e seu suprimento aos terminais nervosos para a comunicação neural. Os baixos níveis de ATP nos terminais nervosos podem levar à perda de sinapses e causar o declínio cognitivo característico de pacientes com a Doença de Alzheimer (REDDY e BEAL, 2005).

Dentre os quatro medicamentos disponíveis no mercado norte-americano para o tratamento da Doença de Alzheimer, três são inibidores da acetilcolinesterase (tacrina, donepezila e rivastigmina) e um é inibidor dos receptores NMDA. Esses medicamentos apresentam muitos efeitos colaterais e representam poucas alternativas para o tratamento de uma doença tão complexa e prevalente.

A terapia anticolinérgica é a alternativa mais amplamente aceita para o desenvolvimento de fármacos que melhoram as habilidades cognitivas (SIDDIQUI *et al.* 1999). Extratos de *Ginkgo biloba* e *Bacopa monniera* (duas plantas chinesas) apresentaram propriedades estimuladoras cognitivas que se sugere serem devidas à melhora da função do sistema colinérgico perturbado na Doença de Alzheimer (DAS *et al.*, 2002). Curcumina, composto polifenólico obtido de *Curcuma longa*, reduz os

danos oxidativos e o depósito de placas amilóides solúveis e insolúveis, em ratos (LIM *et al.*, 2001).

*Centella asiatica*, *Clitoria ternatea*, *Curcuma longa*, *Ginkgo biloba*, *Huperzia serrata*, *Lycoris radiata* e *Polygala tenuifolia* são algumas das plantas utilizadas nas medicinas ayurvédica e chinesa que apresentam propriedades potencialmente relevantes para o tratamento de desordens cognitivas como a Doença de Alzheimer. Entretanto, para muitas das plantas e compostos com atividades relevantes para o tratamento dessa doença, os dados clínicos são escassos e sua eficácia e potencial toxicidade precisam ser melhor avaliados antes que seu uso seja recomendado (HOWES *et al.*, 2003).

Muitas espécies vegetais já foram avaliadas quanto à sua atividade anticolinesterásica. *Corydalis cava*, *Corydalis intermedia* e *Corydalis solida* apresentaram atividade anticolinesterásica em ensaio colorimétrico devido aos seus alcalóides. Os extratos aquosos e metanólicos de *Ruta graveolens* e o extrato metanólico de *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Petroselinum crispum* e *Mentha spicata* apresentaram atividade anticolinesterásica, provavelmente devido aos terpenos presentes no óleo volátil (ADSERSEN *et al.*, 2006).

Um método espectrofotométrico foi utilizado para determinar a inibição de óleos voláteis de espécies de *Mentha* sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase de eritrócitos bovinos. O óleo volátil de *Mentha aquatica*, cujos componentes majoritários foram viridiflorol, mentofurano, elemol e 1,8-cineol, apresentou o maior efeito inibitório sobre a enzima AChE. Outros óleos também apresentaram atividade. Os óleos de *M. arvensis* e *M. gentilis*, contendo óxido de piperitenona como componente majoritário, foram ativos, entretanto, o óleo de *M. rotundifolia* não exerceu atividade, apesar de apresentar o mesmo composto majoritário. Os óleos de *M. citrata* e *M. gentilis* apresentaram linalol como composto majoritário, porém, a atividade inibitória de um dos óleos sobre a enzima é quatro vezes mais potente que a do outro. Além disso, o efeito inibitório de todos os óleos voláteis é maior do que o dos seus compostos majoritários quando avaliados isoladamente. Mesmo quando se tentou reproduzir a proporção natural dos compostos majoritários (mistura a 22:21:13:10 de elemol-mentofurano- viridiflorol-1,8-cineol para *M. aquatica*) não foi possível reproduzir os resultados obtidos com o óleo

volátil. Os autores deduzem desse estudo que o efeito anticolinesterásico dos óleos voláteis de espécies de *Mentha* deve-se à ação sinérgica de seus constituintes, não se excluindo a participação dos compostos minoritários (MIYAZAWA *et al.*, 1998).

Monoterpenóides da classe dos *p*-mentanos foram avaliados quanto à sua atividade anticolinesterásica frente à acetilcolinesterase de eritrócitos bovinos. Foram comparados hidrocarbonetos, álcoois e cetonas. As cetonas (+)- e (-)-carvona, (-)-mentona e (+)-isomentona foram os compostos mais ativos. Os álcoois (+)-mentol, (-)-mentol e (-)-isopulegol exerceram atividade um pouco mais fraca, semelhante à dos hidrocarbonetos *p*-cimeno,  $\gamma$ -terpineno, (+)-limoneno e (-)-limoneno. Os hidrocarbonetos  $\alpha$ -terpineno e (+)-*p*-menteno exerceram atividade semelhante à das cetonas. Compostos com duplas ligações conjugadas foram mais ativos. Além disso, a presença de grupos isopropila parece ser importante para a atividade, pois compostos apresentando grupos isopropenila foram menos ativos (MIYAZAWA *et al.*, 1997).

O extrato etanólico de *Ocimum sanctum* reduziu a atividade anticolinesterásica alterada de ratos submetidos a estresse sonoro agudo, possivelmente devido a sua atividade adaptogênica (SEMBULINGAMA *et al.*, 2005) Utilizando AChEase de enguia elétrica os autores demonstraram a atividade anticolinesterásica de plantas portuguesas usadas como condimentares, aromáticas e medicinais. Os óleos voláteis de *Melissa officinalis* e de *Mentha suaveolens* exerceram boa atividade inibitória sobre a enzima (mais de 50%); inibição também foi alcançada com óleos voláteis de *Salvia officinalis* e *Lavandula angustifolia*. Além disso, algumas das plantas exerceram atividade antioxidante, outro fator importante no tratamento da Doença de Alzheimer (FERREIRA *et al.*, 2006).

Em um estudo com *Foeniculum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha pulegium*, *Rosmarinus officinalis* e *Thymus serpyllum* os autores avaliaram a atividade antioxidante e anticolinesterásica de extratos aquosos, etanólicos e dos óleos voláteis, comparando-os. Observou-se que o maior efeito inibitório sobre a acetilcolinesterase ocorre nos óleos voláteis, sendo mais pronunciado em

*Rosmarinus officinalis* (IC<sub>50</sub> de 69,8 ± 0,1 µg/ml), rico em verbenona (163 ± 0,2 µg/ml) e em *Thymum serpyllum*, entretanto, como demonstrado para as mentas (MIYAZAWA *et al.*, 1998) a atividade dos compostos majoritários não explica por si só a atividade do óleo volátil total. Os óleos voláteis de *Mentha spicata* e *M. pulegium* exerceram atividade moderada, assim como seus compostos majoritários, pulegona e carvona (MATA *et al.*, 2007).

Uma avaliação clínica de tolerabilidade do óleo volátil de *Salvia lavandulaefolia* foi realizada para o tratamento da Doença de Alzheimer, uma vez que o óleo exerce atividades anticolinesterásica, antioxidante, anti-inflamatória e sedativa, todas relevantes na terapia dessa doença. Foram obtidos efeitos significativos sobre a cognição em voluntários saudáveis além de redução dos sintomas psiquiátricos e melhora da atenção em pacientes com Doença de Alzheimer (PERRY *et al.*, 2003). Através da avaliação da atividade anticolinesterásica do óleo volátil de *Salvia lavandulaefolia* por método espectrofotométrico foi determinado que o principal composto responsável por essa atividade é o 1,8-cineol, o componente majoritário, e foi demonstrado seu efeito sinérgico com α-pineno (também bastante ativo) e com óxido de cariofileno. A existência de efeito antagonístico na associação 1,8-cineol/cânfora também foi evidenciada (SAVELEV *et al.*, 2003). Quatorze espécies de *Salvia* foram avaliadas, na Turquia, quanto às suas atividades anticolinesterásica (frente a butirilcolinesterase e acetilcolinesterase) e antioxidante (frente ao DPPH e ao sistema hipoxantina/xantina oxidase). Foram avaliados extratos com diferentes polaridades. De modo geral, extratos apolares foram mais inibitórios contra as colinesterases e extratos polares foram mais antioxidantes. Não foram identificados os compostos responsáveis pelas atividades (ORHAN *et al.*, 2007).





### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

---

---



### **3.1 Material vegetal**

Foram coletadas as partes aéreas de espécies do gênero *Eupatorium* e *Symphopappus* nativas do Rio Grande do Sul. Um exemplar de cada planta foi identificado pelo Prof. Dr. Nelson Ivo Matzenbacher, botânico, e depositado no Herbário do Departamento de Botânica da UFRGS (ICN). Os nomes científicos de todas as famílias, gêneros e espécies citadas neste trabalho encontram-se nos Anexos 1, 2 e 3, respectivamente.

### **3.2 Obtenção do óleo volátil**

O óleo volátil foi obtido a partir das folhas e flores frescas, convenientemente reduzidas com auxílio de um triturador mecânico e submetidas à hidrodestilação em aparelho tipo-Clevenger, durante 4 horas. A quantificação foi realizada pela leitura do volume de óleo coletado. Os óleos obtidos foram armazenados sob refrigeração até a análise dos constituintes.

### **3.3 Análise em *Headspace* (espaço confinado)**

A técnica de *headspace* permite analisar pequenas amostras do vegetal em um sistema fechado, sem a necessidade de extração prévia. Ao contrário do óleo volátil, que é extraído em contato com meio aquoso e submetido a temperatura elevada e pH ácido (devido aos compostos orgânicos presentes na matriz vegetal) por um grande período de tempo, os compostos voláteis analisados em *headspace* podem ser considerados mais fiéis à composição química original do vegetal, pois normalmente não sofrem degradação. A técnica de *headspace* presta-se muito bem à análise de compostos monoterpênicos, devido à sua alta volatilidade, bem como dos compostos extremamente voláteis de baixo peso molecular (difíceis de captar no óleo volátil). Já os compostos de menor volatilidade, como os sesquiterpenos, normalmente estão ausentes ou são encontrados apenas como traços nas análises

em *headspace*. Portanto, a análise por *headspace*, não deve ser considerada uma análise alternativa e sim complementar à análise do óleo volátil, permitindo traçar um perfil químico de fácil obtenção e reprodução para as plantas em estudo.

A análise em espaço confinado consiste no aquecimento de uma pequena amostra vegetal em um frasco lacrado, até a volatilização dos compostos de menor ponto de ebulição. Posteriormente, uma fração da atmosfera interna do frasco é coletada e injetada diretamente no cromatógrafo.

### **3.4 Análise química**

Os óleos obtidos por hidrodestilação foram diluídos a 2% em éter etílico (V/V) (Merck®) para a análise cromatográfica.

A análise dos óleos extraídos foi realizada em cromatógrafo gasoso (CG/DIC) para sua quantificação e em cromatógrafo gasoso com detector de massas (CG/MS) para identificação de sua composição química.

#### **3.4.1 Cromatografia gasosa – Ionização de chamas**

As análises foram realizadas em um cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC17-A) utilizando coluna capilar de sílica fundida Durabond-DB-5 (John Wiley & Sons Scientific, USA, com 25 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, preenchida com um filme de 0,25 µm de espessura de polidimetildifenilsiloxano contendo 5% de grupamentos fenila) para a separação dos constituintes. A temperatura do forno foi programada de 60°C a 300°C a 3°C/min, com hélio como gás carreador a 80 kPa e fluxo de 1 ml/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220°C e 250°C, respectivamente. A razão de fluxo do injetor foi de 1:20. Nitrogênio, ar sintético e hidrogênio foram utilizados como gases auxiliares, na razão de 1:1:10, respectivamente. A composição percentual foi obtida por integração eletrônica pela técnica de normalização utilizando *software* CR10 (Shimadzu) e detector de ionização em chama (DIC, 250°C).

### 3.4.2 Cromatografia Gasosa - Espectrometria de Massas

Todas as amostras foram analisadas por CG-EM em um aparelho Shimadzu QP5000 com quadrupolo cilíndrico, equipado com coluna DB-5 (25 m, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 µm de espessura) operando com energia de ionização de 70 eV e temperatura de interface de 250°C. A temperatura foi programada de 60°C a 300°C a 3°C/min, com hélio como gás carreador a 80 kPa e fluxo de 1 ml/min.

### 3.4.3 Cromatografia gasosa - headspace (HSS)

Flores e folhas foram analisadas separadamente por headspace, utilizando Headspace HSS – 4A (Shimadzu, Japão, Tóquio) acoplado a detector de massas GC/MS – QP5000. Para separação dos constituintes foi utilizada coluna Durabond-DB5 (especificações acima citadas) e as condições de análise foram: programa de temperatura: 60 - 300°C, a 15°C/min (tempo de análise: 19 minutos); injetor a 220°C; detector (DIC) / Interface (EM) a 250°C; temperatura do vial 120 °C; temperatura da seringa 125 °C, tempo de aquecimento de 60 minutos e volume de injeção de 0,4 ml.

### 3.4.4 Identificação dos componentes

Os componentes foram identificados por comparação de seu índice de retenção (Índice de retenção relativo) e espectro de massa com dados da literatura (ADAMS, 2001), bem como espectroteca de aquisição (NIST 12 e NIST 62 – National Institute of Standards and Technology, Kyoto, Japão) e para o cálculo do Índice de retenção relativo (I) foi utilizada a seguinte equação:

$$I = 100z + 100 \frac{(t'_{RX} - t'_{RZ})}{(t'_{R(Z+1)} - t'_{RZ})}$$

Onde: z = número de carbonos do composto com menor peso molecular;

$t'_{RX}$  = tempo de retenção do composto x, sendo  $t'_{RX}$  intermediário entre  $t'_{RZ}$  e  $t'_{R(Z+1)}$ ;

$t'_{RZ}$  e  $t'_{R(Z+1)}$  = tempos de retenção ajustados de alcanos de cadeia normal.

### **3.5 Atividade antioxidante**

A atividade antioxidante de cada óleo foi avaliada por cromatografia em camada delgada, utilizando DPPH (2,2'-difenilpicrilidrazila) como reagente. O ensaio avalia a capacidade dos óleos de prevenir a oxidação do DPPH (CAVIN *et al.*, 1998).

### **3.6 Atividade anticolinesterásica**

A capacidade dos óleos voláteis de inibirem a atividade da enzima acetilcolinesterase foi avaliada através de teste bioautográfico em cromatografia em camada delgada, utilizando acetato de 1-naftila e sal *Fast Blue B* como reagentes.

Acetilcolinesterase foi dissolvida em solução tampão 0,05 M de Tris-HCl. Placas de CCD foram eluídas com o solvente adequado e após a migração das amostras, foram secas, nebulizadas com a solução estoque da enzima e incubadas a 37°C durante 20 minutos. Para detecção foram preparadas soluções de acetato de 1-naftila em etanol e de sal *Fast Blue B* em água destilada. Após a incubação das placas de CCD, as soluções de acetato de 1-naftila e *Fast Blue B* foram misturadas e nebulizadas sobre a placa, produzindo uma coloração violeta após 1-2 minutos (MARSTON *et al.*, 2002).

#### ***4. RESULTADOS E DISCUSSÃO***

---

---





Um total de 33 (trinta e três) espécies de *Eupatorium* foram coletadas no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos municípios de Guaíba (altitude média 23 m), Gravataí (26 m), Sapiranga (36 m), Caraá (38m), Taquara (57 m), Viamão (111 m), Santo Antônio da Patrulha (131 m), Morro Reuter (492 m), Gramado (830 m), Canela (837 m), São Francisco de Paula (907 m), São José das Missões (509 m), Cachoeira do Sul (26 m) e Paraíso do Sul (108 m). Foram coletadas adicionalmente duas espécies botanicamente muito próximas, pertencentes ao gênero *Symphyopappus*, nos municípios de Gravataí (26 m) e Imbé (16 m), conforme dados de coleta das Tabelas 4.1 e 4.2. Os óleos voláteis foram obtidos dessas plantas por hidrodestilação das inflorescências, das folhas, das inflorescências e folhas conjuntamente (para aquelas com escassa quantidade de material vegetal) e dos ramos, para algumas espécies. Os óleos foram submetidos a análise em cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas para identificação de seus componentes. As folhas e inflorescências das espécies coletadas foram também submetidas a análise em “espaço confinado” (*headspace*) para determinação de um perfil volátil para a maioria das coletas. Para facilidade de discussão dos resultados as espécies foram divididas e os resultados serão apresentados de acordo com as seções propostas por MATZENBACHER (1979). Foram contempladas as seções *Subimbricata*, *Cylindrocephala*, *Eximbricata*, *Dimorpholepis*, *Praxelis*, *Conoclinium*, *Campuloclinium* e *Hebeclinium*. Além disso, o gênero *Symphyopappus*, considerado por CABRERA (1989) como uma seção de *Eupatorium* também foi contemplado (Tabelas 4.1 e Tabela 4.2).



Figura 4.1: Locais de coleta das espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae) no Estado do Rio Grande do Sul. 1 (Guaíba), 2 (Gravataí), 3 (Sapiranga), 4 (Caraá), 5 (Taquara), 6 (Viamão), 7 (Santo Antônio da Patrulha), 8 (Morro Reuter), 9 (Gramado), 10 (Canela), 11 (São Francisco de Paula), 12 (São José das Missões), 13 (Cachoeira do Sul) e 14 (Paraíso do Sul). Mapa retirado de Google Earth®.

Tabela 4.1: Listagens das espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae) coletadas, com local e data de coleta, número de registro do Herbário ICN e observações de coleta.

	Nome da espécie	ICN	Local de coleta	Data de coleta	Observações - Hábitat	Observações - Biologia
	<i>Eupatorium inulifolium</i>	146978	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005	Arbusto com aprox. 2,0 m de altura, em orla de mata de Araucária. Comum.	Capítulos com flores brancas.
	<i>Eupatorium inulifolium</i>	147000	RS, Guaíba	11.04.2006	Subarbusto com aprox. 1,2 m de altura, em capoeira de beira de estrada. Frequente.	Capítulos com flores brancas.
	<i>Eupatorium inulifolium</i>	140077	RS, São Francisco de Paula, estrada para José Velho	12.04.2005	Na beira de estrada	
	<i>Eupatorium inulifolium</i>	140078	RS, Morungava, RS 20, Km 23	10.04.2005	Na beira de estrada	
	<i>Eupatorium inulifolium</i>	29397	Guaíba	29.03.2005	Arbusto de 1,0-2,5m de altura, ereto, densamente ramoso; ocorre principalmente em campos sujos e com frequência também nas margens de rodovias;	Capítulos numerosos e dispostos em corimbos, flores muito brancas;
Seção Subimbricata	<i>Eupatorium inulifolium</i>	148134	Morro Reuter	24.10.2005		
	<i>Eupatorium bupleurifolium</i>	146986	RS, Morro Reuter, BR 116 Walachai	24.10.2005		
	<i>Eupatorium bupleurifolium</i>	148928	RS, São Francisco de Paula, Várzea do Cedro	12.12.2005	Arbusto ca. 2-4 m de altura, em orla de Mata com Araucária.	Capítulos com flores rosadas.
	<i>Eupatorium tweedieanum</i>	146981	RS, Canela, Parque da Cachoeira	11.04.2005		
	<i>Eupatorium tweedieanum</i>	146994	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
	<i>Eupatorium spathulatum</i>	146972	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
	<i>Eupatorium spathulatum</i>	148828	RS, Gravataí	24.10.2005	Subarbusto com aprox. 1,0 m de altura, em campo seco.	Capítulos com flores róseo-lilás
	<i>Eupatorium polystachyum</i>	146980	RS, Canela, Parque da Cachoeira	11.04.2005		
	<i>Eupatorium polystachyum</i>	146975	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
	<i>Eupatorium tanacetifolium</i>	146987	RS, Gravataí, Morro Azul	24.10.2005		
	<i>Eupatorium ligulifolium</i>	146993	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
	<i>Eupatorium oblongifolium</i>	146998	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
	<i>Eupatorium tremulum</i>	106808	Guaíba	15.04.2005	Arbusto glabro, densamente ramoso, ca. 2,0-3,0m de altura; é planta ruderal e pode ser encontrada também em beira de estradas;	Capítulos pequenos, muito numerosos; flores violáceas.

	Nome da espécie	ICN	Local de coleta	Data de coleta	Observações - Hábitat	Observações - Biologia
Seção Subimbricata	<i>Eupatorium picturatum</i>	146979	RS, Canela, Parque da Cachoeira	11.04.2005		
	<i>Eupatorium buniifolium</i>	148829	RS, Guaíba	10.05.2005	Arbusto pequeno 1,0-1,5 m de altura, em campo seco.	Capítulos com aquênios maduros.
	<i>Eupatorium laetevirens</i>	146971	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
	<i>Eupatorium ascendens</i>	43609	Guaíba	15.04.2005	Erva perene, hemiptófito, com xilopódio pequeno, globoso, do qual nascem caules simples, ascendentes ou eretos de 30,0-40,0cm de altura; freqüente em campos de coxilha e campos pedregosos;	Capítulos laxos em cimeiras corimbiformes; flores rosadas ou azul-violeta.
	<i>Eupatorium serrulatum</i>	148131	Gravataí	24.10.2005		
	<i>Eupatorium lanigerum</i>	146996	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
	<i>Eupatorium ericoides</i>	146997	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
Seção Cylindrocephala	<i>Eupatorium laevigatum</i>	146973	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
	<i>Eupatorium laevigatum</i>	147001	RS, Guaíba	11.04.2006		
	<i>Eupatorium laevigatum</i>	140079	RS, Morungava, RS 20, Km 25	10.04.2005		
	<i>Eupatorium laevigatum</i>	140082	RS, Caraá, estrada para Varzinha.	12.04.2005		
	<i>Eupatorium laevigatum</i>	147001	Guaíba	15.04.2006	Arbusto perene, ca.1,0-3,0m de altura, ramoso e densamente folhoso; muito comum em campos sujos, beira de lavouras de cultivos e à margem de rodovias;	Capítulos numerosos dispostos em corimbos; flores azul-violáceas.
	<i>Eupatorium subhastatum</i>	146977	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
	<i>Eupatorium subhastatum</i>	146992	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
	<i>Eupatorium ivifolium</i>	146995	RS, Viamão, Águas Claras	20.03.2006		
	<i>Eupatorium ivifolium</i>	29322	Guaíba	29.03.2005	Subarbusto de 50,0-120,0cm de altura, caules eretos, ramosos; ocorre em solo úmido e de grandes variações edáficas e em lavouras fora de uso;	Capítulos muito numerosos dispostos em cimeiras corimbiformes; flores azuladas, violáceas ou purpúreas.
		<i>Eupatorium ivifolium</i>	150829	Guaíba	10.04.2007	Arbusto.

	Nome da espécie	ICN	Local de coleta	Data de coleta	Observações - Hábitat	Observações - Biologia
Seção <i>Cylindrocephala</i>	<i>Eupatorium pedunculatum</i>	140075	RS, entre Rolante e Riozinho, próximo a cascata do Chuvisqueiro	11.04.2005		
	<i>Eupatorium pedunculatum</i>	40567	Guaíba	29.03.2005	Subarbusto de 1,0-1,5m de altura, laxamente folhosos; cresce à beira de mato em áreas sombreadas;	Capítulos em corimbos laxos nos ramos laterais dos caules; flores de cor rosa forte a roxas ou azuis.
	<i>Eupatorium congestum</i>	146976	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
Seção <i>Eximbricata</i>	<i>Eupatorium rufescens</i>	146985	RS, Morro Reuter, BR 116	24.10.2005		
	<i>Eupatorium rufescens</i>	147006	RS, São José das Missões	20.12.2005		
	<i>Eupatorium grande</i>	146984	RS, São Francisco de Paula, RS 020 próximo ao trevo para Taquara	11.04.2005		
	<i>E. consanguineum</i>	148133	Morro Reuter	24.10.2005		
Seção <i>Dimorpholepis</i>	<i>Eupatorium gaudichaudianum</i>	146999	RS, Paraíso do Sul	20.03.2006		
	<i>Eupatorium gaudichaudianum</i>	146974	RS, Canela, Passo do Inferno	11.04.2005		
	<i>Eupatorium intermedium</i>	48999	Guaíba	29.04.2005	Arbusto ramoso de 1,0-2,5m de altura, densamente folhoso até próximo às inflorescências; ocorre em campos sujos de coxilhas, encostas e topos de morros;	Apresenta floradas intensas no final da primavera; flores brancas muito visitadas por <i>Apis mellifera</i> .
	<i>Eupatorium intermedium</i>	48999	Guaíba	28.10.2005	Arbusto ramoso de 1,0-2,5m de altura, densamente folhoso até próximo às inflorescências; ocorre em campos sujos de coxilhas, encostas e topos de morros;	Apresenta floradas intensas no final da primavera; flores brancas muito visitadas por <i>Apis mellifera</i> .
	<i>Eupatorium serratum</i>	146990	RS, Gravataí, Morungava	24.10.2005		
	<i>Eupatorium serratum</i>	148827	RS, Caxias do Sul, Criúva	11.04.2005	Arbusto pequeno com 1-2 m de altura em orla de barranco.	Flores brancas

	Nome da espécie	ICN	Local de coleta	Data de coleta	Observações - Hábitat	Observações - Biologia
	<i>Eupatorium nummularium</i>	147003	RS, Sapiranga	10.01.2006		
	<i>Eupatorium clematideum</i>	143475	Guaíba	15.05.2005	Erva anual ou perene com ramos ascendentes ou eretos, pouco ramificados de 30,0-60,0cm de altura; é planta adventícia no Rio Grande do Sul e ocorre somente na BR-116, km 308, no município de Guaíba; pode ser encontrada em pomares, porém não constitui um aspecto de erva daninha;	Flores azuis a violáceas.
	<i>Eupatorium clematideum</i>	150827	Guaíba	10.04.2007	Arbusto em encosta de morro.	Flores lilases.
Seção Conoclinium	<i>Eupatorium betoniciiforme</i>	146991	RS, Cachoeira do Sul, Várzea do Rio Irapuá	06.03.2006		
	<i>Eupatorium betoniciiforme</i>	146983	RS, São Francisco de Paula, Lageado Grande	11.04.2005		
Seção Campuloclinium	<i>Eupatorium macrocephalum</i>	147007	RS, Sapiranga	10.01.2006		
	<i>Eupatorium macrocephalum</i>	140076	RS, Rolante, localidade de Açoita Caval	10.04.2005		
	<i>Eupatorium macrocephalum</i>	29325	Guaíba	29.03.2005	Erva perene com caules eretos, pouco ramosos, densamente folhosos na parte inferior e quase áfilos na parte superior dos ramos, de 40,0-100,0cm de altura; é muito freqüente em margens de rodovias, terrenos baldios e lavouras abandonadas;	Capítulos grandes, poucos, laxamente corimbosos; flores muito numerosas, violáceas ou rosadas.
	<i>Eupatorium purpurascens</i>	146982	RS, São Francisco de Paula	11.04.2005		
Seção Hebeclinium	<i>Eupatorium cf. hecatanthum</i>	148826	RS, São Francisco de Paula, RS 020	11.04.2005	Subarbusto ereto com aprox. 0,3 m de altura, em banhado e campo úmido.	Com resto de capítulos secos ou com restos de capítulos de onde já foram dispersos os aquênios.

	Nome da espécie	ICN	Local de coleta	Data de coleta	Observações - Hábitat	Observações - Biologia
Gênero <i>Symphypappus</i>	<i>Symphypappus reticulatus</i>	146988	RS, Gravataí, Morro Azul	24.10.2005		
	<i>Symphypappus reticulatus</i>	148830	RS, Gravataí	10.05.2005	Subarbusto com aprox. 0,5 – 1,0 m de altura, em afloramento de arenito.	Material estéril
	<i>Symphypappus casarettoi</i>	148831	RS, Imbé	07.03.2005	Subarbusto com aproximadamente 1,0 m de altura. Ocorre entre dunas e solo arenoso.	Capítulos com flores rosadas.

As 60 coletas realizadas abrangeram 33 espécies do gênero *Eupatorium* e 2 do gênero *Symphyopappus*. A distribuição das espécies coletadas segundo as seções, bem como o número de espécies citadas na literatura encontra-se na Tabela 4.2. Para as seções *Conoclinium* e *Campuloclinium* foram coletadas espécies que não haviam sido descritas para o Estado por MATZENBACHER (1979).

Dada a extração de óleo volátil das folhas e flores, separadamente, em algumas coletas, assim como a coleta de uma mesma espécie em épocas e locais diferentes, obteve-se grande quantidade de amostras de óleo volátil para análise, num total de 90 óleos.

*Tabela*

4.2: *Distribuição da espécies coletadas.* Distribuição por gênero e seção, incluindo o número de espécies citadas na literatura, o número de espécies coletadas neste trabalho, o número de coletas realizadas (incluindo as recoletas de uma mesma espécie) e o número de amostras de óleo volátil obtidas para análise.

Gênero	Seção	nº espécies citadas	nº espécies coletadas	nº amostras obtidas
<i>Eupatorium</i>	<i>Subimbricata</i>	19	16	38
	<i>Cylindrocephala</i>	12	5	19
	<i>Eximbricata</i>	4	3	7
	<i>Dimorpholepis</i>	6	4	10
	<i>Praxelis</i>	3	1	3
	<i>Conoclinium</i>	3	1*	2
	<i>Campuloclinium</i>	1	2*	5
	<i>Hebeclinium</i>	1	1	1
	Total	49	33	85
<i>Symphyopappus</i>		4	2	5
	Total	53	35	90

\* Inclui uma espécie não citada anteriormente para o Estado.



#### 4.1 *Eupatorium* seção *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm.

Dentre as 49 espécies de *Eupatorium* citadas para o Rio Grande do Sul, 19 espécies pertencem à seção *Subimbricata* (MATZENBACHER, 1979). Dezesesseis das espécies dessa seção foram coletadas para análise do óleo volátil: *E. inulifolium*, *E. bupleurifolium*, *E. tweedieanum*, *E. spathulatum*, *E. polystachyum*, *E. tanacetifolium*, *E. ligulifolium*, *E. oblongifolium*, *E. tremulum*, *E. lanigerum*, *E. picturatum*, *E. laetevirens*, *E. buniifolium*, *E. ericoides*, *E. serrulatum* e *E. ascendens*. Dentre estas espécies, dez foram submetidas a análise em “espaço confinado” (*headspace*) para determinação de um perfil volátil (“*fingerprint*”) das folhas e inflorescências. Além disso, foram avaliadas suas atividades antioxidante e anticolinesterásica em cromatoplasmas. Foi realizada a avaliação da atividade antioxidante de 35 amostras de óleos voláteis obtidas de 13 espécies dessa seção, pelo método de DPPH; a avaliação da atividade anticolinesterásica foi realizada para 11 amostras de óleo volátil obtidos de 8 das espécies coletadas.

Dentre as dezesseis espécies analisadas nessa seção encontram-se ervas, subarbustos e arbustos, variando de 20 a 300 cm de altura, com flores brancas, branco-esverdeadas, rosadas, lilases, rosa-carmim ou violáceas, cujo período de floração inicia-se em setembro, para as espécies mais “precoces”, finalizando-se em maio para as mais tardias. As coletas foram realizadas nos municípios metropolitanos de Guaíba, Gravataí, Viamão, Santo Antônio da Patrulha e Morro Reuter, e nos municípios serranos de Canela e São Francisco de Paula.

##### 4.1.1 Óleo volátil

O óleo volátil foi obtido por hidrodestilação das folhas e inflorescências, separadamente quando coletadas em quantidade suficiente, ou juntas, quando em pouca quantidade. Também foi extraído o óleo volátil dos ramos de *E. lanigerum*, para comparação de sua composição química. O material vegetal foi hidrodestilado em aparelho tipo Clevenger durante 4 horas e o óleo obtido foi armazenado sob refrigeração até o momento das análises cromatográficas. O rendimento dos óleos voláteis foi calculado em função do volume de óleo obtido e do peso de material vegetal extraído. Na Tabela 4.3 encontram-se as datas e locais de coleta, bem como

a parte do vegetal da qual o óleo volátil foi extraído e o rendimento de óleo volátil obtido para as 17 espécies coletadas da seção Subimbricata.

Tabela 4.3: Dados de coleta e extração do óleo volátil de espécies de *Eupatorium sect. Subimbricata* (DC.) O.Hoffm. com data e local de coleta, parte do vegetal extraída e rendimento do óleo volátil.

	ICN	Data	Local de coleta	ff	i	f	r	V (ml)	R (%)
<i>E. inulifolium</i>	146978	Abr/05	Canela	x				0,7	0,4
<i>E. inulifolium</i>	140078	Abr/05	Gravataí	x				0,2	0,1
<i>E. inulifolium</i>	140077	Abr/05	São Francisco de Paula	x				0,1	0,1
<i>E. inulifolium</i>	29397	Mar/05	Guaíba	x				0,4	0,2
<i>E. inulifolium</i>	147000	Abr/06	Guaíba		x			0,1	0,1
<i>E. inulifolium</i>	147000	Abr/06	Guaíba			x		0,2	0,2
<i>E. inulifolium</i>	148134	Out/05	Morro Reuter			x		<0,05	<0,04
<i>E. inulifolium</i>	148134	Out/05	Morro Reuter		x			<0,05	<0,25
<i>E. bupleurifolium</i>	148928	Out/05	São Francisco de Paula	x				0,4	0,4
<i>E. bupleurifolium</i>	148928	Out/05	São Francisco de Paula			x		0,3	0,5
<i>E. bupleurifolium</i>	146986	Out/05	Morro Reuter	x				0,2	0,2
<i>E. bupleurifolium</i>	146986	Out/05	Morro Reuter			x		0,3	0,4
<i>E. tweedieanum</i>	146981	Abr/05	Canela	x				0,6	1,6
<i>E. tweedieanum</i>	146981	Abr/05	Canela			x		2,1	2,3
<i>E. tweedieanum</i>	146994	Mar/06	Viamão	x				tr	tr
<i>E. tweedieanum</i>	146994	Mar/06	Viamão			x		0,4	0,7
<i>E. spathulatum</i>	146972	Abr/05	Canela		x			0,5	0,5
<i>E. spathulatum</i>	146972	Abr/05	Canela			x		0,6	0,6
<i>E. spathulatum</i>	148828	Out/05	Gravataí	x				0,1	0,4
<i>E. polystachyum</i>	146980	Abr/05	Canela		x			2,3	0,9
<i>E. polystachyum</i>	146980	Abr/05	Canela			x		4,1	1,6
<i>E. polystachyum</i>	146975	Abr/05	Canela	x				0,4	0,3
<i>E. tanacetifolium</i>	146987	Out/05	Gravataí		x			0,2	0,7
<i>E. tanacetifolium</i>	146987	Out/05	Gravataí			x		<0,05	<0,06
<i>E. ligulifolium</i>	146993	Mar/06	Viamão			x		0,2	0,4
<i>E. ligulifolium</i>	146993	Mar/06	Viamão	x				0,3	0,5
<i>E. oblongifolium</i>	146998	Mar/06	Viamão	x				0,3	0,6
<i>E. oblongifolium</i>	146998	Mar/06	Viamão			x		0,6	0,6
<i>E. tremulum</i>	106808	Abr/05	Guaíba		x			0,9	0,7
<i>E. tremulum</i>	106808	Abr/05	Guaíba			x		0,7	1,0
<i>E. lanigerum</i>	146996	Mar/06	Viamão	x				0,05	0,03
<i>E. lanigerum</i>	146996	Mar/06	Viamão				x	<0,05	<0,09
<i>E. picturatum</i>	146979	Abr/05	Canela		x			1,6	0,9
<i>E. laetevirens</i>	146971	Abr/05	Canela		x			0,3	0,2

Continua Tabela 4.3

<i>E. buniifolium</i>	148829	Mai/05	Guaíba	x		1,5	0,5
<i>E. ericoides</i>	146997	Mar/06	Viamão		x	1,2	0,7
<i>E. cf. serrulatum</i>	148131	Out/05	Gravataí		x	0,9	0,5
<i>E. ascendens</i>	43609	Abr/05	Guaíba	x		0,05	0,5

ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; r: ramos; V(ml): volume de óleo obtido; R (%): rendimento de óleo volátil.

O teor de óleo volátil foi bastante diferenciado, variando de 0,1% para as inflorescências de *E. inulifolium* coletadas em Guaíba/06 e chegando a 2,3% para as folhas de *E. tweedieanum* coletadas em Canela/05. Também houve variação no teor de óleo volátil para uma mesma espécie entre diferentes épocas ou locais de coleta, como observado para *E. inulifolium*; o mesmo ocorre entre diferentes coletas de uma espécie em um único local, como observado para *E. polystachyum*, cujo teor de óleo volátil variou de 0,3% para folhas/inflorescências a até 1,6% para as folhas de duas coletas realizadas em Canela (Abr/05).

#### 4.1.1.1 *Eupatorium inulifolium* Kunth

*E. inulifolium* (= *Austroeupatorium inulifolium* e *Austroeupatorium entreriense* – nome vulgar: Cambará) é uma espécie nativa na América do Sul e América Central, também encontrada como invasora no Sul da Ásia, de hábito arbustivo, densamente ramosa, que atinge até 2,0 m de altura e floresce desde outubro até maio, no Sul do Brasil (Matzenbacher, 1979). Em Sumatra (Indonésia) esta é uma das principais espécies utilizadas como cobertura vegetal para o solo ([www.canricastell.net/documentos/Tropical.pdf](http://www.canricastell.net/documentos/Tropical.pdf)), tendo grande importância agroeconômica devido ao seu crescimento agressivo e grande acúmulo de biomassa, o que proporciona aumento da fertilidade do solo; além da utilização como cobertura para o solo, esse vegetal pode ser utilizado no controle de outras plantas daninhas ([www.metafro.be/leisa/2000/05-06.pdf](http://www.metafro.be/leisa/2000/05-06.pdf)) (FRIDAY *et al.*, 1999). Entretanto, o mesmo potencial de crescimento que a torna tão útil na agricultura indonésia levou o governo australiano a proibir a entrada e o cultivo dessa espécie em seu território ([wwf.org.au/publications](http://wwf.org.au/publications)). Suas folhas podem causar reações

hepatotóxicas quando consumidas por ruminantes e roedores, entretanto, as substâncias químicas responsáveis por tais reações não foram identificadas (SHARMA, 1998).

Neste estudo, foram realizadas seis coletas de *E. inulifolium* em cinco locais diferentes (São Francisco de Paula, nos Campos de Cima da Serra, Canela, na Encosta Superior do Nordeste, Morro Reuter, na Encosta Inferior do Nordeste e Guaíba e Gravataí, na Depressão Central), todas em plena floração. O teor de óleo volátil entre as diferentes coletas variou de 0,1 a 0,4%, sendo o maior aquele obtido da planta coletada no município de Canela em Abr/05.

Todas as plantas das coletas realizadas em 2005 apresentaram percentagens muito baixas de monoterpenos, com valores maiores para sesquiterpenos hidrocarbonados ou oxigenados, ou ainda, compostos alifáticos, dependendo do local de coleta e do órgão analisado. Foram detectados 83 compostos, totalizando de 89,7 a 99,8% do total dos óleos (Tabela 4.1). As inflorescências/folhas das coletas realizadas nos municípios de São Francisco de Paula e Gravataí, RS (Abr/05) apresentaram óleo com composição química semelhante, no qual se destacam os sesquiterpenos oxigenados (79,4 e 81,9%, respectivamente), sendo majoritários o espatulenol (49,9 e 50,5%), o óxido de cariofileno (26,8 e 6,5%) e o óxido de humuleno I (3,1 e 10,7%). A coleta realizada em Canela, RS (Abr/05) apresentou perfil diferenciado, pois, além de percentagens maiores dos sesquiterpenos hidrocarbonados (58,7%)  $\beta$ -cariofileno (11,0%), germacreno D (19,6%) e biciclogermacreno (22,1%), apresentou dois sesquiterpenóides não identificados (NI2 e NI5).

Também foram realizadas duas coletas dessa espécie no município de Guaíba (Mar/05 e Abr/06). Da primeira delas foi extraído óleo volátil das folhas e inflorescências conjuntamente, enquanto da segunda, o óleo volátil foi obtido de cada um desses órgãos separadamente. O óleo da primeira coleta apresentou predominância de sesquiterpenos hidrocarbonados (75,2%), sendo majoritários o  $\beta$ -cariofileno (23,35%), o germacreno D (12,3%) e o biciclogermacreno (32,8%). As inflorescências e folhas da segunda coleta realizada nesse mesmo município no ano seguinte forneceram óleos com percentagens maiores de monoterpenos

hidrocarbonados (43,2 e 29,8%) quando comparadas com as coletas anteriores. Na fração monoterpênica o  $\beta$ -pineno (18,9 e 12,9%) e o mirceno (7,4 e 2,4%) se destacaram, enquanto que na fração sesquiterpênica o  $\beta$ -cariofileno (11,0 e 15,3%), o germacreno D (13,8 e 17,3%) e o biciclogermacreno (18,4 e 26,5%) foram os compostos majoritários.

A planta da coleta realizada no município de Morro Reuter apresentou óleo volátil com perfil bem diferenciado. Os óleos das folhas e das inflorescências apresentam composição química qualitativa e quantitativamente diferentes. Enquanto o óleo volátil das inflorescências era composto principalmente por substâncias de origem alifática (75,8%), o óleo das folhas apresentou maior proporção de compostos sesquiterpênicos (78,9%). Nas flores foram majoritários os hidrocarbonetos alifáticos N-tricosano (15,1%), N-pentacosano (13,2%), N-heptacosano (13,2%) e N-nonacosano (25,9%), enquanto nas folhas o sesquiterpeno hidrocarbonado  $\beta$ -cariofileno (39,2%), o sesquiterpeno oxigenado espatulenol (19,0%) e o aldeído alifático nonadecanal (8,4%) foram os compostos mais abundantes.

A presença de maiores concentrações de  $\beta$ -pineno e mirceno na coleta realizada em Guaíba (Abr/06) e a predominância de compostos alifáticos no óleo volátil das inflorescências da coleta de Morro Reuter (out/05) diferenciam essas duas coletas das demais; e ainda, a presença de compostos não identificados na fração sesquiterpênica do óleo da espécie coletada no município de Canela justificaria estudos posteriores com plantas desse local.

Os óleos voláteis obtidos dessa espécie nas coletas de Guaíba, São Francisco de Paula e Gravataí, apesar das grandes diferenças quantitativas, guardam certa semelhança entre si, pois os principais sesquiterpenos oxigenados identificados nas duas últimas podem ser originados pela oxidação dos sesquiterpenos hidrocarbonados majoritários no óleo volátil das plantas coletadas em Guaíba. Segundo NJOROGE e colaboradores (2003) a estocagem do óleo de *Citrus aurantium* L. var. *cyathifera* à temperatura ambiente promove o aparecimento de muitos artefatos, tais como produtos de oxidação, abertura de anel ou rearranjo. O germacreno D pode se converter em cadinenos, muurolenos e elemenos,

enquanto o biciclogermacreno pode se converter em sesquiterpenos tricíclicos (aromadendreno, *allo*-aromadendreno e viridifloreno), os quais podem ainda oxidar-se, originando espatulenol, globulol, epiglobulol e cadinóis. Essas mesmas reações podem ocorrer em meios ácidos e sob elevadas temperaturas, como as encontradas no ambiente de extração por hidrodestilação em Clevenger (BULOW e KÖNIG, 2000), entretanto, todos os oito óleos voláteis obtidos de *E. inulifolium*, assim como os demais óleos obtidos no decorrer deste trabalho, foram submetidos ao mesmo processamento, sendo obtidos de “plantas congeladas” e estocados sob refrigeração, o que torna bastante improvável que as diferenças observadas na composição sejam artefatos oriundos do manuseio da planta ou do óleo volátil.

Tabela 4.4: Composição química dos óleos voláteis de diferentes coletas de *Eupatorium inulifolium* Kunth.

IR	Componente	Can/05	SFP/05	Gra/05	MR/05		Gua/05	Gua/06	
		ff	ff	ff	i	f	ff	i	f
896	triciclano								0,1
901	$\alpha$ -tujeno	tr	tr		tr		0,1	2,5	2,5
915	$\alpha$ -pineno	0,1	tr	tr	0,2	tr	0,5	4,4	4,1
926	$\alpha$ -fencheno								tr
966	sabineno	tr	tr		tr	tr	0,3	2,2	1,8
969	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	0,3	0,4	0,2	0,3	0,2	2,0	<b>18,9</b>	<b>12,9</b>
983	mirceno	1,0	tr		0,5	tr	5,4	7,4	2,4
984	N-decano				0,1				
992	$\delta$ -2-careno		tr						
995	$\alpha$ -felandreno	1,1			tr	tr	tr		tr
1007	$\alpha$ -terpineno						tr		
1015	$p$ -cimeno	0,2	tr		tr	0,2	tr	0,3	tr
1020	limoneno	0,5	1	0,6	2,4	4,2	1,8	6,3	4,3
1031	(Z)- $\beta$ -ocimeno				0,2		tr		tr
1042	(E)- $\beta$ -ocimeno	tr					1,3	1,4	1,8
1051	$\gamma$ -terpineno						tr		tr
1080	terpinoleno						0,1		tr
1092	linalol					tr	tr		
1168	terpinen-4-ol						tr		
1181	$\alpha$ -terpineol						tr		
1273	acetato de bornila						tr		
1324	$\delta$ -elemeno	tr		tr		tr	0,8		tr
1335	$\alpha$ -cubebeno		tr	1,3					tr
1362	$\alpha$ -copaeno	1,2			tr	2,7	0,4		
1370	$\beta$ -bourboneno	0,1	tr	0,6		0,8	tr		tr
1375	$\beta$ -cubebeno	0,1		tr		tr	tr		tr
1378	$\beta$ -elemeno	0,4	tr	tr		0,5	0,7	0,3	0,3
1390	isocariofileno					tr			
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>11,0</b>	tr	<b>9,1</b>	1,6	<b>39,2</b>	<b>23,3</b>	<b>11,0</b>	<b>15,3</b>
1412	$\beta$ -gurjuneno						tr		
1422	aromadendreno						0,1		
1423	$\alpha$ -guaiano					tr			
1437	$\alpha$ -humuleno	0,6		1,1	tr	2,3	2,3	1,5	1,9
1440	deidro-aromadendreno					tr			
1441	<i>allo</i> -aromadendreno						0,1		

Tabela 4.4: Cont.

1445	<i>cis</i> -muurolo-4(14),5-dieno			tr			tr		
1452	drima-7,9(11)-dieno	0,1							
1456	cadina-1(6),4-dieno			tr					
1460	$\gamma$ -muurolo					tr	tr		
<b>1464</b>	<b>germacreno D</b>	<b>19,6</b>			2,0	2,7	<b>12,3</b>	<b>13,8</b>	<b>17,3</b>
1468	<i>ar</i> -curcumeno								
1468	$\beta$ -selineno	0,9					0,2		0,2
1470	$\beta$ -ionona					tr			
1473	<i>epi</i> -biciclo-sesquifelandreno							tr	
1475	$\alpha$ -selineno			0,2					
<b>1478</b>	<b>biciclogermacreno</b>	<b>22,1</b>			6,1	2,2	<b>32,8</b>	<b>18,4</b>	<b>26,5</b>
1481	$\alpha$ -muuruleno	tr		0,4	tr	0,3	tr		tr
1485	germacreno A	0,8			tr	0,3	0,6	0,5	0,4
1489	$\beta$ -bisaboleno	tr				tr	tr		
1494	$\gamma$ -cadineno	tr	tr			tr	0,5		tr
1503	$\delta$ -cadineno	1,2	0,6	1,9	0,1	0,3	0,8		0,1
1512	<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno							0,3	
1519	$\alpha$ -cadineno					tr	tr		
1524	$\alpha$ -calacoreno		tr			tr	tr		
1534	elemol	0,2							
1540	germacreno B	2,3					0,3		
1545	NI1	3,2							
1551	$\beta$ -calacoreno		tr				tr		
1552	( <i>E</i> )-nerolidol					0,4			
1562	germacreno D-4-ol	0,4					tr		
1562	germacreno D-4-ol/espátulenol				1,6			7,6	5,5
1564	<b>espátulenol</b>	1,0	<b>50,5</b>	<b>44,9</b>			<b>19,0</b>	4,9	
1569	<b>óxido de cariofileno</b>		<b>6,5</b>	<b>26,8</b>				1,3	
1571	NI2	<b>7,2</b>							
1570	óxido de cariofileno/globulol					tr	6,2		2,8
1571	globulol		5,5					0,9	1,7
1578	<i>epi</i> -globulol				0,2	tr	tr		
1581	epóxido de humuleno I		10,7	3,1					
1597	epóxido de humuleno II		tr	1,2		0,4	tr		
1619	1- <i>epi</i> -cubenol						tr		
1630	iso-espátulenol	0,2		0,5	tr	0,6			tr
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolo	0,3				0,1	tr		tr
1647	$\alpha$ -cadinol	0,7	1,8	2,9		1,0	1,0	0,7	0,6
1663	cadaleno						tr		
1700	NI3		4,0						
1730	NI4		2,9						
1731	NI5	<b>13,0</b>							
1963	ácido hexadecanóico		2,5						
2083	linoleato de metila				0,2				
2107	nonadecanal				2,1	<b>8,4</b>			
2143	acetato de fitila					0,2			
-	N-tricosano		4,8		<b>15,1</b>	0,3			
-	N-tetracosano		tr		1,9	tr			
-	N-pentacosano		1,1		<b>13,2</b>	tr			
-	N-heptacosano				<b>13,2</b>				
-	N-octacosano				-				
-	N-nonacosano				<b>25,9</b>				

Tabela 4.4: Cont.

-	N-triacontano								
-	N-hentriacontano				4,1				
	Total identificado	89,7	92,3	94,9	91,0	92,2	94,9	99,8	99,8
	MH	3,2	1,4	0,7	3,6	4,5	11,4	<b>43,2</b>	<b>29,8</b>
	MO						tr		
	SH	<b>58,7</b>	0,6	14,7	9,9	<b>51,2</b>	<b>75,2</b>	<b>45,4</b>	<b>62,1</b>
	SO	28,3	<b>81,9</b>	<b>79,4</b>	1,8	<b>27,7</b>	8,4	11,2	7,8
	AL		8,4		<b>75,8</b>	8,8			

IR: Índice de Retenção em coluna DB5; Can: Canela; SFP: São Francisco Paula; Gra: Gravataí; MR: Morro Reuter; Gua: Guaíba; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; SFP/05: Coletado em São Francisco de Paula, em abril de 2005; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados; NI: compostos não identificados. **NI1** [m/z (int. rel.): 41(100) 55(47) 79(24) 91(53) 105(47) 109(33) 133(60) 148(21) 161(40) 189(62) 204(52)]; **NI2** [m/z (int. rel.): 43(100) 59(94) 77(18) 91(40) 105(29) 115(18) 131(96) 145(51) 159(25) 187(60) 202(34) 220(5)]; **NI3** [m/z (int. rel.): 43(100) 55(15) 69(9) 91(10) 107(9) 119(5) 135(14) 153(9) 175(5) 236(1)]; **NI4** [m/z (rel int.): 43(100) 55(13) 71(10) 93(11) 107(9) 121(9) 135(18) 153(17) 177(5) 238(1)]; **NI5**: [m/z (int. rel.): 41(72) 55(20) 77(17) 91(31) 105(23) 115(17) 131(100) 145(53) 159(27) 187(74) 202(37) 220(6)].

Essas diferenças poderiam ser, entretanto, devidas às condições edafoclimáticas sob as quais as plantas se desenvolveram. Tais condições incluem o solo, responsável pela nutrição e por alguns compostos tóxicos a que as plantas estão submetidas, a umidade e a insolação. Também variam bastante os teores de umidade em cada solo, o que, juntamente com a altitude pode, teoricamente, influenciar o conteúdo e a composição química do óleo volátil.

Devido às diferentes combinações de clima, relevo, umidade, temperatura e vegetação, os solos do Rio Grande do Sul podem apresentar grande variabilidade, com propriedades físicas e químicas muito distintas. De modo geral, em **São Francisco de Paula** (Campos de Cima da Serra) ocorrem solos muito ácidos, pobres em fósforo, com elevado teor de alumínio, composto que é tóxico para as plantas, mas que também contém elevados teores de matéria orgânica. Em **Canela** (Encosta Inferior do Nordeste) os solos são bem mais complexos, coexistindo tipos diferentes de solo em função do relevo, o que dificulta saber qual o tipo presente no local da coleta. Entretanto, são características comuns a alguns deles a elevada acidez e o elevado conteúdo de alumínio e a outros o elevado teor de material orgânico, a fertilidade química e a elevada capacidade de troca catiônica. Esse último conjunto de características também se aplica aos solos encontrados em **Morro Reuter** (Encosta Inferior do Nordeste). Em **Gravataí** (Depressão Central)



ocorrem solos com baixa fertilidade natural e baixa saturação por bases ou, dependendo do local, solos com elevada saturação por bases. Em **Guaíba** (Depressão Central) ocorrem solos com elevados teores de ferro e baixa saturação por bases, além de solos com elevada saturação por bases e excesso de sódio (STRECK *et al.*, 2002)<sup>1</sup>. Dada a grande complexidade dos solos encontrados no Estado seria necessário determinar com a exatidão o tipo de solo em cada local de coleta de *E. inulifolium* para correlacionar essa variável com as diferenças quali e quantitativas observadas entre os óleos voláteis obtidos.

A influência do tipo de solo sobre o conteúdo e a composição química de óleos voláteis foi avaliada em algumas espécies vegetais. Estudos com diferentes espécimes de *Copaifera multijuga* na região amazônica mostraram que, nessa espécie, a produção de sesquiterpenos foliares não varia em função da composição química mineral e orgânica do solo (NASCIMENTO *et al.*, 1986). Mais recentemente, estudos com uma planta da mesma família de *Eupatorium*, mas pertencente a outra tribo, *Achillea millefolium* (Anthemideae, Asteraceae), demonstraram que para essa espécie existe correlação positiva entre a proporção de macronutrientes no solo e o teor de óleo volátil nas folhas e inflorescências da planta, mas não entre o tipo de solo e a composição química do óleo volátil (GUDAITYTĖ *et al.*, 2007). A salinidade e a sodicidade do solo, como observada em Guaíba por exemplo, apresentou influência negativa crítica sobre o teor de óleo volátil de várias espécies de *Cymbopogon* (SANGWAN *et al.*, 2001). Além das características químicas, características físicas do solo também podem influenciar o desenvolvimento das plantas. Por exemplo, solos arenosos e soltos (como os encontrados em Gravataí) aquecem mais facilmente e permitem um crescimento mais rápido do que em solos argilosos e pesados, antecipando assim as fenofases (BANDONI, 2000). Entretanto, para *E. inulifolium*, não foi possível estabelecer uma correlação direta entre o rendimento em óleo volátil, sua composição química e o tipo de solo, possivelmente pela influência conjunta de outros fatores.

---

<sup>1</sup> Tipos de solo segundo Streck *et al.* (2003): **São Francisco de Paula** - Cambissolos Húmicos aluminicos; **Canela**: associação 1 - Neossolos Litólicos distróficos, Cambissolos Húmicos aluminicos e Alissolos Hipocrômicos órticos; associação 2 - Chernossolos Argilúvicos férricos e Neossolos Litólicos eutróficos chernossólicos; **Morro Reuter** - Chernossolos Argilúvicos férricos e Neossolos Litólicos eutróficos chernossólicos; **Gravataí**: Argissolos Vermelhos distróficos e Planossolos Hidromórficos eutróficos arênicos; **Guaíba**: Argilossolos Vermelhos e Vermelho-amarelos distróficos e Planossolos Hidromórficos eutróficos arênicos e solódicos.

Dentre esses fatores, o clima tem grande importância. Na maior parte do Estado ocorre clima do tipo Cfa, subtropical úmido sem estiagem, exceto nos locais com altitude acima de 600 m onde ocorre clima Cfb, temperado úmido sem estiagem. Existem diferenças quanto às temperaturas médias nas regiões, sendo mais elevadas nas regiões Central e Oeste, e mais baixas na serra e encostas. Quanto às chuvas, no Estado do Rio Grande do Sul ocorre aumento da taxa de precipitação anual quando se desloca de Oeste para Leste, sendo os maiores índices encontrados nos Campos de Cima da Serra (São Francisco de Paula) e no Planalto Médio, com uma variação considerável quando comparado com a Depressão Central (BRASIL, 1973). Diferenças na temperatura média, na insolação, na umidade e na pluviosidade podem acarretar diferenças nas fenofases (adiantamento ou retardo), correlacionando-se tais fatores com as variações naturais do conteúdo volátil nos diferentes estádios vegetativos. Assim, plantas que cresceram sob insolação abundante podem atingir a maturação antes de plantas com a mesma idade, mas que se desenvolveram sob condições mais frias, com menos luminosidade. Como consequência disso, em uma mesma época, uma mesma espécie pode ser coletada em locais diferentes, apresentando-se em fenofases diferentes, resultando daí uma composição química diferente no óleo volátil, por exemplo, uma vez que muitas espécies apresentam variações fenológicas no seu teor e composição química (BANDONI, 2000). Para *Lavandula latifolia* foi observado aumento do teor de óleo volátil durante a floração e frutificação e, paralelamente, variação da composição percentual do óleo com aumento do percentual de linalol e diminuição da cânfora e 1,8-cineol (SALIDO *et al.*, 2004). Em *Asteraceae*, *Porophyllum ruderale* apresenta variações no teor e na composição química do óleo volátil das folhas a partir do início da floração, bem como dos botões florais e flores durante a floração. A principal alteração é a diminuição do teor de óleo das folhas quando inicia a floração (FONSCECA *et al.*, 2006). O fotoperíodo também parece influenciar o rendimento em óleo volátil e a proporção dos seus componentes. É o caso, por exemplo, de espécies de menta, em que fotoperíodos curtos aumentam a produção de óleo volátil por unidade de massa do vegetal (FAROOQI *et al.*, 1999). O fotoperíodo parece estar envolvido também na regulação da rota metabólica dos monoterpenos, ativando a rota redutora mentona-mentol em folhas jovens de menta sob fotoperíodo longo (CLARK *et al.*, 1980), e aumentando a

produção de citral em *Cymbopogon khasianus* sob fotoperíodo curto ou escuridão (VARMA *et al.*, 1985). Para muitas espécies vegetais foram descritas variações significativas do conteúdo de óleo volátil e da sua composição química em plantas (ou órgãos) jovens, durante a floração e durante a senescência. Entretanto, sem a análise do solo e sem dados sobre a incidência de luz solar e de chuvas no período de desenvolvimento das plantas coletadas não é possível atribuir as variações observadas na composição do óleo volátil de *E. inulifolium* às diferenças climáticas entre as regiões de coleta.

*Cymbopogon nardus* e *Cymbopogon pendulus* (Poaceae) apresentaram aumento do conteúdo de óleo volátil por grama de planta fresca após 90 dias submetidos a seca moderada; já o efeito sobre o rendimento por planta foi oposto (SINGH-SANGWAN *et al.*, 1994). O efeito da seca sobre a produção de óleos voláteis, entretanto, é dependente da espécie ou do genótipo em questão, podendo variar com a severidade da seca a que a planta está submetida, causando tanto aumento quanto decréscimo do teor de óleo volátil (SANGWAN *et al.*, 2001). A seca também influencia a produção de óleos voláteis em *Cymbopogon martinii* e *C. winterianus*, diminuindo o rendimento em óleo volátil por planta (devido a menor produção de biomassa) e alterando a proporção dos componentes de uma mesma rota metabólica (geraniol, acetato de geranila, citronelol e citronelal, por exemplo) provavelmente pelo efeito da falta de água sobre as enzimas dessas rotas (FATIMA *et al.*, 2002).

A sazonalidade também têm influência marcante sobre a produção de óleo volátil em muitas espécies. Vários autores demonstraram que o rendimento de óleo volátil é maior nos meses quentes para *Salvia officinalis*, *Artemisia dracunculus* e *Eucalyptus citriodora* (SANGWAN *et al.*, 2001). Um estudo sazonal com *Artemisia campestris* (Asteraceae) demonstrou que o teor de óleo volátil dessa espécie também é maior no verão do que no inverno. Além disso, o mesmo estudo evidenciou uma maior percentagem de compostos monoterpênicos nos meses frios, enquanto nos meses quentes aumenta a percentagem de sesquiterpenos, especialmente os oxigenados espatulenol e  $\beta$ -eudesmol (AKROUT *et al.*, 2003).

Além dos fatores abióticos como solo, temperatura, luminosidade e umidade, fatores genéticos também têm grande influência sobre o teor e a composição química de óleo volátil. Em *Artemisia annua* (Asteraceae) a composição química do óleo volátil está sob rígido controle genético, como demonstrado após o cultivo sob condições controladas de sementes oriundas de diferentes locais: as respectivas plantas apresentaram óleo volátil muito distinto, característico de cada genotipo (HOLM *et al.*, 1997). Estudo semelhante com *Achillea millefolium* mostrou resultados parecidos (GUDAITYTĖ *et al.*, 2007).

A determinação da extensão da influência das condições climáticas e dos fatores genéticos e fenofásicos sobre o teor e a composição química do óleo volátil de *E. inulifolium* poderia ser determinada através do cultivo, sob condições controladas, de espécimes oriundos de diferentes locais.

Estudos biológicos com essa espécie também foram realizados na Bolívia. O extrato hexânico e um germacranolídeo isolado de seu extrato diclorometano (neurolenina B) apresentaram atividade antiprotozoária contra a cepa FCB-2 de *Plasmodium falciparum* (LANS, 2007; PABÓN *et al.*, 2004; BLAIR-TRUJILLO *et al.*, 2002). Outros trabalhos tratam de sua importância ambiental. Em Trinidad, as flores desta mesma espécie vegetal abrigam borboletas do gênero *Panoquina* (COCK, 2003). No Rio Grande do Sul, *E. inulifolium*, juntamente com outras Asteráceas é indicado como um hospedeiro de dípteros minadores, especialmente do gênero *Calycomyza*, os quais poderiam servir como hospedeiros a parasitóides de *Phyllocnistis citrella* Stainton, um dos principais dípteros minadores de citros (dos SANTOS *et al.*, 2006).

Muitos insetos relacionam-se com plantas pela mediação de substâncias químicas voláteis, especialmente terpenos. Dentre estes, o germacreno D exerce papel importante, por exemplo, entre as mariposas (*Heliothis* sp. e *Helicoverpa* sp., Ordem *Lepidoptera*) que possuem receptores olfativos com maior sensibilidade ao (-)-germacreno D, o enantiômero mais abundante desse composto em plantas superiores (RØSTELIEN *et al.*, 2000; STRANDEN *et al.*, 2003). Entre estas mariposas, o germacreno D liberado pelas plantas hospedeiras atua como um atrator e/ou estimulante da oviposição em folhas de *Nicotiana tabacum* e outras

plantas (STRANDEN *et al.*, 2002). Outra mariposa (*Spodoptera* sp.) é capaz de distinguir componentes voláteis constitutivos das folhas do algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), como o  $\beta$ -cariofileno e o  $\alpha$ -humuleno, daqueles compostos produzidos por essa planta em resposta à herbivoria, como o linalol e homoterpenos, evitando assim a oviposição em plantas já infestadas (JÖNSON e ANDERSON, 1999). Da mesma forma, a interação de diferentes insetos da Ordem *Coleoptera* com plantas também se dá pela mediação de compostos químicos voláteis terpenoídicos produzidos de modo semelhante (MEINERS *et al.*, 2005). É possível então, que seja o *bouquet* liberado por *E. inulifolium* que medeia a atração ou repelência de diferentes insetos (*Lepidoptera* e *Diptera*) que interagem com essa espécie.

#### **4.1.1.2 *Eupatorium bupleurifolium* DC.**

*Eupatorium bupleurifolium* (= *Campovassouria bupleurifolia* – nome vulgar: vassoura-do-campo) é um arbusto de 1,0 a 2,5 m de altura, ramoso, nativo no Sul do Brasil, Bolívia, Paraguai, Norte da Argentina e Uruguai, cujo período de floração vai de outubro a fevereiro. Essa espécie melífera é bastante visitada por abelhas (Hymenoptera, Apidae) (GONÇALVES e MELO, 2005) e tem uso medicinal na Argentina (HILGERT e GIL, 2006). Em 1983, BOHLMANN e colaboradores isolaram uma lactona sesquiterpênica do tipo guaiagrazielólídeo de extratos dessa planta.

Foram realizadas duas coletas de *E. bupleurifolium*, em São Francisco de Paula e Morro Reuter, em outubro de 2005, durante o período de floração. O teor de óleo volátil variou de 0,2 a 0,4%. Foram identificadas no total 60 componentes no óleo das folhas e inflorescências das duas coletas (91,1 a 97,9% do total). Os óleos voláteis das inflorescências e das folhas da primeira coleta se caracterizam pela predominância de sesquiterpenos oxigenados (74,6 e 64,1%), dentre eles espatulenol (30,5 e 28,2%), óxido de cariofileno/globulol (20,1 e 14,8%) e epiglobulol (14,1 e 15,4%). A segunda coleta apresentou percentagens equilibradas de monoterpenos e sesquiterpenos nas folhas (49,6 e 47,5%) com predominância de sesquiterpenos nas inflorescências (68,4%). A fração monoterpênica é composta quase exclusivamente de compostos hidrocarbonados, dentre os quais  $\alpha$ -pineno (12,1 e 15,5%), sabineno (5,1 e 8,9%),  $\beta$ -pineno (4,8 e 7,2%) e limoneno (3,4 e

8,1%). Na fração sesquiterpênica há maior equilíbrio entre o teor de compostos hidrocarbonados e de compostos oxigenados (37,1 e 31,3% nas inflorescências; 27,2 e 20,3% nas folhas). Os compostos majoritários da fração sesquiterpênica do óleo volátil dessa segunda coleta são o  $\beta$ -cariofileno (12,6 e 13,4%) e o germacreno D (10,2 e 6,4%).

Tabela 4.5: Composição química dos óleos voláteis de duas coletas de *Eupatorium bupleurifolium* DC.

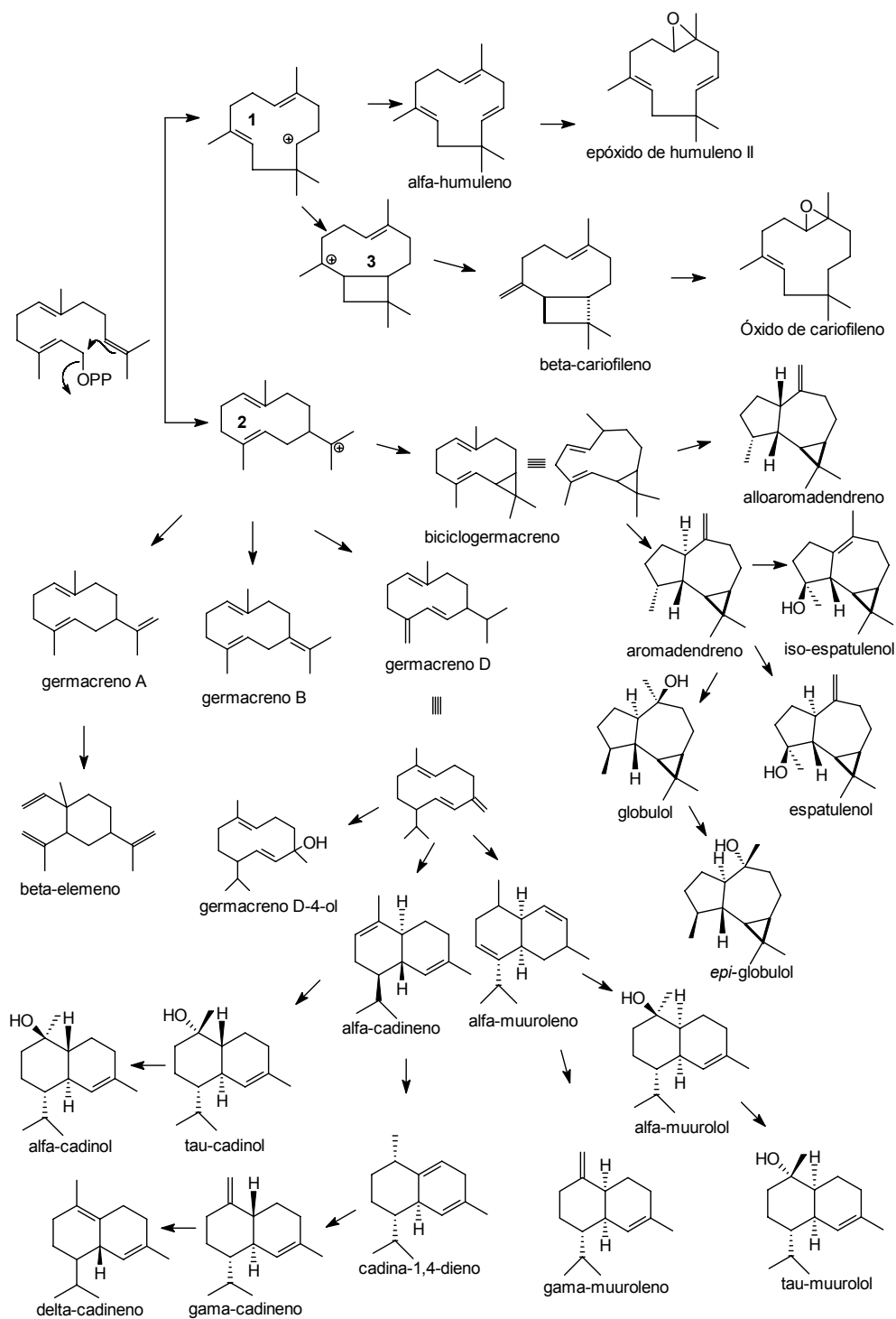
IR	Componente	São Francisco de Paula/05		Morro Reuter/05	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
901	$\alpha$ -tujeno	tr			0,1
<b>915</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	0,3	0,8	<b>12,1</b>	<b>15,5</b>
935	canfeno			tr	tr
<b>966</b>	<b>sabineno</b>	0,2	0,4	<b>5,1</b>	<b>8,9</b>
<b>969</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	3,4	<b>10,0</b>	4,8	<b>7,2</b>
983	mirreno	0,5	tr	0,9	3,0
992	$\delta$ -2-careno			0,2	1,9
1007	$\alpha$ -terpineno				tr
1015	$p$ -cimeno	0,2	tr	0,4	0,7
<b>1020</b>	<b>limoneno</b>	3,1	3,2	3,4	<b>8,1</b>
1031	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno			0,4	tr
1042	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno				2,3
1051	$\gamma$ -terpineno			tr	0,2
1080	terpinoleno				tr
1092	linalol	0,4			
1121	nopinona	tr			
1126	<i>trans</i> -pinocarveol	0,5			
1130	<i>trans</i> -verbenol	tr			
1168	terpinen-4-ol	0,5	tr	0,2	1,6
1181	$\alpha$ -terpineol	0,5	tr	0,6	0,2
1185	mirtenal	0,2	tr		
1188	mirtenol	tr	tr		
1335	$\alpha$ -cubebeno				tr
1362	$\alpha$ -copaeno	0,5	0,9	0,5	0,4
1370	$\beta$ -bourboneno	tr	tr	tr	tr
1375	$\beta$ -cubebeno	tr	tr	0,5	0,3
1378	$\beta$ -elemeno	tr	tr	0,6	0,3
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	2,9	6,4	<b>12,6</b>	<b>13,4</b>
1422	aromadendreno	0,5		tr	tr
1437	$\alpha$ -humuleno	tr	1,2	0,9	0,8
1441	allo-aromadendreno	0,2		0,2	tr
1460	$\gamma$ -muuroleno			1,2	0,8
<b>1464</b>	<b>germacreno D</b>			<b>10,2</b>	<b>6,4</b>
1468	$\beta$ -selineno	0,3			
<b>1478</b>	<b>biciclogermacreno</b>			<b>7,3</b>	3,0
1481	$\alpha$ -muuruleno	0,7		0,5	0,3

Tabela 4.5 : Cont.

1485	germacreno A			0,4	0,2
1494	$\gamma$ -cadineno	0,5	0,4	0,2	tr
1503	<i>cis</i> -calameneno	tr		tr	tr
1503	$\delta$ -cadineno	tr	0,7	2,0	1,5
1512	<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno			tr	tr
1519	$\alpha$ -cadineno	tr		tr	tr
1524	$\alpha$ -calacoreno	tr			tr
1540	germacreno B			tr	
1551	( <i>E</i> )-nerolidol	1,1			
1562	germacreno D-4-ol			tr	
<b>1564</b>	<b>espatulenol</b>	<b>30,5</b>	<b>28,2</b>	<b>8,1</b>	<b>5,2</b>
<b>1569</b>	<b>óxido de cariofileno</b>				2,6
1571	óxido de cariofileno/globulol	<b>20,1</b>	<b>14,8</b>	<b>7,6</b>	
1571	globulol				4,1
<b>1578</b>	<b><i>epi</i>-globulol</b>	<b>14,1</b>	<b>15,4</b>	<b>7,0</b>	2,6
1597	epóxido de humuleno II	0,8			tr
1619	1- <i>epi</i> -cubenol				0,2
1630	iso-espatulenol	tr		tr	0,3
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	2,2	3,2	1,5	0,7
1638	$\alpha$ -muurolol	0,3		4,7	2,9
1647	$\alpha$ -cadinol	5,6	5,6	1,9	0,9
-	N-tricosano	3,0			1,6
-	N-tetracosano	tr			
-	N-pentacosano	1,0			
Total identificado		93,9	91,1	95,7	97,9
MH		7,7	14,4	27,2	<b>47,8</b>
MO		2,1	tr	0,7	1,8
SH		5,6	9,6	<b>37,1</b>	27,2
SO		<b>74,6</b>	<b>67,1</b>	<b>31,3</b>	20,3
AL		4,0	-	-	1,6

IR: índice de Retenção em coluna DB5; i: inflorescências; f: folhas; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados; AL: percentagem total de compostos alifáticos.

Os óleos voláteis obtidos tanto das folhas como das inflorescências de plantas de ambas as coletas apresentaram composição química qualitativamente bastante semelhante, exceto pela ausência de germacreno D e biciclogermacreno na coleta de São Francisco de Paula. Como já foi comentado em relação aos óleos voláteis de *E. inulifolium*, esses dois compostos hidrocarbonados podem sofrer rearranjos e oxidações diversas, enzimáticas ou não, originando diferentes sesquiterpenos e sesquiterpenóides (conforme Esquema 4.1) (BÜLOW e KÖNIG, 2000).



Esquema 4.1: Produtos da ciclização 1,10 e 1,11 do pirofosfato de farnesila. **1** - cátion humulila (produto da ciclização 1-11 do pirofosfato de farnesila); **2** - cátion germacrila (produto da ciclização 1-10 do pirofosfato de farnesila); **3** - cátion cariofilila.

Essas correlações também podem ser observadas entre os humulanos e cariofilanos ( $\alpha$ -humuleno, epóxido de humuleno II,  $\beta$ -cariofileno, óxido de cariofileno), todos os quais têm como precursor o cátion humulila (**1**), formado através da ciclização 1-11 do pirofosfato de farnesila (Esquema 4.1). Alternativamente, a



ciclização 1-10 do mesmo precursor forma o cátion germacrila (2), do qual se formam os germacrenos e, pelo rearranjo destes, os elemanos, os cadinanos (cadinenos e muurolenos) e os aromadendranos. Dessa forma, os compostos da fração sesquiterpênica dos óleos voláteis de ambas as coletas de *E. bupleurifolium* pertencem principalmente às rotas dos cariofilanos/humulanos e dos germacranos.

#### 4.1.1.3 *Eupatorium tweedieanum* Hook. & Arn.

*Eupatorium tweedieanum* (= *Hatschbachiella tweedieana* e *Austroeupatorium tweedieanum*) é um subarbusto de 30 a 70 cm de altura, nativo no Sul do Brasil, Uruguai e Nordeste da Argentina, apresentando flores brancas no outono.

Foram realizadas coletas de *E. tweedieanum* nos municípios de Canela (Abr/05) e Viamão (Mar/06). Houve grande variação no teor de óleo volátil entre as plantas coletadas nas duas localidades (Tabela 4.1), como também na composição qualitativa e quantitativa (Tabela 4.6). Os óleos voláteis obtidos das inflorescências e das folhas da primeira coleta, realizada em Canela, são muito semelhantes entre si, caracterizando-se pela presença de proporções semelhantes de monoterpenos e sesquiterpenos hidrocarbonados (41,2 e 49,0%), entre os quais são majoritários o  $\alpha$ -felandreno (11,4 e 11,6%) e o *p*-cimeno (13,9 e 8,9%) para a primeira classe, e o  $\beta$ -cariofileno (14,7 e 19,8%) e o biciclogermacreno (20,0 e 23,3%) para a segunda. O óleo volátil das plantas coletadas em Viamão/RS, apresentou grande variação qualitativa entre as folhas e as inflorescências, com predominância de monoterpenos hidrocarbonados nas folhas ( $\beta$ -pineno (33,1%) e  $\beta$ -felandreno (29,7%)) e de três sesquiterpenos oxigenados não identificados nas inflorescências. Não foram detectados monoterpenos hidrocarbonados no óleo volátil das folhas dessa segunda coleta.

A ocorrência de variações qualitativas é incomum nos óleos voláteis dos diferentes órgãos de espécies de *Eupatorium* estudadas neste trabalho, entretanto, já foi relatada para *E. betoniciforme*, em que ocorre grande variação entre os óleos voláteis das partes aéreas e raízes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2004).

Tabela 4.6: Composição química dos óleos voláteis de diferentes coletas de *Eupatorium tweedieanum* Hook. & Arn.

IR	Componente	Canela/05		Viamão/06	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
901	$\alpha$ -tujeno	0,2	0,1		tr
915	$\alpha$ -pineno	3,6	2,0		3,1
966	sabineno	1,3	0,6		3,5
969	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	0,7	0,4		<b>33,1</b>
983	deidro-1,8-cineol		tr		
983	mirceno	0,4	0,2		0,9
992	$\delta$ -2-careno	3,9	3,0		
995	<b><math>\alpha</math>-felandreno</b>	<b>11,4</b>	<b>11,6</b>		tr
1007	$\alpha$ -terpineno	tr			
<b>1015</b>	<b><math>p</math>-cimeno</b>	<b>13,9</b>	<b>8,9</b>		tr
1020	limoneno	5,6	3,8		
1021	<b><math>\beta</math>-felandreno</b>				<b>29,7</b>
1031	(Z)- $\beta$ -ocimeno	tr			
1042	(E)- $\beta$ -ocimeno	0,3	0,4		tr
1051	$\gamma$ -terpineno	tr	tr		tr
1080	terpinoleno	tr	tr		
1168	terpinen-4-ol	tr	tr	tr	
1181	$\alpha$ -terpineol	tr	tr	tr	
1324	$\delta$ -elemeno	tr	tr	tr	
1335	$\alpha$ -cubebeno	tr	tr		tr
1362	$\alpha$ -copaeno	0,9	tr	0,3	
1370	$\beta$ -bourboneno			0,2	
1375	$\beta$ -cubebeno	tr	tr		tr
1374	sesquitujeno			0,7	tr
1378	$\beta$ -elemeno	0,7	1,0		tr
1394	cipereno			0,9	
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>14,7</b>	<b>19,8</b>	<b>8,1</b>	5,3
1420	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno			tr	tr
1422	aromadendreno	tr	tr	0,2	
1432	(Z)- $\beta$ -farneseno			tr	
1437	$\alpha$ -humuleno	1,2	1,4	1,1	tr
1440	(E)- $\beta$ -farneseno			0,3	
1441	allo-aromadendreno	0,3	0,5		tr
1460	$\gamma$ -muuroleno	0,3	0,3		
<b>1464</b>	<b>germacreno D</b>	2,4	0,7	<b>16,3</b>	<b>12,3</b>
1468	$\beta$ -selineno			0,5	0,3
1473	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno	0,2	tr	0,1	
<b>1478</b>	<b>biciclogermacreno</b>	<b>20,0</b>	<b>23,3</b>	6,0	<b>7,4</b>
1481	$\alpha$ -muuruleno	0,7	1,1	tr	tr
1485	germacreno A	1,4	2,1	tr	tr
1594	$\beta$ -curcumeno			tr	
1494	$\gamma$ -cadineno	0,7	1,2	0,1	tr
1503	<i>cis</i> -calameneno			tr	
1503	$\delta$ -cadineno	4,4	4,7	1,6	0,9
1504	$\beta$ -cadineno			tr	

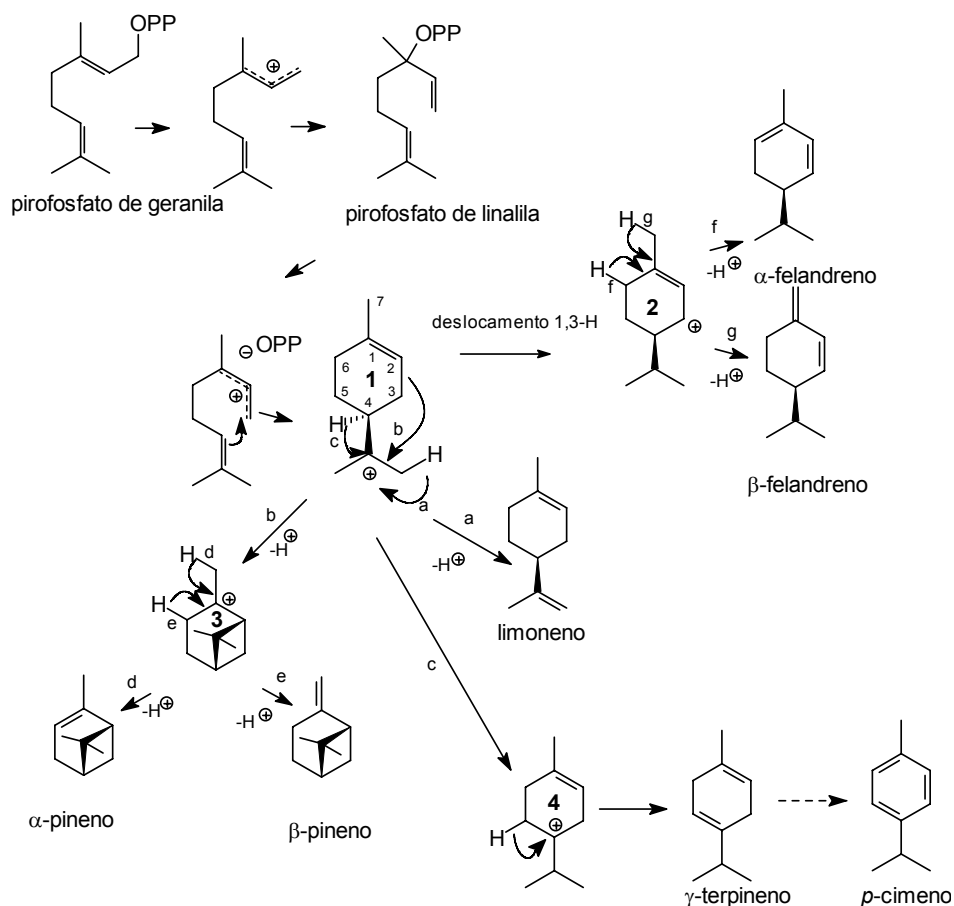
Tabela 4.6: Cont.

1512	<i>trans</i> -cadin-1,4-dieno	tr	tr	tr	
1519	$\alpha$ -cadineno	tr	0,1	tr	
1524	$\alpha$ -calacoreno			tr	
1527	hidrato de <i>cis</i> -sesquisabineno			0,6	
1540	germacreno B	1,3	2,7		
1551	( <i>E</i> )-nerolidol			0,5	
1562	germacreno D-4-ol			tr	0,4
1564	espatulenol			5,8	2,2
1569	óxido de cariofileno			0,7	tr
1571	globulol		0,4		tr
1578	<i>epi</i> -globulol			0,7	
1619	1- <i>epi</i> -cubenol			0,1	
1630	iso-espatulenol			0,5	
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol			1,0	tr
1638	$\alpha$ -muurolol			0,3	
1642	$\beta$ -eudesmol			tr	
1647	$\alpha$ -cadinol			2,0	0,8
1770	NI1			<b>14,7</b>	
1891	NI2			<b>14,6</b>	
1963	ácido hexadecanóico			2,0	
2104	nonadecanal			tr	
2146	NI3			<b>9,7</b>	
-	N-docosano			0,7	
-	N-tricosano			0,9	
-	N-tetracosano			0,4	
-	N-pentacosano			tr	
-	N-heptacosano			1,5	
-	N-octacosano			tr	
Total		90,2	90,0	93,0	99,9
MH		<b>41,2</b>	<b>30,8</b>	-	<b>70,3</b>
MO		tr	tr	tr	-
SH		<b>49,0</b>	<b>58,7</b>	<b>36,3</b>	26,2
SO		-	0,4	<b>51,3</b>	3,4
AL		-	-	5,4	-

IR: índice de Retenção em coluna DB5; i: inflorescências; f: folhas; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados; NI: compostos não identificados. NI: compostos não identificados. NI1 [m/z (rel int.): 43(28) 63(12) 77(8) 92(17) 128(22) 157(50) 185(100) 200(49)]; NI2 [m/z (rel int.): 43(40) 69(21) 100(20) 115(19) 173(27) 201(100) 216(74)]; NI3 [m/z (rel int.): 43(100) 55(51) 83(62) 157(11) 185(38) 200(37)]

O pirofosfato de geranila (Esquema 4.2), precursor inicial dos monoterpenos, isomeriza-se a pirofosfato de linalila, o qual pode ciclizar-se, originando o cátion  $\alpha$ -terpinila (**1**). O deslocamento 1,3-H entre os carbonos C3 e C8 desse cátion origina o cátion 4*S*-terpinen-3-ila (**2**), precursor dos felandrenos: a abstração dos prótons H6 ou H7 estabilizará o cátion, formando o  $\alpha$ -felandreno e o  $\beta$ -felandreno,

respectivamente. Alternativamente, o cátion  $\alpha$ -terpinila (**1**) pode originar o cátion pinila (**3**), através da formação de um anel ciclobutano (ciclização C2-C8): esse cátion pode ser estabilizado de forma semelhante pela abstração de prótons, formando o  $\alpha$ -pineno ou o  $\beta$ -pineno. Uma terceira via forma o limoneno e os terpinenos. O *p*-cimeno, tido como precursor hidrocarbonado do timol e do carvacrol, pode ser formado pela isomerização do 1,3,8-*p*-mentatrieno ou pela aromatização do  $\gamma$ -terpineno (POULOSE e CROTEAU, 1978a; POULOSE e CROTEAU, 1978b).



Esquema 4.2: Formação de felandrenos, pinenos, limoneno e *p*-cimeno, monoterpênos majoritários nos óleos voláteis de *Eupatorium tweedeanum* Hook. & Arn. OPP (pirofosfato). Cátion  $\alpha$ -terpinila (**1**), cátion 4S-terpinen-3-ila (**2**) e cátion pinila (**3**) (Adaptado de LAFEVER e CROTEAU, 1993; HYATT e CROTEAU, 2005; EI TAMER *et al.*, 2003; BOHLMANN *et al.*, 2000)

#### 4.1.1.4 *Eupatorium spathulatum* Hook. & Arn. e *E. polystachyum* DC.

*Eupatorium spathulatum* (= *Disynaphia spathulata*.– nome vulgar: macelinha] é um subarbusto de até 1,5 m com flores rosadas, nativo do Sul do Brasil e Uruguai. *Eupatorium polystachyum* (= *Raulinoreitzia crenulata*) é um arbusto de mais ou menos 2 m de altura, com flores brancas, nativo do Centro, Sul e Nordeste do Brasil, Peru, Bolívia e Norte da Argentina, cujo período de floração se estende de janeiro a maio.

Foram realizadas duas coletas das espécies *E. spathulatum* e *E. polystachyum*, respectivamente, nos municípios de Gravataí e Canela. Os rendimentos em óleos voláteis para as duas coletas de *E. spatulathum* foram semelhantes, apesar do estágio vegetativo diferente em que se encontravam os espécimes coletados. Quanto à composição química do óleo volátil dessa espécie, as inflorescências e folhas da primeira coleta (Abr/05) apresentaram composição química bastante semelhante (Tabela 4.7), com predominância de monoterpenos hidrocarbonados (56,8 e 58,9%), especialmente  $\alpha$ -pineno (7,0 e 11,6%) e  $\beta$ -pineno (14,9 e 24,1%), limoneno (12,2 e 13,1%) e (*E*)- $\beta$ -ocimeno (13,3 e 2,3%). Já a segunda coleta em estágio vegetativo apresentou padrão quantitativamente muito distinto, no qual predominaram os sesquiterpenos oxigenados (64,1%), sendo majoritários o espatulenol (22,6%), óxido de cariofileno/globulol (11,5%) e  $\alpha$ -cadinol (12,0%).

As coletas de *E. polystachyum* apresentaram rendimento bastante diferente, mesmo estando ambas floridas e sendo provenientes do mesmo município. Sua composição química, no entanto, foi semelhante, com ligeira predominância de monoterpenos hidrocarbonados sobre os sesquiterpenos. Entre os monoterpenos destacam-se o  $\beta$ -pineno e o limoneno, e entre os sesquiterpenos o  $\beta$ -cariofileno, o germacreno D e o biciclogermacreno. Na primeira coleta também há percentagem expressiva de mirceno, enquanto na segunda há percentagens maiores de  $\alpha$ -pineno e  $\alpha$ -tujeno (os dados da primeira coleta originaram o artigo apresentado no Anexo 4).

Na fração sesquiterpênica dos óleos voláteis de *E. spathulatum* e *E. polystachyum* pode-se observar a presença de três compostos principais no período

de floração (coletas do mês de abril), os sesquiterpenos hidrocarbonados  $\beta$ -cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno. Para *E. spathulatum*, foi observado ainda maior abundância de compostos oxigenados no período vegetativo (mês de outubro): óxido de cariofileno, espatulenol, globulol e  $\alpha$ -cadinol. No Esquema 4.1 (*E. inulifolium*) são apresentadas as relações biogênicas entre esses compostos.

Tabela 4.7: Composição química dos óleos voláteis de *Eupatorium spathulatum* Hook. & Arn. e *Eupatorium polystachyum* DC.

IR	Componente	<i>E. spathulatum</i>			<i>E. polystachyum</i>		
		Abr/05	Out/05	Out/05	Abr/05	Abr/05	Abr/05
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>
878	santolinatrieno	tr	tr		0,7	0,3	tr
<b>901</b>	<b><math>\alpha</math>-tujeno</b>	0,3	0,4	tr	0,1	0,3	<b>7,1</b>
<b>915</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>7,0</b>	<b>11,6</b>	2,3	3,0	5,8	<b>14,6</b>
926	$\alpha$ -fencheno	tr					tr
941	tuja-2,4(10)-dieno	tr					
966	sabineno	1,3	1,9	0,6	2,3	3,8	3,1
<b>969</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>14,9</b>	<b>24,1</b>	<b>10,8</b>	<b>9,8</b>	<b>14,7</b>	<b>19,1</b>
<b>983</b>	<b>mirceno</b>	<b>6,5</b>	<b>5,1</b>	0,2	<b>10,8</b>	<b>15,3</b>	6,4
992	$\delta$ -2-careno	0,1	tr		0,9	0,4	0,1
995	$\alpha$ -felandreno	tr			0,2	0,1	tr
1007	$\alpha$ -terpineno	0,2			tr	0,1	tr
1015	<i>p</i> -cimeno	0,2	0,3	0,7	0,5	0,4	0,2
<b>1020</b>	<b>limoneno</b>	<b>12,2</b>	<b>13,1</b>	2,3	<b>20,5</b>	<b>22,8</b>	<b>8,0</b>
1031	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	0,5	0,1		0,5	0,3	tr
<b>1042</b>	<b>(<i>E</i>)-<math>\beta</math>-ocimeno</b>	<b>13,3</b>	2,3		2,5	1,7	0,8
1051	$\gamma$ -terpineno	0,4				0,2	0,2
1080	terpinoleno	0,2					0,1
1092	linalol	0,3	1,3	0,3			
1096	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno		tr				
1118	$\alpha$ -canfolenal			tr			
1121	nopinona			0,2			
1126	<i>trans</i> -pinocarveol	tr	tr	0,9			tr
1128	<i>trans</i> -sabinol	tr					
1130	<i>trans</i> -verbenol		tr	tr			tr
1148	pinocarvona		tr	tr			
1168	terpinen-4-ol	0,8	0,3	tr		0,2	0,2
1172	criptona			0,4			
1181	$\alpha$ -terpineol	0,6	0,7	0,4		tr	tr
1185	mirtenal			0,5			tr
1188	mirtenol			0,4			tr
1216	verbenona			tr			
1225	éter timol-metílico			tr			
1224	carvona			tr			
1273	acetato de bornila	tr					
1285	acetato de <i>trans</i> -sabinila		tr				

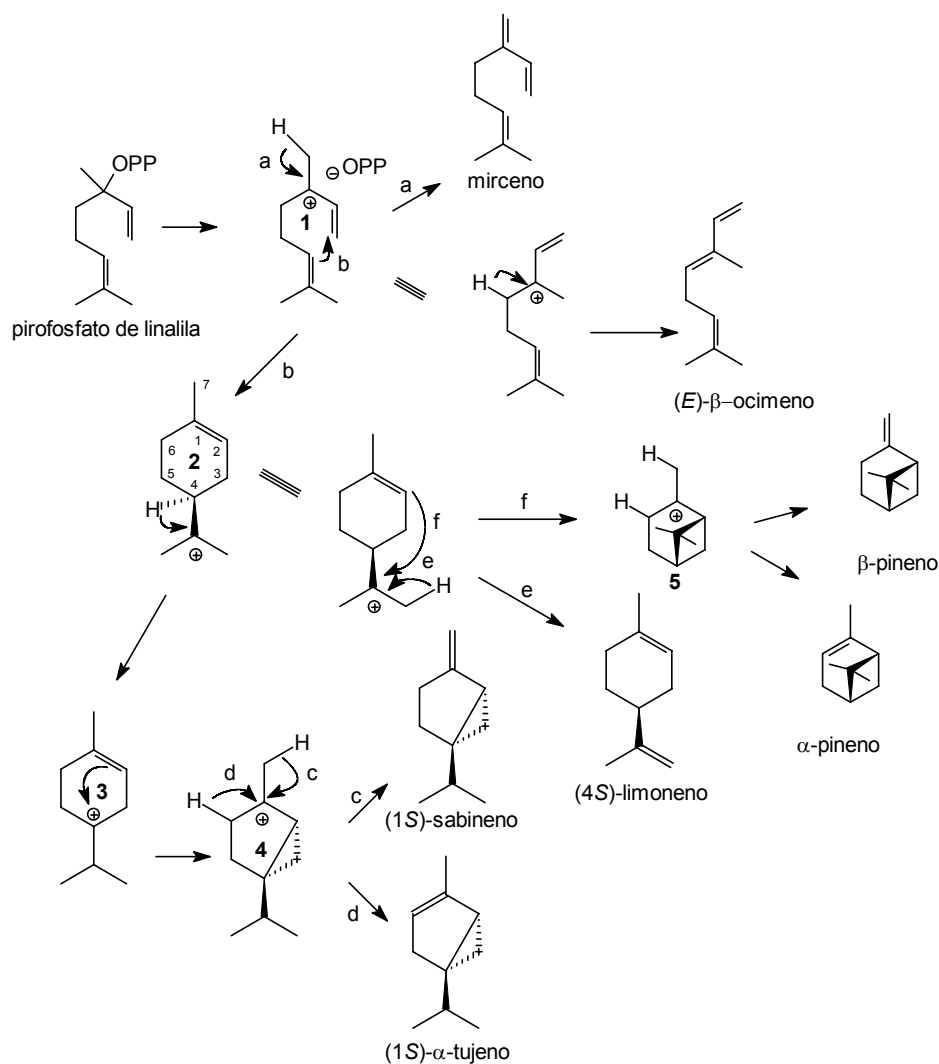
Tabela 4.7: Cont.

1289	acetato de <i>trans</i> -pinocarvila						tr
1324	$\delta$ -elemeno	tr	tr	tr			tr
1335	$\alpha$ -cubebeno	tr	tr	tr			tr
1351	acetato de nerila	tr	tr	2,4		tr	
1362	$\alpha$ -copaeno	0,4	0,5	0,6		tr	0,4
1368	acetato de <i>trans</i> -mirtanol	tr					
1369	acetato de geranila			1,7			
1370	$\beta$ -bourboneno	tr				tr	0,2
1375	$\beta$ -cubebeno	tr	0,1	tr			0,2
1378	$\beta$ -elemeno	0,4	0,6	2,4	0,2	0,1	0,2
1394	$\alpha$ -gurjuneno	tr					
1392	1,7-di- <i>epi</i> - $\beta$ -cedreno			tr			
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>7,5</b>	<b>7,0</b>	0,6	<b>15,4</b>	<b>10,4</b>	<b>7,3</b>
1422	aromadendreno	0,1		0,5	0,2	0,4	
1437	$\alpha$ -humuleno	0,7	0,8	tr	0,8	0,6	1
1441	allo-aromadendreno	0,3	0,3	tr			0,2
1456	cadina-1(6),4-dieno	tr					
1460	$\gamma$ -muuroleno	0,2		0,7		tr	
<b>1464</b>	<b>germacreno D</b>	<b>6,5</b>	<b>5,6</b>	tr	<b>9,4</b>	<b>7,2</b>	<b>11,4</b>
1468	<i>ar</i> -curcumeno			tr			
1468	$\beta$ -selineno	tr	tr	tr			0,2
1473	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno	tr	tr				0,3
1478	$\alpha$ -selineno		tr				
<b>1478</b>	<b>biciclogermacreno</b>	<b>6,7</b>	<b>3,4</b>		<b>19,2</b>	<b>12,0</b>	<b>9,7</b>
1481	$\alpha$ -muuruleno	0,7	0,6	1,2	0,3	tr	0,4
1485	germacreno A	0,5	0,8		0,5	0,2	0,3
1494	$\gamma$ -cadineno	0,5	0,3	1		0,2	0,2
1502	<i>cis</i> -cadina-1,4-dieno			0,5			
1502	<i>cis</i> -calameneno		tr	tr			
1503	$\delta$ -cadineno	3,2	1,9		1	0,9	1,4
1504	$\beta$ -cadineno	tr	tr				tr
1512	<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno	tr	tr			tr	tr
1519	$\alpha$ -cadineno	tr	tr	tr		tr	tr
1524	$\alpha$ -calacoreno	tr	tr	tr			
1551	( <i>E</i> )-nerolidol	0,5	0,5	1,3			
1562	germacreno D-4-ol				0,5		
<b>1564</b>	<b>germacreno D-4ol/espatulenol</b>						<b>3,1</b>
<b>1564</b>	<b>espatulenol</b>	<b>4,2</b>	<b>5,7</b>	<b>22,6</b>		0,4	
<b>1569</b>	<b>óxido de cariofileno</b>	<b>0,4</b>	<b>1,0</b>			tr	<b>1,4</b>
1571	óxido de cariofileno/globulol			<b>11,5</b>			
1571	globulol	1,1	0,7				
1578	<i>epi</i> -globulol			5,9			
1581	epóxido de humuleno I	0,2		1,1	0,2	0,3	0,2
1597	epóxido de humuleno II			1,3			
1619	1- <i>epi</i> -cubenol	tr	0,1	0,5			
1630	iso-espatulenol	0,3	0,7				
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	2,2	2,0	5,7		0,5	
1638	$\alpha$ -muurolol	0,4	0,4	1,5			

Tabela 4.7: Cont.

1642	$\beta$ -eudesmol	tr		0,7		
<b>1647</b>	<b><math>\alpha</math>-cadinol</b>	3,3	3,2	<b>12,0</b>		
Total		98,7	97,4	95,6	99,2	97,8
MH		<b>56,8</b>	<b>58,9</b>	17	<b>51,7</b>	<b>59,5</b>
MO		1,6	2,3	7,1	-	0,2
SH		27,8	21,8	7,4	<b>46,9</b>	<b>32</b>
SO		12,6	14,4	<b>64,1</b>	0,7	4,7

IR: índice de Retenção em coluna DB5; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados.



Esquema 4.3: Formação dos pinenos, limoneno,  $\alpha$ -tujeno, mirceno e (*E*)- $\beta$ -ocimeno, principais monoterpenos presentes nos óleos voláteis de *Eupatorium spathulatum* Hook. & Arn. e *Eupatorium polystachyum* DC. Os cátions numerados são linalila (1),  $\alpha$ -terpinila (2), terpinen-4-ila (3), tujila (4) e pinila (5) (Adaptado de LAFEVER e CROTEAU, 1993; HYATT e CROTEAU, 2005; EI TAMER *et al.*, 2003; BOHLMANN *et al.*, 2000).



Na fração monoterpênica dos óleos voláteis de *E. spathulatum* coletado em sua fase reprodutiva foram observados cinco compostos majoritários: os monoterpenos acíclicos mirceno e (*E*)- $\beta$ -ocimeno, o *p*-mentano limoneno e os pinanos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno. No Esquema 4.3 são apresentadas as relações biogenéticas entre esses cinco compostos e sua formação a partir dos cátions linalila (1),  $\alpha$ -terpinila (2) e pinila (5), respectivamente. Em uma das coletas de *E. polystachyum* foi observado, além desses compostos, o tujano  $\alpha$ -tujeno, em percentagem elevada. A formação desse composto e de seu isômero sabineno a partir dos cátions terpinen-4-ila (3) e tujila (4) também se encontram explicitada no Esquema 4.3.

#### **4.1.1.5 *Eupatorium oblongifolium* (Spreng.) Baker, *E. tanacetifolium* Gillies ex Hook. & Arn., *E. ligulifolium* Hook. & Arn., *E. tremulum* Hook. & Arn. e *E. lanigerum* Hook. & Arn.**

*Eupatorium oblongifolium* (= *Stomatanthes oblongifolius* – nome vulgar: erva-de-lagarto, erva-de-nossa-senhora) é um subarbusto com até 1,10 m de altura, nativo do Sul do Brasil, Uruguai, Paraguai e Nordeste da Argentina, que apresenta flores branco-esverdeadas e cujo período de floração vai de março a maio (forte cheiro de cumarina).

*Eupatorium tanacetifolium* (= *Gyptis pinnatifida* – nome vulgar: “Mañuèké”, nome dado pelos índios Araucanianos) é uma erva perene de 20 a 50 cm de altura, nativa do Sul do Brasil, Uruguai, Nordeste e Centro da Argentina, com flores rosadas, cujo período de floração vai de outubro a janeiro. Essa espécie é bastante visitada por abelhas (Hymenoptera, Apidae) (GONÇALVES e MELLO, 2005). Segundo ROZEMBLUM e col. (1988) essa espécie se reproduz por apomixia devido à inviabilidade dos grãos de pólen, resultando em que cada população é um clone ou uma microespécie.

*Eupatorium ligulifolium* (= *Disynaphia ligulifolia*) é um subarbusto de 0,5 a 1,5 m de altura, nativo do Sul do Brasil, com flores rosadas lilases ou rosa-carmim, cujo período de floração vai de janeiro a abril. É muito semelhante a *E. spathulatum*.

*Eupatorium tremulum* (= *Raulinoreitzia tremula* – nome vulgar: chirca) é um arbusto densamente ramoso de 2-3 m de altura, nativo do Sul do Brasil, Uruguai e Nordeste da Argentina, cujas flores violáceas surgem no final do outono.

*Eupatorium lanigerum* (= *Gyptis lanigera*) é uma erva perene de 50-100 cm de altura, nativa do Sul do Brasil, Uruguai, Paraguai, Norte da Argentina e Sul da Bolívia. Possui flores lilases, rosadas ou brancas e seu período de floração vai de setembro a março.

Foi realizada uma coleta de cada uma das espécies, todas em plena floração, analisando-se o óleo volátil das inflorescências e das flores, separadamente. O teor de óleo volátil variou de 0,1 a 1,0% para as folhas e de 0,5 a 0,7% para as flores, sendo o maior rendimento obtido para *E. tremulum* (1,0 e 0,7 %, respectivamente).

Dentre as cinco espécies, o óleo volátil das folhas/inflorescências de *E. oblongifolium* se diferencia dos demais pela maior proporção de monoterpenos hidrocarbonados (52,2 e 47,3% para inflorescências e folhas, respectivamente); *Eupatorium tanacetifolium* se caracteriza pela predominância de sesquiterpenos oxigenados (38,4 e 76,4%) e pela presença de compostos alifáticos nas inflorescências (30,0%); *Eupatorium ligulifolium* se caracteriza pela predominância de sesquiterpenos, hidrocarbonados nas inflorescências (51,5%) e oxigenados nas folhas (70,0%). Em *E. tremulum* ocorrem quantidades equivalentes de sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados (49,7 e 34,3% nas inflorescências e 46,0 e 51,2% nas folhas). As folhas/inflorescências de *E. lanigerum* apresentam maior proporção de sesquiterpenos hidrocarbonados (57,2%). O óleo extraído de seus ramos apresenta proporção equilibrada de compostos sesquiterpênicos hidrocarbonados (32,9%) e oxigenados (34,6%).

No óleo volátil de *E. oblongifolium*, o único desse grupo com predominância de monoterpenos, há grande semelhança qualitativa e quantitativa entre as folhas e inflorescências, sendo compostos majoritários os pinenos  $\alpha$ -pineno (8,6 e 7,5%) e  $\beta$ -pineno (18,8 e 18,5%) e limoneno/ $\beta$ -felandreno (19,3 e 15,9%). O composto  $\beta$ -felandreno havia sido identificado também no óleo volátil das folhas de *E.*

*tweedieanum* coletado em Viamão. Entre os sesquiterpenos destacam-se o  $\beta$ -cariofileno (15,0 e 13,2%) e o germacreno D (20,5 e 26,6%), com quantidades pouco expressivas de biciclogermacreno (3,8 e 4,1%).

*Eupatorium tanacetifolium* apresenta óleo com composição distinta nas folhas e inflorescências. O óleo das folhas é caracterizado pela predominância de espatulenol (38,8%), óxido de cariofileno/globulol (15,9%) e  $\alpha$ -cadinol (10,8%), muito semelhante ao óleo das folhas de *E. spathulatum* coletado em estágio vegetativo na mesma época. Suas inflorescências, entretanto, apresentam uma mistura dos sesquiterpenóides germacreno D-4-ol e espatulenol (19,5%) e um composto alifático, o N-tricosano (10,4%), como componentes majoritários. Essa composição é muito semelhante àquela do óleo das inflorescências de uma das coletas de *E. bupleurifolium* obtidas na mesma época.

Os óleos voláteis obtidos das folhas e inflorescências de *E. ligulifolium* também diferem quantitativamente entre si. Nas inflorescências há maior percentagem dos sesquiterpenos hidrocarbonados (51,5%) germacreno D (18,8%) e biciclogermacreno (11,6%), juntamente com os sesquiterpenos oxigenados  $\tau$ -cadinol/ $\tau$ -muurolol (7,9%) e  $\alpha$ -cadinol (14,6%); enquanto nas folhas, além de  $\tau$ -cadinol/ $\tau$ -muurolol (13,3%) e  $\alpha$ -cadinol (23,9%), ocorrem espatulenol (11,8%) e *epi*-globulol (8,8%), os quais podem ser formados pela oxidação do germacreno D e do biciclogermacreno (BÜLOW e KÖNIG, 2000; TOYOTA *et al.*, 1996) que foram identificados como traços ou não detectados no óleo das folhas.

A composição química dos óleos voláteis das folhas e das inflorescências de *E. tremulum* é bastante semelhante, com predominância de sesquiterpenos (97,2 e 84,0%). Dentre os sesquiterpenos hidrocarbonados (46,0 e 49,7%) predominam os compostos de núcleo bisabolano:  $\beta$ -bisaboleno (15,5 e 17,1%) e  $\beta$ -sesquifelandreno (7,9 e 7,1%). Dentre os sesquiterpenos oxigenados são majoritários o furanocadinano verbocidentafurano (16,1 e 11,6%) e o *epi*- $\alpha$ -bisabolol (9,6 e 10,7%). A presença de compostos sesquiterpênicos com núcleo bisabolano não é comum na maioria das outras espécies dessa seção de *Eupatorium* avaliadas neste trabalho. Além desses compostos, foram detectadas quatro outras substâncias com

concentrações variando de 3,6 a 14,7% para as quais não foi possível realizar a identificação.

*Eupatorium lanigerum* apresenta  $\beta$ -cariofileno (23,4%), germacreno D (13,0%) e biciclogermacreno (14,4%) como compostos majoritários da fração sesquiterpênica hidrocarbonada. Na fração oxigenada destaca-se o espatulenol (8,1%). O óleo volátil dos ramos apresenta germacreno D (10,7%) e biciclogermacreno (10,6%) como componentes principais da fração sesquiterpênica hidrocarbonada, com percentagem menor de  $\beta$ -cariofileno (3,9%) e maior de espatulenol (24,3%). Além disso, a fração alifática desse óleo se caracteriza pela presença de 15,6% de ácido hexadecanóico.

Tabela 4.8: Composição química dos óleos voláteis de *Eupatorium oblongifolium* (Spreng.) Baker, *E. tanacetifolium* Gillies ex Hook. & Arn., *E. ligulifolium* Hook. & Arn., *E. tremulum* Hook. & Arn. e *E. lanigerum* Hook. & Arn.

IR	Componente	<i>oblong</i> Via/06		<i>tanac</i> Gra/05		<i>ligul</i> Via/06		<i>trem</i> Gua/05		<i>lanig</i> Via/06	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>r</i>
880	santolinatrieno					tr			1,6		
896	triciclono								tr		
901	$\alpha$ -tujeno	0,1	0,1			0,2	0,5			tr	
<b>915</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>8,6</b>	<b>7,5</b>		0,2	1,0	2,6	0,3	1,0	tr	tr
926	$\alpha$ -fenchono										
935	canfeno	tr	tr				tr				
941	tuja-2,4(10)-dieno										
966	sabineno	2,2	1,9		tr	0,3	0,8	0,1	0,2	0,2	tr
<b>969</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>18,8</b>	<b>18,5</b>		0,9	<b>5,2</b>	<b>9,4</b>	0,7	2,7	1,1	tr
983	mirceno	1,4	1,2	tr	tr	2,2	0,4		0,1	0,2	tr
992	$\delta$ -2-careno					0,2	tr				tr
995	$\alpha$ -felandreno	0,1	0,1			tr				tr	
1007	$\alpha$ -terpineno	tr	tr			tr				tr	
1015	<i>p</i> -cimeno	tr	tr		tr	0,1	0,1		0,1	0,2	tr
<b>1020</b>	<b>limoneno</b>			tr	0,8	0,7	1,2		0,1	1,3	tr
<b>1020</b>	<b>limoneno/ <math>\beta</math>-felandreno</b>	<b>19,3</b>	<b>15,9</b>								
1031	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr	2,2			tr			0,4		
1042	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	1,9				4,2			1,2	0,6	
1051	$\gamma$ -terpineno	tr				tr				tr	
1080	terpinoleno	tr	tr			tr				tr	
1092	linalol			tr						0,3	tr
1121	nopinona										
1126	<i>trans</i> -pinovcarveol						0,2				
1130	<i>trans</i> -verbenol						tr				
1148	pinocarvona						tr				
1168	terpinen-4-ol	tr		tr	0,3	tr	tr			0,4	1,9
1181	$\alpha$ -terpineol	tr		tr	0,4	tr	tr			tr	0,4
1185	mirtenal						tr				tr
1188	mirtenol						tr				tr
1324	$\delta$ -elemeno			tr	tr	tr	tr			tr	tr
1335	$\alpha$ -cubebeno					tr	tr			tr	
1351	acetato de nerila						tr			tr	0,5

Tabela 4.8: Cont.

1362	$\alpha$ -copaeno	0,1	0,2	tr	1,0	0,3	0,4			1,2	0,9
1369	acetato de geranila						tr				
1370	$\beta$ -bourboneno	tr	0,1	tr	tr		tr			tr	tr
1375	$\beta$ -cubebeno	tr	0,1	tr	tr	0,1	tr			1,5	1,0
1378	$\beta$ -elemeno	tr	0,1	tr	0,5	1,0	1,4				0,4
1385	cipereno									tr	tr
1397	$\alpha$ -cedreno					tr					
1398	1,7-di- <i>epi</i> - $\beta$ -cedreno				tr					tr	tr
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>15</b>	<b>13,2</b>	6,1	5,9	6,6	2,8			<b>23,4</b>	3,9
1420	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno			tr						tr	tr
1422	aromadendreno			tr	tr	tr	tr			tr	0,2
1426	( <i>Z</i> )- $\beta$ -farneseno							0,1	0,4		
1437	$\alpha$ -humuleno	0,7	0,7	1,0	1,4	1,5	1,0			1,0	0,8
1439	( <i>E</i> )- $\beta$ -farneseno							3,3	4,7	tr	tr
1441	allo-aromadendreno	0,1	0,2	0,2	1,7	0,4	0,3	0,6			
1442	$\beta$ -santaleno									tr	tr
1456	<i>cis</i> -cadina-1(6),4-dieno							5,5	7		
1459	$\beta$ -chamigreno							tr	tr		
1460	$\gamma$ -muuroloeno			tr	0,9	0,3	0,7				
<b>1464</b>	<b>germacreno D</b>	<b>20,5</b>	<b>26,6</b>	6,4		<b>18,8</b>	tr			<b>13,0</b>	<b>10,7</b>
1468	NI1							<b>10,5</b>	<b>11,7</b>		
1468	$\beta$ -selineno	tr	tr	tr		tr	tr			0,9	1,4
	<i>epi</i> -										
1473	biciclosesquifelandren o									0,2	
<b>1478</b>	<b>biciclogermacreno</b>	3,8	4,1	<b>8,4</b>		<b>11,6</b>				<b>14,4</b>	<b>10,6</b>
1481	$\alpha$ -muuruleno	0,1		tr		1,2	1,8			tr	tr
1484	$\alpha/\beta$ -chamigreno							0,8	0,6		
1485	germacreno A	0,1	0,1	0,2	tr	1,3	tr			0,1	0,3
<b>1489</b>	<b><math>\beta</math>-bisaboleno</b>							<b>15,5</b>	<b>17,1</b>		
1490	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farneseno					0,2	tr				tr
1494	$\gamma$ -cadineno	tr	tr	tr	0,3	0,9	1,4				
1497	( <i>Z</i> )- $\alpha$ -bisaboleno									tr	1,1
1496	( <i>Z</i> )- $\gamma$ -bisaboleno							1,8	1,1		
1499	$\delta$ -amorfeno	tr				tr	0,8				
1502	<i>cis</i> -calameneno					tr	tr				tr
1503	$\delta$ -cadineno	0,5	0,5	1,5	0,7	6,7	0,8			1,5	1,1
1503	$\beta$ -cadineno					tr					tr
1512	<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno			tr		0,2	tr			tr	tr
<b>1515</b>	<b><math>\beta</math>-sesquifelandreno</b>							<b>7,9</b>	<b>7,1</b>		
1519	$\alpha$ -cadineno			tr	tr	0,4	tr				
1523	ligulóxido							0,7	0,6		
1524	$\alpha$ -calacoreno			tr	tr	tr	tr			tr	tr
1529	NI2							3,6			
1534	elemol			0,7	1,5						
1540	germacreno B				tr	tr				tr	
1551	$\beta$ -calacoreno						tr				tr
1551	( <i>E</i> )-nerolidol				tr	0,2	0,7			0,5	tr
<b>1562</b>	<b>germacreno D-4-ol</b>		1,5			1,1					
<b>1563</b>	<b>germacreno D-4-ol/</b> <b>espatulenol</b>									tr	
<b>1564</b>	<b>espatulenol</b>				<b>38,8</b>	1,3	<b>11,8</b>			<b>8,1</b>	<b>24,3</b>
<b>1625</b>	<b>NI3</b>							<b>6,6</b>	<b>7,5</b>		
<b>1569</b>	<b>óxido de cariofileno</b>	0,4	0,3	2,0			4,1				
1570	óxido de cariofileno/ globulol									2,4	2,4
1571	globulol	0,5	0,4	2,2			1,6				
1578	<i>epi</i> -globulol	3,4	2,9	1,3	0,8	4,3	<b>8,8</b>			0,2	1,2

Tabela 4.8: Cont.

1581	óxido de humuleno I					0,6	1				
1597	epóxido de humuleno II		tr	1,7			0,8				
1615	1-10-di- <i>epi</i> -cubenol					tr					
1619	1- <i>epi</i> -cubenol					0,4	0,8			0,3	0,3
1630	iso-espatulenol	0,1	0,2	1,2		tr				0,6	2,8
1634	<b><math>\tau</math>-cadinol+ <math>\tau</math>-muurolol</b>	0,3	0,2	2,7	4,8	<b>7,9</b>	<b>13,3</b>			0,4	0,9
1638	$\alpha$ -muurolol	tr	0,1	0,4	0,7	1,4	2,6			0,2	0,8
1642	$\beta$ -eudesmol			2,4	1,3	0,2				0,3	0,3
1647	<b><math>\alpha</math>-cadinol</b>	0,7	0,4	6,1	<b>10,8</b>	<b>14,6</b>	<b>23,9</b>			0,5	1,7
<b>1662</b>	<b>verbocidentafurano</b>							<b>16,1</b>	<b>11,6</b>		
<b>1680</b>	<b><i>epi</i>-<math>\alpha</math>-bisabolol</b>							<b>9,6</b>	<b>10,7</b>		
1727	levigatina									0,4	
1795	N-octadecano			4,4							
<b>1856</b>	<b>NI4</b>							<b>14,7</b>	3,6		
1914	hexadecanoato de metila									0,5	
1963	ácido hexadecanóico			2,5						5,0	<b>15,6</b>
1967	N-eicosano			tr							
2102	nonadecanal									1,2	
2180	N-heneicosano			tr							
-	N-docosano			4,1							
-	<b>N-tricosano</b>			<b>10,4</b>						1,7	0,2
-	N-tetracosano			1,2						0,3	tr
-	N-pentacosano			6,3						1,9	0,7
-	N-heptacosano			tr						1,7	1,0
-	N-octacosano			1,2						tr	
-	N-nonacosano									0,6	tr
Total identificado		99,6	99,2	92,3	91,3	99,0	96,0	98,3	91,3	87,7	87,2
MH		<b>52,2</b>	<b>47,3</b>	tr	1,8	14,0	14,9	1,1	7,3	3,5	tr
MO		tr	-	tr	0,7	tr	0,2	-	-	0,7	2,2
SH		<b>40,7</b>	<b>45,9</b>	23,9	12,4	<b>51,5</b>	11,4	<b>46</b>	<b>49,7</b>	<b>57,2</b>	<b>32,9</b>
SO		6,6	5,9	<b>38,4</b>	<b>76,4</b>	<b>33,5</b>	<b>70</b>	<b>51,2</b>	<b>34,3</b>	13,5	<b>34,6</b>
AL		-	-	<b>30,0</b>	-	-	-	-	-	12,9	17,4

IR: índice de Retenção em coluna DB5; oblong: *Eupatorium oblongifolium*; tanac: *E. tanacetifolium*; ligul: *E. ligulifolium*; trem: *E. tremulum*; lanig: *E. lanigerum*; Via: Viamão; Gra: Gravataí; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; r: ramos; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados; NI: compostos não identificados; NI: substância não identificada. NI1: [m/z (rel int.): 41(100) 55(21) 69(76) 93(40) 120(12) 133(16) 161(11) 189(0.5) 204(1)]; NI2: [m/z (rel int.): 41(62) 55(23) 80(26) 93(100) 109(3) 119(26) 136(7) 161(3) 175(1) 189(3) 204(10)]; NI3 [m/z (rel int.): 41(70) 43(100) 55(38) 81(51) 91(27) 93(28) 105(28) 105(54) 119(73) 134(20) 161(75) 179(13) 189(10) 204(21) 222(4)]; NI4 [m/z (rel int.): 43 (100) 55(33) 77(37) 91(44) 105(20) 119(34) 128(22) 145(42) 159(44) 173(78) 188(84) 201(8) 215(8) 230(95)].

Entre os componentes monoterpênicos do óleo volátil das espécies desse grupo destacam-se  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno/ $\beta$ -felandreno para *E. oblongifolium*. Na fração sesquiterpênica destacam-se  $\beta$ -cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno entre os hidrocarbonados e espatulenol, óxido de cariofileno, *epi*-globulol,  $\tau$ -cadinol/ $\tau$ -muurolol e  $\alpha$ -cadinol entre os oxigenados, todos compostos já observados em outras espécies desta seção.

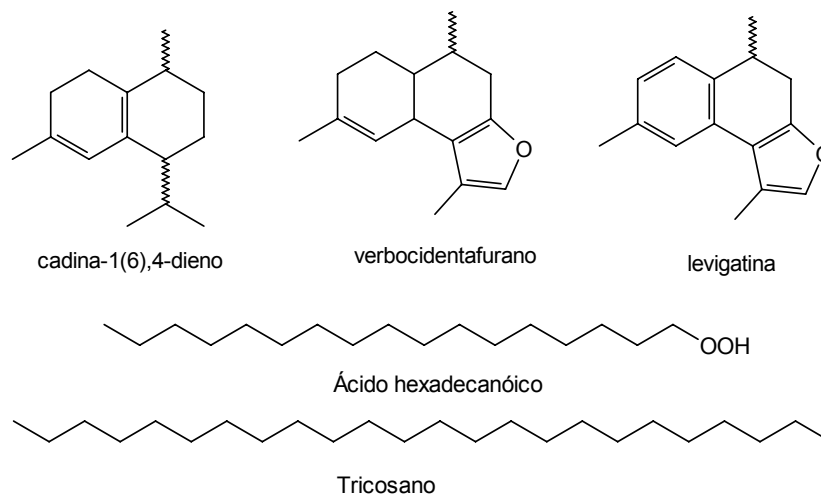
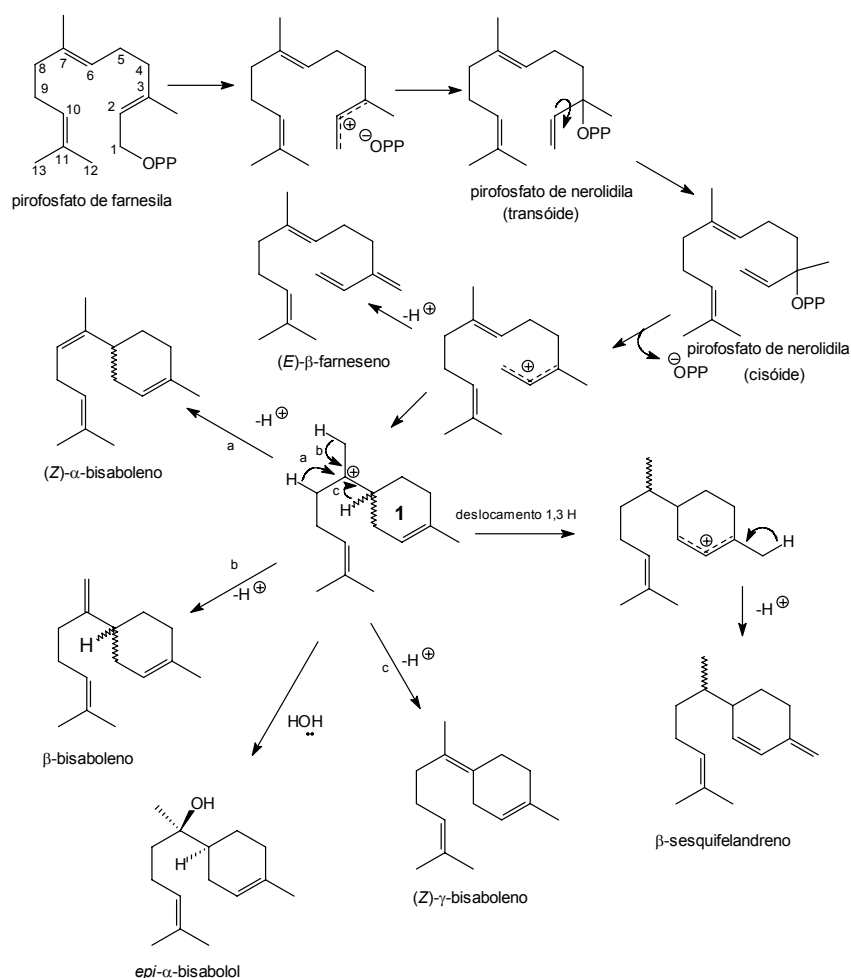


Figura 4.2: Estrutura química do cadina-1(6),4-dieno, dos furanocadinenos verbocidentafurano e levigatina e dos compostos alifáticos ácido hexadecanóico e nonadecanal.

A exceção nesse grupo é *E. tremulum* que apresenta vários compostos da rota dos bisabolanos, compostos derivados do cátion bisabolila (1), o qual por sua vez se forma pela ciclização 1,6 do cátion nerolidila (relacionado à conformação cisóide do pirofosfato de nerolidila (Esquema 4.4). O óleo volátil dessa espécie não apresenta germacranos, ou cariofilanos/humulanos, produtos da ciclização 1,10 e 1,11 do cátion farnesila, respectivamente, nem seus derivados (aromadendranos, elemanos e cadinanos) exceto pela presença de cadina-1(6),4-dieno, verbocidentafurano e levigatina, um cadineno hidrocarbonado e dois furanocadinenos, respectivamente. Na fração não terpênica dos óleos voláteis das espécies desse grupo destacam-se apenas os compostos alifáticos N-tricosano nas flores de *E. tanacetifolium* e ácido hexadecanóico nas partes aéreas de *E. lanigerum*, cujas estruturas podem ser visualizadas na Figura 4.2.



Esquema 4.4: Formação do cátion bisabolila (1) e de seus derivados pela ciclização 1,6 da conformação cisóide do pirofosfato de nerolidila (Adaptado de RO *et al.* 2006; JONES *et al.*, 2006; KÖLLNER *et al.*, 2004; THOLL *et al.*, 2005).

#### 4.1.1.6 *Eupatorium picturatum* Malme, *E. buniifolium* Hook. ex Arn., *E. laetevirens* Hook. & Arn., *E. ericoides* DC., *E. serrulatum* DC. e *E. ascendens* Sch.Bip. ex Baker

*Eupatorium picturatum* (= *Austroeupatorium picturatum*) é uma erva perene de 1,0-1,5 m de altura, nativa do Sul do Brasil e Nordeste da Argentina, cujas flores brancas, rosas ou lilases ocorrem de novembro a abril. Essa espécie é muito semelhante a *E. inulifolium*.

*Eupatorium buniifolium* (= *Acanthostyles buniifolius* – nome vulgar: chilca ou chirca) é um arbusto de 0,60-1,80 m de altura, nativo do Sul da Bolívia e do Sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Norte e Centro da Argentina, cujas flores violáceas



surgem no outono. De plantas coletadas na Argentina foram isolados diterpenos de núcleo *ent*-labdano (CARRERAS *et al.*, 1998), além de duas flavonas e uma cumarina com atividades antimicrobianas (MUSCHIETTI *et al.*, 2001). Seus extratos foram avaliados, demonstrando atividade antiviral (cepa RC/79 do vírus *Varicellovirus pseudorabies*) (ZANON *et al.*, 1999), antifúngica (MUSCHIETTI *et al.*, 2005) e tripanocida (*Trypanosoma cruzi*) (SÜLSEN *et al.*, 2006). Também foram evidenciadas a inibição da função dos neutrófilos (PAYA *et al.*, 1996) e atividade antinociceptiva no teste da dor induzida por ácido acético (MIÑO *et al.*, 2005).

O óleo volátil dessa espécie, coletada no Uruguai, apresenta como componentes principais o  $\alpha$ -pineno (14,7%), o  $\beta$ -elemeno (12,2%), o germacreno D (11,5%), o *trans*- $\beta$ -guaieno (6,5%) e o  $\beta$ -cariofileno (4,3%) (LORENZO *et al.*, 2005). Já o óleo da planta obtida na Patagônia, Argentina, apresenta os monoterpenos  $\alpha$ -pineno (68,8%),  $\delta$ -2-careno (5,3%) e limoneno (5,1%) como componentes majoritários, com concentrações menores de sabineno,  $\beta$ -cariofileno e biciclogermacreno. Esse óleo foi avaliado quanto à sua ação acaricida contra o ácaro parasita de abelhas, *Varroa destructor* Anderson & Trueman, entretanto, foi observada baixa seletividade (baixa relação entre a DL<sub>50</sub> para ácaros e a DL<sub>50</sub> para abelhas). Não foi observada atividade repelente (RUFFINENGO *et al.*, 2005).

*Eupatorium laetevirens* (= *Austroeupatorium laetevirens*) é um subarbusto de 50-140 cm de altura, nativo do Sul do Brasil, Uruguai, Paraguai e Nordeste da Argentina. As flores (brancas) ocorrem no outono. Essa espécie é botanicamente muito semelhante a *E. tweedieanum*.

*Eupatorium ericoides* (= *Disynaphia ericoides*) é um subarbusto de 40-60 cm de altura, nativo do Sul do Brasil, cujas flores brancas ou rosadas ocorrem de outubro a março.

*Eupatorium ascendens* var. *parcisetosum* (= *Chromolaena ascendens*) é uma erva perene, de 30 a 40 cm de altura, nativa do Sul do Brasil, Uruguai, Paraguai e Nordeste da Argentina, com flores rosadas ou azuis-violeta. Seu período de floração se estende de janeiro a março.

*Eupatorium serrulatum* (= *Neocabreria serrulata*) é um arbusto ramoso de 1,5-3,0 m de altura, nativo do Sul do Brasil, com flores rosadas, cujo período de floração vai de dezembro a janeiro. Suas flores são melíferas, muito ornamentais e perfumadas.

Foi realizada apenas uma coleta de cada uma das espécies *E. picturatum*, *E. buniifolium*, *E. laetevirens*, *E. ericoides*, *E. ascendens* e *E. serrulatum*. As quatro primeiras encontravam-se floridas, e o óleo volátil foi obtido conjuntamente das inflorescências e folhas; *E. ericoides* foi coletado em estágio vegetativo e apenas as folhas foram analisadas. A exceção de *E. ascendens* var. *parcisetosum*, todos os óleos apresentaram maior proporção de sesquiterpenos hidrocarbonados (78,1; 76,6; 65,3 e 65,8%, respectivamente). Dentre eles,  $\beta$ -cariofileno foi o único composto comum a todos os óleos (7,1; 7,1; 16,2 e 21,3%, respectivamente). O óleo de *E. ascendens* var. *parcisetosum*, por sua vez, foi caracterizado pela presença de compostos alifáticos, correspondendo a 40,2% do óleo volátil.

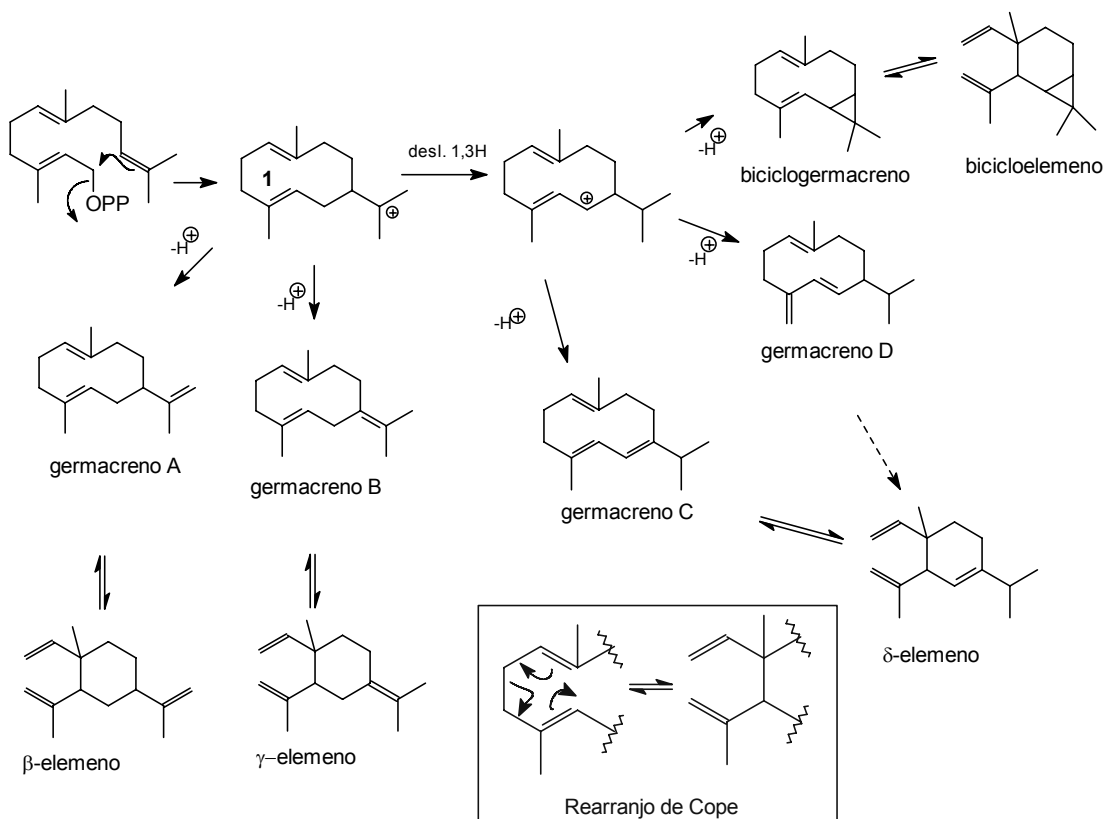
O óleo volátil de *E. picturatum* apresenta teor elevado de  $\delta$ -elemeno (10,2%), um produto do rearranjo de Cope do germacreno C, composto também presente entre os majoritários nessa espécie (7,8%) e que se degrada a altas temperaturas (QUINTANA *et al.*, 2003). Além desses dois compostos, o óleo dessa espécie apresentou germacreno D (13,9%), biciclogermacreno (9,8%) e dois isômeros do calamenol (7,6 e 12,2%) entre os compostos majoritários.

Assim como o óleo de *E. picturatum*, o óleo de *E. laetevirens* também apresentou teores elevados de germacreno C (8,9%) e de seu produto de degradação,  $\delta$ -elemeno (7,0%). Além desses compostos, o óleo volátil dessa espécie apresentou  $\beta$ -cariofileno (16,2%) e  $\beta$ -sesquifelandreno (29,3%), um produto da ciclização 1,6 do pirofosfato de nerolidila, semelhante aos bisabolenos e curcumenos. Na fração monoterpênica apenas o mirceno se destaca, com 8,6%.

O óleo volátil de *E. buniifolium* apresenta 9,8% de  $\alpha$ -pineno, único composto expressivo da fração monoterpênica. Na fração sesquiterpênica destacam-se o  $\beta$ -cariofileno (7,1%) e o germacreno D (22,4%), comuns a muitas outras espécies de *Eupatorium* analisadas. Além dessas substâncias, o composto de núcleo

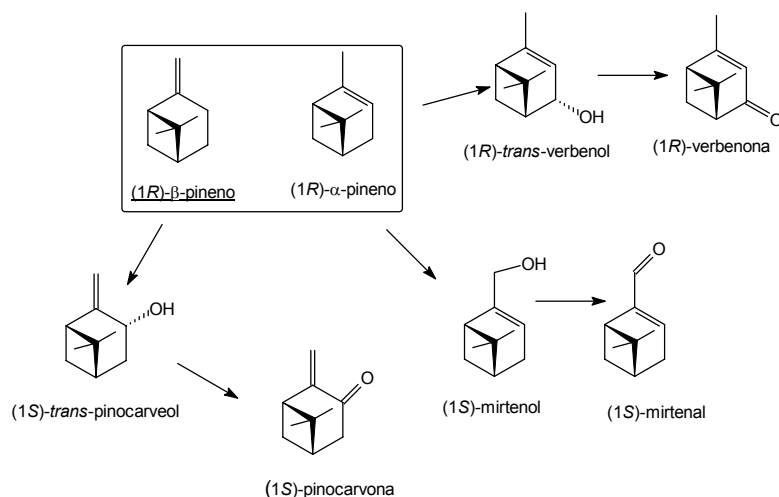
germacrano, germacreno A (8,3%) e seu produto de degradação  $\beta$ -elemeno (4,7%) são encontrados em percentual apreciável. Um composto de núcleo guaiano, *trans*- $\beta$ -guaiano (22,0%) também é encontrado em percentual elevado. A presença desse composto em concentração menor, bem como de  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -cariofileno e germacreno D já havia sido reportada no óleo volátil dessa espécie, coletada no Uruguai (LORENZO et al, 2005). O óleo volátil das plantas coletadas na Patagônia, por sua vez dominado por compostos monoterpênicos, apresenta composição química bastante diferente (RUFFINENGO et al, 2005).

O óleo volátil das folhas de *E. ericoides* guarda algumas similaridades com aquele obtido de *E. buniifolium*, especialmente pelos teores de germacreno A (5,4%) e  $\beta$ -elemeno (9,0%). Além desses dois compostos, esse óleo apresenta  $\beta$ -cariofileno (21,3%), germacreno D (8,6%), biciclogermacreno (15,1%) e espatulenol (8,5%). Os elemenos, produtos do rearranjo de Cope dos germacrenos podem ser visualizados no Esquema 4.5.



Esquema 4.5: Formação dos germacrenos e rearranjo térmico de Cope, originando os elemenos correspondentes. Seta tracejada: O germacreno D isomeriza-se a isogermacreno D, o qual sob luz UV pode formar  $\delta$ -elemeno (Adaptado de SILVA-BRANDÃO *et al.*, 2006; ADIO, 2005; Adaptado de QUINTANA *et al.*, 2003; BÜLOW e KONIG, 2000; COLBY *et al.*, 1998).

No óleo volátil de *E. serrulatum* predominam os compostos hidrocarbonados, monoterpênicos (30,0%) e sesquiterpênicos (67,8%). Dentre os monoterpenos destaca-se a presença de  $\alpha$ -pineno (7,6%) e de  $\beta$ -pineno (11,7%). Já na fração sesquiterpênica predominam o germacreno D (42,0%) e biciclogermacreno (10,5%).



Esquema 4.6: Derivados oxigenados de núcleo pinano presentes no óleo volátil de *Eupatorium ascendens* Sch.Bip. ex Baker (Adaptado de AHARONI *et al.*, 2004; BELL *et al.*, 2003; LINDMARK-HENRIKSSON *et al.*, 2004).

O óleo volátil de *E. ascendens* var. *parcisetosum* apresenta predomínio de compostos alifáticos oxigenados, ácido hexadecanóico (31,2%) e hexadecanoato de etila (7,6%). Dentre os terpenos, destaca-se o  $\beta$ -pineno (19,3%) como composto principal da fração monoterpênica hidrocarbonada. Alguns monoterpênoides também estão presentes no óleo, como o *trans*-pinocarveol (4,8%) e o mirtenal (3,8%) (produtos da degradação ou transformação dos pinenos). Dentre os sesquiterpenos destacam-se os sesquiterpenóides espatulenol (6,0%) e *iso*-espatulenol (5,3%), não sendo encontrado nenhum sesquiterpeno hidrocarbonado. A relação estrutural entre os pinenos e seus derivados pode ser visualizada no Esquema 4.6, como demonstrado para os isômeros (1R).

Tabela 4.9: Composição química dos óleos voláteis de *Eupatorium picturatum* Malme, *E. buniifolium* Hook. ex Arn., *E. laetevirens* Hook. & Arn., *E. ericoides* DC., *E. serrulatum* DC. e *E. ascendens* Sch.Bip. ex Baker

IR	Componente	<i>pict</i> Can/05 <i>ff</i>	<i>laet</i> Can/05 <i>ff</i>	<i>bunii</i> Gua/05 <i>i</i>	<i>eric</i> SAP/06 <i>f</i>	<i>serr</i> Via/06 <i>ff</i>	<i>ascen</i> Gua/05 <i>ff</i>
880	santolinatrieno	tr	tr				
901	$\alpha$ -tujeno	0,2	0,3	tr	tr	0,3	tr
<i>Continua Tabela 4.9</i>							
<b>915</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	0,4	0,4	<b>9,8</b>	tr	<b>7,6</b>	3,7
935	canfeno			0,7		tr	
966	sabineno	0,4	0,3	2,3	0,1	2,8	0,6
969	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	0,9	0,7	2,4	0,3	<b>11,7</b>	<b>19,3</b>
983	<b>mirceno</b>	0,8	<b>8,6</b>	1,0	tr	1,9	
992	$\delta$ -2-careno	tr	tr		tr		
995	$\alpha$ -felandreno	tr	0,1			0,3	
1007	$\alpha$ -terpineno	tr	tr				
1015	<i>p</i> -cimeno	0,1	0,2	tr	1,2	1,1	
1020	limoneno	2,8	2,6	1,6	0,2	3,7	tr
1031	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr	tr		0,1	tr	
1042	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	2,7	0,9	0,6	3,2	0,8	
1051	$\gamma$ -terpineno	tr	tr			0,1	
1080	terpinoleno	0,2	tr		tr	tr	
1092	linalol				tr		
1130	<i>trans</i> -pinocarveol						4,8
1134	<i>trans</i> -verbenol						1,2
1151	pinocarvona						1,0
1166	criptona						tr
1168	terpinen-4-ol				tr	tr	
1181	$\alpha$ -terpineol				tr		
1184	mirtenal						3,8
1185	mirtenol						tr
1225	éter timol-metílico					tr	
1321	biciclo-elemeno	0,3	0,2				
<b>1324</b>	<b><math>\delta</math>-elemeno</b>	<b>10,2</b>	<b>7,0</b>	0,7	tr		
1335	$\alpha$ -cubebeno		tr				
1362	$\alpha$ -copaeno	0,2	0,9		0,5	0,3	
1370	$\beta$ -bourboneno	tr	tr	tr	0,7	tr	
1375	$\beta$ -cubebeno	0,1	0,3		tr	0,2	
<b>1378</b>	<b><math>\beta</math>-elemeno</b>	0,9	1,7	<b>4,7</b>	<b>9,0</b>	1,4	
1398	1,7-di- <i>epi</i> - $\beta$ -cedreno					1,5	
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>7,1</b>	<b>16,2</b>	<b>7,1</b>	<b>21,3</b>	6,0	
1420	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno		0,2				
1422	aromadendreno				tr		
1423	$\alpha$ -guaiano			1,2		0,8	
1437	$\alpha$ -humuleno	0,3	1,1	tr	3	0,7	
1439	( <i>E</i> )- $\beta$ -farneseno	tr	0,4			tr	
1440	deidro-aromadendreno				tr		
1460	$\gamma$ -muuroleno		0,3		tr		
<b>1464</b>	<b>germacreno D</b>	<b>13,9</b>	4,1	<b>24,2</b>	<b>8,6</b>	<b>42,0</b>	
1468	$\beta$ -selineno				0,2	0,2	
1472	<i>cis</i> - $\beta$ -guaiano	0,2	0,4				

Tabela 4.9: Cont.

1474	valenceno				tr		
1477	viridifloreno			0,9		0,2	
<b>1478</b>	<b>biciclogermacreno</b>	<b>9,8</b>	2,5	2,1	<b>15,1</b>	<b>10,5</b>	
<b>1479</b>	<b><math>\alpha</math>-zingibereno</b>	<b>6,0</b>					
1481	$\alpha$ -muuruleno	tr	0,5	0,6	0,1	0,6	
<b>1485</b>	<b>germacreno A</b>	2,1	2,2	<b>8,3</b>	<b>5,4</b>	2,6	
<b>1494</b>	<b>trans-<math>\beta</math>-guaieno</b>			<b>22,0</b>			
1489	$\beta$ -bisaboleno		tr			tr	
1494	$\gamma$ -cadineno			tr	0,3	tr	
<b>1503</b>	<b>germacreno C</b>	<b>7,8</b>	<b>8,9</b>	0,1			
1503	$\delta$ -cadineno			1,9	1,1	0,9	
<b>1515</b>	<b><math>\beta</math>-sesquifelandreno</b>		<b>29,3</b>				
1521	(Z)-nerolidol	0,3					
1519	$\alpha$ -cadineno				tr		
1524	$\alpha$ -calacoreno				tr		
1534	elemol	0,2			tr		
1540	germacreno B	0,6	0,4	4,2	tr		
1551	(E)-nerolidol	tr	tr		0,5	tr	
1562	germacreno D-4-ol	0,1			tr		
<b>1564</b>	<b>espatulenol</b>				<b>8,5</b>	0,2	<b>6,0</b>
1569	óxido de cariofileno	tr	0,3			tr	
1569	óxido de cariofileno /globulol				3,8		
1571	globulol	tr					3,8
1578	<i>epi</i> -globulol				2,9		2,2
1581	óxido de humuleno I		0,9				
1597	epóxido de humuleno II				tr		
1620	cariofiladienol II				0,5		
1630	<i>iso</i> -espatulenol	3,9	0,5	tr	1		<b>5,3</b>
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol				0,7	0,5	3,2
1638	$\alpha$ -muurolol				tr	1,0	
1647	$\alpha$ -cadinol		0,1		1,9		4,0
<b>1655</b>	<b>calamenenol*</b>	<b>7,6</b>					
<b>1671</b>	<b>calamenenol*</b>	<b>12,2</b>					
<b>1963</b>	<b>ácido hexadecanóico</b>						<b>31,2</b>
<b>1998</b>	<b>hexadecanoato de etila</b>						<b>7,6</b>
-	acetato de fitila						1,4
Total identificado		92,1	92,3	96,4	90,2	99,8	99,0
MH		8,5	14	18,3	5,1	<b>30</b>	<b>23,6</b>
MO		-	-	-	-		10,7
SH		<b>59,34</b>	<b>76,6</b>	<b>78,1</b>	<b>65,3</b>	<b>67,8</b>	
SO		24,25	1,8	tr	19,6	1,7	<b>24,5</b>
AL							<b>40,2</b>

IR: índice de Retenção em coluna DB5; pict: *Eupatorium picturatum*; laet: *E. laetevirens*; bunii: *E. bunifolium*; eric: *E. ericoides*; serr: *E. serrulatum*; ascen: *Eupatorium ascendens*; Can: Canela; Gua: Guaíba; SAP: Santo Antônio da Patrulha; Via: Viamão; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; SAP/06: coletado em Santo Antônio da Patrulha, em 2006; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados.

#### **4.1.1.7 Discussão dos resultados para as espécies de *Eupatorium* seção Subimbricata (DC.) O.Hoffm.**

A exceção de algumas coletas de *E. inulifolium*, *E. bupleurifolium*, *E. tweedieanum*, *E. ascendens* e, especialmente, *E. tanacetifolium*, cujos óleos das flores apresentaram compostos de origem alifática, todos os óleos voláteis das espécies dessa seção foram constituídos exclusivamente por compostos de origem terpênica.

Dentre as espécies coletadas na seção Subimbricata, *E. inulifolium*, *E. picturatum*, *E. laetevirens* e *E. tweedieanum* foram agrupadas por KING e ROBINSON no gênero *Austroeupatorium*, sendo a última, *E. tweedieanum*, posteriormente transferida para o gênero *Hatschbachiella* (KING e ROBINSON, 1987). Na fração monoterpênica dos óleos voláteis obtidos dessas espécies destacam-se como majoritários os compostos de núcleo pinano,  $\beta$ -pineno; de núcleo *p*-mentano,  $\alpha$ - e  $\beta$ -felandreno e *p*-cimeno e o composto acíclico, mirceno. Na fração sesquiterpênica destacam-se entre os majoritários o cariofilano,  $\beta$ -cariofileno, e os germacranos, germacreno D e biciclogermacreno, para quase todas as coletas. *Eupatorium picturatum* e *E. laetevirens* apresentam ainda o composto germacreno C e o seu produto de degradação,  $\delta$ -elemeno. Além disso, essas duas espécies apresentam bisabolanos,  $\alpha$ -zingibereno e  $\beta$ -sesquifelandreno entre os compostos majoritários. Na fração sesquiterpênica oxigenada estão compostos derivados da oxidação dos cariofilanos e germacranos, germacreno D-4-ol, espatulenol, globulol e óxido de cariofileno.

As espécies *E. spathulatum*, *E. ligulifolium* e *E. ericoides* foram agrupadas por KING e ROBINSON no gênero *Dysinaphia*. As análises realizadas não permitem fazer correlações entre essas três espécies devido a diferenças na época e local de coleta. Mesmo entre as duas coletas de *E. spathulatum* ocorreu bastante variação, havendo predominância de monoterpênicos hidrocarbonados em uma delas e de sesquiterpênicos oxigenados na outra. Em *E. ligulifolium* também predominaram os sesquiterpênicos oxigenados, especialmente nas folhas, e em *E. ericoides* predominaram os sesquiterpênicos hidrocarbonados. Entretanto, como em muitas outras espécies de *Eupatorium* analisadas, dentre os monoterpênicos são mais

abundantes os derivados dos núcleos pinano e *p*-mentano, ao passo que dentre os sesquiterpenos predominam os cariofilanos e germacranos, ou seus derivados, cadinanos e aromadendranos.

*Eupatorium bupleurifolium*, *E. tanacetifolium*, *E. lanigerum*, *E. buniifolium*, *E. serrulatum* e *E. tremulum* foram transferidos para os gêneros *Campovassouria*, *Gyptis*, *Acanthostyles*, *Neocabreria* e *Raulinoreitzia*, respectivamente. Também entre eles não foi possível estabelecer correlações entre a composição química dos óleos voláteis.

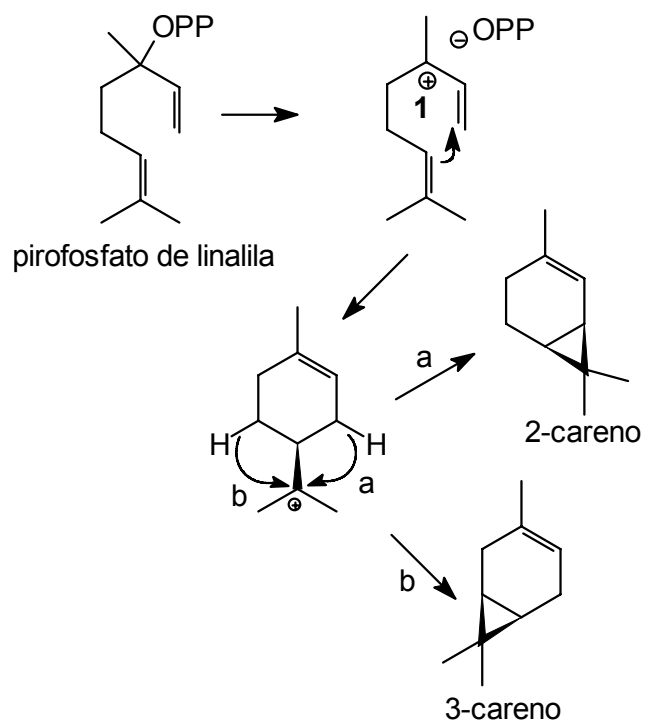
As coletas foram realizadas nos meses de março, abril, maio e outubro de 2005 e março e abril de 2006 (de modo geral, no outono e na primavera). Pode-se observar uma tendência de maior oxidação dos óleos voláteis das plantas coletadas durante a primavera, em outubro, com concentrações maiores de germacreno D-4-ol, espatulenol, óxido de cariofileno, *epi*-globulol e cadinóis, exceto para o óleo das folhas de *E. bupleurifolium*, coletado em São Francisco de Paula (Out/05), que apresenta concentrações bem menores desses compostos. Por outro lado, *E. inulifolium* (Mar/05) e *E. ligulifolium* (Mar/06) são as únicas coletas do outono das quais se obtiveram óleos com alta concentração desses componentes (desconsiderando-se aqui os compostos oxigenados não identificados). À exceção da coleta de *E. bupleurifolium* (SFP-Out/05), as coletas da primavera são bastante pobres em sesquiterpenos hidrocarbonados, o que sugere o seu consumo para a produção dos derivados oxigenados.

#### 4.1.2 Headspace

As folhas e inflorescências de dez espécies pertencentes à seção *Subimbricata* foram analisadas em *headspace*. A percentagem de monoterpenos varia de 72,0 a 99,8% dos componentes voláteis (Tabela 4.10). Assim como no óleo volátil, os compostos de núcleo pinano,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno estão entre os majoritários para quase todas as espécies. A concentração percentual do  $\alpha$ -pineno, obtida por integralização, varia de 4,1% para as folhas de *E. picturatum* a até 64,6% nas inflorescências de *E. tanacetifolium*. A concentração percentual de  $\beta$ -pineno, por



sua vez, varia de apenas 1,8% nas inflorescências de *E. tweedieanum* a até 68,7% para as folhas de *E. bupleurifolium*. O limoneno, um composto de núcleo *p*-mentano, também está entre os compostos majoritários para várias das espécies, assim como o composto alifático, mirceno. Outros compostos, entretanto, possuem ocorrência bem mais restrita. É o caso do composto de núcleo tujano,  $\alpha$ -tujeno, que aparece em concentração expressiva apenas em *E. laetevirens* (9,9 a 24,0%, para inflorescências e folhas, respectivamente). Além disso, quatro outras espécies se caracterizam pela presença de algum composto incomum: *Eupatorium tweedieanum* (coletado em Canela) apresenta 35,5 e 44,0% de  $\beta$ -felandreno (inflorescências e folhas, respectivamente). *Eupatorium tweedieanum* (coletado em Viamão) apresenta 40,2 e 37,9% de  $\alpha$ -felandreno, além de um composto aromático de núcleo *p*-mentano, o *p*-cimeno (13,1 e 7,1%). Essa mesma coleta de *E. tweedieanum* também apresenta percentagem elevada de  $\delta$ -2-careno (13,7 e 7,6%) (Esquema 4.7). Esse composto estava presente em 3,0 a 3,9% no óleo volátil, entretanto, como na análise em espaço confinado (*headspace*) apenas a fração monoterpênica é considerada, ocorre um aumento de sua percentagem. Um composto de cadeia aberta, o (*E*)- $\beta$ -ocimeno, apresenta-se em altas concentrações nas espécies *E. spathulatum* (18,4 e 8,1%), *E. ligulifolium* (11,3 e 14,1%) e *E. picturatum* (51,7 e 4,2%). Finalmente, *E. picturatum* apresenta ainda de 6,4 a 17,0% de  $\delta$ -elemeno (inflorescências e folhas, respectivamente), o único sesquiterpeno identificado em quantidade apreciável por essa técnica. A presença geral de pinenos e limoneno, bem como a presença esporádica de  $\alpha$ -tujeno, felandrenos,  $\delta$ -2-careno, (*E*)- $\beta$ -ocimeno e  $\delta$ -elemeno entre os compostos majoritários da fração volátil analisada em *headspace* pode ser positivamente correlacionada com a presença desses mesmos compostos no óleo volátil das respectivas plantas.



Esquema 4.7: Rota de síntese do 2-careno e do 3-careno a partir dos cátions linalila (1) e  $\alpha$ -terpinila (Adaptado de BOHLMANN *et al.*, 2000; SAVAGE e CROTEAU, 1993; HOELSCHER *et al.*, 2003).

Tabela 4.10: Headspace de folhas e inflorescências de espécies de *Eupatorium* seção *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm.

IR	Componente	in		bu		twa		twb		sp		poly a		poly b		ta		li		pi		lae		la	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
880	santolinatrieno	1,1	tr			tr				0,1	0,1	4,7	0,3	0,1	tr		0,3	1,5	tr	0,5	1,6	0,9	0,9	tr	
901	triciclono												0												
<b>912</b>	<b><math>\alpha</math>-tujeno</b>	0,4	1,6	0,5	0,5	0,9	0,7	0,4	0,4	1	1,2	0,6	0,4	0,2	0,3	0,2	0,5	3,7	4,9	2,2	tr	<b>9,9</b>	<b>24</b>	8,9	
<b>919</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>8,2</b>	<b>28,9</b>	<b>23,5</b>	<b>23</b>	<b>11,6</b>	<b>20,8</b>	<b>7</b>	<b>5,4</b>	<b>19,9</b>	<b>27,2</b>	<b>13,4</b>	<b>6,3</b>	<b>18,9</b>	<b>41,1</b>	<b>64,6</b>	<b>59,1</b>	<b>16,4</b>	<b>19,1</b>	<b>5,9</b>	4,1	<b>9,8</b>	<b>18,5</b>	<b>12,7</b>	tr
937	$\alpha$ -fencheno					tr	0,1							0,2	0,2										
939	canfeno	tr	tr	tr	tr			tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2					tr	tr					tr	
943	tuja-2,4(10)-dieno				tr																				
960	sabineno	5,3	2,4	0,9	0,9	2,0	4,4	6,2	7,5	3,5	1,6	6,2	5,2	2,2	5	1,6	2,6	2,1	3,8	1,7	5,9	4,1	6,7	6,3	tr
<b>965</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>27,2</b>	<b>32,4</b>	<b>63,3</b>	<b>68,7</b>	1,8	2,1	<b>46,4</b>	<b>37,9</b>	<b>29,4</b>	<b>38,9</b>	<b>18,6</b>	<b>31,3</b>	<b>21,2</b>	<b>41,1</b>	<b>18,7</b>	<b>16,4</b>	<b>40,4</b>	<b>41,7</b>	<b>5,4</b>	<b>13,1</b>	<b>15,1</b>	<b>9</b>	<b>61,2</b>	tr
970	6-metil-5-hepten-2-ona																								
<b>976</b>	<b>mirceno</b>	<b>25,8</b>	<b>9,8</b>	4,2	2,9	0,6	0,9	1,4	2,0	<b>12,7</b>	<b>7,3</b>	<b>16,8</b>	<b>24,2</b>	<b>45,3</b>	2,8	<b>11,6</b>	<b>17</b>	<b>16</b>	<b>7,7</b>	<b>6,1</b>	<b>15,1</b>	<b>40,6</b>	<b>13,9</b>	3,2	
<b>987</b>	<b><math>\delta</math>-2-careno</b>	1,4	2,4			<b>13,7</b>	<b>7,6</b>			0,6	0,3	2	0,5	0,4				0,9	0,7	0,4	tr		0,7		
<b>990</b>	<b><math>\alpha</math>-felandreno</b>	0,5	0,7			<b>40,2</b>	<b>37,9</b>	0,6	0,8	0,2	0,1	1,1	0,2	0,3				0,5	tr	0,3	tr		tr	tr	
997	$\delta$ -3-careno					0,2	0,2																		
1003	$\alpha$ -terpineno	tr	tr	tr		0,3	0,3	tr	0,1	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3				0,1		tr	tr			0,4	
<b>1007</b>	<b><math>p</math>-cimeno</b>	0,8	0,6			<b>13,1</b>	<b>7,1</b>		tr	0,1	0,1	1	0,2	0,2				tr		0,5			tr		
<b>1016</b>	<b>limoneno</b>	<b>23,7</b>	<b>6,6</b>	3,3	2,7	<b>6,9</b>	<b>11</b>	tr	tr	<b>12,0</b>	<b>12,2</b>	<b>24,1</b>	<b>26,5</b>	<b>7</b>	<b>7,2</b>	1,2	1,5	2,3	2,2	<b>8,0</b>	<b>25,8</b>	<b>9,2</b>	<b>18,6</b>	4,3	
<b>1016</b>	<b><math>\beta</math>-felandreno</b>							<b>35,5</b>	<b>44,0</b>									tr	tr						
1025	(Z)- $\beta$ -ocimeno	tr		tr		0,2	0,2	0		0,5	0,7	1,1	0,6	0,2				0,3	1	1	1,1				
<b>1035</b>	<b>(E)-<math>\beta</math>-ocimeno</b>	2	3	2,2		2	0,3	0,3	1,4	<b>18,4</b>	<b>8,1</b>	5,4	1,7	1	0,4		0,8	<b>11,3</b>	<b>14,1</b>	<b>51,7</b>	4,2		tr	1,7	
1047	$\gamma$ -terpineno	0,4				0,2	0,2	tr	tr	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2				0,5	0,1	0,9	tr	4,2	2,6	0,6	
1073	terpinoleno	tr				0,1	0,1	tr	0,1	0,2	0,2	0,1		0				tr	tr	1,2				tr	
1083	linalol										0,3														
1162	terpinen-4-ol					tr	tr			0,1	0,1	0,1													
1174	$\alpha$ -terpineol					0,3	tr				tr														
<b>1324</b>	<b><math>\delta</math>-elemeno</b>																			<b>6,4</b>	<b>17,0</b>	1,5	1,4		
1360	isoledeno						0,2																		
1361	$\alpha$ -copaeno					tr	0,1																		
1376	$\beta$ -elemeno					0,2	0,3											tr	tr	0,6	1				
1403	$\beta$ -cariofileno	tr	4,4	1,7	0,8	2	1,1	0,5	0,2	0,2	0,2	0,6	0,5	0,5	0,7	1,0	0,5	0,7	0,7	0,6	2,9	1,2	2,7	0,8	
1440	$\alpha$ -humuleno					0,1	0,1								0,2			0,4	tr						

IR	Componente	in		bu		twa		twb		sp		poly a		poly b		ta		li		pi		lae		la			
		i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f		
1450	cis-cadina -1(6),4-dieno					0,2																					
1462	γ-muuroleno					0,1																					
1465	germacreno D	0,6	3,2	tr	tr	0,2	0,2	1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,8	0,5		0,3	1,3	1,1	2,6	<b>5,0</b>				tr		
1479	biciclogermacreno	0,7	4,0	0,4	0,5	1,9	2,4	0,4	tr	0,1	0,2	0,6	0,5	0,9	0,4	1,0	1,0	1,2	1,4	3,0	2,3				tr		
1480	α-zingibereno																								0,5		
1498	γ-cadineno					0,3	0,2											tr	0,3								
1509	δ-cadineno					0,8	1,3				0,1	0,1	0,1					0,7	1,1	tr							
	total	97,9	99,9	99,9	99,9	99,7	99,8	99,7	100	99,8	99,9	97,2	99,4	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,3	98,9	96,4	99,1	99,9

IR: Índice de Retenção em coluna DB5; Inflorescências (i);folhas (f); *Eupatorium inulifolium* (in), *E. bupleurifolium* (bu), *E. tweedieanum* Canela/abr/05 (twa), *E. tweedieanum* Viamão/mar/06 (twb), *E. spathulatum* (sp), *E. polystachyum* (ICN 146975 – poly a), *E. polystachyum* (ICN 146980- poly b), *E. tanacetifolium* (ta), *E. ligulifolium* (li), *E. picturatum* (pi), *E. laetevirens* (lae) e *E. lanigerum* (la).

### 4.1.3 Atividade antioxidante

Foram obtidos no total trinta e oito óleos voláteis das dezesseis espécies analisadas na seção Subimbricata. Dentre estes, trinta e cinco foram submetidos ao ensaio de atividade antioxidante frente ao DPPH, por bioautografia. Os óleos que apresentaram maior atividade foram aqueles obtidos de *E. ligulifolium* (Viamão/Mar/06), *E. oblongifolium* (Viamão/Mar/06), *E. ericoides* (Viamão/Mar/06) e *E. inulifolium* (Guaíba/Abr/06) (com maior percentagem de sesquiterpenos hidrocarbonados germacreno D, biciclogermacreno,  $\beta$ -cariofileno e do monoterpene hidrocarbonado  $\beta$ -pineno); *E. tweedieanum* (Viamão/Mar/06) (a atividade antioxidante do óleo das folhas e das inflorescências dessa espécie foi semelhante, apesar de a composição química ser bastante diferente).

Tabela 4.11: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* seção *Subimbricata* (DC.) O.Hoffm.

	<i>E. inulifolium</i>						<i>E. bupleurifolium</i>					
	Can/0	Gra/05	SFP/05	Gua/05	Gua/06	MRe/06	SFP/05	MRe/05				
<i>dil.</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
1/10	+	-	+	+	+++	+++	++	+	+	-	+	++
1/100					+++	++						+
1/1000					+	++						-

	<i>E. tweedieanum</i>		<i>E. spathulatum</i>		<i>E. polystachyum</i>		<i>E. lanigerum</i>			
	Can/05	Via/06	abr/05	out/05	abr/05	abr/05	Via/06			
	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ra</i>	
1/10	++	+	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++
1/100	+	-	+++	++	++	++	++	+	++	++
1/1000	-	-	++	++	-	+	-	-	++	+-

	<i>E. tanacetifolium</i>		<i>E. ligulifolium</i>		<i>E. oblongifolium</i>		<i>E. tremulum</i>		<i>E. picturatum</i>		<i>E. buniifolium</i>		<i>E. ericoides</i>	
	Gra/05	Via/06	Via/06	Via/06	Gua/05	Can/05	Gua/05	Can/05	Gua/05	Via/06	Via/06	Via/06	Via/06	Via/06
	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>
1/10	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	+		++		+++	
1/100			++	++	+++	++	+	+			+		++	
1/1000			+	+	+	+	-	-			-		+	

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: +++ atividade visualmente semelhante à da substância de referência (quercetina 1 mg/ml); ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade fracamente visível; - atividade não detectada. Can: Canela/RS; Gra: Gramado/RS; SFP: São Francisco de Paula/RS; Gua: Guaíba/RS; Mre: Morro Reuter/RS, Via: Viamão; *i*: inflorescência; *f*: folhas; *ff*: folhas e inflorescências; *r*: ramos.

A atividade antioxidante de óleos voláteis, mesmo que bastante potente, dificilmente pode ser atribuída a compostos isolados. Muitos autores tentaram atribuir a atividade antioxidante de óleos voláteis a algum ou alguns dos componentes, muitas vezes os majoritários. Mesmo que isso tenha sido possível para alguns óleos, como o de *Clinopodium vulgare* avaliado nos sistemas DPPH e  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico, para o qual a atividade antioxidante foi positivamente atribuída ao timol e ao  $\gamma$ -terpineno (TEPE *et al.*, 2007), em muitos outros óleos não é possível encontrar um composto que seja tão efetivo quanto o óleo volátil; é o caso, por exemplo, de *Achillea millefolium* subsp. *millefolium*, de cujo óleo nenhum dos compostos majoritários apresentou atividade antioxidante comparável à do próprio óleo (CANDAN *et al.*, 2003). Devido à dificuldade em atribuir a atividade antioxidante a algum dos componentes do óleo volátil, muitos autores têm recorrido aos conceitos de sinergismo e antagonismo para explicar tais efeitos (TOMAINO *et al.*, 2005).

#### 4.1.4 Atividade anticolinesterásica

A atividade anticolinesterásica do óleo volátil de oito espécies desta seção (totalizando 11 amostras) foi avaliada por bioautografia, frente a enzima acetilcolinesterase de eritrócitos bovinos. Considerando-se o teor de óleo volátil e a semelhança na composição química qualitativa de algumas amostras com óleos obtidos de espécies desta e de outras seções de *Eupatorium*, também incluídas neste trabalho, foram selecionados os óleos voláteis de *E. polystachyum*, *E. tweedieanum*, *E. laetevirens*, *E. tremulum*, *E. buniifolium*, *E. bupleurifolium*, *E. spathulatum* e *E. ericoides* para realização deste ensaio. Com alguns óleos observou-se durante o ensaio a formação de uma região de coloração acastanhada sobre o ponto de aplicação, dificultando a interpretação do resultado. Considerando-se isso, foi realizada novamente a aplicação dos óleos de *E. tremulum*, seguida da eluição em sistema tolueno: acetato de etila (70:30 v/v). O novo ensaio evidenciou várias manchas com atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase, onde ocorreu reação bem como algumas manchas separadas, de coloração acastanhada, facilitando assim a interpretação dos resultados (Figura 4.3).

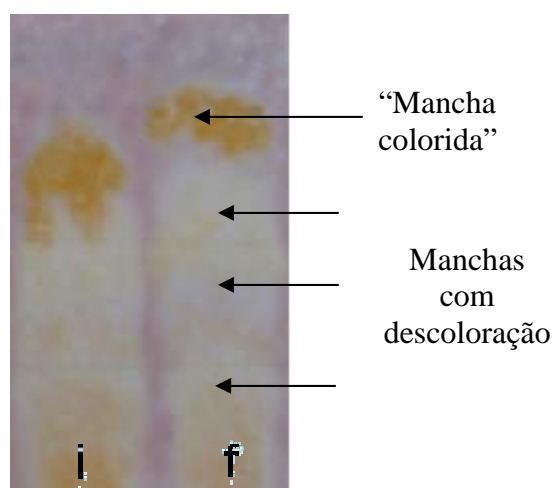


Figura 4.3: Bioautografia dos óleos voláteis de *Eupatorium tremulum* Hook. & Arn. Avaliação da atividade anticolinesterásica; i: óleo volátil das inflorescências; f: óleo volátil das folhas.

Todos os óleos analisados exerceram ação inibitória moderada sobre a enzima acetilcolinesterase na diluição utilizada, sendo mais pronunciados para os óleos de *E. polystachyum* (Tabela 4,12). A atividade inibitória de vários monoterpenos sobre a enzima acetilcolinesterase já foi observada anteriormente (MIYAZAWA *et al.*, 1997; MIYAZAWA *et al.*, 1998; SAVELEV *et al.*, 2003) como, por exemplo, para compostos como limoneno, presente no óleo volátil de *E. polystachyum* (8,0 a 22,8%), *p*-cimeno presente no óleo de *E. tweedieanum* (8,9%) e óxido de cariofileno, presente no óleo de *E. spathulatum* e *E. bupleurifolium* (11,5 e 20,1% - ambos em associação com globulol - respectivamente). Também foi demonstrada atividade inibitória forte do  $\alpha$ -pineno (*E. polystachyum*, 3,0 a 14,6%) sobre essa enzima (MIYAZAWA *et al.*, 2005). A presença destes compostos em percentagem não muito elevada nos óleos voláteis analisados, bem como os relatos de atividade inibitória moderada para a maioria deles está em acordo com a observação de inibição moderada neste ensaio.

Além disso, como demonstrado por SAVELEV e colaboradores (2003) para o óleo volátil de *Salvia lavandulaefolia*, a atividade final exercida sobre a enzima acetilcolinesterase pode ser não apenas um efeito somatório das atividades individuais dos vários constituintes do óleo volátil, mas o somatório dos efeitos sinérgicos e antagonísticos dos mesmos. Segundo esses autores, as associações

1,8-cineol e  $\alpha$ -pineno, bem como o 1,8-cineol e óxido de cariofileno exercem efeito sinérgico, aumentando a inibição da enzima. De forma oposta, a associação 1,8-cineol e cânfora apresenta efeito antagónico.

Tabela 4.12: Atividade anticolinérgica do óleo volátil de espécies de *Eupatorium sect. Subimbricata* (DC.) O.Hoffm.

<i>Espécie</i>	<i>parte</i>	<i>local de coleta</i>	<i>atividade</i>
<i>E. polystachyum</i>	<i>partes aéreas</i>	<i>Canela/abr/2005</i>	++
	<i>folhas</i>	<i>Canela/abr/2005</i>	++
	<i>flores</i>	<i>Canela/abr/2005</i>	++
<i>E. tweedieanum</i>	<i>folhas</i>	<i>Canela/abr/2005</i>	+
<i>E. laetevirens</i>	<i>folhas</i>	<i>Canela/abr/2005</i>	+
<i>E. tremulum</i>	<i>folhas</i>	<i>Guaíba/abr/2005</i>	+
	<i>flores</i>	<i>Guaíba/abr/2005</i>	+
<i>E. buniifolium</i>	<i>folhas</i>	<i>Guaíba/mai/2005</i>	+
<i>E. bupleurifolium</i>	<i>flores</i>	<i>SFP/out/2005</i>	+
<i>E. spathulatum</i>	<i>folhas</i>	<i>Canela/out/2005</i>	+
<i>E. ericoides</i>	<i>folhas</i>	<i>Viamão/mar/06</i>	+
<i>galantamina (1mM)</i>			+++

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade fracamente visível.

Dessa forma, apesar de não haver sido identificado o composto ou compostos responsáveis pela atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase é possível que os efeitos observados se devam à ação sinérgica dos vários componentes, e não à presença de um deles, uma vez que foram utilizados nesse ensaio óleos com composição química qualitativa e quantitativa bastante diversificada.



## 4.2 Eupatorium seção *Cylindrocephala* DC.

Dentre as 12 espécies citadas para o Rio Grande do Sul por MATZENBACHER (1979), cinco foram coletadas e analisadas. Os óleos voláteis de *E. laevigatum*, *E. ivifolium*, *E. subhastatum*, *E. congestum*, e *E. pedunculatum* foram extraídos e analisados em CG-EM para determinação de sua composição química. Foi avaliada a atividade antioxidante de 15 amostras de óleo volátil oriundas de diferentes coletas dessas cinco espécies. Também foi avaliada a atividade anticolinesterásica de quatro amostras de óleo volátil oriundas de três espécies diferentes (*E. laevigatum*, *E. subhastatum*, *E. ivifolium*). As folhas e inflorescências de quatro das espécies coletadas foram submetidas à análise em espaço confinado (*headspace*) para a determinação do perfil químico volátil.

Dentre as espécies dessa seção encontram-se arbustos e subarbustos, de 0,3 a 3,0 m de altura, com flores rosa, violáceas, azul-violáceas, azuladas ou roxas. Algumas espécies possuem distribuição muito ampla, desde o México até a Argentina, enquanto outras possuem distribuição mais restrita ao Sul do Brasil e Uruguai. As coletas foram realizadas em Guaíba, Gravataí, Viamão, Caraá e Rolante/Riozinho (região metropolitana) e Canela na região serrana.

Tabela 4.13: Coletas de espécies de *Eupatorium* sect. *Cylindrocephala* DC. utilizadas para extração do óleo volátil, com número de ICN, data e local de coleta, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil.

COLETAS	ICN	data	local	ff	i	f	V ml	r %
<i>E. laevigatum</i>	147001	abr/05	Guaíba		x		0,8	0,3
<i>E. laevigatum</i>	147001	abr/05	Guaíba			x	0,4	0,4
<i>E. laevigatum</i>	140079	abr/05	Gravataí	x			0,2	0,2
<i>E. laevigatum</i>	140082	abr/05	Caraá		x		0,8	0,4
<i>E. laevigatum</i>	140082	abr/05	Caraá			x	0,4	0,3
<i>E. laevigatum</i>	146973	abr/05	Canela		x		0,5	0,4
<i>E. laevigatum</i>	146973	abr/05	Canela			x	0,3	0,4
<i>E. laevigatum</i>	147001	abr/06	Guaíba	x			20	0,8
<i>E. subhastatum</i>	146977	abr/05	Canela	x			0,1	0,3
<i>E. subhastatum</i>	146992	mar/06	Viamão		x		0,2	0,4
<i>E. subhastatum</i>	146992	mar/06	Viamão			x	0,3	1,4
<i>E. ivifolium</i>	40567	mar/05	Guaíba	x			0,2	0,1
<i>E. ivifolium</i>	146995	mar/06	Viamão			x	0,3	0,7
<i>E. ivifolium</i>	146995	mar/06	Viamão		x		0,1	0,1
<i>E. ivifolium</i>	150829	abr/07	Guaíba			x	0,05	0,35
<i>E. ivifolium</i>	150829	abr/07	Guaíba		x		0,05	0,1

Tabela 4.13: Cont.

<i>E. pedunculatum</i>	140075	abr/05	Rolante	x	0,1	0,2
<i>E. pedunculatum</i>	40567	mar/05	Guaíba	x	-	-
<i>E. congestum</i>	146976	abr/05	Canela	x	0,1	0,1

*i*: inflorescência; *f*: folhas; *ff*: folhas e inflorescências; *r*: ramos; V mL: volume de óleo obtido; r%: rendimento: rendimento percentual em relação à massa de planta fresca.

#### 4.2.1 Óleo volátil

Dentre as 19 coletas desta seção, 8 correspondem à espécie *E. laevigatum*. Dentre as coletas de *E. pedunculatum* apenas a de Rolante/abr/05 forneceu óleo volátil suficiente para análise cromatográfica.

##### 4.2.1.1 *Eupatorium laevigatum* Lam.

*Eupatorium laevigatum* (= *Chromolaena laevigata*) é um arbusto perene de 1-3 m de altura, nativo em toda a América tropical e subtropical, desde o México até o Norte da Argentina. Suas flores possuem tonalidade azul-violácea e a planta pode florir o ano todo, dependendo das condições climáticas. Essa espécie é muito utilizada na região central do Brasil no tratamento de lesões, tais como aftas bucais. Em um estudo clínico foi verificada a segurança toxicológica e a eficácia de uma pasta contendo extrato de *E. laevigatum* para o combate de aftas bucais (PAULO FILHO *et al.*, 2000). A infusão de exemplares de *E. laevigatum* coletados na Argentina apresentaram atividade antifúngica contra *Mucor miehei* e seu extrato diclorometano apresentou atividade antibacteriana contra *Bacillus brevis* (CLAVIN *et al.*, 1999). Também na Argentina foi avaliada a atividade antinociceptiva das infusões dessa planta (500 mg/kg), observando-se redução de 46,6% das contrações induzidas por ácido acético, atividade esta provavelmente não relacionada ao sistema opióide (CLAVIN *et al.*, 2000).

Essa planta também foi avaliada por pesquisadores no Rio Grande do Sul, os quais demonstraram que seus extratos apresentam toxicidade diferenciada para as linhagens tumorais HT29 (adenocarcinoma de cólon humano), NCI-H460 (câncer pulmonar) e U373 (glioblastoma) (MONKS *et al.*, 2002). Estudos fitoquímicos realizados com a espécie revelaram a presença de compostos sesquiterpênicos de núcleo isodaucano, além de norsesquiterpenos e clerodanos (MISRA *et al.*, 1985). Além disso, análises cromatográficas dos óleos voláteis foram realizadas em coletas

de Roraima, Norte do Brasil e do Rio Grande do Sul. No óleo volátil oriundo de Roraima predominam aristolona/levigatina (23,6%), globulol (16,2%) e germacreno D (8,6%) (MAIA *et al.*, 2002). Já no óleo oriundo do Rio Grande do Sul predominam levigatina (15,1%),  $\beta$ -cubebeno (12,5%) e  $\beta$ -cariofileno (9,6%) (OLIVEIRA *et al.*, 1990). Em um segundo trabalho no Rio Grande do Sul o óleo volátil foi analisado por cromatografia a gás e avaliado quanto a sua atividade antioxidante em plasma humano; nesse trabalho foram identificados a levigatina e o globulol como componentes majoritários e o óleo apresentou atividade antioxidante (WUNSCH *et al.*, 2005).

Tabela 4.14: Composição química do óleo volátil de *Eupatorium laevigatum* Lam. oriundo de diferentes locais de coleta no Rio Grande do Sul.

IR	Componente	abr/05								abr/06
		Canela		Gravataí	Guaíba		Caraá		Guaíba	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	
915	$\alpha$ -tujeno	tr	0,1	tr	1,4	3,5	1,0	3,8	6,0	
922	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	tr	0,1	tr	1,3	2,7	1,1	<b>6,5</b>	<b>6,3</b>	
960	sabineno	tr	0,2		0,3	0,7	0,2	0,6	1,1	
963	$\beta$ -pineno	0,1	0,6	tr	0,7	1,0	0,3	1,4	1,8	
979	$\beta$ -mirceno	tr	0,6		0,5	0,6	tr			
994	$\alpha$ -felandreno				tr					
994	$\delta$ -2-careno		0,1							
998	<i>p</i> -menta-1(7),8-dieno		tr							
1007	$\alpha$ -terpineno		tr		tr	tr				
1014	<i>p</i> -cimeno		0,1		tr	tr				
1018	limoneno	0,1	1,3	tr	0,8	0,9	0,1	tr	tr	
1028	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno		tr		tr	tr				
1037	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno		0,7		0,2	0,1				
1047	$\gamma$ -terpineno				0,2	0,1				
1077	terpinoleno				0,1	tr				
1172	terpinen-4-ol				tr					
1323	$\delta$ -elemeno				tr					
1335	$\alpha$ -cubebeno	tr			tr		tr			
1357	$\alpha$ -ilangueno				tr		tr			
1361	$\alpha$ -copaeno	0,3	0,4		tr	tr	tr			
1369	$\beta$ -bourboneno			tr	tr	0,2	tr	tr	0,3	
1375	$\beta$ -cubebeno				tr	tr	0,1			
1374	<b><math>\beta</math>-elemeno</b>	1,0	4,2	<b>10,1</b>	1,0	1,6	0,7	0,4	1,4	
1382	<b>1,7-di-epi-<math>\alpha</math>-cedreno</b>	0,6	0,7							
1392	7-epi-sesquitujeno		tr							
1400	<b>(<i>E</i>)-<math>\beta</math>-cariofileno/ cis-<math>\alpha</math>-bergamoteno</b>	<b>6,4</b>	<b>9,0</b>							
1403	<b>(<i>E</i>)-<math>\beta</math>-cariofileno</b>			3,6	<b>4,0</b>	<b>5,4</b>	<b>11,2</b>	<b>18,8</b>	<b>7,0</b>	
1413	<b><math>\alpha</math>-santaleno</b>	<b>37,7</b>	<b>33,5</b>					0,2	0,3	
1414	$\beta$ -gurjuneno				tr	tr	tr			
1420	<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamoteno	1,0	0,9	1,9	0,1	0,2	0,1			

Tabela 4.14: Cont.

1422	aromadendreno		0,1		0,1	tr	<b>0,6</b>		
1427	(Z)- $\beta$ -farneseno	0,3	0,2	0,7	0,1	0,1			
1431	<i>epi</i> - $\beta$ -santaleno	3,1	2,9		tr				
1435	$\alpha$ -humuleno	0,4	0,4	0,1	0,4	0,6	0,9	1,1	0,4
1442	(E)- $\beta$ -farneseno	2,9	3,4	1,9	2,4	1,9	0,7	0,6	0,1
1446	$\beta$ -santaleno	1,3						0,3	0,5
1451	9- <i>epi</i> -(E)-cariofileno	0,1		1,2		tr			
1465	<b>cis-cadina-1(6),4-dieno/germacreno D</b>	<b>6,3</b>	<b>9,5</b>						
1465	<b>germacreno D</b>			4,5	<b>25,2</b>	<b>39,1</b>	<b>38,0</b>	<b>35,9</b>	<b>27,7</b>
1468	$\beta$ -selineno	0,7							
1470	<b>NI1</b>	3,0	3,5	<b>6,8</b>		tr	tr	tr	
1473	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno				tr				
1476	valenceno				tr				
1478	<b>biciclogermacreno</b>	1,2	4,5	1,4	7,0	11,6	<b>22,4</b>	<b>12,7</b>	<b>23,0</b>
1481	$\alpha$ -muuroleno	0,1	0,2		0,2	0,2	0,3	tr	
1485	(Z)- $\alpha$ -bisaboleno	tr	tr	tr	tr	tr	tr		
1483	germacreno A	1,5	4,3	3,6	1,1	2,6	0,7	0,4	1,2
1490	<b><math>\beta</math>-bisaboleno</b>	3,5	2,3	<b>9,4</b>	2,5	2,2	0,3		tr
1493	$\gamma$ -cadineno				0,4	0,3	0,4	0,1	
1495	(Z)- $\gamma$ -bisaboleno	0,2	0,3		0,3	0,2			
1501	germacreno C	tr							
1503	$\delta$ -cadineno	0,9	0,8		1,4	1,2	1,3	0,8	0,2
1505	$\beta$ -sesquifelandreno			0,4	tr				
1514	cadina-1,4-dieno				tr		tr		
1520	$\alpha$ -cadineno	tr			tr				
1551	espatulenol	0,2	0,3	2,9	0,5	0,2	2,3	1,8	1,3
1555	óxido de cariofileno	0,1	tr	1,6	0,2	0,1	0,3	1,3	
1559	globulol	tr	tr		0,3	0,1	0,6	tr	
1560	<i>epi</i> -globulol	tr	tr		0,2	tr	0,3	tr	
1623	iso-espatulenol	tr	tr		tr	0,1	0,4	tr	
1630	$\tau$ -cadinol		0,1		0,4	tr	0,5	tr	
1638	$\alpha$ -muurolol				tr	tr			
1647	$\alpha$ -cadinol	0,4	0,2	tr	0,7	0,5	0,8	tr	
1659	(Z)- $\alpha$ -santalol	tr							
1660	verbocidentafurano	0,8	0,3		0,8	0,2	0,4	0,7	tr
1732	<b>levigatina</b>	<b>20,5</b>	<b>12,0</b>	<b>37,1</b>	<b>42,0</b>	<b>20,9</b>	<b>13,8</b>	<b>12,2</b>	<b>21,1</b>
1905	<b>NI2</b>	4,2	0,1	<b>6,3</b>			tr		
Total		91,5	84,4	93,7	96,5	98,0	99,5	99,5	99,7
	MH	0,2	3,8		5,5	9,6	2,7	12,3	15,2
	MO								
	SH	<b>65,2</b>	<b>67,9</b>	<b>45,6</b>	<b>46,2</b>	<b>66,2</b>	<b>77,7</b>	<b>71,3</b>	<b>62,1</b>
	SO	26,2	13,0	<b>47,9</b>	<b>45,1</b>	22,1	19,4	16,0	22,4

IR: índice de retenção em coluna DB5; *i*: inflorescência; *f*: folhas; *ff*: folhas e inflorescências; *r*: ramos. MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados; NI1: composto não identificado [m/z (rel int.): 204(5) 189(3) 161(10) 133(15) 119(13) 105(12) 93(42) 79(20) 69(55) 55(22) 41(100)]; NI2 [m/z (rel int.): 211 (15) 210 (100) 209(30) 195(30) 181(5) 167(18) 165(31) 152(13) 105(14) 104(14) 97(8) 89(11) 82(13) 76(13) 63(8) 51(9)]

Foram realizadas quatro coletas de *E. laevigatum* nos municípios de Canela, Gravataí, Guaíba e Caraá (abr/05), com uma coleta no município de Guaíba (abr/06). O rendimento dos óleos voláteis variou de 0,2 a 0,8%. A análise em CG-EM permitiu a identificação de 65 compostos, totalizando de 84,8 a 99,5% de cada óleo volátil. De modo geral, os óleos voláteis de todas as coletas de *E. laevigatum* apresentam pequena proporção de compostos monoterpênicos e completa ausência de compostos alifáticos, sendo caracterizados pela grande quantidade de compostos sesquiterpênicos (84,5 a 97,1%). Dentre estes, a grande maioria é de compostos hidrocarbonados, exceto nos óleos das coletas de Guaíba/05 (inflorescências) e Gravataí/05 (folhas/inflorescências) os quais apresentam proporções equivalentes de sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados (46,2 e 45,1% - inflorescências, Guaíba/05; 45,6 e 47,9%, folhas/inflorescências, Gravataí/05). A maior abundância de compostos oxigenados nesses óleos se deve principalmente à maior concentração de levigatina observada nessas coletas (42,0 e 37,1%, respectivamente).

Os óleos voláteis das plantas coletadas em Guaíba/05, Guaíba/06 e Caraá/05 se caracterizam pela predominância de compostos de núcleo cariofilano ( $\beta$ -cariofileno – 4,0 a 18,8%) e germacrano (cadina-1(6),4-dieno/germacreno D – 25,2 a 39,1%; biciclogermacreno – 7,0 a 23,0%). Na fração sesquiterpênica oxigenada a levigatina, um furanocadinano, é o composto majoritário (12,2 a 42,0%). Apesar de os monoterpênicos não serem abundantes nesses óleos, todas as três coletas apresentam  $\alpha$ -pineno (1,1 a 6,3%) e  $\alpha$ -tujeno (1,0 a 6,0%).

A coleta do município de Gravataí/05 apresenta apenas traços de compostos monoterpênicos. Dentre os compostos da fração sesquiterpênica hidrocarbonada se destacam o par  $\beta$ -elemeno/germacreno A (10,1 e 3,6%), já identificado nas espécies da seção Subimbricata. Além disso, encontra-se nessa fração um composto de núcleo bisabolano,  $\beta$ -bisaboleno (9,4%), que também estava presente, porém em menor concentração, nas coletas de Guaíba e Caraá. Finalmente, na fração sesquiterpênica oxigenada desse óleo volátil encontra-se a levigatina (37,1%) e um sesquiterpenóide não identificado (6,3%). O espectro padrão de fragmentação sugere ser um sesquiterpeno furânico, o qual poderia ser o linderazuleno, ou ainda um derivado da levigatina (MOLLEKEN *et al.*, 1998).

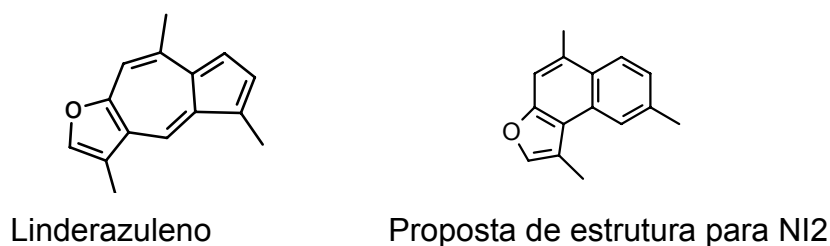


Figura 4.4: Propostas de estrutura para o composto NI2 de *Eupatorium laevigatum* Lam. (ver Tabela 4.14).

A coleta realizada no município de Canela/05 forneceu óleo volátil rico em sesquiterpenos hidrocarbonados, sendo majoritário, tanto nas inflorescências como nas folhas, o composto de núcleo santalano,  $\alpha$ -santaleno (37,7 e 33,5%, respectivamente). Juntamente com ele ocorrem outros compostos com esse núcleo, como o bergamoteno,  $\beta$ - e *epi*- $\beta$ -santaleno, porém em baixa concentração. Os sesquiterpenos  $\beta$ -cariofileno (6,4 e 9,0%) e cadina-1(6),4-dieno/germacreno D (6,3 e 9,5%) também ocorrem em concentração apreciável. Na fração sesquiterpênica oxigenada, a levigatina (20,5 e 12,0%) é o único composto expressivo. As estruturas químicas dos principais componentes dos óleos voláteis de *E. laevigatum* coletado em diferentes locais podem ser vistas nas Tabelas 4.8 e 4.9.

Quando estocados sob refrigeração, o óleo volátil de *E. laevigatum* sofreram cristalização, na forma de agulhas incolores ou leitosas, os quais, por cromatografia a gás, revelaram ser a levigatina (94% de pureza).

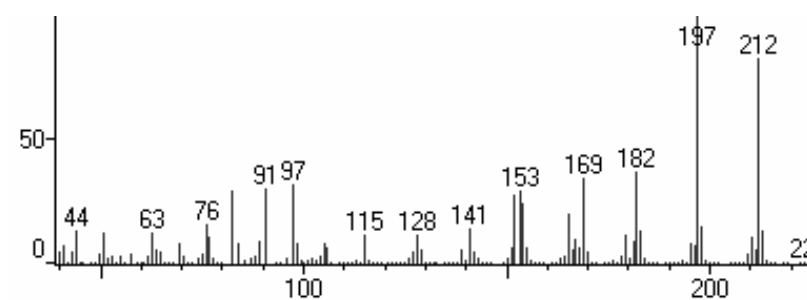
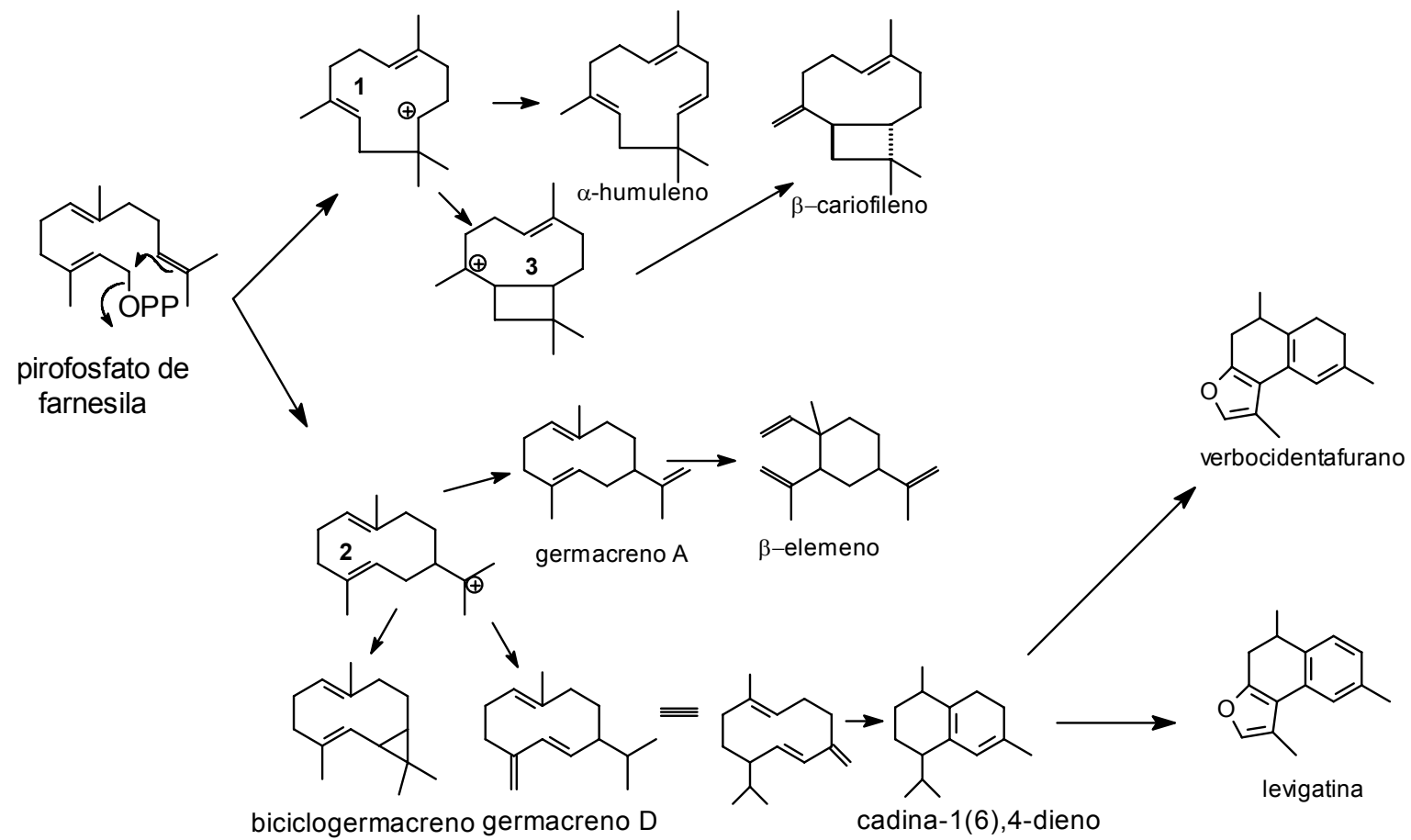
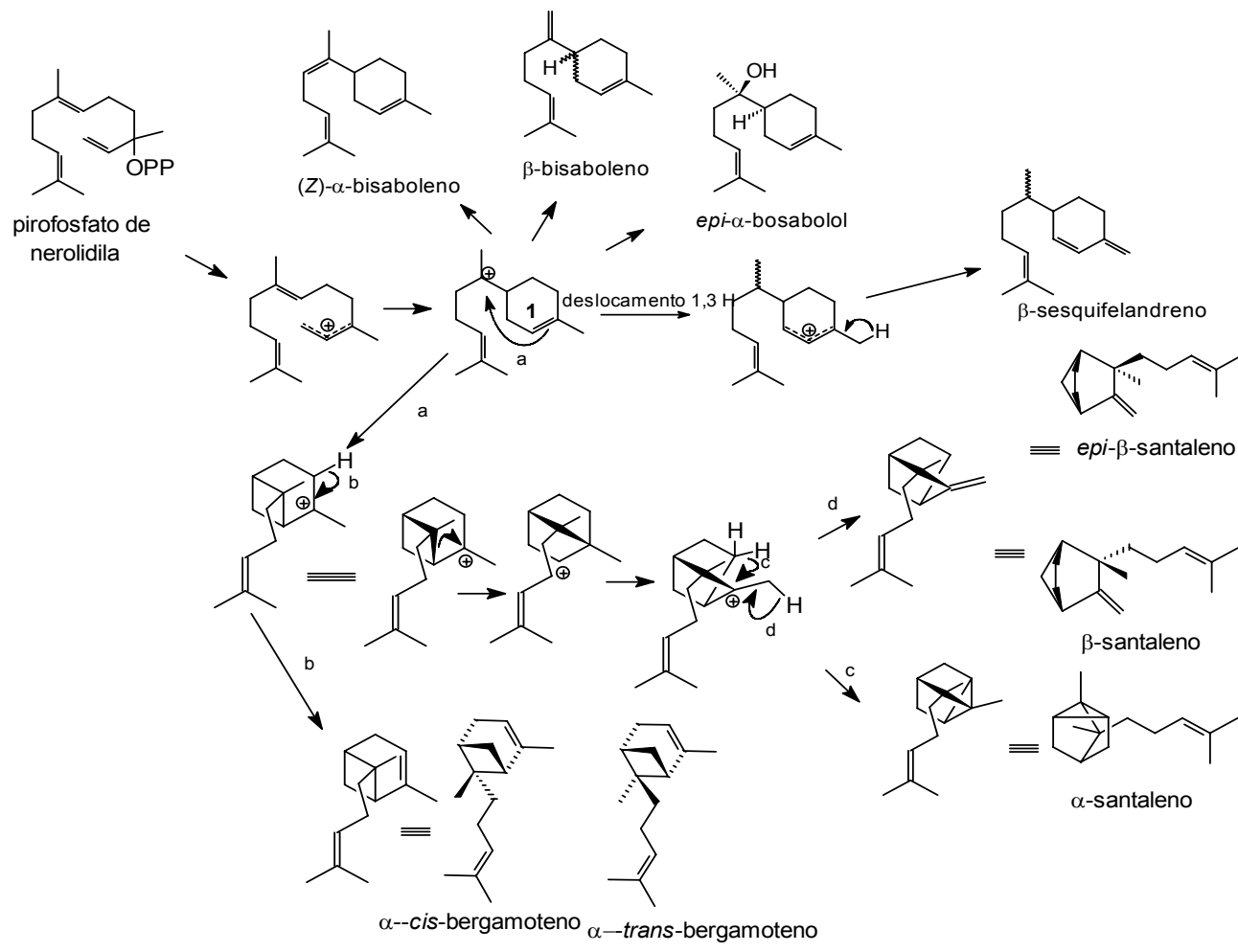


Figura 4.5: Espectro de massas da levigatina isolada do óleo volátil de *Eupatorium laevigatum* Lam.



Esquema 4.8: Derivados humulanos, cariofilanos, germacranos e cadinanos presentes no óleo volátil de *Eupatorium laevigatum* Lam.



Esquema 4.9: Derivados bisabolanos, santalanos e bergamotanos presentes no óleo volátil de *Eupatorium laevigatum* Lam. (Adaptado de JONES *et al.*, 2006; KÖLLNER, 2004).



#### 4.2.1.2 *Eupatorium subhastatum* Hook. & Arn., *E. ivifolium* L., *E. pedunculatum* Hook. & Arn. e *E. congestum* Hook. & Arn.

*Eupatorium subhastatum* (= *Chromolaena hirsuta* – nome vulgar: charrua) é um subarbusto de 40-80 cm de altura, com flores violáceas, nativo do Sul do Brasil, Paraguai, Uruguai, Nordeste e Centro da Argentina. Na Argentina essa planta é tida como medicinal (emenagoga, anti-inflamatória e antipruriginosa) (Del VITTO *et al.*, 1997). Já foram isoladas dela algumas flavonas (FERRARO *et al.*, 1987; FERRARO e COUSSIO, 1973). Seu extrato aquoso reduziu em 35,6% as contrações induzidas por ácido acético em camundongos, revelando um efeito nociceptivo, o qual não foi revertido pelo uso de naloxona (CLAVIN *et al.*, 2000). Ainda na Argentina, em uma análise do óleo volátil foram identificados como compostos majoritários  $\alpha$ -pineno e p-cimeno (ZYGADLO *et al.*, 1996).

*Eupatorium ivifolium* (= *Chromolaena ivifolia* – nome vulgar: iapaina, yapana) é um subarbusto de 50-120 cm de altura, de flores azuladas, violáceas ou purpúreas, nativo da América tropical e subtropical, desde os Estados Unidos (Texas, Louisiana, Flórida) até o Uruguai e Norte da Argentina. Floresce em fins do verão e no outono. Para esta espécie não foram encontrados relatos na literatura científica.

*Eupatorium pedunculatum* (= *Chromolaena pedunculosa* e *Chromolaena foliata*) é um subarbusto de 1-1,5 m de altura, com flores de cor rosa forte a roxa ou azuis, nativo do Sul do Brasil, Paraguai e Norte da Argentina que floresce de fevereiro a abril. Seus extratos aquoso e etanólico apresentaram atividade citotóxica com IC<sub>50</sub> menor que 5  $\mu$ g/ml para as linhagens tumorais HT29 (adenocarcinoma de cólon humano) e NCI-H460 (câncer pulmonar) (MONKS *et al.*, 2002).

*Eupatorium congestum* (= *Chromolaena congesta*) é um subarbusto de 30-80 cm de altura, com flores violáceas, nativo do Sul do Brasil, cujo período de floração vai de janeiro a março. Os flavonóides isolados dessa espécie apresentaram atividade antiprotozoária contra *Trypanosoma cruzii* e *Leishmania amazonensis* (TALEB-CONTINI *et al.*, 2004). A atividade antimicrobiana de flavonóides e esteróides isolados dessa planta também foi testada contra várias cepas de

microrganismos, sendo ativos contra espécies de *Staphylococcus* e de *Streptococcus* (TALEB-CONTINI, 2003). A atividade antioxidante dos flavonóides isolados dessa espécie também foi avaliada contra espécies reativas do oxigênio geradas por leucócitos polimorfonucleares, mostrando-se dependente do número e posição das radicais hidroxila e metoxila (TALEB-CONTINI *et al.*, 2006).

O rendimento em óleo volátil das coletas dessas quatro espécies variou de traços a 1,4%, sendo o maior aquele obtido para as folhas de *E. subhastatum* coletadas em Viamão/06. Uma das coletas de *E. pedunculatum*, por sua vez, apresentou rendimento tão baixo que não foi possível realizar a análise cromatográfica do óleo. Para essa coleta dispomos apenas dos dados da análise em espaço confinado (*headspace*).

Dentre essas coletas, apenas os óleos voláteis de *E. subhastatum* apresentaram quantidades expressivas de monoterpenos, variando de 29,1 a 42,7% do óleo. Para as demais espécies analisadas a concentração de sesquiterpenos no óleo volátil varia de 87,9 a 98,5%. Os monoterpenos mais abundantes nas duas coletas de *E. subhastatum* (Viamão e Canela) são  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno, tanto nas folhas como nas inflorescências, quando analisadas separadamente, e a concentração desses compostos varia de 7,0 a 14,1%. O óleo volátil da coleta de Canela/05 apresenta também grande proporção de sesquiterpenos hidrocarbonados (64,4%), entre eles  $\beta$ -cariofileno (11,2%), cadina-1(6),4-dieno/germacreno D (19,8%) e biciclogermacreno (32,5%). Na coleta de Viamão/06, entretanto, são os sesquiterpenos oxigenados que se destacam, dentre eles germacreno D-4-ol/espatulenol, espatulenol, óxido de cariofileno,  $\tau$ -cadinol e  $\alpha$ -cadinol.

Os óleos voláteis de *E. ivifolium* coletado em Viamão/06 (inflorescências e folhas) e Guaíba/05 (inflorescências/folhas) são compostos principalmente por sesquiterpenos hidrocarbonados (79,9; 84,1 e 80,4%, respectivamente). (*E*)- $\beta$ -cariofileno (46,8; 6,6 e 8,5%), germacreno D (16,5; 53,7 e 23,4%) e biciclogermacreno (11,1; 20,0 e 8,6%) são majoritários em ambas as coletas. Na coleta de Guaíba/05 observa-se também dois compostos de núcleo cadinano entre os majoritários:  $\gamma$ -cadineno (10,8%) e  $\delta$ -cadineno (6,8%).

*E. congestum* (Canela/05) e *E. pedunculatum* (Rolante/Riozinho/05) apresentam composição química bastante semelhante, com predominância de sesquiterpenos hidrocarbonados (84,0 e 68,5%). Os compostos majoritários do óleo volátil dessas duas espécies também são o  $\beta$ -cariofileno (13,8 e 26,1%), o germacreno D (23,5 e 25,6%) e o biciclogermacreno (28,2 e 13,6%). O óleo de *E. congestum* apresenta ainda o sesquiterpeno  $\delta$ -cadineno entre os majoritários (5,7%). Na fração sesquiterpênica oxigenada apenas o óleo de *E. pedunculatum* apresenta um composto em concentração elevada, o espatulenol (18,1%).

Tabela 4.15: Composição química do óleo volátil de *Eupatorium Ivifolium* L., *E. subhastatum* Hook. & Arn., *E. congestum* Hook. & Arn. e *E. pedunculatum* Hook. & Arn.

IR	Componente	<i>ivif</i>			<i>subh</i>			<i>cong</i>	<i>ped</i>
		Viamão		Guaíba	Viamão		Canela	Canela	Rolante
		mar/06	mar/05	mar/06	abr/05	abr/05	abr/05	abr/05	
	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	
915	$\alpha$ -tujeno	tr	0,1	tr	0,4	1,6			
922	$\alpha$ -pineno	0,3	0,4	0,2	3,3	<b>7,0</b>	2,7	tr	tr
946	canfeno				tr	tr			
960	sabineno	0,1	0,2	0,1	1,2	2	0,6		
963	$\beta$ -pineno	0,7	1,8	0,6	<b>9,0</b>	<b>12,2</b>	<b>7,5</b>	0,1	tr
979	$\beta$ -mirceno		1,2	1,5	0,6	5,8	3,5	tr	
994	$\alpha$ -felandreno		tr	tr		tr			
994	$\delta$ -2-careno	tr	tr						
1007	$\alpha$ -terpineno			tr		tr			
1014	<i>p</i> -cimeno	tr	0,2	tr	0,3	tr		tr	
1018	limoneno	0,7	2,2	3,2	<b>14,1</b>	<b>10,9</b>	<b>13,1</b>	0,5	tr
1028	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr	tr	tr		0,2			
1037	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	1,1	2,4	1,9		2,9	1,7		
1047	$\gamma$ -terpineno			0,9		tr			
1077	terpinoleno		0,1	1,4		0,1		tr	
1015	1,8-cineol				0,3	tr			
1092	linalol			tr					
1121	<i>trans</i> -pinocarveol				0,3				
1144	pinocarvona				tr				
1172	terpinen-4-ol	tr		tr	tr	tr		tr	
1178	criptona	tr							
1183	$\alpha$ -terpineol	tr		tr	tr	tr		tr	
1188	mirtenal				tr				
1189	mirtenol				tr				
1268	acetato de bornila			tr	0,9	tr			
1347	acetato de nerila	0,3							
1323	$\delta$ -elemeno	0,3	tr	1,3				tr	tr
1335	$\alpha$ -cubebeno	tr	tr	2,9				0,1	
1350	ciclosativeno	tr							

Tabela 4.15: Cont.

1357	$\alpha$ -ilangueno	tr							
1361	$\alpha$ -copaeno	tr	0,1			0,6	tr	4,4	tr
1369	$\beta$ -bourboneno	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	0,4
1375	$\beta$ -cubebeno	0,2	0,1	tr	tr	tr		tr	
1374	$\beta$ -elemeno	0,6	0,3	2,6	tr	tr		0,6	0,3
1381	cipereno	tr							
1394	$\alpha$ -gurjuneno		0,1					tr	
1403	( <i>E</i> )- $\beta$ -cariofileno	<b>46,8</b>	<b>6,6</b>	<b>8,5</b>	<b>6,1</b>	<b>4,2</b>	<b>11,2</b>	<b>13,8</b>	<b>26,1</b>
1414	$\beta$ -gurjuneno			tr				0,2	
1420	<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamoteno	tr							
1422	aromadendreno	tr	0,1	tr	tr		0,3	0,4	tr
1435	$\alpha$ -humuleno	1,5	1,3	4,4	0,8	0,4		1,8	1,6
1442	( <i>E</i> )- $\beta$ -farneseno	tr							
1441	allo-aromadendreno	tr	0,2		1,7	1		1,1	0,2
1445	<i>cis</i> -muurolo-4(14),5-dieno			0,1					
1451	9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-cariofileno						tr		
1457	$\gamma$ -muuroloeno			1,2	0,9	tr		0,5	
1465	germacreno D	<b>16,5</b>	<b>53,7</b>	<b>23,4</b>	0,5	<b>14,3</b>	<b>19,8</b>	<b>23,5</b>	<b>25,6</b>
1468	$\beta$ -selineno			0,6		tr		0,2	
1473	<i>epi</i> -biciclo-sesquifelandreno			1,0				0,1	
1476	valenceno	tr							
1473	viridifloreno							0,2	
1478	biciclogermacreno	<b>11,1</b>	<b>20,0</b>	<b>8,6</b>		<b>6,0</b>	<b>32,5</b>	<b>28,2</b>	<b>13,6</b>
1481	$\alpha$ -muuroloeno	tr	tr	1,2	1,7	0,4		0,6	
1485	( <i>Z</i> )- $\alpha$ -bisaboleno	0,3							
1483	germacreno A	0,4	0,4	2,2		0,2	0,6	1,7	0,3
1490	$\beta$ -bisaboleno			0,9					
1491	$\delta$ -muuroloeno							0,2	
1496	$\gamma$ -cadineno	tr	0,2	<b>10,8</b>	1,6	0,3		0,3	
1497	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno	tr							
1503	<i>cis</i> -calameneno	tr				tr			
1504	$\delta$ -cadineno	0,9	0,8	<b>6,8</b>	0,8	2,7		<b>5,7</b>	0,4
1503	$\beta$ -cadineno					tr		tr	
1514	cadina-1,4-dieno	tr	tr	tr		tr		tr	
1520	$\alpha$ -cadineno	tr	tr	2,1	tr	tr		tr	
1526	$\alpha$ -calacoreno	tr		tr	tr	tr		tr	
1540	germacreno B	0,6		1,8		0,1		0,4	
1547	$\beta$ -calacoreno	tr		tr					
1555	germacreno D-4-ol/ espatulenol		tr			<b>12,9</b>			
1551	espatulenol	4,7	2,7	2,0	<b>7,6</b>		0,6	2,2	<b>18,1</b>
1555	óxido de cariofileno	3,9	0,2	1,2	<b>10,7</b>	0,5		1,4	2,1
1557	globulol		0,5	1,2				2,1	
1559	<i>epi</i> -globulol	2,4	0,4	tr	tr		3,5	4,1	
1594	epóxido de humuleno II			0,3	0,6				
1595	eudesmol*							0,4	

Tabela 4.15: Cont.

1614	1- <i>epi</i> -cubenol		tr	0,2	0,7	tr			
1619	eudesmol*							0,2	
1621	isoespatulenol	0,2	0,3		tr	tr		0,6	1,3
1635	cariofiladienol								0,3
1564	$\tau$ -cadinol	0,5	0,7	0,9	<b>8,6</b>	2,9		1,4	
1638	$\alpha$ -muurolol	0,2	0,2		1,5	0,4		0,3	
1647	$\alpha$ -cadinol	1,1	0,9	1,7	<b>17,5</b>	<b>6,1</b>		1,8	
1660	verbocidentafurano						2,0		
1663	cadaleno			tr					
1681	NI					4,5			0,6
-	N-pentacosano	tr							
-	N-heptacosano	0,4							
Total		95,7	98,7	97,4	92,3	99,6	99,4	98,6	90,9
MH		2,9	8,6	9,8	28,9	<b>42,7</b>	29,1	0,6	
MO		0,3			1,5				
SH		<b>79,2</b>	<b>84,1</b>	<b>80,4</b>	14,7	29,6	<b>64,4</b>	<b>84,0</b>	<b>68,5</b>
SO		13,0	5,9	7,5	<b>47,2</b>	27,3	6,1	14,5	22,4
AL		0,4							

IR: índice de retenção em coluna DB5; ivif: *Eupatorium ivifolium*; subh: *E. subhastatum*; cong: *E. congestum*; ped: *E. pedunculosum*; i: inflorescências; f: folhas; ff: folhas e inflorescências. MH: percentagem total de monoterpênos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpênos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpênos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpênos oxigenados; AL: compostos alifáticos.

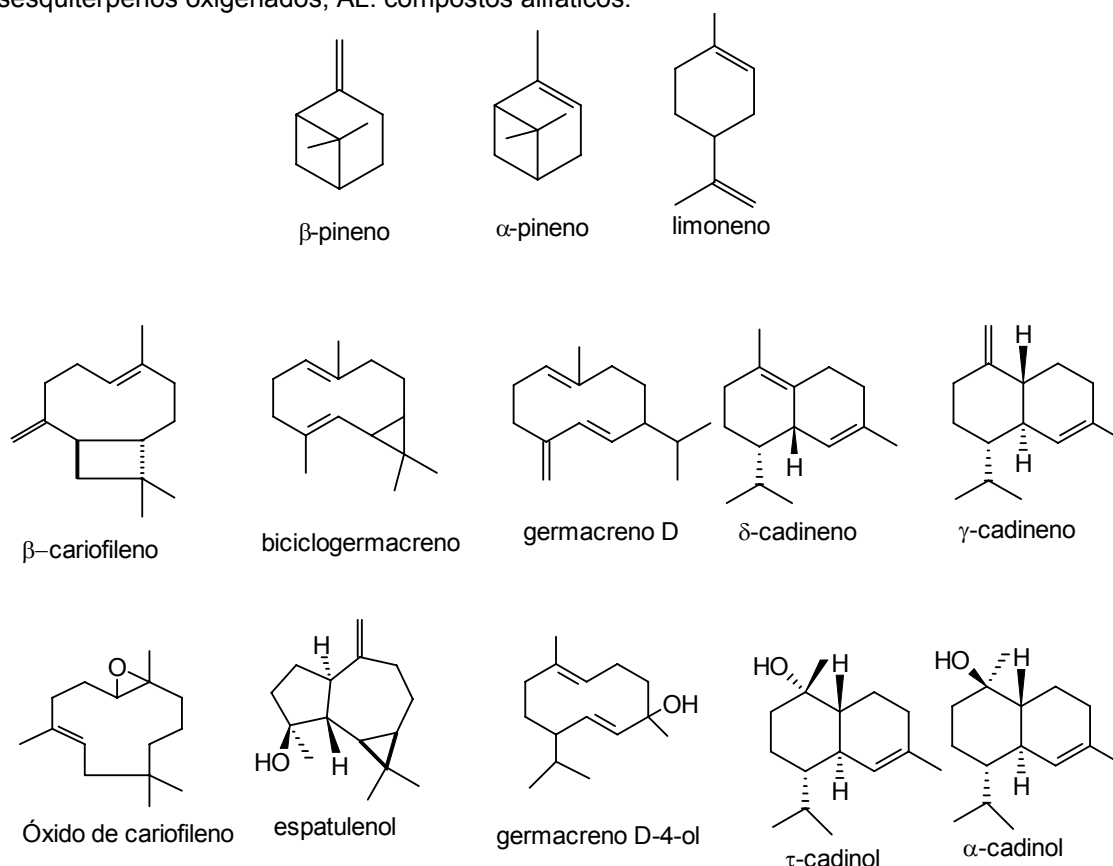


Figura 4.6: Componentes majoritários do óleos voláteis de *Eupatorium ivifolium*, *E. subhastatum*, *E. congestum* e *E. pedunculosum*.

#### 4.2.1.3 **Discussão dos resultados para as espécies de *Eupatorium* seção *Cylindrocephala* DC.**

As espécies dessa seção foram transferidas pelos botânicos R. M. King e H. Robinson para o gênero *Chromolaena* DC.: *E. laevigatum* (= *Chromolaena laevigata*), *E. subhastatum* (*C. hirsuta*), *E. ivifolium* (= *C. ivifolia*), *E. congestum* (*C. congesta*) e *E. pedunculatum* (= *C. pedunculosa*) (KING e ROBINSON, 1987; MATZENBACHER, 1979).

De modo geral observou-se uma correlação positiva entre o conteúdo de monoterpenos dos óleos voláteis e a classificação genérica apresentada por R. M. King e H. Robinson, pois dentre todas as coletas, a exceção de *E. subhastatum*, cujo óleo volátil apresenta grande proporção de compostos monoterpênicos e de *E. pedunculatum*, caracterizado pela presença de compostos alifáticos, houve predominância de sesquiterpenos, com pequena proporção de monoterpenos. A correlação observada parece consistente, uma vez que foram realizadas coletas em seis locais e dois anos diferentes, todas nos meses de março e abril. Entretanto, um acompanhamento mais sistemático da influência da sazonalidade, do solo, do clima e do estágio vegetativo sobre o conteúdo dos óleos voláteis dessas espécies seria necessário para comprovar tal correlação, estabelecendo assim um padrão diferencial para as espécies de *Chromolaena*.

Na fração sesquiterpênica do óleo volátil foram identificados  $\beta$ -cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno entre os majoritários em todos os espécimes coletados, com a presença marcante de sesquiterpenos oxigenados em *E. subhastatum* e no óleo volátil de apenas uma das coletas de *E. pedunculatum*, o que reforça a possibilidade de um padrão característico para o perfil volátil de *Chromolaena* e também a necessidade de um acompanhamento mais sistemático para caracterização do mesmo.

A presença de levigatina no óleo volátil de todas as coletas de *Eupatorium laevigatum* (= *Chromolaena laevigata*) é uma característica distintiva que não encontra paralelo nas outras espécies de *Chromolaena*, sendo assim uma característica com valor taxonômico em nível específico, mas não em nível genérico.

#### 4.2.2 Headspace

Foram submetidas à análise em espaço confinado (*headspace*) uma das coletas de *E. laevigatum* (Canela/05) e os duas de *E. subhastatum* (Canela/05 e Viamão/06), *E. ivifolium* e *E. congestum* (Canela/05).

Assim como nas análises em *headspace* das espécies da seção Subimbricata, as espécies da seção *Cylindrocephala* apresentam-se, na sua maioria, compostas majoritariamente por monoterpenos (70,6 a 98,4%), exceto para *E. laevigatum* Canela//05, que apresenta menor percentagem desses compostos (38,4 e 42,5%, para inflorescências e folhas, respectivamente). Essa variação se deve à presença, no óleo volátil obtido das plantas dessa coleta, de percentagem elevada de  $\alpha$ -santaleno (29,9 a 31,2%).

Quanto à composição química, a fração volátil de todas essas espécies se caracteriza pela presença dos pinenos,  $\alpha$ -pineno (4,0 a 43,4%) e  $\beta$ -pineno (9,8 a 29,2%). Dentre os monoterpenos cíclicos o *p*-mentano limoneno também é encontrado em todas as espécies (8,5 a 16,9%). Dentre os monoterpenos acíclicos o mirceno também se encontra entre os majoritários em todas as coletas analisadas (5,0 a 19,4%).

Além disso, *E. subhastatum* (Viamão/06) apresenta o tujano  $\alpha$ -tujeno (7,1 e 6,1%, inflorescências e folhas, respectivamente). A percentagem dessa substância no óleo volátil era baixa (0,4 e 1,6%), entretanto, considerando-se que na análise em *headspace* apenas a fração monoterpênica é considerada, a sua contribuição percentual em relação ao conjunto dos componentes eleva-se consideravelmente. Em *E. ivifolium*, cujo óleo volátil era composto predominantemente por sesquiterpenos hidrocarbonados, especialmente o germacreno D, essa substância também está presente na fração volátil das inflorescências e folhas analisadas por *headspace* (23,1 e 9,3%, respectivamente).

Tabela 4.16: Headspace das folhas e inflorescências de espécies de *Eupatorium* sect. *Cylindrocephala*.

IR	Componente	laev		sub				ivi		con	
		Canela/05		Canela/05		Viamão/06		Guaíba/05		Canela/05	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
880	santolinatrieno	0,8	0,8	0,2	tr					tr	
<b>912</b>	<b><math>\alpha</math>-tujeno</b>	0,9	1,8	4,1	4,2	<b>7,4</b>	<b>6,1</b>	3,0	3,6	3,8	4,9
<b>919</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	4,9	4,0	<b>27,0</b>	<b>43,4</b>	<b>29,0</b>	<b>26,6</b>	<b>11,9</b>	<b>13,8</b>	<b>28,8</b>	<b>31,8</b>
939	canfeno			0,5	tr	0,1	0,1	tr		0,8	tr
943	tuja-2,4(10)-dieno			tr	tr						
960	sabineno	2,0	2,6	1,4	2,0	2,9	3,7	1,8	2,5	1,2	2,0
<b>965</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>13,4</b>	<b>9,8</b>	<b>28,5</b>	<b>21,5</b>	<b>28,7</b>	<b>29,0</b>	<b>24,0</b>	<b>29,2</b>	<b>18,8</b>	<b>23,1</b>
<b>976</b>	<b>mirceno</b>	<b>5,0</b>	<b>6,7</b>	<b>11,4</b>	<b>7,6</b>	<b>12,3</b>	<b>14,2</b>	<b>11,8</b>	<b>9,1</b>	<b>19,4</b>	<b>15,9</b>
987	$\delta$ -2-careno	1,0		0,2	tr		tr				
990	$\alpha$ -felandreno			0,2	tr	0,4	tr	tr	tr	0,2	tr
1003	$\alpha$ -terpineno			0,2	tr	0,2		tr	tr	0,3	tr
1007	<i>p</i> -cimeno		0,8	0,1	tr		tr			tr	tr
<b>1016</b>	<b>limoneno</b>	<b>8,5</b>	<b>11,2</b>	<b>16,9</b>	<b>11,6</b>	<b>11,2</b>	<b>13,8</b>	<b>10,1</b>	<b>13,8</b>	<b>16,0</b>	<b>14,2</b>
1018	1,8-cineol			tr	1,1						0,5
1025	(Z)- $\beta$ -ocimeno		0,9	0,2	0,8	0,7	1,0	0,5	0,6	0,1	tr
<b>1035</b>	<b>(E)-<math>\beta</math>-ocimeno</b>	1,9	3,9	<b>6,5</b>	3,7	4,6	3,8	<b>6,1</b>	<b>12,6</b>	3,2	2,5
1047	$\gamma$ -terpineno			0,6	tr	0,4	tr	tr	0,3	0,7	tr
1073	terpinoleno			0,4	tr	0,2	tr	1,3	tr	1,2	tr
1162	terpinen-4-ol			tr							
1174	$\alpha$ -terpineol			tr							
1376	$\beta$ -elemeno	2,6	5,7		tr				tr	tr	tr
1400	$\alpha$ - <i>cis</i> -bergamoteno	0,9	1,0	x							
1403	$\beta$ -cariofileno	4,8	4,1	0,5	1,1	0,5	0,2	3,2	1,6	1,2	1,5
<b>1405</b>	<b><math>\alpha</math>-santaleno</b>	<b>31,2</b>	<b>29,9</b>								
1421	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno		1,0	tr							
1434	<i>epi</i> - $\beta$ -santaleno	3,1	2,8								
1440	$\alpha$ -humuleno			tr				1,5		0,3	
1447	$\beta$ -santaleno	1,9	2,2								
1450	<i>cis</i> -cadina-1(6),4-Dieno	2,7	1,7								
<b>1465</b>	<b>germacreno D</b>	4,2	4,6	0,8	0,8	1,0	0,5	<b>21,3</b>	<b>9,3</b>	1,7	1,2
1479	biciclogermacreno	1,5	3,0	0,3	2,2	0,3	0,5	3,3	3,7	0,9	2,3
1484	$\alpha$ -muuroleno			tr		tr	tr				
1509	$\delta$ -cadineno					0,2	0,4	tr		0,3	tr
1660	verbocidentafurano	0,5									
<b>1732</b>	<b>levigatina</b>	<b>7,1</b>	1,7								
Total		98,8	99,9	99,8	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,8	99,9

IR: índice de retenção em coluna DB5; laev: *E. laevigatum*; sub: *E. subhastatum*; ivi: *E. ivifolium*; con: *E. congestum*; i: inflorescências; f: folhas.



### 4.2.3 Atividade antioxidante

Foram avaliados no ensaio para atividade antioxidante frente ao radical DPPH os óleos voláteis de *E. laevigatum* das coletas de Guaíba, Canela, Gravataí e Caraá, todos de abril de 2005. Também foram submetidos ao ensaio os óleos voláteis de *E. ivifolium* das coletas de Guaíba (Mar/05) e Viamão (Mar/06), *E. subhastatum* das coletas de Viamão (Mar/06) e Canela (Abr/05) e os óleos voláteis de *E. pedunculatum* (Rolante Abr/05) e *E. congestum* (Canela Abr/05). A atividade mais pronunciada foi exercida pelos óleos voláteis de *E. laevigatum*, independente de sua origem. Essa atividade pode estar relacionada à presença do composto levigatina, um sesquiterpeno furânico, em todos os óleos voláteis dessa espécie. Essa substância, quando avaliada isoladamente no mesmo ensaio, exerceu atividade antioxidante nas diluições de 1/10, 1/100, 1/1.000 e 1/10.000, sendo esta menos pronunciada na menor diluição. A quantidade de levigatina presente na placa cromatográfica na menor diluição utilizada no ensaio (1/10.000) é a mesma presente na placa com óleo volátil na diluição 1/1.000 (uma vez que a levigatina perfaz 10% do óleo volátil). Entretanto, a atividade do composto isolado, é menor que a do óleo, indicando a possibilidade de efeito sinérgico com os demais componentes.



Figura 4.7: Atividade antioxidante da levigatina e do óleo volátil de *Eupatorium laevigatum* Lam. em diferentes diluições com éter etílico.

Além destes, foram bastante efetivos os óleos voláteis de *E. ivifolium* (Viamão 2006) e *E. subhastatum* (Viamão Mar/06), todos ricos em sesquiterpenos hidrocarbonados (em especial  $\beta$ -cariofileno, germacreno D, biciclogermacreno,  $\gamma$ -cadineno e  $\delta$ -cadineno). Segundo RUBERTO e BARATTA (2000), essa classe de compostos apresenta baixa atividade antioxidante (em especial o  $\beta$ -cariofileno avaliado no estudo); entretanto, segundo muitos autores, a atividade antioxidante, assim como outras atividades biológicas de óleos voláteis, não pode ser prevista a partir das atividades de seus componentes isolados, pois muitos fatores devem ser

tomados em consideração, especialmente o sinergismo e o antagonismo das dezenas de componentes de um óleo volátil (CANDAN *et al.*, 2003).

Tabela 4.17: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* sect. *Cylindrocephala*.

dil.	<i>E. laevigatum</i>						<i>E. pedunculosum</i>	
	Guaíba Abr/05		Canela		Gravataí	Caraá		Rolante
	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>
1/10	++++	++++	++++	++++	+	++++	++++	+
1/100	++	+++	+++	+++		+++	+++	+/-
1/1000	+	+	++	++		++	++	+/-

	<i>E. ivifolium</i>			<i>E. subhastatum</i>			<i>E. congestum</i>
	Guaíba Mar/05	Viamão Mar/06	Viamão Mar/06	Viamão Mar/06	Canela Abr/05	Canela Abr/05	Canela Abr/05
	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>
1/10	++	++++	++	+++	+++	+	+
1/100	+	++	++	++	++		
1/1000	-	+	+	++	+/-		

Aplicação pontual de 10µL da respectiva diluição. Legenda: ++++ atividade visualmente mais intensa do que a da substância de referência (quercetina 1 mg/ml); +++ atividade visualmente semelhante à da substância de referência; ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade fracamente visível; - atividade não detectada; *i*: inflorescência; *f*: folhas; *ff*: folhas e inflorescências.

#### 4.2.4 Atividade anticolinesterásica

Foram avaliados quanto à sua atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase os óleos voláteis de *Eupatorium laevigatum*, *E. subhastatum* e *E. ivifolium*. Dentre os óleos voláteis de *E. laevigatum* foram submetidas ao ensaio apenas aqueles oriundos das folhas das coletas de Canela/RS (abr/05) e Caraá (abr/05). Dentre os óleos avaliados, apenas aquele da coleta de Caraá/abr/05 apresentava algum monoterpene entre os majoritários ( $\alpha$ -pineno, 6,5%), cuja atividade já está descrita na literatura. O óleo volátil de *E. subhastatum* Viamão/mar/06 também apresenta esse monoterpene (7,0%). Esses dois óleos voláteis exerceram atividade inibitória sobre a enzima mais pronunciadamente que óleos ricos em sesquiterpenos.

A atividade dos demais compostos presentes em percentual elevado não está descrita na literatura. Entretanto, todas as amostras revelaram inibição sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase, provavelmente pelo efeito sinérgico de seus constituintes. Como proposto por alguns autores, a atividade sinérgica dos compostos majoritários do óleo volátil, e de compostos minoritários, pode afetar o efeito final sobre a enzima acetilcolinesterase (MIYAZAWA *et al.*, 1998; SAVELEV *et al.*, 2003).

A levigatina, obtida por cristalização do óleo volátil de *E. laevigatum* (Guaíba/Abr/06), foi avaliada no mesmo ensaio, nas concentrações de 1 mg/mL, 0,1 mg/mL e 0,01 mg/mL, aplicando-se 10 µL na cromatoplaça. Apenas a concentração de 1 mg/mL, equivalente a 10 µg inibiu a enzima, moderadamente. Considerando-se que nos dois óleos voláteis de *E. laevigatum* submetidos ao ensaio, a levigatina encontra-se numa concentração de aproximadamente 10%, sua massa aplicada na placa corresponde a aproximadamente 0,1 µg. Como a substância isolada exerceu atividade apenas numa concentração 100 vezes superior pode-se sugerir que a atividade anticolinesterásica exercida pelo óleo volátil não se deve à presença desse composto isoladamente, mas à presença do  $\alpha$ -pineno, ou à ação sinérgica deste último com os demais componentes do óleo.

Tabela 4.18: Atividade anticolinesterásica da levigatina e dos óleos voláteis das folhas de *Eupatorium laevigatum* Lam., *E. subhastatum* Hook. & Arn., *E. ivifolium* L., indicando o local e época de coleta.

Material	Local	concentração (µg)	atividade
<i>Eupatorium subhastatum</i>	Viamão/mar/06		++
<i>Eupatorium ivifolium</i>	Viamão/mar/06		+
<i>Eupatorium laevigatum</i>	Canela/abr/05		+
<i>Eupatorium laevigatum</i>	Caraá/abr/05		++
levigatina	Guaíba/Abr/06	0,1	-
levigatina	Guaíba/Abr/06	1,0	-
levigatina	Guaíba/Abr/06	10	+
<i>galantamina</i>		1mM	+++

Aplicação pontual de 10µL da respectiva diluição. Legenda: ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade fracamente visível; - atividade não detectada.

### 4.3 Seção *Eximbricata* (DC.) O.Hoffm.

Três dentre as quatro espécies presentes no Rio Grande do Sul (MATZENBACHER, 1979) foram coletadas no decorrer deste trabalho. Os óleos voláteis foram obtidos por hidrodestilação das plantas plenamente floridas de duas coletas plenamente floridas de *E. rufescens* (Morro Reuter/05; São José das Missões/05), uma coleta de *E. grande* (São Francisco de Paula/05), também em plena floração, e uma coleta de *E. consanguineum* em estágio vegetativo (Morro Reuter/05). Seis amostras de óleo volátil (representativas de três espécies) foram avaliadas no ensaio antioxidante com o radical DPPH e duas amostras (oriundas de duas espécies) foram avaliadas no ensaio de atividade anticolinesterásica.

As espécies coletadas nessa seção são ervas, subarbustos e arbustos, de 0,5 a 4 m de altura, com flores brancas, rosa ou lilás. As coletas foram realizadas na região metropolitana de Porto Alegre (Morro Reuter), na região serrana (São Francisco de Paula) e na região do Planalto (São José das Missões).

Tabela 4.19 : Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies de *Eupatorium* sect. *Eximbricata*.

Espécie	Local	Data	ICN	i	f	V mL	r %
<i>E. rufescens</i>	Morro Reuter	Out/05	146985		x	0,5	0,1
<i>E. rufescens</i>	Morro Reuter	Out/05	146985	x		<0,05	<0,1
<i>E. rufescens</i>	São José das Missões	Nov/05	147006	x		0,1	0,1
<i>E. rufescens</i>	São José das Missões	Nov/05	147006		x	0,5	0,3
<i>E. grande</i>	São Francisco de Paula	Abr/05	146984		x	0,4	0,5
<i>E. grande</i>	São Francisco de Paula	Abr/05	146984	x		<0,05	<0,1
<i>E. consanguineum</i>	Morro Reuter	Out/05	148133		x	0,3	0,12

i: inflorescências; f: folhas; V mL: volume de óleo volátil obtido; r%: rendimento de óleo volátil em relação à planta fresca.

#### 4.3.1 Óleo volátil

##### 4.3.1.1 *Eupatorium rufescens* P.W.Lund ex DC., *E. grande* Sch.Bip. ex Baker, *E. consanguineum* DC.

*Eupatorium rufescens* (= *Kaunia rufescens* – mangerona, mata-campo) é um arbusto ou arvoreta de 3-4 metros de altura, nativo do Sul da Bolívia e Sudeste e Sul do Brasil. A floração dessa espécie ocorre entre os meses de junho e novembro e suas flores são brancas ou lilases. Muitos usos medicinais populares são descritos para essa planta ([http://coralx.ufsm.br/ifcrs/Cap\\_VI\\_3\\_Resultados\\_Plantadas.pdf](http://coralx.ufsm.br/ifcrs/Cap_VI_3_Resultados_Plantadas.pdf)). Além disso, duas lactonas sesquiterpênicas isoladas dessa espécie demonstraram ser sensibilizadores alergênicos (RÜCKER *et al.*, 1997). Em outro trabalho foram isolados dois peróxidos sesquiterpênicos de núcleo bisabolano. Ambos exerceram atividade esquizotóxica contra *Plasmodium falciparum*. A atividade antitumoral de outra lactona sesquiterpênica isolada de *E. rufescens*, 2-oxoludartina, foi testada contra várias linhagens tumorais *in vitro*, entretanto, *in vivo* os resultados obtidos não foram significativos (RÜCKER *et al.*, 1996).

*Eupatorium grande* (= *Heterocondylus grandis*) é uma erva perene, de 50-80 cm de altura com flores cor-de-rosa forte, nativa do Sul do Brasil, Paraguai e Nordeste da Argentina. Morfologicamente, apresenta-se muito semelhante a *E. macrocephalum*. Para esta espécie não foram encontrados relatos na literatura especializada.

*Eupatorium consanguineum* (= *Koanophyllon consanguineum*) é um subarbusto de mais ou menos 1 m de altura, com flores alvas. O período de floração vai de junho a setembro. Já foram isoladas duas lactonas sesquiterpênicas de núcleo guaiano, desidroleucodina e 3,4-epoxidesidroleucodina (NAGAMITI *et al.*, 1987).

De modo geral os óleos voláteis de todas as plantas coletadas desta seção se caracterizaram pela predominância de sesquiterpenos hidrocarbonados (85,1 a 99,6%), exceto para as flores de *E. rufescens* (Morro Reuter/05) cujo óleo apresenta quantidades equivalentes de sesquiterpenos hidrocarbonados e compostos alifáticos

(35,3 e 33,0%), conforme Tabela 4.20. O óleo volátil das folhas de *E. consanguineum* (Morro Reuter/abr/05) apresenta três compostos majoritários: o cariofilano  $\beta$ -cariofileno (15,4%), o germacrano germacreno D (22,2%) e o bisabolano  $\alpha$ -zingibereno (13,5%).

Tabela 4.20: Composição química do óleo volátil das espécies de seção *Eximbricata* (DC.) O.Hoffm.

IR	Componente	<i>E. rufescens</i>		<i>E. grande</i>		<i>E. consanguineum</i>		
		Morro Reuter		SJM		SFP		Morro Reuter
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>f</i>
912	$\alpha$ -tujeno	tr	0,1		tr			tr
919	$\alpha$ -pineno	1,2	tr	0,3	3,2			1,0
929	$\beta$ -citroneleno	tr						
933	canfeno		tr					
956	sabineno	0,1		tr	0,3			0,2
959	$\beta$ -pineno	0,3	tr	0,2	1,1			0,5
974	mirreno	1,1		tr	0,2			tr
984	$\delta$ -2-careno	tr						
989	$\alpha$ -felandreno	tr	0,2					
1008	<i>p</i> -cimeno	0,1	tr					tr
1013	limoneno	1,7	0,1	tr	0,2			3,8
1014	1,8-cineol							tr
1022	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr			tr			
1032	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr		tr	0,8			
1084	linalol		0,1					tr
1151	lavandulol		tr					
1160	terpinen-4-ol							tr
1173	$\alpha$ -terpineol	tr						tr
1211	nerol	0,5						
1212	citronelol	tr						
1275	acetato de lavandulila	1,2	6,3					
1348	acetato de nerila	2						
1321	$\delta$ -elemeno			tr	0,1	0,3	0,4	0,4
1335	$\alpha$ -cubebeno		tr	tr	tr	tr	tr	0,6
1360	$\alpha$ -copaeno	tr	0,2	1,3	1,1	0,6	0,7	1,8
1368	$\beta$ -bourboneno	tr		tr	tr	0,1	0,2	0,2
1373	$\beta$ -cubebeno		0,7	0,5	0,4	tr	0,2	0,9
1374	$\beta$ -elemeno	tr	0,3	0,8	0,8	1,4	2,1	4,9
1397	$\alpha$ -gurjuneno					tr	tr	
1398	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno							0,3
1402	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	4,1	<b>40,7</b>	<b>24,7</b>	<b>20,2</b>	5,9	3,6	<b>15,4</b>
1420	aromadendreno			0,2	0,2			0,2
1435	<b><math>\alpha</math>-humuleno</b>	1,2	<b>9,7</b>	3,2	2,5	1,0	1,0	4,2
1438	( <i>E</i> )- $\beta$ -farneseno		tr					0,2
1442	allo-aromadendreno			tr	tr	0,7	0,7	
1460	$\gamma$ -muuroleno	tr		0,1		0,7		0,6
1462	<b><i>cis</i>-cadina-1(6)-4-dieno</b>		<b>12,4</b>					

Tabela 4.20: Cont.

1463	<b>germacreno D</b>	2,3		<b>16,1</b>	<b>24,9</b>	<b>35,9</b>	<b>32,5</b>	<b>22,2</b>
1468	$\beta$ -selineno					0,8	0,2	0,8
1468	<b>ar-curcumeno</b>	<b>11,0</b>						
1468	<i>trans</i> -cadina-1(6)-4-dieno		2,6					
1476	viridifloreno						0,1	
1476	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno					0,2	0,2	
1477	$\alpha$ -selineno					tr		
1480	<b>biciclogermacreno</b>			<b>27,7</b>	<b>32,7</b>	<b>11,5</b>	<b>19,4</b>	4,6
1483	<b><math>\alpha</math>-zingibereno</b>	<b>16,2</b>	<b>17,3</b>					<b>13,5</b>
1486	$\alpha$ -muuroleno		0,1	tr	tr	1,8	1,4	0,4
1489	germacreno A		0,2	1,3	0,9	3,3	3,1	4,2
1494	$\beta$ -bisaboleno	tr						
1496	$\beta$ -curcumeno	tr	tr					
1496	$\gamma$ -cadineno			0,2	0,2	3,5	2,5	0,3
1497	( <i>Z</i> )- $\gamma$ -bisaboleno	tr						
1497	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno					tr	tr	
1498	<i>cis</i> -cadina-1,4-dieno							0,3
1505	<i>cis</i> -calameneno						tr	0,1
1506	<b><math>\delta</math>-cadineno</b>		0,9	2,5	2,6	<b>8,5</b>	<b>7,6</b>	tr
1506	$\beta$ -cadineno					tr	tr	
1514	<i>trans</i> -cadina-1,4-dieno		tr	tr	tr	tr	tr	2,9
1520	$\alpha$ -cadineno	0,5	tr	tr	tr	1,1	0,8	tr
1526	$\alpha$ -calacoreno			tr	tr	tr	tr	tr
1540	germacreno B		tr	1,3	1	1,3	0,8	tr
1548	$\beta$ -calacoreno					tr	tr	
1549	( <i>E</i> )-nerolidol		tr			2,2		
1563	<b>germacreno D-4-ol/ espatulenol</b>		0,4	<b>7,1</b>	2,1		2,8	
1563	espatulenol							1,9
1563	espatulenol+ar-turmerol	0,3						
1568	<b>óxido de cariofileno</b>	1,0	0,6	<b>5,4</b>	1,1	1,4		<b>5,5</b>
1568	óxido de cariofileno/ globulol						0,9	
1570	globulol							0,9
1576	<i>epi</i> -globulol			0,6	0,3			0,4
1578	desidro- <i>ar</i> -turmerona	tr						
1583	óxido de humuleno I						0,7	
1599	epóxido de humuleno II	tr		0,5				0,3
1607	1,10-di- <i>epi</i> -cubenol					0,7	tr	
1616	1- <i>epi</i> -cubenol		0,1				0,6	0,4
1621	isoespatulenol			0,8	0,1			
1631	gossoronol	tr						
1635	cariofiladienol			tr				
1636	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	tr		1,2	1			
1641	<b><math>\alpha</math>-muurolol</b>			0,3	0,1	<b>5,0</b>	<b>6,1</b>	
1655	<b><math>\alpha</math>-cadinol</b>	0,5		1,9	1,5	<b>8,1</b>	<b>9,3</b>	
1660	bulnesol							0,1
1677	$\alpha$ -bisabolol	tr						

Tabela 4.20: Cont.

1717 (Z)-nuciferol	0,5							
1738 (E)-nuciferol	0,5	0,3						
1783 $\beta$ -bisabolenol	1,7							
1979 <b>ácido hexadecanóico</b>	<b>12,2</b>							
2104 nonadecanal	0,7							
- <b>N-tricosano</b>	<b>5,3</b>	0,9						
- N-tetracosano	1,7							
- N-pentacosano	0,3							
- <b>N-heptacosano</b>	<b>7,5</b>							
- N-octacosano	2,3							
- N-nonacosano	3,0							
- N-triacontano	tr							
<b>Total</b>	<b>80,0</b>	<b>93,3</b>	<b>99,1</b>	<b>99,6</b>	<b>96,0</b>	<b>97,9</b>		<b>94,0</b>
MH	3,6	0,3	0,4	5,8				5,5
MO	3,7	6,4						
SH	<b>35,3</b>	<b>85,1</b>	<b>79,8</b>	<b>87,6</b>	<b>78,7</b>	<b>77,3</b>		<b>79,0</b>
SO	4,5	1,4	17,9	6,3	17,3	20,5		9,5
AL	<b>33,0</b>		0,9					

IR: índice de retenção em coluna DB5; i: inflorescências; f: folhas; SJM: São José das Missões; SFP: São Francisco de Paula; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados.

O óleo volátil das inflorescências e folhas de *E. grande* (São Francisco de Paula/abr/05) é constituído exclusivamente por compostos sesquiterpênicos, sendo majoritários aqueles de núcleo germacrano: germacreno D (35,9 e 32,5%) e biciclogermacreno (11,5 e 19,4%). Também se encontram entre os majoritários os sesquiterpenos de núcleo cadinano: o hidrocarbonado  $\delta$ -cadineno (8,5 e 7,6%) e os oxigenados  $\alpha$ -muurolol (5,0 e 6,1%) e  $\alpha$ -cadinol (8,1 e 9,3%).

Os óleos voláteis das duas coletas de *E. rufescens* apresentam composição química bastante diferente. As inflorescências e folhas da coleta de São José das Missões (nov/05) apresentam basicamente sesquiterpenos hidrocarbonados com núcleos cariofilano ou germacrano:  $\beta$ -cariofileno (24,7 e 20,2%), germacreno D (16,1 e 24,9%) e biciclogermacreno (27,7 e 32,7%) com alguns sesquiterpenos oxigenados no óleo das inflorescências (germacreno D-4-ol/espátulenol – 7,1% e óxido de cariofileno – 5,4%). Os óleos da coleta de Morro Reuter (Out/05), por sua vez, apresentam composição qualitativa diferenciada para as inflorescências e para as folhas: O óleo volátil das folhas se caracteriza pela predominância de compostos



sesquiterpênicos hidrocarbonados com núcleos cariofilano ( $\beta$ -cariofileno – 40,7%), humulano ( $\alpha$ -humuleno – 9,7%), cadinano (cadinano-1(6)-4-dieno – 12,4%) e bisabolano ( $\alpha$ -zingibereno – 17,3%). Nas inflorescências, por sua vez, predominam os compostos sesquiterpênicos hidrocarbonados com núcleo bisabolano e os compostos alifáticos. Dentre os sesquiterpenos destacam-se o *ar*-curcumeno (11,0%) e o  $\alpha$ -zingibereno (16,2%) também presente no óleo das folhas; entre os compostos alifáticos destacam-se o ácido hexadecanóico (12,2%), o N-tricosano (5,3%) e o N-heptacosano (7,5%). Os compostos majoritários presentes nos óleos voláteis das espécies da seção *Eximbricata* podem ser vistos na Figura 4.7.

#### **4.3.1.2      *Discussão dos resultados para as espécies de Eupatorium seção Eximbricata (DC.) O.Hoffm.***

As três espécies coletadas nesta seção pertencem a três gêneros distintos na classificação de KING e ROBINSON (1987): *Kaunia*, *Heterocondylus* e *Koanophyllon*. A ocorrência de  $\alpha$ -zingibereno em *E. consanguineum* e em uma das coletas de *E. rufescens* (ambas de Morro Reuter) poderia sugerir uma correlação entre elas. Entretanto, uma segunda coleta de *E. rufescens* apresentou óleo volátil com composição química muito diferente, o que acaba por dificultar o estabelecimento de um padrão pelo excesso de variabilidade em um número reduzido de amostras. Neste caso, assim como para as espécies da seção *Cylindrocephala*, uma avaliação mais sistemática, incluindo outros locais de coleta e estádios vegetativos seria necessária para a determinação da variabilidade natural e, ao mesmo tempo, de marcadores químicos, se houverem.

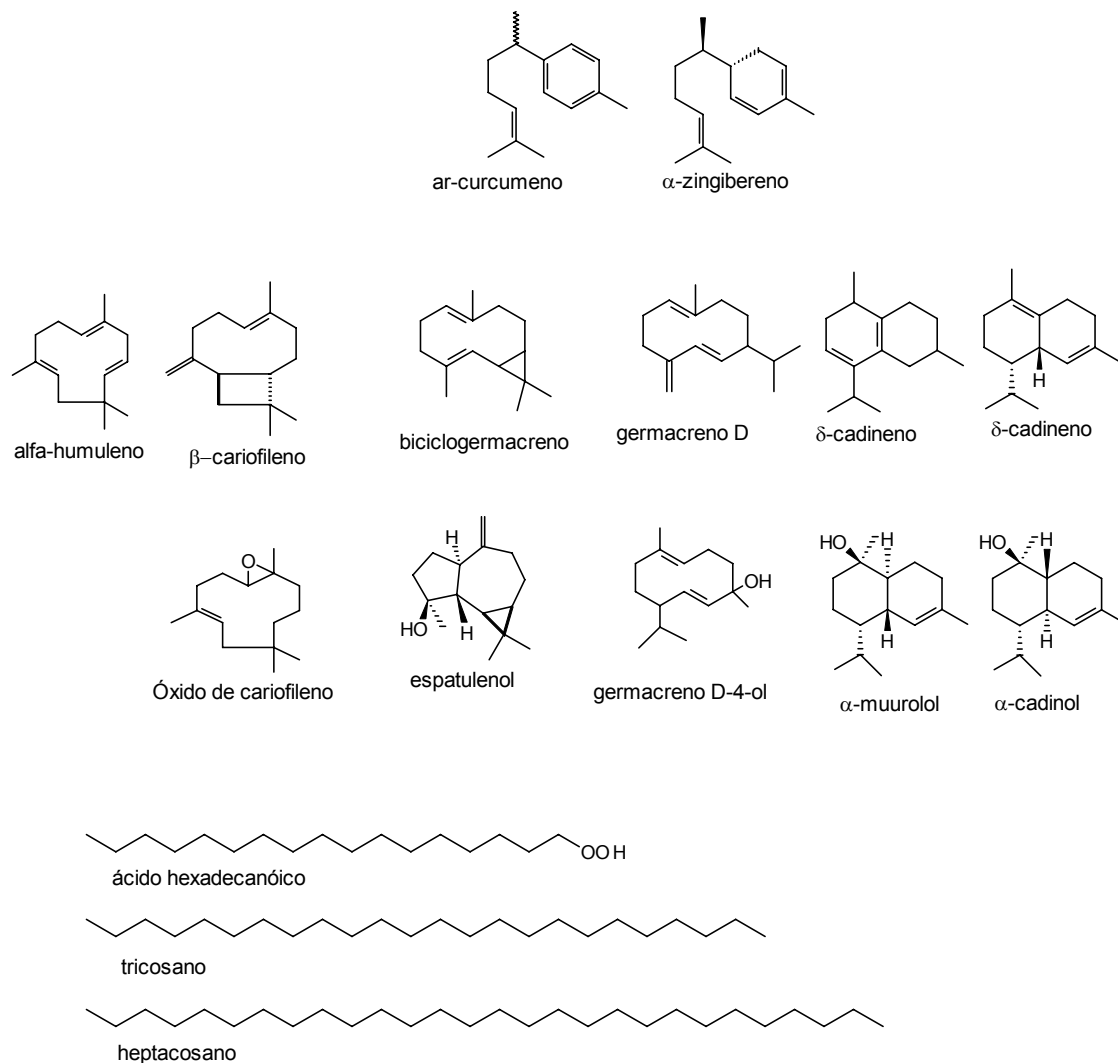


Figura 4.8: Componentes majoritários dos óleos voláteis das espécies de *Eupatorium* sect. *Eximbricata*.

#### 4.3.2 Atividade antioxidante

Foram avaliados quanto à sua atividade antioxidante frente ao radical DPPH os óleos voláteis de *E. grande* (São Francisco de Paula), *E. rufescens* (São José das Missões e Morro Reuter) e *E. consanguineum* (Morro Reuter). Os óleos voláteis de *E. grande* e *E. rufescens* exerceram atividade mais pronunciada, descolorindo mais intensamente o radical DPPH. Todos os óleos são compostos majoritariamente por sesquiterpenos, sendo β-cariofileno, α-humuleno, cadina-1(6)-4-dieno e α-zingibereno os majoritários nas folhas de *E. rufescens* (Morro Reuter) e β-cariofileno, germacreno D, biciclogermacreno, espatulenol e óxido de cariofileno os majoritários

nas folhas e inflorescências da coleta dessa mesma espécie em São José das Missões. Em *E. grande* são majoritários germacreno D, biciclogermacreno,  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ -muurolol e  $\alpha$ -cadinol, tanto nas folhas como nas inflorescências. Finalmente, em *E. consanguineum*, são majoritários o germacreno D, o biciclogermacreno e o  $\alpha$ -zingibereno. Segundo a literatura científica, muitos sesquiterpenos hidrocarbonados isolados apresentam pouca ou nenhuma atividade antioxidante nos ensaios utilizando espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TARS) e hidroperóxidos originados do ácido linoléico (RUBERTO e BARATTA, 2000). Entretanto, em muitos ensaios utilizando óleos voláteis, e não apenas seus componentes isolados, é detectada atividade antioxidante, a qual é difícil de correlacionar com a atividade antioxidante dos componentes majoritários isolados. Essa dificuldade encontrada em atribuir a atividade antioxidante de um óleo volátil a algum de seus componentes deve-se, provavelmente, a interações sinérgicas e aditivas entre compostos, tanto entre os majoritários quanto com compostos que aparecem em concentração mínima (TEPE *et al.*, 2007).

Tabela 4.21: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* sect. *Eximbricata*.

dil.	<i>E. grande</i> SFP		<i>E. rufescens</i> SJM		<i>E. consanguineum</i> MR	
	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
1/out	++	+++	++++	+	+++	+
1/100	+	+	++	+		
1/1000	+/-	+/-	+/-	+/-		

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: ++++ atividade visualmente superior à da substância de referência (quercetina 1 mg/ml) +++ atividade semelhante à da substância de referência; ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade pouco visível; +/- atividade fracamente visível; SFP: São Francisco de Paula/RS; SJM: São José das Missões/RS; MR: Morro Reuter/RS; *i*: inflorescência; *f*: folhas.

#### 4.3.3 Atividade anticolinesterásica

Foram avaliadas quanto à sua atividade anticolinesterásica os óleos voláteis de *E. grande* e *E. consanguineum*. Ambos apresentam apenas compostos sesquiterpênicos entre os majoritários. Dentre estes, apenas para o óxido de cariofileno foram encontrados relatos de atividade anticolinesterásica (fraca) na literatura (SAVELEV *et al.*, 2003). Ambos os óleos voláteis avaliados apresentaram

efeito inibitório moderado sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase. Esse efeito pode ser devido a interações sinérgicas dos vários constituintes do óleo volátil, entretanto, não foram encontrados relatos de atividade para os mesmos na literatura.

Tabela 4.22: Atividade anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* sect. *Eximbricata*.

COLETAS	local	parte	atividade
<i>E. grande</i>	São Francisco de Paula/abr/05	folhas	+
<i>E. consanguineum</i>	Morro Reuter/out/05	folhas	+
Galantamina (1mM)			+++

Aplicação pontual de 10µL da respectiva diluição. Legenda: + atividade fracamente visível.

#### 4.4 Seção *Dimorpholepis* G.M.Barroso

Dentre as seis espécies ocorrentes no Rio Grande do Sul, quatro foram coletadas e analisadas no decorrer deste trabalho: *E. gaudichaudianum*, *E. intermedium*, *E. serratum* e *E. nummularia*. Quatro coletas, uma de cada espécie coletada, foram submetidos à análise em *headspace*. Amostras de óleo volátil das quatro espécies foram avaliadas quanto à sua atividade antioxidante frente ao DPPH; três deles também foram avaliados quanto à sua atividade anticolinesterásica.

As espécies coletadas são subarbustos ou arbustos, de 30 a 150 cm de altura, todas com flores brancas, nativas do Sul do Brasil, (com *E. intermedium* e *E. serratum* chegando até o Uruguai, Paraguai ou Nordeste da Argentina). As espécies foram coletadas em Guaíba, Gravataí e Sapiranga (região metropolitana de Porto Alegre); Canela (região serrana) e Paraíso do Sul (Depressão Central).

Tabela 4.23: Data e coleta, número de registro ICN, parte do vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies de *Eupatorium* sect. *Dimorpholepis*.G.M.Barroso.

Espécie	Local	Data	ICN	ff	i	f	r	v mL	r %
<i>E. gaudichaudianum</i>	Canela	abr/05	146974	x				1,8	0,7
<i>E. gaudichaudianum</i>	Paraíso do Sul	mar/06	146999		x			0,8	1,4
<i>E. gaudichaudianum</i>	Paraíso do Sul	mar/06	146999			x		0,5	1,7
<i>E. intermedium</i>	Guaíba	abr/05	48999	x				1,7	0,5
<i>E. intermedium</i>	Guaíba	out/05	48999		x			0,9	0,4
<i>E. intermedium</i>	Guaíba	out/05	48999			x		1,0	0,5
<i>E. serratum</i>	Gravataí	out/05	146990		x			0,4	0,5
<i>E. serratum</i>	Gravataí	out/05	146990			x		1,1	0,5
<i>E. nummularium</i>	Sapiranga	jan/06	147003	x				1,2	1,1
<i>E. nummularium</i>	Sapiranga	jan/06	147003				x	0,2	0,4

##### 4.4.1 Óleo volátil

O óleo volátil foi extraído separadamente em pelo menos uma coleta, das inflorescências e folhas de *E. gaudichaudianum*, *E. intermedium* e *E. serratum*. As

inflorescências e folhas de *E. nummularium* foram extraídas conjuntamente; dessa espécie também foi extraído o óleo volátil dos ramos. De modo geral, todas as espécies apresentaram alto teor de óleo volátil (0,4 a 1,7%), sendo o teor de óleo volátil das folhas igual ou maior do que aquele das respectivas inflorescências. Além disso, as espécies coletadas na mesma localidade apresentam teor semelhante de óleo volátil: *E. gaudichaudianum* e *E. nummularium* (0,7 a 1,7%) e *E. intermedium* e *E. serratum* (0,4 a 0,5%).

#### **4.4.1.1 *Eupatorium gaudichaudianum* DC., *E. nummularium* Hook. & Arn., *E. intermedium* DC. e *E. serratum* Spreng.**

*Eupatorium gaudichaudianum* (= *Dimorpholepis gaudichaudeana* e *Grazielia gaudichaudeana*) é um subarbusto de 30 a 150 cm de altura, pouco ramoso, de flores brancas, nativo do Sul do Brasil (de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul). O seu período de floração vai do verão ao outono. Botanicamente é muito próximo a *E. nummularium*. Em um estudo fitoquímico foram isolados vários diterpenos de núcleo *ent-caurano* (TALEB *et al.*, 1999).

*Eupatorium nummularium* (= *Dimorpholepis nummularia*, *Grazielia nummularia*) é um subarbusto de 30-90 cm de altura, pouco ramoso, de flores brancas nativo do Sul do Brasil (Paraná e Rio Grande do Sul), cujo período de floração se estende de janeiro a abril. Não foram encontrados estudos com esta espécie na literatura científica.

*Eupatorium intermedium* (= *Dimorpholepis intermedia*, *Grazielia intermedia*) é um arbusto ramoso de 1-1,5 m de altura e flores brancas, nativo do Sul do Brasil (desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul) e Uruguai, cujo período de floração se estende de novembro a maio. Assim como *E. buniifolium* (sect. *Subimbricata*), *E. intermedium* é uma planta hospedeira para borboletas do gênero *Actinote* (PALUCH *et al.*, 2005) além de ser visitada por abelhas (GONÇALVES e MELO, 2005).

*Eupatorium serratum* (= *Dimorpholepis serrata*, *Grazielia serrata*) é um arbusto de 1-1,5 m, com flores brancas, nativo do Sul do Brasil (desde Minas Gerais

até o Rio Grande do Sul), Uruguai, Paraguai e Nordeste da Argentina, cujo período de floração se estende de novembro a março. Essa espécie é botanicamente muito próximo a *E. intermedium* Hook. & Arn.

Tabela 4.24: Composição química dos óleos voláteis de *Eupatorium gaudichaudianum* e *E. nummularium*.

IR	Componente	<i>E. gaudichaudianum</i>			<i>E. nummularium</i>	
		Canela <i>ff</i>	Paraíso do Sul <i>f</i>	<i>i</i>	Sapiranga <i>ff</i>	<i>r</i>
882	triciclono		tr	tr	tr	
912	$\alpha$ -tujeno	<b>10,1</b>	0,1	0,2	0,2	tr
920	$\alpha$ -pineno	<b>12,4</b>	<b>14,4</b>	<b>15,5</b>	<b>8,5</b>	2,8
930	$\alpha$ -fencheno		tr		tr	
932	canfeno		tr	0,1	tr	
947	verbeneno		tr	tr		
956	sabineno	2,8	4,9	5,7	6	2,9
960	$\beta$ -pineno	<b>9,2</b>	<b>22,6</b>	<b>28,9</b>	<b>20,5</b>	<b>10</b>
973	mirreno	1,9	1,7	2,6	2,5	1,2
983	$\delta$ -2-careno		0,1	0,2	0,2	0,7
987	$\alpha$ -felandreno	0,3	tr	0,1	0,4	tr
1001	$\alpha$ -terpineno	0,2	tr	0,1	0,1	
1008	<i>p</i> -cimeno	1,6	1,4	3,7	1,8	<b>5,5</b>
1014	limoneno	<b>37,2</b>	<b>18,3</b>	<b>18,3</b>	<b>36,5</b>	<b>31,5</b>
1021	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno		tr	0,1	0,2	tr
1031	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	0,7	0,2	0,3	1,6	0,2
1041	$\gamma$ -terpineno	0,3	0,1	0,1	0,2	tr
1070	terpinoleno	0,1	tr		0,2	tr
1080	linalol				0,1	tr
1093	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno		tr			
1109	$\alpha$ -canfolenal		tr	tr		
1116	nopinona			0,1		
1121	<i>trans</i> -pinocarveol		0,5	0,7	tr	
1127	<i>trans</i> -verbenol		0,3	0,3		
1141	pinocarvona		0,3	0,3		
1150	<i>p</i> -menta-1,5-dien-8-ol		tr	tr		
1158	terpinen-4-ol	0,3	0,4	0,5	0,5	0,2
1170	criptona		0,3	0,4	tr	tr
1172	$\alpha$ -terpineol	tr	0,2	0,2	0,1	tr
1176	mirtenal		0,4	0,6	tr	tr
1177	mirtenol		0,4	0,6	tr	tr
1358	$\alpha$ -copaeno	tr	0,2	0,1	0,2	0,4
1366	$\beta$ -bourboneno	tr	tr		tr	tr
1371	$\beta$ -cubebeno	tr	tr	tr	0,1	0,1
1373	$\beta$ -elemeno		tr	tr	tr	tr
1390	iso-cariofileno	tr				
1399	$\beta$ -cariofileno	1,5	3,6	2,7	3,6	<b>5,7</b>
1433	$\alpha$ -humuleno	0,2	0,2	0,1	0,3	0,6

Tabela 4.24: Cont.

1440	allo-aromadendreno		tr	tr	tr	
1456	γ-muuroleno				tr	
1460	germacreno D	<b>11,3</b>	1,6	1,0	<b>10,1</b>	<b>26,3</b>
1475	epi-biciclosesquifelandreno	tr				
1478	biciclogermacreno	<b>7,6</b>	0,9	0,3	2,7	4,8
1480	α-muuroleno	tr	tr	tr	0,1	0,1
1485	germacreno A	0,1	tr	tr	0,1	0,2
1487	γ-cadineno		tr		tr	tr
1502	cis-calameneno				tr	
1503	δ-cadineno	0,5	0,2	0,1	0,4	0,5
1503	β-cadineno		tr		tr	
1511	cadina-1,4-dieno				tr	tr
1517	α-cadineno				tr	tr
1547	(E)-nerolidol				tr	tr
1561	espatulenol	1,5	<b>20,5</b>	<b>9,4</b>	1,4	2,5
1567	óxido de cariofileno+globulol		3	4,7	0,5	0,8
1576	epiglobulol		1,4	0,8		
1592	eudesmol*				0,1	
1593	epóxido de humuleno II		0,1	0,2		
1621	iso-espatulenol		0,6	0,4		tr
1628	τ-cadinol+τ-muurolol				0,2	0,1
1632	α-muurolol				tr	tr
1640	α-cadinol				0,5	0,5
		89,7	98,9	99,4	99,9	97,6
MH		<b>76,7</b>	<b>63,8</b>	<b>75,9</b>	<b>78,7</b>	<b>54,9</b>
MO		0,3	2,8	3,7	0,7	0,2
SH		21,2	6,7	4,3	17,4	<b>38,7</b>
SO		1,5	25,6	15,5	2,6	3,9

IR: índice de retenção em coluna DB5; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; r: ramos; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados.

Foram identificados 68 compostos nos óleos voláteis das espécies da seção *Dimorpholepis* de *Eupatorium*, totalizando de 87,6 a 99,9% do total de óleo volátil. Todos os óleos obtidos das folhas e/ou inflorescências de espécies dessa seção caracterizam-se pela predominância de monoterpenos hidrocarbonados (63,8 a 80,1%), tendo sido identificados os mesmos compostos entre os majoritários para todas as espécies coletadas. O óleo obtido dos ramos de *E. nummularium*, assim como aquele obtido dos ramos de *E. lanigerum* (sect. *Subimbricata*) apresenta percentagem menor de monoterpenos.



Tabela 4.25: Composição química dos óleos voláteis de *Eupatorium intermedium* DC. e *E. serratum* Spreng.

IR	Componente	<i>E. intermedium</i>			<i>E. serratum</i>		
		Guaíba	Guaíba		Cax. Sul	Gravataí	
		<i>ff</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>ff</i>	<i>f</i>	<i>i</i>
880	triciclono			tr	tr	tr	
912	$\alpha$ -tujeno	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
920	$\alpha$ -pineno	<b>15,9</b>	<b>15,1</b>	<b>19,9</b>	<b>16,8</b>	<b>30,2</b>	<b>31,5</b>
930	$\alpha$ -fencheno				tr		
932	canfeno		tr	tr	0,1	tr	0,1
956	sabineno	2,6	2,5	2,7	1,0	2,5	3,6
960	$\beta$ -pineno	<b>17,3</b>	<b>24,2</b>	<b>23,9</b>	<b>17,0</b>	<b>17</b>	<b>13,8</b>
973	mirreno	10,8	3,6	4	<b>8,1</b>	3,6	5,4
987	$\alpha$ -felandreno	tr	tr	0,1	0,1	tr	
1001	$\alpha$ -terpineno		tr	tr	0,1	0,1	
1008	<i>p</i> -cimeno	0,4	0,6	0,9	0,9	0,1	0,2
1014	limoneno	<b>19,7</b>	<b>21,6</b>	<b>25,2</b>	<b>10,4</b>	<b>19,4</b>	<b>20,9</b>
1021	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1
1031	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	2,4	2,6	2,9	1,8	2,7	1,9
1041	$\gamma$ -terpineno	tr	tr	0,1	0,1	0,1	
1070	terpinoleno	tr	tr	0,1	tr	0,1	tr
1080	linalol		1,1		tr		0,1
1093	1,3,8- <i>p</i> -mentatrieno						tr
1121	<i>trans</i> -pinocarveol				tr		
1127	<i>trans</i> -verbenol				tr	tr	
1158	terpinen-4-ol	tr	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3
1172	$\alpha$ -terpineol	tr	0,5	0,2	0,1	0,3	0,3
1176	mirtenal			tr			tr
1177	mirtenol			tr	tr		tr
1321	$\delta$ -elemeno				tr	tr	tr
1333	$\alpha$ -cubebeno					tr	tr
1358	$\alpha$ -copaeno	0,4	0,3	0,2	0,4	0,5	0,4
1366	$\beta$ -bourboneno			tr	tr	0,1	tr
1371	$\beta$ -cubebeno	tr	tr	tr	0,1	0,2	0,1
1373	$\beta$ -elemeno	tr	0,2	tr	0,4	0,1	tr
1390	$\alpha$ -gurjuneno				tr		
1399	$\beta$ -cariofileno	<b>8,1</b>	<b>7,2</b>	<b>7,3</b>	<b>7,6</b>	4,8	<b>5,5</b>
1418	aromadendreno		0,1	0,2	0,3	0,1	0,1
1433	$\alpha$ -humuleno	0,4	0,4	0,3	0,5	0,2	0,3
1440	allo-aromadendreno		0,1		0,3	0,1	tr
1457	$\gamma$ -muuroleno		0,1	0,1	0,1		tr
1460	germacreno D	4,9	3,5	2,3	<b>7,0</b>		
1470	<i>epi</i> -biciclo-sesquifelandreno	0,3			0,1		
1476	biciclogermacreno	<b>9,4</b>	4,7	2,3	<b>16,9</b>		
1480	$\alpha$ -muuroleno	0,6	0,3	0,3		0,2	0,1
1485	germacreno A	0,2	0,1	tr	0,2	0,1	tr

Tabela 4.25: Cont.

1487	$\gamma$ -cadineno	0,1	0,1	0,2	tr	0,1
1503	<i>cis</i> -calameneno					
1503	$\delta$ -cadineno	1,9	1,2	0,9	1,0	0,8
1511	cadina-1,4-dieno	tr			tr	tr
1517	$\alpha$ -cadineno		tr		tr	tr
1522	$\alpha$ -calacoreno		tr			
1536	germacreno B		tr	0,2		
1547	( <i>E</i> )-nerolidol					0,2
1561	espatulenol	1,3	3,5	2,5	3,8	1,8
1567	óxido de cariofileno+globulol	1,1	1,8	1,4	1,2	0,7
1576	epiglobulol		1,7	0,7		1,1
1579	epóxido de humuleno I				1,6	
1621	isoespatulenol		0,1	0,1	0,1	0,2
1628	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol		0,6		0,1	
1631	cubenol				0,2	
1632	$\alpha$ -muurolol		tr			
1636	$\beta$ -eudesmol		0,1			
1640	$\alpha$ -cadinol		1		0,4	
Total		97,8	99,4	99,5	99,8	87,6
MH		<b>69,2</b>	<b>70,3</b>	<b>80,1</b>	56,8	<b>76,1</b>
MO			1,9	0,7	0,4	0,7
SH		26,2	18,3	13,9	35,1	7
SO		2,4	8,7	4,7	7,5	3,6

IR: índice de retenção em coluna DB5; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; Cax. Sul: Caxias do Sul; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados.

As duas coletas de *E. gaudichaudianum* (Canela/abr/05 e Paraíso do Sul/mar/06) apresentam óleo com composição química bastante semelhante no que se refere à fração monoterpênica. Nessa fração os compostos majoritários são  $\alpha$ -pineno (12,4 a 15,5%),  $\beta$ -pineno (9,2 a 28,9%) e limoneno (18,3 a 37,2%). As plantas coletadas em Canela/abr/05 apresenta também alta percentagem de  $\alpha$ -tujeno (10,1%). Na fração sesquiterpênica os óleos apresentam uma grande diferença quantitativa: enquanto o óleo oriundo da região serrana se caracteriza pela presença majoritária de compostos hidrocarbonados de núcleo germacrano, o germacreno D e o biciclogermacreno (11,3 e 7,6%), compostos estes que não chegam a 2% do óleo volátil da planta coletada em Paraíso do Sul/mar/06. No óleo oriundo da região central do Estado, por sua vez, essa fração se caracteriza pela predominância de um composto oxigenado de núcleo aromadendrano, o espatulenol (20,5 e 9,4% para folhas e inflorescências, respectivamente). Vários autores já

demonstraram a transformação de biciclogermacreno/germacreno D em espatulenol (TOYOTA *et al.*, 1996).

A espécie *E. nummularium*, anatomicamente muito semelhante e com a mesma distribuição geográfica de *E. gaudichaudianum* (MATZENBACHER, 1979), foi coletada em Sapiranga, região metropolitana de Porto Alegre (jan/06). O óleo volátil de suas folhas/inflorescências é quali e quantitativamente muito semelhante àqueles obtidos de *E. gaudichaudianum*: a fração monoterpênica hidrocarbonada é majoritária (78,7%), sendo composta pelas mesmas substâncias que compunham os óleos de sua congênera ( $\alpha$ -pineno – 8,5%;  $\beta$ -pineno 20,5% e limoneno – 36,5%). Na fração sesquiterpênica o óleo é semelhante ao da coleta Canela/abr/05 de *E. gaudichaudianum*, com 10,1% de germacreno D. O óleo volátil obtido dos ramos de *E. nummularium* apresenta algumas diferenças quantitativas quando comparado com aquele das folhas/inflorescências da mesma coleta: menor percentagem de pinenos ( $\alpha$ -pineno – 2,8%;  $\beta$ -pineno – 10,0%) e maior porcentagem de *p*-cimeno (5,5% contra 1,8% nas folhas/inflorescências); apenas a percentagem de limoneno é semelhante (31,5%). Entre os sesquiterpenos hidrocarbonados, a percentagem de germacreno D também é maior (26,3%).

*Eupatorium intermedium* e *E. serratum* são duas espécies anatomicamente muito próximas e com a mesma região de distribuição geográfica (MATZENBACHER, 1979). Assim como as outras espécies dessa seção, seus óleos voláteis são compostos majoritariamente por monoterpenos hidrocarbonados, sendo  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno os majoritários. As duas coletas de *E. intermedium* (folhas/inflorescências - Guaíba/abr/05; folhas e inflorescências - Guaíba/out/05) apresentam composição praticamente idêntica na fração monoterpênica, predominando, assim como no óleo volátil das outras espécies dessa seção, o  $\alpha$ -pineno (15,1 a 19,9%), o  $\beta$ -pineno (17,3 a 24,2%) e o limoneno (19,7 a 25,2%). Na fração sesquiterpênica, diferentemente do que ocorre nas demais espécies, é um composto de núcleo cariofilano que predomina em ambas as coletas ( $\beta$ -cariofileno, 7,2 a 8,1%), as quais se diferenciam pela presença de biciclogermacreno (9,4%) entre os majoritários no óleo volátil das plantas coletadas em abr/05, enquanto que em out/05 a percentagem desse composto é menor, com leve aumento da concentração de compostos de núcleo aromadendrano.

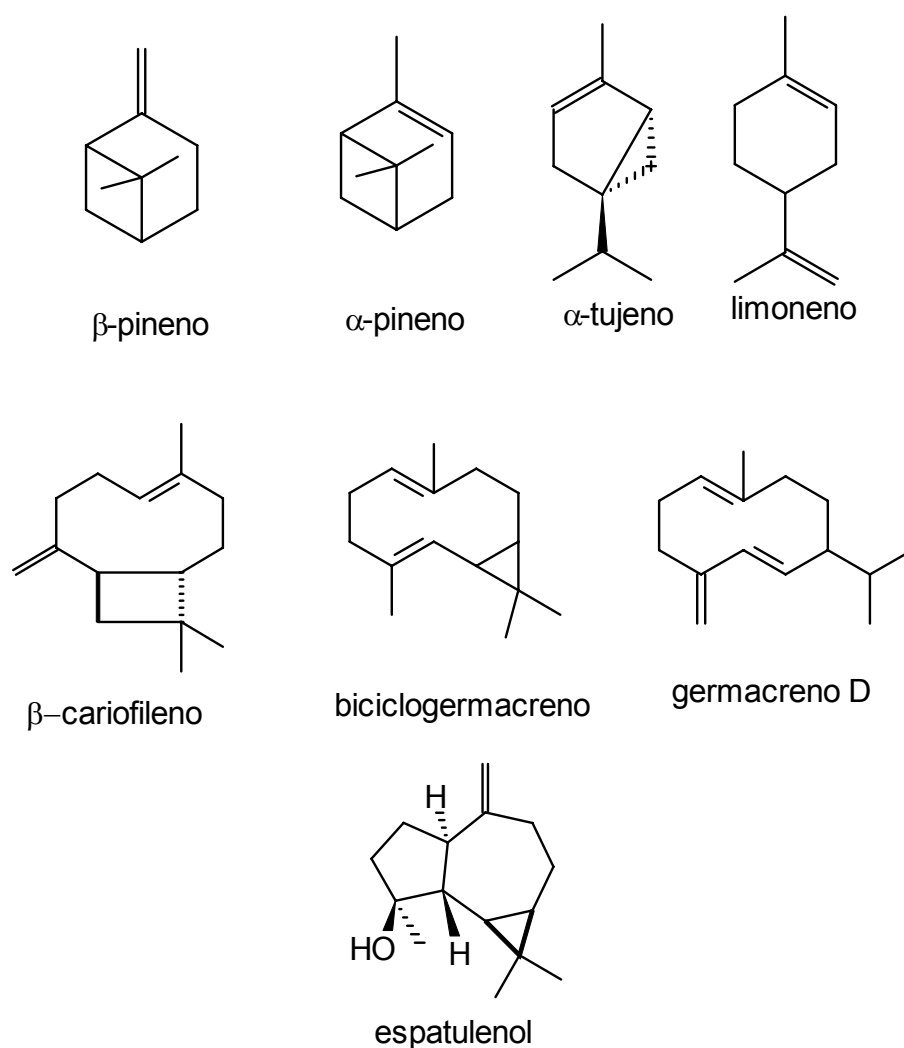


Figura 4.9: Componentes majoritários do óleo volátil das espécies de *Eupatorium* sect. *Dimorpholepis* G.M.Barroso.

A coleta de *E. serratum* Gravataí/out/05 também apresenta óleo volátil muito semelhante aos outros óleos obtidos de plantas dessa seção. Os óleos de suas folhas e inflorescências são muito semelhantes entre si, com 76,1 e 77,7% de monoterpenos hidrocarbonados, respectivamente. Os compostos majoritários são o  $\alpha$ -pineno (30,2 e 31,5%), o  $\beta$ -pineno (17,0 e 13,8%) e o limoneno (19,4 e 20,9%). A única substância que se destaca na fração sesquiterpênica desse óleo, assim como nos óleos de *E. intermedium*, é o  $\beta$ -cariofileno (4,8 e 5,5%).

#### 4.4.1.2 *Discussão dos resultados para as espécies de Eupatorium seção Dimorpholepis G.M.Barroso*

A seção *Dimorpholepis* G.M.Barroso parece ser a seção de *Eupatorium* com maior homogeneidade em relação à composição química dos óleos voláteis. Todas as quatro espécies se caracterizam pela predominância de compostos monoterpênicos, com  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno entre os majoritários. Anatomicamente a seção também apresenta uma característica comum, as espécies possuem flores brancas. Além disso, *Eupatorium gaudichaudianum*, *E. nummularium*, *E. intermedium* e *E. serratum*, todos foram transferidos por KING e ROBINSON (1987) para o gênero *Dimorpholepis* (posteriormente *Grazielia*).

#### 4.4.2 *Headspace*

As inflorescências e folhas das espécies *E. gaudichaudianum*, *E. nummularium*, *E. intermedium* e *E. serratum* foram analisadas em espaço confinado para determinação de um perfil químico volátil.

Os pinenos  $\alpha$ -pineno (15,6 a 61,5%) e  $\beta$ -pineno (11,4 a 37,3%) estão entre os majoritários na fração volátil de três espécies. Além desses dois compostos, o *p*-mentano limoneno (11,4 a 24,1%) aparece entre os majoritários em *E. gaudichaudianum* e *E. serratum*. O mesmo composto aparece co-eluindo com outro *p*-mentano,  $\beta$ -felandreno (38,8 e 38,9%) nas folhas e inflorescências de *E. nummularium*.

O único composto diferenciando a fração volátil dessas três espécies é  $\alpha$ -tujeno, que se encontra em grande percentagem em *E. gaudichaudianum* (23,3 e 23,4%, para inflorescências e folhas, respectivamente). *Eupatorium intermedium* apresenta apenas sesquiterpenos, na análise em *headspace*, e estes mesmos, apenas nas folhas.

Tabela 4.26: Headspace de folhas e inflorescências de espécies de *Eupatorium* sect. *Dimorpholepis*.

IR	Componente	gau		num		int			ser	
		i	f	i	f	i	f	i	f	
880	santolinatrieno		tr							
<b>912</b>	<b><math>\alpha</math>-tujeno</b>	<b>23,1</b>	<b>23,4</b>	0,4	0,3				0,3	0,4
<b>919</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>25</b>	<b>24,5</b>	<b>15,6</b>	<b>16</b>				<b>61,5</b>	<b>45,2</b>
943	tuja-2,4(10)-dieno	0,1	0,1							
937	$\alpha$ -fencheno	0	tr							
939	canfeno	0,1	0,1	tr					tr	tr
952	verbeneno	0	tr							
960	sabineno	4	3,2	4,2	5,3				1	1
<b>965</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>12,4</b>	<b>13,5</b>	<b>33,2</b>	<b>37,3</b>				<b>11,4</b>	<b>24,1</b>
976	mirceneno	2,5	2,4	2,6	1,9				4,2	2,4
987	$\delta$ -2-careno			0,3	tr					
990	$\alpha$ -felandreno	0,8	0,1	1	tr				tr	tr
1003	$\alpha$ -terpineno	0,3	0,3	0,5	tr				0,3	0,4
1007	<i>p</i> -cimeneno	1,4	0,6	1,5	0,6				tr	
<b>1016</b>	<b>limoneno</b>	<b>27,8</b>	<b>29,1</b>						<b>18,1</b>	<b>23,1</b>
1016	<b>limoneno/<math>\beta</math>-felandreno</b>			<b>38,7</b>	<b>38,5</b>					
1025	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	0,3	0,5	tr					0,2	0,6
1035	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	1	0,7	0,8	tr				2,3	1,9
1047	$\gamma$ -terpineno	0,4	0,4	0,5	tr				0,3	tr
1073	terpinoleno	0,1	0,1	0,3					tr	0,1
1162	terpinen-4-ol	0,1		tr						
1403	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	0,1	tr	0,2	tr	<b>31,0</b>		tr	0,3	0,5
1465	<b>germacreno D</b>	0,2	0,4	tr	tr	<b>28,7</b>			tr	tr
1479	<b>biciclogermacreno</b>	0,1	0,3	tr	tr	<b>40,1</b>			0,1	tr
	<b>Total identificado</b>	<b>99,8</b>	<b>99,7</b>	<b>99,8</b>	<b>99,9</b>	<b>99,8</b>			<b>100</b>	<b>99,7</b>

IR: índice de retenção em coluna DB5; gau: *E. gaudichaudianum*; num: *E. nummularium*; int: *E. intermedium*; ser: *E. serratum*; i: inflorescências; f: folhas.

#### 4.4.3 Atividade antioxidante

Os óleos voláteis das quatro espécies coletadas pertencentes à seção *Dimorpholepis* foram submetidos ao ensaio de atividade antioxidante. Dentre todos, o que exerceu atividade mais pronunciada foi o óleo volátil de *E. gaudichaudianum* coletado em Paraíso do Sul (mar/06), cujos componentes majoritários são  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno, limoneno e espatulenol, tanto nas folhas como nas inflorescências. Dentre esses compostos,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno já foram avaliados isoladamente e não exerceram atividade antioxidante significativa nos ensaios de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico e hidroperóxidos do ácido linoléico (RUBERTO e BARATTA, 2000); além disso, CANDAN e colaboradores (2003) avaliaram a atividade antioxidante do  $\alpha$ -pineno e do  $\beta$ -pineno frente ao radical DPPH, não observando atividade significativa. Entretanto, é comum que óleos voláteis exerçam atividades (antimicrobiana e antioxidante, por exemplo) que não podem ser

explicadas pela atividade individual de seus componentes isolados, recorrendo-se então aos conceitos de sinergismo e antagonismo para explicá-las (CANDAN *et al.*, 2003).

Tabela 4.27: Atividade antioxidante de óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* sect. *Dimorpholepis*.

dil.	<i>E. gaudichaudianum</i>			<i>E. nummularium</i>		<i>E. intermedium</i>			<i>E. serratum</i>	
	Can/abr/05	Par/mar/06		Sap/jan/06		Gua/abr/05	Gua/out/06		Gra/out/05	
	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>ff</i>	<i>r</i>	<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
1/10	++	+++	+++	++	++	+/-	+	+	+	+/-
1/100	+	++	++	+	++					
1/1000	+/-	++	++	+/-	+/-					

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: +++ atividade visualmente semelhante à da substância de referência (quercetina 1 mg/ml); ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade pouco visível; +/- atividade fracamente visível; Locais de coleta: Can/abr/05 (Canela/RS); Par/mar/06 (Paraíso do Sul/RS); Gua/abr/05 (Guaíba/RS); Gua/out/06 (Guaíba/RS); Gra/out/05 (Gravataí); Sap/jan/06 (Sapiranga/RS); *i*: inflorescências; *f*: folhas; *ff*: inflorescências e folhas; *r*: ramos.

#### 4.4.4 Atividade anticolinesterásica

Foram avaliadas quanto à sua atividade anticolinesterásica os óleos voláteis de *E. gaudichaudianum*, *E. intermedium* e *E. nummularia*, conforme Tabela 4.28. Os óleos voláteis de todas as espécies desta seção apresentaram composição química bastante semelhante, com predominância de monoterpenos, sendo  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno os majoritários da fração monoterpênica. A atividade um pouco mais pronunciada destes óleos sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase pode ser positivamente correlacionada com a presença de  $\alpha$ -pineno e limoneno entre os compostos majoritários, monoterpenos para os quais a atividade anticolinesterásica já está descrita na literatura (MIYAZAWA *et al.*, 1998; MIYAZAWA *et al.*, 2005).

Tabela 4.28: Atividade anticolinesterásica de óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* sect. *Dimorpholepis*.

Espécies	Local	parte	atividade
<i>E. gaudichaudianum</i>	Canela/abr/05	partes aéreas	++
<i>E. intermedium</i>	Guaíba/out/05	folhas	++
<i>E. nummularium</i>	Sapiranga/jan/06	partes aéreas	++
galantamina (1 mM)			+++

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: ++ atividade inferior à da substância de referência.

#### 4.5 Seção *Praxelis* (Cass.) Benth.

Uma espécie da seção *Praxelis*, *Eupatorium clematideum* Griseb., foi coletada no município de Guaíba, Rio Grande do Sul, em maio de 2005. *Eupatorium clematideum* (= *Eupatorium catarium* e *Praxelis clematidea*) é uma erva perene de 0,3 a 1,0 m de altura, com flores púrpura-azulado ou lilás, comum na Argentina, Paraguai, Peru, Bolívia e Brasil Central e invasora na Austrália e China ([http://www.hear.org/pier/species/praxelis\\_clematidea.htm](http://www.hear.org/pier/species/praxelis_clematidea.htm)).

Tabela 4.29: Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil de *Eupatorium clematideum* Griseb. (*Eupatorium* sect. *Praxelis* (Cass.) Benth.).

Espécie	Local	Data	ICN	pa	fl	fo	V (ml)	r (%)
<i>E. clematideum</i>	Guaíba	Mai/05	143475	x			<0,05	<0,1
<i>E. clematideum</i>	Guaíba	Mai/07	150827			x	0,5	0,4
<i>E. clematideum</i>	Guaíba	Mai/07	150827		x		0,4	0,3

ICN: código do registro da exsicata no herbário; i: inflorescências; f: folhas, V mL: volume de óleo volátil obtido; r %: rendimento do óleo volátil.

##### 4.5.1 Óleo volátil

O óleo volátil de *E. clematideum* coletado em Guaíba (mai/05) foi analisado em CG-EM. Devido ao baixo percentual de constituintes identificados, uma segunda coleta foi realizada no mesmo local (mai/07) e o óleo volátil das folhas e inflorescências desse segundo espécime foi analisado de forma semelhante.

##### 4.5.1.1 *Eupatorium clematideum* Griseb.

O primeiro espécime coletado, em maio de 2005, apresentou óleo volátil com composição química bastante complexa, no qual predominavam sesquiterpenos oxigenados. Dentre estes eram majoritários germacreno D-4-ol (16,1%), espatulenol (8,1%) e óxido de humuleno I (21,9%). Entre os sesquiterpenos hidrocarbonados destacava-se apenas o  $\alpha$ -santaleno (11,2%), enquanto que entre os monoterpenos, nenhum composto foi encontrado em percentagem superior a 0,8%.



A elevada proporção de compostos oxigenados, muitos dos quais não foi possível identificar, levou à suspeita de degradação do óleo, uma vez que a planta encontrava-se no final da floração no momento de sua coleta. A fim de confirmar a composição química do óleo volátil dessa espécie, uma nova coleta foi realizada no mesmo local em abril de 2007. Nessa nova coleta o óleo volátil foi extraído das folhas e inflorescências, separadamente. As folhas e inflorescências apresentaram óleo volátil com composição química bastante semelhante, ambos ricos em sesquiterpenos hidrocarbonados (87,9 e 77,7%, respectivamente), entre os quais predominaram o  $\alpha$ -santaleno (9,8 e 10,1%), os compostos biogeneticamente relacionados  $\beta$ -cariofileno (7,9 e 5,3%) e  $\alpha$ -humuleno (13,9 e 21,1%) e os germacranos germacreno D (29,5 e 20,4%) e biciclogermacreno (12,6 e 10,8%). Além disso, as inflorescências apresentaram 10,3% de  $\alpha$ -pineno, monoterpeneo presente nas folhas em percentagem muito baixa, apenas 0,6%.

Tabela 4.30: Composição química dos óleos voláteis de *Eupatorium Clematideum* Griseb.

IR	Componente	mai/05		abr/07	
		<i>ff</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	
882	triciclano	tr			
912	$\alpha$ -tujeno	tr	tr		
919	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	0,3	<b>10,3</b>	0,6	
956	sabineno	tr	0,3		
960	$\beta$ -pineno	0,4	0,2		
973	mirceeno	tr	0,4		
1008	<i>p</i> -cimeno	tr	0,3		
1013	limoneno	0,6	1,8	tr	
1041	$\gamma$ -terpineno		1,6	tr	
1070	terpinoleno		0,6	0,3	
1269	acetato de bornila	0,8			
1322	$\delta$ -elemeno	tr			
1360	$\alpha$ -copaeno	0,7	0,7	1,4	
1366	$\beta$ -cubebeno	tr			
1375	$\beta$ -elemeno	0,8	2,1	1,7	
1379	$\alpha$ -gurjuneno			0,5	
1398	$\alpha$ - <i>cis</i> -bergamoteno		0,6	0,3	
1402	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>		<b>5,3</b>	<b>7,9</b>	
1404	<b><math>\alpha</math>-santaleno</b>	<b>11,2</b>	<b>10,1</b>	<b>9,8</b>	
1418	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno	tr	0,6	0,8	
1430	<i>epi</i> - $\beta$ -santaleno	1,6	2	2	
1418	aromadendreno			tr	
1435	<b><math>\alpha</math>-humuleno</b>	0,7	<b>21,1</b>	<b>13,9</b>	
1442	$\beta$ -santaleno	0,6			
1440	allo-aromadendreno		0,7	1	
1462	<i>cis</i> -cadina-1(6),4-dieno	0,4	1,5	3,6	
<i>Tabela 4.30: Cont.</i>					
1464	<b>germacreno D</b>		<b>20,4</b>	<b>29,5</b>	
1466	$\beta$ -selineno	1,1	0,6		
1474	valenceno			tr	

1476	<b>biciclogermacreno</b>		<b>10,8</b>	<b>12,6</b>
1480	$\alpha$ -muuroleno	tr		
1490	$\beta$ -bisaboleno	tr		
1494	$\gamma$ -cadineno	tr		0,3
1503	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno+ $\delta$ -cadineno	tr	1,2	2,3
1507	ni	0,9		
1512	ni	1,3		
1516	ni	1,3		
1536	ni	0,7		
1549	ni	1,1		
1568	germacreno D-4-ol	<b>16,1</b>	tr	0,3
1569	espatulenol	<b>8,1</b>	0,2	0,8
1572	ni	0,4		
1580	globulol		0,4	0,6
1585	<i>epi</i> -globulol	0,5	tr	0,2
1586	óxido de humuleno I	<b>21,9</b>	0,3	tr
1601	óxido de humuleno II	0,6	0,5	0,7
1618	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	1,0		
1633	$\alpha$ -muurolol		2,0	2,0
1645	$\alpha$ -cadinol	2,8	1,6	1,3
1660	<b>verbocidentafurano</b>		1,7	<b>5,5</b>
1662	ni	0,9		
1693	ni	0,5		
1717	ni	4,2		
1729	ni	2,1		
1752	ni	0,8		
1757	ni	1,6		
1762	ni	0,8		
1771	ni	0,6		
1775	ni	1,0		
1818	ni	0,9		
1829	ni	1,3		
1842	ni	1,4		
1851	ni	1,9		
1897	ni	1,1		
<b>1968</b>	<b>ácido hexadecanóico</b>	<b>4,4</b>		
-	pentacosano	0,5		
<b>Total</b>		<b>99,9</b>	<b>99,7</b>	<b>99,9</b>
	MH	1,3	15,4	0,8
	MO	0,8		
	SH	16,9	<b>77,7</b>	<b>87,9</b>
	SO	<b>71,2</b>	6,6	11,3
	AL	7,7		

IR: índice de retenção em coluna DB5; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos oxigenados.

O óleo volátil do segundo espécime coletado apresentou composição química qualitativamente muito diferente daquele obtido na primeira coleta. Entretanto, a maioria dos compostos identificados pode ser racionalizada como precursores hidrocarbonados dos compostos oxidados identificados na primeira coleta. Por exemplo, óxido de humuleno I e óxido de humuleno II podem ser formados pela

oxidação do  $\alpha$ -humuleno, espatulenol pela oxidação do biciclogermacreno e germacreno D-4-ol pela oxidação do germacreno D.

O óleo volátil das partes aéreas de plantas dessa mesma espécie, coletadas na China, foi analisado por WANG e colaboradores (2006), apresentando  $\beta$ -cariofileno, germacreno D e azuleno como componentes majoritários (17,3%, 27,0% e 11,4%, respectivamente). A presença de  $\alpha$ -santaleno e a ausência de azuleno no óleo volátil analisado em nosso estudo são as principais características distintivas entre as plantas das duas coletas.

Além disso, o alto percentual de  $\alpha$ -humuleno no óleo volátil de *E. clematideum* coletado em Guaíba (13,9 a 21,1%, nas folhas e inflorescências, respectivamente), juntamente com o alto percentual de  $\beta$ -cariofileno (5,3 a 7,9%) é uma característica importante, uma vez que esses compostos apresentam importantes propriedades antiinflamatórias e antialérgicas (CARVALHO Jr. *et al.*, 2004; PASSOS *et al.*, 2007).

Uma espécie vegetal bastante estudada pelas propriedades antiinflamatórias de seu óleo volátil, *Cordia verbenacea*, apresenta quantidades elevadas desses dois compostos (10% de  $\alpha$ -humuleno e 25,3% de  $\beta$ -cariofileno) (CARVALHO Jr. *et al.*, 2004); entretanto em condições de cultivo controlado em diferentes ambientes o rendimento máximo de  $\alpha$ -humuleno obtido foi de 4,4%, superior ao teor mínimo necessário para a utilização como matéria-prima em medicamentos fitoterápicos (2,3%, segundo VAZ e colaboradores, 2006), mas bem inferior ao teor apresentado pelo óleo volátil de *E. clematideum*.

A presença de teor elevado de  $\alpha$ -humuleno e  $\beta$ -cariofileno no óleo volátil de *E. clematideum* é uma boa justificativa para a avaliação da atividade antiinflamatória do óleo volátil dessa espécie.

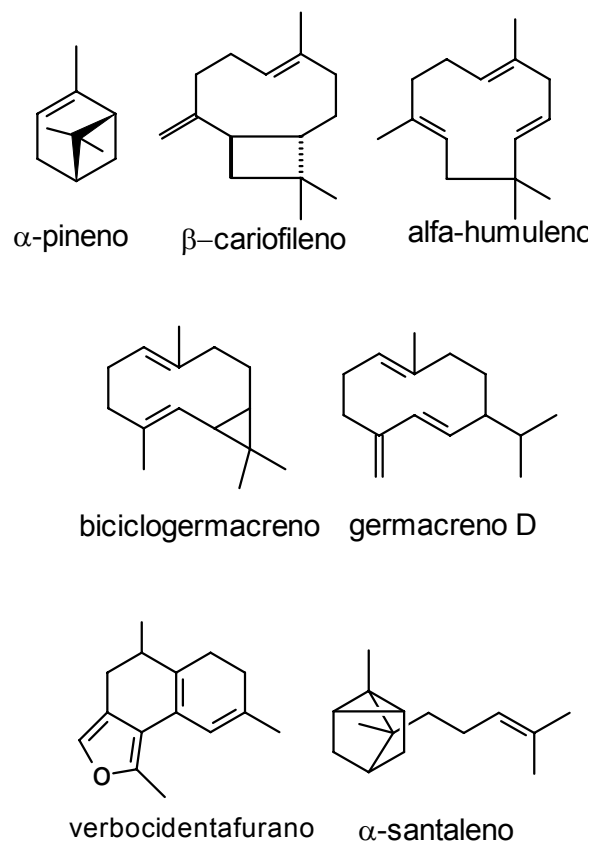


Figura 4.10: Componentes do óleo volátil de *Eupatorium clematideum* Griseb.

#### **4.6 Seção *Conoclinium* (DC.) Benth.**

Dentre as três espécies da seção *Conoclinium* de *Eupatorium* apenas a espécie *E. betoniciforme* foi coletada. A coleta foi realizada em Cachoeira do Sul, na Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, em março de 2006, durante o período de floração da espécie. Os óleos voláteis foram extraídos das folhas e inflorescências, separadamente, e submetidos ao ensaio de atividade antioxidante frente ao DPPH. O óleo das folhas também foi submetido ao ensaio de atividade anticolinesterásica.

##### **4.6.1 Óleo volátil**

O óleo volátil obtido separadamente das folhas e das inflorescências de *E. betoniciforme* (DC.) Baker foi analisado em cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas para a determinação de seus constituintes químicos.

##### **4.6.1.1 *Eupatorium betoniciforme* (DC.) Baker**

*Eupatorium betoniciforme* (= *Barrosoa betoniciformis*) é uma erva perene de 40 a 70 cm de altura, com flores rosadas, nativa do Leste e do Sul do Brasil e do Uruguai. O seu período de floração se estende de dezembro a abril. O óleo volátil das raízes (composto principalmente por cromenos) e das partes aéreas de *E. betoniciforme* coletado no Nordeste do Brasil foi avaliado para atividade larvicida (ALBUQUERQUE et al, 2004). A composição química das inflorescências, partes aéreas e raízes também foi estudada, revelando a presença de cromenos, germacranolídeos e outros terpenóides, bem como flavonóides (ALBUQUERQUE et al., 2006).

O rendimento em óleo volátil de *E. betoniciforme* neste trabalho foi de 0,1% tanto para as folhas quanto para as inflorescências.

Tabela 4.31: Coleta de *Eupatorium betoniciforme* (DC.) Baker (*Eupatorium* sect. *Conoclinium* (DC.) Benth.).

ICN	Data	Local	COLETAS	fl	fo	V mL	r %
146991	Mar/06	Cachoeira da Sul	<i>E. betoniciforme</i>	x		0,05	0,1
146991	Mar/06	Cachoeira da Sul	<i>E. betoniciforme</i>		x	0,05	0,1

ICN: código do registro da exsicata no herbário; i: inflorescências; f: folhas, V mL: volume de óleo volátil obtido; r %: rendimento do óleo volátil.

A Tabela 4.32 apresenta a composição química do óleo volátil das folhas e das inflorescências de *E. betoniciforme*.

Tabela 4.32: Composição química do óleo volátil de *Eupatorium betoniciforme* (DC.) Baker.

IR	Componente	<i>E. betoniciforme</i>	
		<i>i</i>	<i>f</i>
917	$\alpha$ -pineno	0,3	tr
955	sabineno	tr	tr
958	$\beta$ -pineno	0,7	tr
973	mirreno	tr	tr
984	$\delta$ -2-careno	tr	
1008	$p$ -cimeno	tr	tr
1012	limoneno		
1011	$\beta$ -felandreno	0,7	0,2
1020	(Z)- $\beta$ -ocimeno	tr	tr
1030	(E)- $\beta$ -ocimeno	1,1	0,4
1082	linalol		
1158	terpinen-4-ol	tr	
1065	criptona	tr	
1171	$\alpha$ -terpineol	tr	
1321	$\delta$ -elemeno	0,3	0,6
1335	$\alpha$ -cubebeno	tr	
1347	acetato de nerila	0,34	
1350	ciclosativeno	tr	tr
1354	$\alpha$ -ilangueno	tr	tr
1358	$\alpha$ -copaeno	tr	0,1
1366	$\beta$ -bourboneno	tr	0,3
1371	$\beta$ -cubebeno	0,2	0,1
1374	$\beta$ -elemeno	0,6	0,7
1400	$\alpha$ -gurjuneno	tr	tr
1408	$\beta$ -cariofileno	<b>46,8</b>	<b>28,6</b>
1414	$\gamma$ -elemeno	tr	tr
1417	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno	tr	tr
1420	aromadendreno	tr	0,1
1421	$\alpha$ -guaieno	tr	
1434	$\alpha$ -humuleno	1,5	1,1
1438	(E)- $\beta$ -farneseno		tr

Tabela 4.32: Cont.

1443	deidro-aromadendreno	0,3	0,2
1467	germacreno D	<b>16,5</b>	<b>25,8</b>
1468	$\beta$ -selineno	tr	
1473	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno		
1479	valenceno	tr	tr
1482	biciclogermacreno	<b>11,1</b>	<b>15,8</b>
1485	$\alpha$ -muuroleno	tr	
1487	germacreno A	0,4	0,7
1489	$\beta$ -bisaboleno	0,3	
1493	$\gamma$ -cadineno	tr	0,1
1497	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno	tr	0,1
1502	germacreno C		tr
1504	calameneno	0,9	
1504	$\delta$ -cadineno	tr	0,9
1505	$\beta$ -cadineno	tr	tr
1513	<i>trans</i> -cadinina-1,4-dieno	tr	tr
1519	$\alpha$ -cadineno	tr	tr
1526	$\alpha$ -calacoreno	0,6	
1540	germacreno B	tr	0,9
1549	$\gamma$ -calacoreno	0,7	
1566	( <i>E</i> )-nerolidol	4,7	0,5
1567	ledol	tr	
1569	espatulenol	3,9	1,3
1579	óxido de cariofileno+globulol	2,4	2,4
1585	<i>epi</i> -globulol	0,2	1,9
1592	eudesmol*		0,2
1601	óxido de humuleno II		tr
1616	cadinol	0,1	0,1
1629	<i>iso</i> -espatulenol	0,5	0,2
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	0,2	0,5
1643	$\alpha$ -muurolol	1,1	0,1
1648	$\alpha$ -cadinol	tr	0,9
2102	nonadecanal		0,9
2469	N-pentacosano	0,4	0,1
2638	N-heptacosano	tr	1,7
2796	N-nonacosano	tr	0,9
Total identificado		96,3	88,0
MH		2,9	0,6
MO		tr	
SH		<b>80,0</b>	<b>75,9</b>
SO		13,1	8,1
AL		0,4	3,7

IR: índice de retenção em coluna DB5; i: inflorescências; f: folhas; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos; AL: percentagem total de compostos alifáticos.

O óleo volátil de *E. betoniciforme* é composto predominantemente por sesquiterpenos hidrocarbonados (80,0 e 75,9%, para inflorescências e folhas, respectivamente). Dentre estes, destacam-se o composto de núcleo cariofilano,  $\beta$ -

cariofileno (46,8 e 28,6%) e os germacranos, germacreno D (16,5 e 25,8%) e biciclogermacreno (11,1 e 15,8%). A presença de germacranos pode ser correlacionada com a presença de germacranolídeos, lactonas sesquiterpênicas de núcleo germacrano, encontradas nessa espécie (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006), bem como com a presença de  $\gamma$ -cadineno no seu óleo volátil (ALBUQUERQUE *et al.*, 2004), uma vez que esse cadinano pode ser um produto do rearranjo do germacreno D em meio ácido (BÜLOW e KÖNIG, 2000). A ausência de cromenos no óleo volátil das folhas e inflorescências também havia sido observada por ALBUQUERQUE e colaboradores (2004), os quais só encontraram esse tipo de composto no óleo volátil das raízes de *E. betoniciforme*.

#### 4.6.2 Atividade antioxidante

O óleo volátil de *E. betoniciforme* exerceu atividade antioxidante frente ao radical DPPH, promovendo seu retorno à forma não radicalar. Essa atividade pode ser um indício de outras possíveis atividades farmacológicas: segundo muitos autores a atividade antioxidante é indicativo de potencial antiinflamatório e citotóxico e tais atividades deveriam ser melhor investigadas.

Tabela 4.33: Atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium betoniciforme* (DC.) Baker.

<i>E. betoniciforme</i> Cachoeira do Sul/mar/06		
<i>dil.</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
1/10	+++	+++
1/100	+	++
1/1000	+	+

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: +++ atividade visualmente semelhante à da substância de referência (quercetina 1 mg/ml); ++ atividade menor que a da substância de referência; + atividade pouco visível; *i*: inflorescências; *f*: folhas.

#### 4.6.3 Atividade anticolinesterásica

O óleo volátil de *E. betoniciforme* foi avaliado quanto a sua atividade anticolinesterásica exercendo atividade moderada. Em sua composição química predominam os sesquiterpenos hidrocarbonados  $\beta$ -cariofileno, germacreno D e



biciclogermacreno, sobre os quais não foram encontrados registros de atividade anticolinesterásica.

Tabela 4.34: Atividade anticolinesterásica do óleo volátil de *Eupatorium betoniciiforme* (DC.) Baker.

<i>Espécie</i>	local	parte	atividade
<i>E. betoniciiforme</i>	E. Cachoeira do Sul/mar/06	folhas	+
Galantamina (1mM)			+++

Aplicação pontual de 10µL da respectiva diluição. Legenda: + atividade fracamente visível.

#### 4.7 Seção *Campuloclinium* (DC.) Benth.

Segundo MATZENBACHER (1979) a seção *Campuloclinium* é representada por apenas uma espécie no Rio Grande do Sul, *E. macrocephalum* Less. Essa espécie possui distribuição ampla, sendo encontrada em toda a América temperada, desde o México até o Centro e Norte da Argentina. Assim como *E. odoratum*, *E. macrocephalum* tornou-se uma planta invasora importante em grandes extensões de terras africanas (HENDERSEN e KLEIN, 2007).

*Eupatorium macrocephalum* (= *Campuloclinium macrocephalum* e *Conoclinium macrocephalum*) é uma erva perene, pouco ramosa, com talos eretos de 40 a 100 cm de altura. A floração ocorre no verão e no outono e seus capítulos florais são grandes e pouco numerosos, com flores violáceas ou rosadas (MATZENBACHER, 1979). Na Argentina, as folhas dessa espécie têm utilização etnomedicinal em distúrbios digestivos (ARBO *et al.*, 2002). Além disso, um grupo de pesquisa brasileiro demonstrou que extratos de *E. macrocephalum* apresentam atividade citotóxica contra linhagens tumorais em concentrações menores que 5 µg/ml (MONKS *et al.*, 2002). Entretanto, não foram encontrados relatos sobre a composição química do seu óleo volátil.

Foram realizadas três coletas de *E. macrocephalum*, em plena floração, nos municípios de Guaíba e Sapiranga, na região metropolitana de Porto Alegre, e São Francisco de Paula, na Região serrana do Rio Grande do Sul. O rendimento em óleo volátil para todas as coletas foi extremamente baixo, e apenas o ensaio de atividade

antioxidante foi realizado. Não foram realizadas análises em espaço confinado (*headspace*).

Além disso, uma segunda espécie, *E. purpurascens*, a qual não havia sido descrita para o estado do Rio Grande do Sul no trabalho original de MATZENBACHER (1979), também foi coletada no município de São Francisco de Paula e teve seu óleo volátil analisado.

Tabela 4.35: Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies *Eupatorium* sect. *Campuloclinium* (DC.) Benth.

Espécie	Local	Data	ICN	ff	i	f	V mL	r%
<i>E. macrocephalum</i>	Guaíba	Mar/05	29325	x			0,05	0,1
<i>E. macrocephalum</i>	São Francisco de Paula	Abr/05	140076	x			<0,05	<0,05
<i>E. macrocephalum</i>	Sapiranga	Jan/06	147007		x		<0,05	<0,04
<i>E. macrocephalum</i>	Sapiranga	Jan/06	147007			x	0,05	<0,02
<i>E. purpurascens</i>	São Francisco de Paula	Abr/05	146982	x			0,1	0,1

ICN: código de registro da exsicata no herbário; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; V mL: volume de óleo obtido; rendimento de óleo volátil em função da massa de vegetal fresco.

#### 4.7.1 Óleo volátil

Os óleos voláteis obtidos de ambas as espécies foram submetidos a CG-EM e tiveram seus componentes identificados.

##### 4.7.1.1 *Eupatorium macrocephalum* Less.

O óleo volátil obtido por hidrodestilação das partes aéreas ou das folhas e flores, separadamente, de *Eupatorium macrocephalum* foi submetido à cromatografia a gás para identificação e quantificação de seus componentes. Foram identificados 91 compostos, totalizando de 88,6% a 94,4% de cada óleo.

Os óleos voláteis das plantas coletadas em Guaíba/05 e São Francisco de Paula/05 foram extraídos das partes aéreas (folhas e inflorescências) e apresentam composição qualitativamente bastante semelhante, mas diferem quantitativamente. Nenhum deles contém compostos monoterpênicos em quantidades significativas. Os sesquiterpenos hidrocarbonados foram encontrados em concentrações muito baixas

( $\beta$ -cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno). As duas coletas podem ser diferenciadas pela predominância de sesquiterpenos oxigenados na primeira e de compostos alifáticos, na segunda. Dentre os sesquiterpenóides destaca-se o grupo biogeneticamente relacionado espatulenol, globulol e epi-globulol (formado a partir do biciclogermacreno através da oxidação de um intermediário aromadendreno). Também são encontrados em quantidades apreciáveis os derivados oxigenados do  $\beta$ -cariofileno (óxido de cariofileno) e do germacreno D (cadinóis). Todos esses compostos são bastante comuns em outras espécies do gênero. Os sesquiterpenos oxigenados correspondem a mais da metade (52,5%) do óleo volátil de *E. macrocephalum* (Guaíba/05) e a 16,5% de *E. macrocephalum* (SFP/05). Dentre os compostos alifáticos são majoritários o ácido hexadecanóico e o nonadecanal; esses dois compostos juntos correspondem a 57,2% do óleo volátil das plantas coletadas em Guaíba/05 e a 19% do óleo daquelas coletadas em SFP/05.

Os óleos voláteis das folhas e inflorescências de *E. macrocephalum* coletado em Sapiranga foram extraídos separadamente. Ao contrário do óleo das outras populações analisadas, esse apresentou quantidades importantes de sesquiterpenos hidrocarbonados (40,5% nas folhas e 36,0% nas inflorescências):  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D e biciclogermacreno. Ambos os óleos também contêm quantidades semelhantes do éster monoterpênico acetato de geranila (9,5% nas folhas e 11,4% nas inflorescências), o qual tem papel importante no odor de rosas, além de possuir atividade antimicrobiana (DORMAN e DEANS, 2000) e funcionar como sinalizador para insetos (COSSÉ *et al.*, 1995). O óleo volátil extraído das folhas e aquele extraído das inflorescências diferem entre si pela porcentagem expressiva de sesquiterpenos oxigenados encontrada no primeiro (35,0%) enquanto nas inflorescências esses compostos ocorrem em concentração muito menor, não chegando a totalizar 10%. Além disso, no óleo extraído das inflorescências existe concentração elevada de ácido hexadecanóico (15,2%) e de hidrocarbonetos alifáticos de cadeia longa, os quais ocorrem em concentração bem menor nas folhas. A presença de quantidades expressivas de compostos alifáticos não é comum nas espécies de *Eupatorium* cujos componentes voláteis já foram descritos na literatura. O ácido hexadecanóico é um hormônio de reconhecimento entre abelhas, *Apis mellifera*, além de estar provavelmente envolvido na repelência de carrapatos, *Boophilus microplus*, por extratos de *Melinis minutiflora* (CASTREJÓN

*et al.*, 2004). Da mesma forma, o nonadecanal é um sinalizador importante entre insetos (SCHIESTL e AYASSE, 2002). Apesar de não existirem estudos entomológicos relacionados a *E. macrocephalum* é possível que a elevada produção de nonadecanal e ácido hexadecanóico em suas folhas/inflorescências esteja relacionada à sinalização para insetos.

A composição química de óleos voláteis sofre bastante influência do meio ambiente, podendo variar na mesma espécie em função das condições de iluminação, temperatura e umidade, entre outras, além de variações decorrentes do estágio de desenvolvimento do indivíduo. Dessa forma a análise de outras populações é necessária para a determinação de um padrão ou de quimiotipos para a espécie.

Tabela 4.36: Composição do óleo volátil de *Eupatorium macrocephalum* Less.

IR	Componente	<i>E. macrocephalum</i>			
		Guaíba/05 <i>ff</i>	SFP/05 <i>ff</i>	Sapiranga/06 <i>i</i>	<i>f</i>
858	(Z)-3-hexenol				0,8
866	N-hexanol				0,3
912	$\alpha$ -tujeno			tr	
919	$\alpha$ -pineno		tr	0,1	tr
956	sabineno			tr	
959	$\beta$ -pineno		tr	0,2	tr
974	mirreno		tr	0,1	0,3
1008	<i>p</i> -cimeno			tr	tr
1012	limoneno		tr	0,3	
1020	(Z)- $\beta$ -ocimeno			tr	tr
1030	(E)- $\beta$ -ocimeno			tr	0,2
1082	linalol			tr	0,2
1170	ácido heptanóico			tr	
1173	$\alpha$ -terpineol				tr
1211	nerol			tr	
1200	neral				tr
1238	geraniol			1,1	0,9
1245	acetato de <i>cis</i> -crisantemila				tr
1284	N-tridecano			tr	
1320	$\delta$ -elemeno			tr	tr
1347	acetato de nerila			tr	
1358	$\alpha$ -copaeno	tr		0,3	0,9
<b>1369</b>	<b>acetato de geranila</b>	<b>1,2</b>		<b>11,4</b>	<b>9,5</b>
1368	$\beta$ -bourboneno	tr			
1372	$\beta$ -cubebeno			0,3	0,6
1374	$\beta$ -elemeno	1,4		0,6	1,2
1391	$\alpha$ -gurjuneno			tr	tr
<b>1403</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>2,0</b>	<b>1,2</b>	<b>12,1</b>	<b>11,9</b>
1416	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoteno			0,1	
1420	aromadendreno			r	
1418	$\alpha$ -guaieno				tr
1424	(Z)- $\beta$ -farneseno			tr	
1428	(E)- $\beta$ -farneseno			tr	tr

Tabela 4.36: Cont.

1435	$\alpha$ -humuleno	1,0	tr	3,2	6,1
1441	allo-aromadendreno			0,1	0,3
1463	$\gamma$ -muuroleno	tr			
<b>1466</b>	<b>germacreno D</b>	<b>5,3</b>	<b>2,4</b>	<b>16,3</b>	<b>12,0</b>
1470	$\beta$ -selineno	tr		0,1	0,3
	<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno/				
1473	valenceno	tr		0,1	
1476	viridifloreno				tr
1480	biciclogermacreno	0,7	0,7	5,8	3,5
1481	$\alpha$ -muuroleno	0,5	tr	tr	1,1
1486	germacreno A	tr	tr	0,7	1,1
1489	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farneseno			0,1	
1494	$\gamma$ -cadineno	0,6	tr	0,1	1,7
1504	<i>cis</i> -calameneno	tr			
1504	$\delta$ -cadineno	0,8	tr	1,9	tr
1505	$\beta$ -cadineno	tr		tr	
1520	$\alpha$ -cadineno			tr	tr
1540	germacreno B		1,7		
<b>1548</b>	<b>(<i>E</i>)-nerolidol</b>	2,4	tr	1,8	<b>9,6</b>
	<b>germacreno D-4-ol/</b>				
<b>1560</b>	<b>espatulenol</b>	<b>17,0</b>	<b>4,4</b>	0,8	<b>9,8</b>
	<b>óxido de cariofileno/</b>				
<b>1567</b>	<b>globulol</b>	<b>16,1</b>	<b>4,3</b>	0,9	<b>3,5</b>
1577	<i>epi</i> -globulol	3,8	tr	0,3	0,6
1588	óxido de humuleno I			0,1	
1593	epóxido de humuleno II	2,0		0,1	1,4
1613	1- <i>epi</i> -cubenol	tr		0,1	
1625	iso-espatulenol	tr	0,5	0,1	1,0
1629	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	3,1	0,4	1,4	1,5
1633	$\alpha$ -muurolol	0,6	tr	0,3	0,4
1644	$\alpha$ -cadinol	7,5	2,2	3,5	4,5
1663	cadaleno	tr			
1671	$\alpha$ -bisabolol			0,1	0,6
1674	<i>epi</i> - $\alpha$ -bisabolol				0,7
1687	( <i>2Z,6E</i> )-farnesol				0,3
1700	dodecanal	0,4		0,7	
1710	acetato de ( <i>E</i> )-nerolidol			0,1	
1711	( <i>E,E</i> )-farnesol				1,1
1862	hexaidrofarnesilacetona		4,7		
<b>1982</b>	<b>ácido hexadecanóico</b>	<b>14,9</b>	<b>27,5</b>	<b>15,2</b>	<b>3,4</b>
2086	N-heneicosano	0,5	0,3		
<b>2103</b>	<b>nonadecanal</b>	<b>4,1</b>	<b>29,6</b>	<b>1,4</b>	<b>3,6</b>
2208	acetato de <i>trans</i> -fitila			0,1	
-	N-tricosano	0,8	3,2	2,9	
-	N-tetracosano	tr	0,7	1,0	
-	N-pentacosano	2,4	3,9	6,5	0,4
-	N-hexacosano	tr	1,9	0,2	0,5
-	N-heptacosano	3,3		1,6	
-	N-nonacosano	1,7		0,4	
Total identificado		94,1	89,6	88,5	94,4
MH				0,7	0,5
MO		1,2		12,5	10,6
SH		12,2	6,0	<b>35,9</b>	<b>40,5</b>
SO		<b>52,5</b>	16,5	9,6	<b>35,0</b>
AL		<b>28,1</b>	<b>67,1</b>	<b>29,8</b>	9,0

IR: índice de retenção em coluna DB5; ff: folhas e inflorescências; i: inflorescências; f: folhas; MH: percentagem total de monoterpênos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpênos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpênos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpênos; AL: percentagem total de compostos alifáticos.

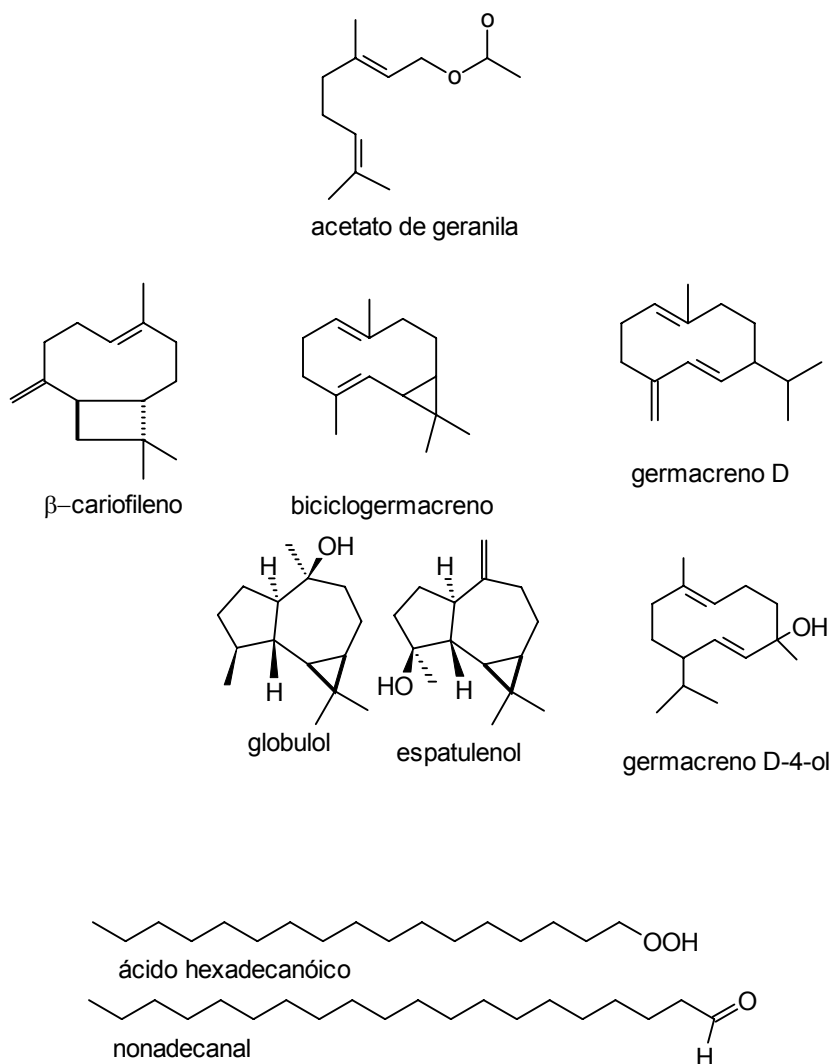


Figura 4.11: Componentes do óleo volátil de *Eupatorium macrocephalum* Less.

#### 4.7.1.2 *Eupatorium purpurascens* Sch.Bip. ex Baker

*Eupatorium purpurascens* é uma erva perene de 1-2 m de altura, flores lilases ou rosadas, que floresce no verão. Sua área de dispersão vai da região Nordeste do Rio Grande do Sul a Minas Gerais, no Brasil; ocorre também na Argentina e Paraguai.

Um espécime de *E. purpurascens* foi coletado em São Francisco de Paula (Abr/05) e o óleo volátil do conjunto de suas folhas e inflorescências foi analisado. No total foram identificados 38 compostos, correspondendo a 92,1% do óleo. Desse

total, 80,8% são sesquiterpenos hidrocarbonados, sendo majoritários  $\beta$ -cariofileno (14,5%), germacreno D (29,2%) e biciclogermacreno (14,8%).

Tabela 4.37: Composição química do óleo volátil de *Eupatorium purpurascens* Sch.Bip. ex Baker

IR	Componente	<i>E. purpurascens</i>
922	$\alpha$ -pineno	0,4
961	sabineno	0,4
964	$\beta$ -pineno	0,7
980	mirceno	0,2
1018	limoneno	0,5
1035	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	tr
1326	$\delta$ -elemeno	tr
1362	$\alpha$ -copaeno	3,4
1370	$\beta$ -bourboneno	0,3
1376	$\beta$ -cubebeno	0,4
1378	$\beta$ -elemeno	0,4
1395	$\alpha$ -gurjuneno	0,2
<b>1405</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>14,5</b>
1433	$\alpha$ -himachaleno	tr
1437	$\alpha$ -humuleno	2,3
1444	9- <i>epi</i> -( <i>E</i> )-cariofileno	tr
1453	drima-7,9(11)-diene	tr
<b>1466</b>	<b>germacreno D</b>	<b>29,2</b>
1469	$\beta$ -selineno	2,1
1472	<i>cis</i> - $\beta$ -guaieno	0,3
1476	valenceno+ viridifloreno	2,3
<b>1480</b>	<b>biciclogermacreno</b>	<b>14,8</b>
1483	$\alpha$ -muuroleno	0,9
1487	germacreno A/( <i>Z</i> )- $\alpha$ -bisaboleno	0,7
1489	<i>trans</i> - $\beta$ -guaieno	0,1
1494	$\gamma$ -cadineno	0,2
1498	7- <i>epi</i> - $\alpha$ -selineno	2,3
1506	$\delta$ -cadineno	5,3
1542	germacreno B germacreno D-4-ol +	1,2
1566	espatulenol	4,5
1631	<i>iso</i> -espatulenol	0,3
1636	$\tau$ -muurolol+ $\tau$ -cadinol	0,7
1643	$\beta$ -eudesmol	0,4
1648	$\alpha$ -cadinol	1,4
-	N-tricosano	1,2
-	N-tetracosano	tr
-	N-pentacosano	0,5
-	N-heptacosano	0,4
total identificado		92,1
MH		2,1
SH		80,8
SO		7,0
AL		2,1

IR: índice de retenção em coluna DB5; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos; AL: percentagem total de compostos alifáticos.

#### 4.7.2 Atividade antioxidante

Os óleos voláteis obtidos nas três coletas de *E. macrocephalum* foram submetidos ao ensaio de atividade antioxidante. Aqueles oriundos das coletas de Sapiranga/RS (jan/06) foram os mais efetivos; em sua composição química, além dos sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados presentes em muitas outras espécies de *Eupatorium* ( $\beta$ -cariofileno, germacreno D, germacreno d-4-ol, óxido de cariofileno, globulol e espatulenol), são majoritários também o álcool sesquiterpênico (*E*)-nerolidol (cujo isômero (*Z*)-nerolidol apresenta atividade pró-oxidante), o acetato de nerolidol (cujo precursor não acetilado, nerol, apresenta atividade antioxidante considerável (RUBERTO e BARATTA, 2000) e os compostos alifáticos ácido hexadecanóico e nonadecanal, para os quais não foram encontrados relatos de atividade antioxidante.

Tabela 4.38: Atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium Macrocephalum* Less.

<i>E. macrocephalum</i>					
Sapiranga/jan/06			Guaíba/mar/05	São Francisco de Paula/abr/06	
<i>dil.</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>ff</i>	<i>ff</i>	
1/10	+++	++++	+	+	
1/100	++	++			
1/1000	+/-	+			

Aplicação pontual de 10 $\mu$ L da respectiva diluição. Legenda: ++++ atividade visualmente superior à da substância de referência (quercetina 1 mg/ml); +++ atividade semelhante à da substância de referência; ++ atividade inferior à da substância de referência; + atividade pouco visível; +/- atividade fracamente visível; *i*: inflorescências; *f*: folhas; *ff*: folhas e inflorescências.



#### 4.8 Seção *Hebeclinium* (DC.) Benth.

*Eupatorium hecatanthum* (DC.) Baker é a única espécie desta seção encontrada no Estado do Rio Grande do Sul. Uma coleta foi realizada, em estágio vegetativo, no município de São Francisco de Paula, em abril de 2005. Foram realizadas a extração do óleo volátil e sua análise cromatográfica, bem como avaliação de sua atividade antioxidante frente ao DPPH. As folhas dessa espécie também foram submetidas à análise em espaço confinado.

Tabela 4.39: Coleta de *Eupatorium hecatanthum* (*Eupatorium* sect. *Hebeclinium* (DC.) Benth.).

Espécie	Local	Data	ICN	f	V mL	r %
<i>Eupatorium. cf. hecatanthum</i>	São Francisco de Paula	Abr/05	148826	x	0,05	0,01

##### 4.8.1 Óleo volátil

O óleo volátil extraído das folhas de *Eupatorium hecatanthum* foi submetido a análise cromatográfica e seus componentes foram identificados.

##### 4.8.1.1 *Eupatorium hecatanthum* (DC.) Baker

*Eupatorium hecatanthum* (= *Hebeclinium hecatanthum* e *Urolepis hecatantha*) é uma erva anual de 0,6 a 1,0 m de altura, com flores lilases ou rosadas, nativa do Sul do Brasil, Bolívia, Paraguai e Centro e Norte da Argentina. É a única espécie encontrada nessa região incluída na seção *Hebeclinium* (MATZENBACHER, 1979).

Em um estudo fitoquímico datado de 1995, De Gutiérrez e colaboradores isolaram, das partes aéreas de *E. hecatanthum* coletado na Bolívia, sete lactonas sesquiterpênicas do grupo germacranolídeo, bem como um diterpeno do tipo labdano. ZYGADLO e colaboradores (1996) estudaram o óleo volátil das folhas de *E. hecatanthum* coletado na Argentina e identificaram  $\alpha$ -pineno e acetato de timila como os componentes majoritários. MONGELLI e colaboradores (2000) estudando

plantas de uso medicinal na Argentina provaram que o extrato diclorometano das partes aéreas dessa espécie eram ativos contra linhagens de células tumorais KB, em ensaios de citotoxicidade, e exerciam interação com DNA, em ensaio espectroscópico.

Tabela 4.40: Composição química do óleo volátil de *Eupatorium hecatanthum* (DC.) Baker

IR	Componente	<i>E. hecatanthum</i>
917	$\alpha$ -pineno	tr
1011	$\beta$ -felandreno	0,3
1158	terpinen-4-ol	tr
1171	$\alpha$ -terpineol	tr
1333	$\alpha$ -cubebeno	1,4
1358	$\alpha$ -copaeno	tr
1366	$\beta$ -bourboneno	tr
1374	$\beta$ -elemeno	0,6
1408	$\beta$ -cariofileno	6,5
1434	$\alpha$ -humuleno	0,5
1467	germacreno D	<b>37,6</b>
1482	biciclogermacreno	<b>23,6</b>
1487	germacreno A	1,0
1489	$\delta$ -amorfenol	0,4
1503	germacreno C+ $\delta$ -cadineno	1,9
1538	germacreno B	2,8
1566	( <i>E</i> )-nerolidol	tr
1569	espatulenol	5,4
1579	óxido de cariofileno+globulol	2,2
1587	<i>epi</i> -globulol	1
1594	eudesmol*	0,3
1634	$\tau$ -cadinol+ $\tau$ -muurolol	1,2
1643	$\alpha$ -muurolol	0,4
1648	$\alpha$ -cadinol	2
1975	ácido hexadecanóico	0,8
2102	nonadecanal	0,5
Total		90,4
MH		0,3
MO		tr
SH		<b>76,3</b>
SO		12,5
AL		1,3

IR: índice de retenção em coluna DB5; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; MO: percentagem total de monoterpenos oxigenados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos; AL: percentagem total de compostos alifáticos; \* Isômero não identificado.

O óleo volátil de *E. hecatanthum* é constituído predominantemente por sesquiterpenos hidrocarbonados (76,3%), dentre os quais se destacam os de núcleo germacrano: germacreno D (37,6%) e biciclogermacreno (23,6%). Outros compostos

de núcleo germacrano, germacreno A, germacreno B e germacreno C também estão entre os componentes que aparecem em concentração superior a 1%. A fração sesquiterpênica do óleo volátil também exhibe outros dois compostos que possuem esqueletos biogeneticamente relacionados (cariofilano e humulano):  $\beta$ -cariofileno (6,5%) e  $\alpha$ -humuleno (0,5%). O  $\alpha$ -humuleno normalmente co-ocorre com  $\beta$ -cariofileno em óleos voláteis. Compostos com núcleos muurolano, cadinano, eudesmano, elemmano e guaiano, que podem se originar pelo rearranjo do germacreno D e/ou biclogermacreno (esqueleto germacrano), compõem a maior parte da fração sesquiterpênica oxigenada do óleo, juntamente com um derivado do cariofilano, o óxido de cariofileno, o qual co-eluiu com o globulol (2,2%). Também foram identificados compostos alifáticos, entretanto, cada um deles corresponde a menos de 1% do óleo volátil.

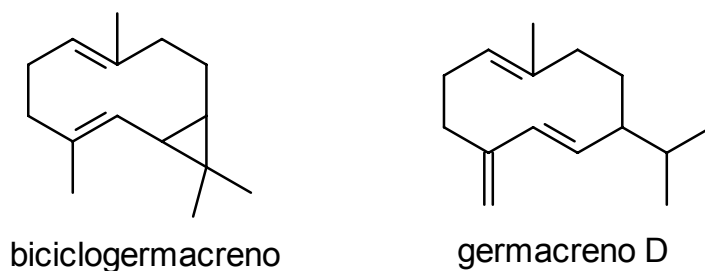


Figura 4.12: Componentes majoritários do óleo volátil de *Eupatorium hecatanthum* (DC.) Baker.

#### 4.8.2 Headspace

As folhas de *E. hecatanthum* foram submetidas à análise em *headspace*. Os pinenos  $\alpha$ -pineno (23,1%) e  $\beta$ -pineno (43,0), bem como o *p*-mentano limoneno (25,2%) dominam a fração volátil, o que a torna indistinguível da fração volátil da maioria das outras espécies (Tabela 4.41).

Tabela 4.41: Análise em headspace das folhas de *Eupatorium hecatanthum* (DC.) Baker.

IR	Componente	<i>E. hecatanthum</i>
912	$\alpha$ -tujeno	0,3
919	$\alpha$ -pineno	<b>23,1</b>
960	sabineno	5,1
965	$\beta$ -pineno	<b>43,0</b>
976	mirreno	1,6
987	$\delta$ -2-careno	0,5
990	$\alpha$ -felandreno	tr
1003	$\alpha$ -terpineno	tr
1007	<i>p</i> -cimeno	tr
1016	limoneno	<b>25,1</b>
1403	$\beta$ -cariofileno	tr
1465	germacreno D	0,8
1479	biciclogermacreno	0,4
	Total	99,9

#### 4.9 *Symphypappus* Turcz.

O gênero *Symphypappus* Turcz. pertence à tribo Eupatorieae, uma das 13 tribos da família Asteraceae (BREMER *et al.*, 1994). Segundo a descrição de KING e ROBINSON (1987), o gênero *Symphypappus* compreende 11 espécies e tem distribuição restrita ao Brasil, atingindo ao Sul o Rio Grande do Sul, Goiás a Oeste, e ao Norte a Bahia. No Estado do Rio Grande do Sul são encontradas quatro espécies desse gênero: *Symphypappus lymanmithii* B.L.Rob. (= *Eupatorium lymanmithii*) e *S. compressus* (Gardner) B.L.Rob. (= *E. compressum* e *S. polystachyus*), *S. casarettoi* B.L.Rob. (= *E. casarettoi*) e *S. reticulatus* Baker var. *vernicosus* (= *E. reitzii* e *S. benjamin-lincolnii*) (CABRERA e KLEIN, 1989). A existência de sinonímias em *Eupatorium* para algumas espécies de *Symphypappus* deve-se ao fato de que durante algum tempo suas espécies fizeram parte de *Eupatorium*, sendo tratadas como uma seção deste (MATZENBACHER, 1979). Entretanto, atualmente *Symphypappus* é considerado um gênero à parte.

Das seis espécies de *Symphypappus* registradas para o Estado do Rio Grande do Sul (CABRERA e KLEIN, 1989), duas foram coletadas e analisadas neste trabalho. As coletas foram realizadas nos municípios de Imbé e Gravataí. *Symphypappus casarettoi* foi coletado em plena floração, em Imbé/RS/mar/05. *Symphypappus reticulatus* foi coletado em estágio vegetativo em abr/05 e recoletado em plena floração, em outubro do mesmo ano. Todos os óleos obtidos foram submetidos à análise cromatográfica e avaliação da atividade antioxidante frente ao DPPH. Uma amostra de óleo volátil foi avaliada no ensaio de atividade anticolinesterásica. Além disso, folhas e inflorescências da segunda coleta de *S. reticulatus* foram submetidas à análise por *headspace*.

Tabela 4.42: Data e local de coleta, número de registro ICN, parte vegetal extraída e rendimento em óleo volátil das espécies de *Symphypappus* Turcz.

COLETAS	Local	Data	ICN	i	f	V ml	r %
<i>S. casarettoi</i>	Imbé	Mar/05	148831	x		0,45	0,15
<i>S. casarettoi</i>	Imbé	Mar/05	148831		x	0,35	0,4
<i>S. reticulatus</i>	Gravataí	Abr/05	148830	x		1,2	0,5
<i>S. reticulatus</i>	Gravataí	Out/05	146988	x		0,25	0,16
<i>S. reticulatus</i>	Gravataí	Out/05	146988		x	0,3	0,34

ICN: código de registro da exsicata no herbário; i: inflorescência; f: folhas, V mL: volume de óleo obtido; r %: rendimento do óleo volátil em relação à planta fresca.

#### 4.9.1 Análise do óleo volátil

Os óleos voláteis das folhas e inflorescências de *S. casarettoi* e de duas coletas diferentes de *S. reticulatus* var. *vernicosus*, incluindo folhas ou folhas e inflorescências, foram analisados em CG e CG-EM para determinação de sua composição química. Foram identificados 66 compostos nas três amostras analisadas, totalizando mais de 90% do total para cada um dos óleos (Tabela 4.43).

##### 4.9.1.1 *Symphypappus casarettoi* B.L.Rob. e *S. reticulatus* Baker

*Symphypappus casarettoi* é um arbusto de 1-2 m de altura, ramoso, com folhas subcoriáceas, opostas (entrenós de 2-6 cm de comprimento), conhecido popularmente como vassoura-do-campo ou vassoura-bichada. Floresce desde setembro até março, sendo bastante característico do litoral do Sul do Brasil (ocorre desde o Paraná até o Rio Grande do Sul). É uma espécie heliófita e seletiva xerófita, situada sobre solos arenosos enxutos do litoral (CABRERA e KLEIN, 1989).

*Symphypappus reticulatus* é um arbusto de aproximadamente um metro de altura, ramoso, densamente folioso, com folhas opostas (entrenós de 0,5-3,0 cm de comprimento), que floresce durante o verão e pode ser encontrado desde o Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul. Também é uma espécie heliófita e seletiva xerófita, encontrada em solos rasos ou rochosos de morros ou montanhas (CABRERA e KLEIN, 1989). De suas partes aéreas já foram isolados diterpenos do tipo covalano, bem como derivados da tremetona (BOHLMANN *et al.*, 1981).

As inflorescências e folhas frescas de *S. casarettoi* apresentaram rendimento de óleo volátil bastante diferentes entre si (0,15% e 0,4%, respectivamente), entretanto, os compostos majoritários foram os mesmos para os óleos obtidos dos dois órgãos, havendo apenas diferenças quantitativas. Enquanto o óleo obtido das folhas dessa espécie foi caracterizado pela predominância de monoterpenos hidrocarbonados (71,5%), cujos principais componentes são pinenos (54,0%), aquele obtido de suas inflorescências caracteriza-se pela proporção mais equilibrada entre hidrocarbonetos mono e sesquiterpênicos (43,6% e 45,5%, respectivamente).

Nenhum dos componentes do óleo volátil das inflorescências de *S. casarettoi* foi encontrado em concentração elevada; os seus seis compostos majoritários ((*E*)- $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -pineno, limoneno, germacreno D, biciclogermacreno,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -cariofileno) situam-se na faixa de concentração de 7,2% a 14,6%. Diferentemente, no óleo das folhas, os monoterpenos  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno destacam-se como produtos majoritários (26,0% e 28,0%, respectivamente).

Tabela 4.43: Composição química do óleo volátil de *Symphiopappus casarettoi* B.L.Rob. e *S. reticulatus* Baker

IR	Componente	<i>S. casarettoi</i>		<i>S. reticulatus</i>		
		Imbé/abr/05		Gravataí/abr/05 I	Gravataí/out/05 II	
		<i>i</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>f</i>	<i>i</i>
911	triciclono		0,1			
916	$\alpha$ -tujeno	0,3	0,4	0,1	tr	
<b>922</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>13,7</b>	<b>26,0</b>	<b>7,8</b>	4,7	0,7
935	$\alpha$ -fencheno		0,1	a		
960	sabineno	1,5	3,8	0,1	1,3	0,4
<b>966</b>	canfeno			2,2	tr	
<b>964</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	<b>7,3</b>	<b>28,0</b>	2,3	1,7	1,4
979	$\beta$ -mirceno	4,7	4,3	2,3	0,6	tr
990	$\delta$ -2-careno	tr	0,1			
994	$\alpha$ -felandreno	tr	tr	tr		
1006	$\alpha$ -terpineno	0,2	tr	tr		
1013	<i>p</i> -cimeno	0,2	0,1	0,1	0,1	tr
<b>1018</b>	<b>limoneno</b>	<b>7,4</b>	5,2	<b>15,8</b>	<b>12,5</b>	6,1
1026	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	0,2	tr	0,5	0,4	
<b>1037</b>	<b>(<i>E</i>)-<math>\beta</math>-ocimeno</b>	<b>7,2</b>	3,2	2,6	1,8	
1046	$\gamma$ -terpineno	0,5	0,2	tr		
1076	terpinoleno	0,4	tr	0,1	tr	
1091	linalol	tr	0,2		tr	
1164	terpinen-4-ol	0,5	0,1	tr	0,1	tr
1178	$\alpha$ -terpineol	0,2	tr		tr	
1272	acetato de isobornila				tr	
1327	acetato de verbenol	0,3				
1321	$\delta$ -elemeno	0,2	tr		tr	
1336	$\alpha$ -cubebeno				tr	tr
1352	ciclosativeno				tr	tr
1357	$\alpha$ -ilangueno				tr	
1359	$\alpha$ -copaeno	0,2	0,1	0,3	0,8	3,2
1365	$\beta$ -maalieno					tr
1367	$\beta$ -bourboneno	0,1	0,1	tr	tr	tr
1373	$\beta$ -cubebeno			0,2	0,5	0,9
1375	$\beta$ -elemeno	1,4	0,5	0,2	0,4	0,4
1494	1,7-di- <i>epi</i> - $\beta$ -cedreno				tr	
<b>1402</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>14,6</b>	<b>6,2</b>	<b>15,2</b>	<b>21,6</b>	<b>29,0</b>
1410	$\beta$ -gurjuneno	tr	0,1	tr	0,1	
1419	$\alpha$ -guaiano				tr	
1419	aromadendreno	0,4		tr	tr	
1433	$\alpha$ -humuleno	3,7	0,7	1,1	<b>7,4</b>	<b>9,4</b>
1440	allo-aromadendreno	0,1	0,1			

Tabela 4.43: Cont.

1547	<i>cis</i> -muurolo-4(14),5-dieno				tr	
1456	$\gamma$ -muuroleno	tr	tr			0,4
<b>1461</b>	<b>germacreno D</b>	<b>9,0</b>	<b>10,6</b>	<b>34,4</b>	<b>23,5</b>	<b>6,4</b>
1464	$\beta$ -selineno	0,2	tr			
1472	valenceno		tr	tr		
<b>1476</b>	<b>biciclogermacreno</b>	<b>12,7</b>	<b>7,2</b>	<b>10,8</b>	<b>7,3</b>	<b>1,6</b>
1479	$\alpha$ -muuroleno	0,5	0,2		0,4	1,0
1483	germacreno A	0,9	1,0	0,3	0,3	tr
1491	$\gamma$ -cadineno	0,2	0,1	0,1	0,1	tr
1500	cubebol				0,1	
1500	$\delta$ -cadineno	1,2	0,3	0,5	0,7	
1509	cadina-1,4-dieno	tr				
1515	$\alpha$ -cadineno	tr			tr	
1521	$\alpha$ -calacoreno	tr			tr	tr
1539	germacreno B		0,1	tr		
1543	$\beta$ -calacoreno	0,1				
1663	cadaleno	tr				
1563	$\beta$ -copaen-4- $\alpha$ -ol		0,2			
<b>1561</b>	<b>espatulenol</b>	1,2	0,1	1,1	5,7	<b>14,7</b>
<b>1566</b>	<b>óxido de cariofileno</b>	0,4		0,4	2,7	<b>16,2</b>
1568	globulol	1,6	0,2	0,1		
1581	epiglobulol			tr		
1595	epóxido de humuleno II	0,1			0,5	2,5
1626	1- <i>epi</i> -cubenol	0,2				
1631	<i>iso</i> -espatulenol			0,1	1,0	1,0
1630	cubenol	0,9	0,1	0,2	0,4	0,4
1637	$\alpha$ -muurolol			tr	0,2	
1646	$\alpha$ -cadinol		0,2	0,4	0,7	1,0
	total	94,5	99,9	98,6	97,6	96,6
	<b>M H</b>	<b>44,6</b>	<b>71,8</b>	33,9	23,2	8,6
	<b>SH</b>	<b>45,5</b>	27,3	<b>63,1</b>	<b>63,2</b>	<b>52,3</b>
	<b>S O</b>	4,4	0,8	1,6	11,2	<b>35,8</b>

IR: índice de retenção em coluna DB5; MH: percentagem total de monoterpenos hidrocarbonados; SH: percentagem total de sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: percentagem total de sesquiterpenos. fl: inflorescências; fo: folhas.

As folhas de *S. reticulatus* (espécime I) apresentaram rendimento em óleo volátil comparável ao das folhas de *S. casarettoi* (0,5%). Entretanto, enquanto esse último era caracterizado pela predominância de monoterpenos hidrocarbonados, aquele é composto majoritariamente por sesquiterpenos hidrocarbonados (63,1%), principalmente por germacreno D (34,4%) e  $\beta$ -cariofileno (15,2%), havendo também 33,9% de monoterpenos hidrocarbonados, especialmente limoneno (15,8%), o qual aparecia em concentração muito menor nas folhas e inflorescências de *S. casarettoi* (5,2% e 7,4%, respectivamente).



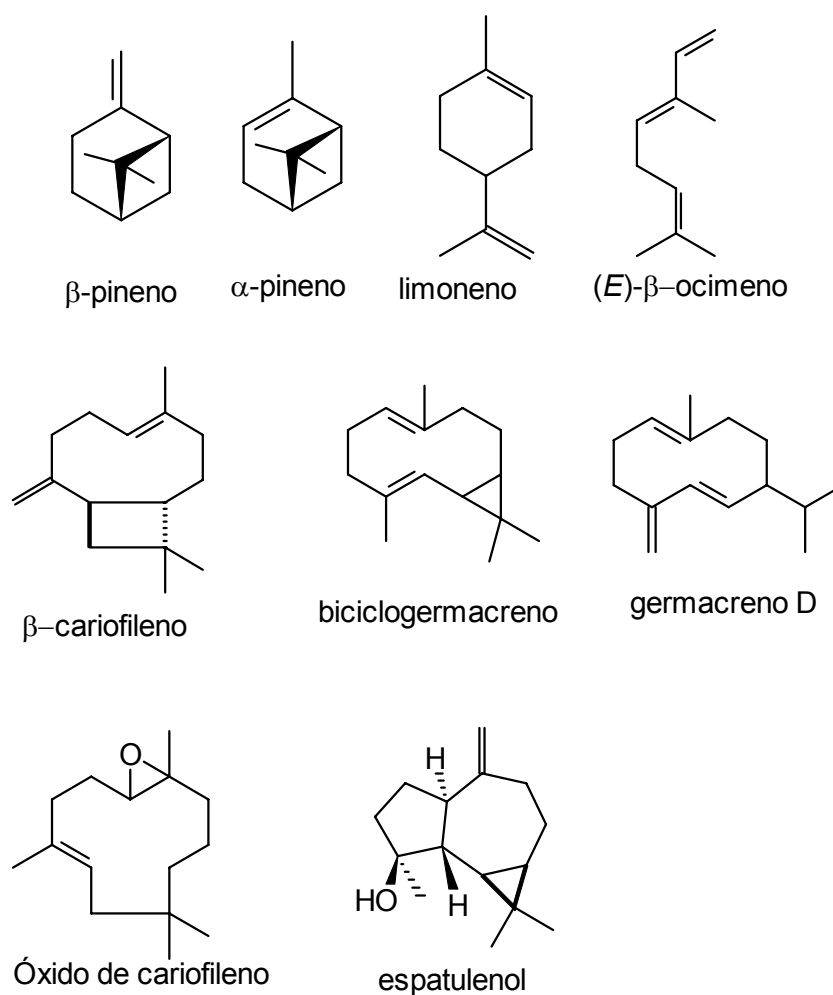


Figura 4.13: Componentes majoritários dos óleos voláteis de espécies de *Symphyopappus* Turcz.

O óleo volátil obtido das folhas da segunda amostra coletada de *S. reticulatus* (durante a floração) é bastante semelhante àquele obtido de suas folhas durante o período vegetativo, possuindo limoneno como único monoterpene em concentração elevada (12,5%). Os sesquiterpenos hidrogenados predominam nesse óleo (63,3%), o qual apresenta como compostos majoritários os mesmos encontrados no período vegetativo: germacreno D (23,5%),  $\beta$ -cariofileno (21,6%) e biciclogermacreno (7,8%). Além destes encontrou-se  $\alpha$ -humuleno em concentração elevada (7,4%).

O óleo obtido das inflorescências desse segundo espécime, por sua vez, difere tanto daqueles obtidos das folhas nas duas coletas de *S. reticulatus*, quanto daqueles obtidos de *S. casarettoi*, pois é caracterizado pela elevada concentração dos sesquiterpenos oxigenados: óxido de cariofileno (16,2%) e espatulenol (14,7%). Dentre os sesquiterpenos hidrogenados, o *cluster* biogeneticamente relacionado  $\beta$ -

cariofileno (29,0%) e  $\alpha$ -humuleno (9,4%) normalmente de ocorrência simultânea (COLLADO *et al.*, 1998) são os compostos majoritários. Os monoterpenos são encontrados em concentrações muito baixas (8,6%). A presença do sesquiterpeno oxigenado espatulenol pode ser originada a partir do biciclogermacreno, pela oxidação de seu derivado aromadendreno.

O óleo obtido das duas coletas de folhas de *S. reticulatus* não apresenta grandes variações quali e quantitativas, mesmo tratando-se de diferentes locais e épocas de coleta, e de diferentes períodos vegetativos, sugerindo que não seja muito afetado pelas condições edafoclimáticas. Entretanto, a comparação destes com o óleo obtido das folhas de *S. casarettoi* revela grande variação quantitativa, principalmente na fração monoterpênica. Da mesma forma, o óleo obtido das inflorescências das duas espécies apresenta grande variabilidade.

#### 4.9.2 Headspace

As folhas e inflorescências de *Symphopappus reticulatus* coletado em Gravataí, em outubro de 2005, foram submetidas à análise por Headspace. O composto majoritário, tanto nas folhas como nas inflorescências é o limoneno (36,8 e 35,7%, respectivamente). Além deste, os pinenos  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno, o composto acíclico (*E*)- $\beta$ -ocimeno e o tujano sabineno (5,3% nas folhas) também se encontram entre os majoritários.

Tabela 4.44: Análise em headspace das folhas e inflorescências de *Symphopappus reticulatus* Baker.

IR	Componente	folhas	inflorescências
912	$\alpha$ -tujeno	tr	tr
<b>919</b>	<b><math>\alpha</math>-pineno</b>	<b>40,2</b>	<b>29,2</b>
939	canfeno	tr	tr
<b>960</b>	<b>sabineno</b>	3,0	<b>5,3</b>
<b>965</b>	<b><math>\beta</math>-pineno</b>	4,8	<b>18,0</b>
976	mirreno	tr	tr
1003	$\alpha$ -terpineno	tr	
<b>1016</b>	<b>limoneno</b>	<b>36,8</b>	<b>35,7</b>
1025	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	2,9	tr
<b>1035</b>	<b>(<i>E</i>)-<math>\beta</math>-ocimeno</b>	<b>8,3</b>	<b>6,9</b>
1403	$\beta$ -cariofileno	1,5	0,5
1465	germacreno D	2,0	1,6
1479	biciclogermacreno	tr	0,4
	total	99,4	97,7

#### 4.9.3 Atividade antioxidante

Os óleos voláteis de ambas as espécies foram avaliados no ensaio de atividade de captura do radical DPPH. Todas as amostras avaliadas revelaram algum grau de atividade, sendo mais efetivos os óleos de *S. casarettoi* (Imbé mar/05) e *S. reticulatus* (Gravataí out/05), os primeiros ricos em monoterpenos hidrocarbonados e os demais ricos em sesquiterpenos oxigenados.

Tabela 4.45: Atividade antioxidante dos óleos voláteis de *Symphypappus casarettoi* B.L.Rob. e *S. reticulatus* Baker

dil.	<i>S. casarettoi</i> Imbé/mar/05		<i>S. reticulatus</i>		
	<i>i</i>	<i>f</i>	Gravataí/abr/05 <i>f</i>	Gravataí/out/05 <i>i</i>	<i>f</i>
1/10	++++	++	+	+++	+++
1/100	++	+	+/-	++	
1/1000	+/-	+/-	+/-	+/-	

Aplicação pontual de 10µL da respectiva diluição. Legenda: ++++ atividade visualmente superior à da substância de referência (quercetina 1 mg/ml); +++ atividade semelhante à da substância de referência; ++ atividade inferior à da substância de referência; + atividade pouco visível; +/- atividade fracamente visível; *i*: inflorescências; *f*: folhas.

#### 4.9.4 Atividade anticolinesterásica

O óleo volátil das folhas de *S. casarettoi* foi submetido à avaliação de atividade anticolinesterásica, exercendo inibição moderada sobre a atividade da enzima, a qual pode ser atribuída a presença de monoterpenos de núcleo pinano, cuja atividade anticolinesterásica já está documentada na literatura científica (SAVELEV *et al.*, 2003; MIYAZAWA *et al.*, 2005).

Tabela 4.46: Atividade anticolinesterásica do óleo volátil de *Symphypappus casarettoi* B.L.Rob.

COLETAS	parte	Local	atividade
<i>S. casarettoi</i>	folhas	Imbé/Mar/05	+
Galantamina (1 mM)			+++

Aplicação pontual de 10µL da respectiva diluição. Legenda: + atividade fracamente visível.



***DISCUSSÃO GERAL***

---

---



Foram coletadas e analisadas 33 espécies de *Eupatorium*, distribuídas em oito seções e duas espécies de *Symphyopappus*. Os óleos voláteis obtidos dessas espécies variaram bastante em rendimento, composição química qualitativa e quantitativa, mas não mostraram diferenças biogenéticas nos constituintes suficientes para diferenciar os gêneros quimicamente. Apesar das variações, são recorrentes nos óleos analisados os compostos de núcleo pinano e p-mentano ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno) entre os monoterpenos; os de núcleo cariofilano, cadinano e germacrano ( $\beta$ -cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno) entre os sesquiterpenos hidrocarbonados e os de núcleo cariofilano, cadinano e aromadendrano (óxido de cariofileno,  $\alpha$ -cadinol,  $\alpha$ -muurolol, espatulenol e globulol) entre os sesquiterpenos oxigenados. As relações biogenéticas entre os componentes principais das frações sesquiterpênica hidrocarbonada e oxigenada dos óleos voláteis está bem estabelecida na literatura científica.

Além desses compostos, ocorrem esporadicamente sesquiterpenos de núcleos bisabolano e santalano em coletas de algumas espécies, bem como compostos de origem alifática, especialmente ácido hexadecanóico, nonadecanal e hidrocarbonetos de número de carbonos variável.

Além disso, foi constatado que uma mesma espécie em diferentes coletas apresentou variações tanto quali quanto quantitativa. Estas variações são comuns em óleos voláteis e podem estar ligadas a fatores edafoclimáticas. Algumas substâncias podem ser também, em alguns casos, resultantes da pressão do meio ambiente, tanto em relações de competição planta-planta, como planta-insetos ou herbivoria, com a tendência de produção de substâncias mais tóxicas. Por outro lado, maiores quantidades de oxigênio atmosférico podem ocasionar em substâncias mais oxigenadas.

Quando considerada a classificação de KING e ROBINSON (1987), foi constatada grande homogeneidade na composição química do óleo volátil entre as quatro espécies do gênero *Grazielia* (*Eupatorium* seção *Dimorpholepis*) coletadas e analisadas neste trabalho. Todas apresentaram predominância de compostos monoterpênicos, destacando-se três majoritários ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno e limoneno). Outro grupo relativamente homogêneo é formado pelas espécies de *Chromolaena*

(*Eupatorium* seção *Cylindrocephala*), do qual apenas uma espécie (*E. subhastatum*) apresenta compostos monoterpênicos entre os majoritários. Todas as demais apresentaram óleo volátil composto principalmente por sesquiterpenos ou substâncias de origem alifática.

A seção *Subimbricata*, apresenta um número muito grande de espécies, distribuídas por KING e ROBINSON (1987) nos gêneros *Acanthostyles*, *Campovassouria*, *Disynaphia*, *Raulinoreitzia*, *Austroeupatorium*, *Hatschbachiella*, *Stomatanthes*, *Gyptis*, *Neocabreria* e *Chromolaena*, todas elas com um número bem reduzido de espécies, o que acaba por dificultar comparações. Quanto às seções *Eximbricata*, *Conoclinium*, *Campuloclinium*, *Hebeclinium* e *Praxelis* que são compostas por número reduzido de espécies (todas agrupadas em gêneros diferentes por KING e ROBINSON (1987)) seria necessário maior número de coletas para determinar a existência de um padrão ou de uma correlação com outras espécies de *Eupatorium*.

Em *Cistus monspeliensis* L., o rendimento do óleo essencial das folhas foi maior no mês de maio (0,21–0,45%) e menor em fevereiro (0,03–0,04%) (v/p) e quanto ao horário de colheita, o melhor rendimento foi às 18 horas nos meses de maio, agosto e fevereiro e às 12 horas no mês de novembro (ANGELOPOULOU *et al.*, 2002). Os mesmos autores ainda verificaram uma variação na composição química do óleo essencial ao longo do ano. Analisando os efeitos de diferentes horários de colheita sobre o conteúdo de óleo essencial de *Ocimum selloi* (Lamiaceae), MARTINS (1997) verificou que o efeito foi maior pela manhã e que não houve alteração no teor de estragol (constituente majoritário) entre os horários estudados.

Assim, é possível verificar que podem ocorrer simultaneamente, dois padrões de resposta do metabolismo secundário aos estímulos ambientais: em um deles, as alterações produtivas dependem das variações climáticas sazonais, tendo maior dimensão, ocorrendo, porém, mais lentamente. No outro, as plantas respondem a estímulos que determinam modificações menores e mais rápidas, por exemplo, aquelas causadas pelas flutuações climáticas diárias (LEAL *et al.*, 2001).



Relacionando a composição do óleo essencial em folhas de *Melissa officinalis* em diferentes idades, HOSE e colaboradores (1997) constataram que há grandes mudanças quantitativas entre folhas das regiões apical e basal da planta, por exemplo, o citral da região apical comparado com a basal passou de 37,2% para 0,5%, enquanto que, o inverso ocorreu com o citronelal.

Em trabalho realizado com o óleo volátil das folhas de *Virola surinamensis* para verificar a variação circadiana e sazonal nas diferentes estações do ano foi constatado que o teor de óleo volátil permaneceu constante em coletas realizadas em diferentes horários, porém foi observada variação na composição química do óleo, tanto nas classes como nos componentes individuais. Durante o mês de fevereiro os níveis de sesquiterpenos mantiveram-se constantes entre 5-15%, sendo observado um aumento acima de 50% durante a fase pré-fase de frutificação, em outubro. Neste período foi evidenciada a presença de  $\beta$ -cariofileno e valenceno. O primeiro é reconhecido por seu efeito na mortalidade ou diminuição do número de insetos herbívoros. O conteúdo de monoterpenos foi maior que o de sesquiterpenos durante fevereiro e junho. A variação apontou que níveis de monoterpenos (28% às 6 a.m.) caíram para aproximadamente a metade à tarde (15%) voltando ao mesmo teor às 9 p.m. Em junho o teor aumentou para 50%, sugerindo a importância destes compostos durante a floração. Limoneno e  $\alpha$ -pineno tiveram níveis máximos neste período (LOPES *et al.*, 1997). A presença destes compostos pode ser atribuída a sua atividade atraente de insetos o que contribuiria para a fecundação da espécie (CRAVEIRO, 1981).

Na avaliação das atividades biológicas, foi verificado que a maioria dos óleos voláteis analisados apresentou atividade antioxidante frente ao radical DDPH. Em especial, os óleos voláteis de espécimes de *E. laevigatum* (rico em levigatina, um composto aromático de núcleo furano) apresentaram ação antioxidante pronunciada. A maioria dos outros óleos apresentou atividade moderada. Considerando-se que os componentes mais comuns para a maioria dos óleos voláteis avaliados são o  $\alpha$ -pineno, o  $\beta$ -pineno, o limoneno, o  $\beta$ -cariofileno, o germacreno D e o biciclogermacreno (sendo que os quatro primeiros não apresentam atividade antioxidante considerável), pode-se supor que a atividade antioxidante dos óleos

voláteis de espécies de *Eupatorium* deve-se ao efeito sinérgico de seus componentes, não se excluindo a possibilidade de que algum composto presente em percentual baixo também seja responsável por essa atividade.

Todos os óleos analisados apresentaram atividade anticolinesterásica moderada, sendo esta mais pronunciada para aqueles óleos que apresentaram maior percentual de  $\alpha$ -pineno, composto que comprovadamente apresenta atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase.

**CONCLUSÕES**

---

---



A análise química aliada à avaliação da atividade biológica de 33 espécies do gênero *Eupatorium*, e duas de *Symphypappus* permitiu verificar que apesar de variação tanto quali, quanto quantitativa estas apresentam certo grau de homogeneidade quanto aos componentes químicos e conseqüente resposta aos ensaios de bioatividade. Esta similitude deriva da filiação biogenética dos componentes, sendo que em sua maioria, são derivados dos núcleos pinano, *p*-mentano, cariofilano e germacrano. Componentes da série aromática não foram evidenciados. Algumas espécies também apresentaram componentes alifáticos com teor relativamente importante.

Os óleos voláteis das diferentes espécies exerceram atividade antioxidante, em especial o óleo de *Eupatorium laevigatum* Lam. e a levigatina, isolada do mesmo. Além disso, os óleos voláteis demonstraram atividade anticolinesterásica moderada. Esses dois resultados, juntamente com o elevado teor de óleo volátil presente em algumas das espécies estudadas, podem justificar a pesquisa de outras atividades, especialmente considerando-se que a atividade antioxidante é um bom indicador de atividade antiinflamatória e antitumoral, além de doenças neurodegenerativas.

Assim, face a quantidade de óleo de algumas das espécies analisadas, chegando até 2,3% do material e a disponibilidade destes vegetais sazonais, o potencial deste grupo botânico para a identificação de produtos de interesse para a indústria, tanto no desenvolvimento de flavorizantes quanto bioativos, parece ser evidente.

Os resultados obtidos apontam para a importância dos estudos dos óleos voláteis de espécies da flora brasileira, de forma interdisciplinar, visando à identificação de espécies promissoras, para utilização como insumos e na obtenção de ativos a serem incluídos em potenciais novos medicamentos.



***REFERÊNCIAS***

---

---





ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; PALOMINO, S.S.; CHIRIBOGA, X.; CARRASCO, L. Antiviral activity of some South American medicinal plants. **Phytotherapy Research**, v.13, n.2, p.142-146, 1999.

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2001.

ADIO, A.M. **Isolation and Structure Elucidation of Sesquiterpenoids from the Essential Oils of some Liverworts (Hepaticae)**. Dissertation. Hamburg 2005.

ADSERSEN, A.; GAUGUIN, B.; GUDIENSEN, L.; JÄGER, A.K. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.104, n.3, p.418-422, 2006.

AHARONI, A.; GIRI, A.P.; VERSTAPPEN, BERTE, C.M.; SEVENIER, R.; SUN, Z.; JONGSMA, M.A.; SCHWAB, W.; BOUWMEESTER, H.J. Gain and Loss of Fruit Flavor Compounds Produced by Wild and Cultivated Strawberry Species. **The Plant Cell**, v.16, p.3110–3131, 2004.

AHARONI, A.; JONGSMA, M.A.; BOUWMEESTER, H.J. Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. **TRENDS in Plant Science**, v.10, n.12, p.554-602, 2005.

ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; SOUZA, E.B ; MESQUITA, E.F.; NUNES, E.P.; CUNHA, A.N.; SILVEIRA, E.R. Volatile constituents from leaves of *Vernonia chalybaea* Mart. and *Eupatorium ballotaefolium* HBK. **Journal of Essential Oil Research**, v.13, n.5, p.376-377, 2001.

ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; SILVEIRA, E.R.; UCHÔA, D.E.A.; LEMOS, T.L.G.; SOUZA, E.B.; SANTIAGO, G.M.P.; PESSOA, O.D.L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.6708-6711, 2004.

ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; PIRES, A.M.L.; PESSOA, O.D.L.; SILVEIRA, E.R. Terpenoids, flavonoids and other constituents of *Eupatorium betonicaeforme* (Asteraceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.17, n.1, p.68-72, 2006.

ANGELOPOULOU, D.; DEMETZOS, C.; PERDETZOGLOU, D. Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, n.3, p.189-203, 2002.

ANEKONDA, T.A.; REDDY, P.H. Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease? **Brain Research Reviews**, v.50, p.361–376, 2005.

APÁTI, P.; SZENTMIHALYI, K.; KRISTO, S.T.; PAPP, I.; VINKLER, P.; SZOKE, E.; KERY, A. Herbal remedies of *Solidago* - correlation of phytochemical characteristics and antioxidative properties. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.8, n.32(4-5), p.1045-53, 2003.

APEL, M.A. **Óleos voláteis de espécies da subtribo Eugeniinae (Myrtaceae): composição química e atividades antimicrobiana e antiinflamatória**. Porto Alegre, UFRGS, Tese, 256p., 2001.

ARBO, M.M.; LÓPEZ, M.G.;SCHININI, A.; PIESZKO, G. Plantas palustres del Macrossistema Ibera. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina, Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas 2002, Biologicas, n.1, p.1-4, 2002 (acessado *online* em julho de 2007 << [<>](http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002)>>).

ARIAS, A.R.; FERRO, E.; INCHAUSTI, A.; ASCURRA, M.; ACOSTA, N.; RODRIGUEZ, E.; FOURNET, A. Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity os some Paraguayan Asteraceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v.45, p.35-41, 1995.

ARKOUT, A.A.; CHEMLI, R.; SIMMONDS, M.; KITE, G.; HAMMAMI, M.; CHREIF, I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, n.5, p.333-336, 2003.

AVERY, M.A.; CHONG, W.K.M.; JENNINGS-WHITE, C. Stereoselective synthesis of (+)-artemisinin, the antimalarial constituent of *Artemisia annua* L. **Journal of the American Chemical Society**, v.114, p.974-979, 1992.

AYDIN, S.; BEIS, R.; OZTURK, Y.; BASER, K.H. Nepetalactone: a new opioid analgesic from *Nepeta caesarea* Boiss. **Journal of Pharmacy And Pharmacology**, v.50, n.7, p.813-817, 1998.

BÁEZ, D.H.; RÍOS, C.; CRESCENTE, O.; CASERTA, A. Antibacterial and chemical evaluation of *Chromolaena moritziana*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.59, p.203–206, 1998.

BAILAC, P.N.; DELLACASA, A.D.; BERNASCONI, H.O.; FIRPO, N.H.; PONZI, M.I. Composition of the essential oil and antimicrobial activity of *Eupatorium patens*. **Boletín de la Sociedad Chilena de Química**, v.45, n.2, p.207-211, 2000.

BANDONI, A. **Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica**. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, 2000.

BAMBA, D.; BESSIERE, J.M.; MARION, C.; PELISSIER, Y.; FOURASTE, I. Essential oil of *Eupatorium odoratum*. **Planta Medica**, n.59, v.2, p.184-185, 1993.

BARROSO, G.M. Considerações sobre o gênero *Eupatorium* L. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v.10, p.13-137, 1950.

BELL, E.A.; CHARLWOOD, B.V. **Secondary Plant Products**. New York: Springer-Verlag, 1980.

BELL, S.G.; CHEN, X.; SOWDEN, R.J.; XU, F.; WILLIAMS, J.N.; WONG, L.-L.; RAO, Z. Molecular Recognition in (+)- $\alpha$ -Pinene Oxidation by Cytochrome P450cam. **Journal of the American Chemical Society**, v.125, p.705-714, 2003.

BHARDWAJ, R.; SINGH, A.; SHARMA, O.P.; DAWRA, R.K.; KURADE, N.P.; MAHATO, S.B. Hepatotoxicity and cholestasis in rats induced by the sesquiterpene, 9-oxo-10,11-dehydroageraphorone, isolated from *Eupatorium adenophorum*. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v.15, n.5, p.279-286, 2001.

BILLER, A.; BOPPRÉ, M.; WITTE, L.; HARTMANN, H. Pyrrolizidine alkaloids in *Chromolaena odorata*. Chemical and chemoecological aspects. **Phytochemistry**, v.35, n.3, p.615-619, 1994.

BLAIR-TRUJILLO, S.; MESA, J.; CORREA, A.; CARMONA-FONSECA, J.; GRANADOS, H.; SAEZ, J. Antimalarial activity of neurolepin B and derivatives of *Eupatorium inulaefolium* (Asteraceae). **Pharmazie**, v.57, n.6, p.413-415, 2002.

BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p.1199-1200, 1958.

BOHLMANN, F.; JAKUPOVIC, J.; VOGEL, W. 11-Hydroxy- $\alpha$ - and  $\beta$ -cubebene from *Eupatorium serotinum*. **Phytochemistry**, v.21, n.5, p.1153-1154, 1982.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R.M.; ROBINSON, H. 8 $\beta$ -Tigloylguaiagrazielolide from *Campovassouria bupleurifolia*. **Phytochemistry**, v.22, n.12, p.2860-2862, 1983.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R.M.; ROBINSON, H. Thirteen kolavane derivatives from *Symphopappus* species. **Phytochemistry**, v.20, n.7, p.1657-1663, 1981.

BOHLMANN, J.; MARTIN, D.; OLDHAM, N.J.; GERSHENZON, J. Terpenoid Secondary Metabolism in *Arabidopsis thaliana*: cDNA Cloning, Characterization, and Functional Expression of a Myrcene/(E)-b-Ocimene Synthase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.375, n.2, p.261-269, 2000.

BOHLMANN, J.; MEYER-GAUEN, G.; CROTEAU, R. Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.95, p.4126-4133, 1998.

BOUDA, H.; TAPONDJOU, L.A.; FONTEM, D.A.; GUMEDZOE, M.Y.D. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.103-109, 2001.

BRASIL. Ministério de Agricultura. Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Rio Grande do Sul. Recife, 1973.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução n. 104 de 26 de abril de 1999. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. 14 maio, 1999.

BREMER, K.; ANDERBERG, A.A.; KARIS, P.O.; LUNDBERG, J. Tribe Eupatorieae. In: **Asteraceae, Cladistics & Classification** (ed. K. Bremer). Timber Press, Portland, Oregon, 1994. p. 625-680.

BRENNAN, E.; CLAUDIO, F.; SERRA, S. Enantioselective perception of chiral odorants. **Tetrahedron: Asymmetry Pergamon**, v.14, p.1-42, 2003.

BÜLOW N, KONIG WA. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. **Phytochemistry**, v.55, n.2, p.141-68, 2000.

CABRERA, A.L. Catalogo de las Eupatorieas Argentinas. *Ver. Mus. de La Plata*, v.8, n.35, p.179-263, 1956.

CABRERA, A.L. **Flora de la provincia de Buenos Aires: parte V – Compuestas**. Colección científica Del I.N.T.A., Buenos Aires, p. 5-19, 1963.

CABRERA, A.L. e VITTET, N. Compositae Catharinenses. II. Eupatorieae. "Sellowia", *Anais Botânicos do Herbário "Barbosa Rodrigues"*, v.15, n.15, p.149-258, 1963.

CABRERA, A.L.; KLEIN, R.M. Compostas (Eupatorieae). **Flora Ilustrada Catarinense**, 1989.

CÁCERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, B.E.; JAUREGUI, E.; PERALTA, E.; CARRILLO, G. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v.48, p.85-88, 1995.

CANDAN, F.; UNLU, M.; TEPE, B.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SÖKMEN, A.; AKPULAT, H.A. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, n.87, p.215–220, 2003.

CANE, D.E. Enzymatic formation of sesquiterpenes. **Chemical Reviews**, v.90, p.1089-1103, 1990.

CARRERAS, C.R.; ROSSOMANDO, P.C.; GIORDANO, O.S. *Ent*-labdanes in *Eupatorium buniifolium*. **Phytochemistry**, v.48, n.6, p.1031-1034, 1998.

CASTREJÓN, F.J.M.; VAZQUEZ, C.C.; RUVALCABA, M.F.; TORRES, J.M. Efecto repelente de extractos de *Melinis minutiflora* sobre larvas de la garrapata *Boophilus microplus*. **Veterinaria México**, v.35, n.2, p.153-159, 2004.

CAVIN, A.; HOSTETTMANN, K.; DYATMYKO, W.; POTTERAT, O. Antioxidant and lipophilic constituents of *Tinospora crispa*. **Planta Medica**, v.64, p.393-396, 1998.

CHAPPELL, J. Biochemistry and molecular biology of isoprenoid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.46, p.521-47, 1995.

CHIANG, Y.M.; CHUANG, D.Y.; WANG, S.Y.; KUO, Y.H.; TSAI, P.W.; SHYUR, L.F. Metabolite profiling and chemopreventive bioactivity of plant extracts from *Bidens pilosa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.95, n.2-3, p.409-19, 2004.

CLARK, R.J.; MENARY, R.C. Environmental effects on peppermint (*M. piperita* L) Effect of day length, photon flux density, night and day temperature on yield and composition of peppermint oil. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.7, p.685–692, 1980.

CLAVIN, M., LORENZEN, K., MAYER, A., MARTINO, V.; ANKE, T. Biological Activities in Medicinal Species of *Eupatorium*. **Acta Horticulturae**, v.501, p.277-282, 1999.

CLAVIN, M.L.; GORZALCZANY, S.; MINO, J.; KADARIAN, C.; MARTINO, V.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C. Antinociceptive effect of some Argentine medicinal species of *Eupatorium*. **Phytotherapy Research**, v.14, n.4, p.275-277, 2000.

COCK, M.J.W. Living World, J. Trinidad and Tobago Field Naturalists' Club, 2003. Disponível online em <<http://livingworldjournal.googlepages.com/200314-48hesperiinaecop.pdf>> em 20/09/07.

COLBY, S.M.; CROCK, J.; DOWDLE-RIZZO, B.; LEMAUX, P.G.; CROTEAU, R. Germacrene C synthase from *Lycopersicon esculentum* cv. VFNT Cherry tomato: cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the multiple product sesquiterpene ciclase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.95, n.5, p.2216-2221, 1998.

COLOSSI, R.; RAUBER, T.; SILVA, R.; RATES, S.M.K. Análise fitoquímica de *Eupatorium verbenaceum* De Candolle (Asteraceae). **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 21, n.1, p.63-69, 1999.

CORDELL, G.A.; COLVARD, M.D. Some thoughts on the future of ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.5-14, 2005.

COSSÉ, A.A.; CAMPBELL, M.G.; GLOVER, T.J.; LINN JR., C.E.; TODD, J.L.; BAKER, T.C.; ROELOFS, W.L. Pheromone behavioral responses in unusual male European corn borer hybrid progeny not correlated to electrophysiological phenotypes of their pheromone-specific antennal neurons. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.51, n.8, p.809-816, 1995.

CRAVEIRO, A.A.; MACHADO, M.I.L. De aromas, insetos e plantas. **Ciência Hoje**, v.4, n.23, p. 54-63, 1986.

CROTEAU, R. Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. **Chemical Reviews**, v.87, p.929–954, 1987.

DAS, A.; SHANKER, G.; NATH, C.; PAL, R.; SINGH, S.; SINGH, H.K. A comparative study in rodents of standardized extracts of *Bacopa monniera* and *Ginkgo biloba* Anticholinesterase and cognitive enhancing activities. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.73, p.893–900, 2002.

De CANDOLLE, A.P. Compositae, tribo II. Eupatorieae LESS. *Prodromus Systematics Regni Vegetabilis*, v.5, p.103-211, 1836.

de las HERAS, B.; SLOWING, K.; BENEDI, J.; CARRETERO, E.; ORTEGA, T.; TOLEDO, C.; BERMEJO, P.; IGLESIAS, I.; ABAD, M.J.; GOMEZ-SERRANILLOS, P.; LISO, P.A.; VILLAR, A.; CHIRIBOGA, X. Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. **Journal of Ethnopharmacology**, v.61, n.2, p.161-166, 1998.

DEL VITTO, L.A.; PETENATTI, E.M; PETENATTI, M.E. Recursos herbolarios de São Luis (República Argentina). Primeira Parte: plantas nativas. Multequina, p.49-66, 1997. <<redalyc.uaemex.mx>>

DEWICK, P.M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley and Sons, Chichester, p.152-269, 1997.

DEY, S.; SINHA, B.; KALITA, J. Effect of *Eupatorium adenophorum* Spreng leaf extracts on the mustard aphid, *Lipaphis erysimi* Kalt: A scanning electron microscope study. **Microscopy Research and Technique**, v.66, n.1, p.31-36, 2005.

DING, J.K.; YU, X.J.; YU, W.; DING, Z.H.; CHEN, Z.L.; HAYASHI, N.; KOMAE, H. Aromatic components of the essential oils of 4 chinese medicinal-plants (*Asarum petelotii*, *Elsholtzia souliei*, *Eupatorium adenophorum*, *Micromeria biflora*) in Yunnan. **Zeitschrift für Naturforschung C-A Journal Of Biosciences**, v.49, n.11-12, p.703-706, 1994.

Dos SANTOS, J.P.; DAL SOGLIO, F.K.; REDAELLI, L.R. Plantas hospedeiras de dípteros minadores em pomar de citros em Montenegro, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.235-241, 2006.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, n.2, p.308–316, 2000.

DUBEY, S.V.; BHALLA, R.; LUTHRA, R. An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. **Journal of Biosciences**, v.28, n.5, p.637–646, 2003.

EI TAMER, M.K.; LÜCKER, J.; BOSCH, D.; VERHOEVEN, H.A.; VERSTAPPEN, F.W.A.; SCHWAB, W.; VAN TUNEN, A.J.; VORAGEN, A.G.J.; De MAAGD, R.A.; BOUWMEESTER, H.J. Domain swapping of *Citrus limon* monoterpene synthases: impact on enzymatic activity and product specificity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.411, p.196–203, 2003.

EL-SEEDI, H.R.; OHARA, T.; SATA, N.; NISHIYAMA, S. Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.81, p.293-296, 2002.

FAROOQI, A.H.A.; SANGWAN, N.S.; SANGWAN, R.S. Effect of photoperiodic regimes on growth, flowering and essential oil in *Mentha* species. **Plant Growth Regulation**, v.29, p.181–187, 1999.

FATIMA, S.; FAROOQI A.H.A.; SHARMA, S. Physiological and metabolic responses of different genotypes of *Cymbopogon martinii* and *C. winterianus* to water stress. **Plant Growth Regulation**, v. 37, p.143–149, 2002.

FELICETTI, B.; CANE, D.E. Aristolochene Synthase. Mechanistic analysis of active site residues by site-directed mutagenesis. **Journal of the American Chemical Society**, v.126, p.7212-7221, 2004.

FERNÁNDEZ, T.; ZOLEZZI, P.C.; RISCO, E.; MARTINO, V.; LÓPEZ, P.; CLAVIN, M.; HNATYSZYN, O.; CANIGUERAL, S.; HAJOS, S.; FERRARO, G.; ALVAREZ, E. Immunomodulating properties of Argentine plants with ethnomedicinal use. **Phytomedicine**, v.9, p.546–552, 2002.

FERRARO, G. E., COUSSIO, J. D. 4',4"-Dimethylcupressuflavanone from *Eupatorium subhastatum*. **Phytochemistry**, n.12, p.1825, 1973.

FERRARO, G.; MARTINO, V.; BORRAJO, G.; COUSSIO, J. D. 5,7,3",4'-tetrahydroxy-6-methoxyflavanone from *Eupatorium subhastatum*. **Phytochemistry**, n.26, p.3092, 1987.

FERREIRA, A.; PROENÇA, C.; SERRALHEIRO, M.L.M.; MARAÚJO, E.M. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. **Journal of Ethnopharmacology**, v.108, n.1, p.31-37, 2006.

FLAMINI, G.; CIONI, P.L.; MORELLI, L. Analysis of the essential oil of the leaves and flowers/fruits of *Eupatorium cannabinum* L. from South Tuscany (Central Italy). **Journal of Essential Oil Research**, v.15, n.2, p.127-129, 2003.

FONSCECA, M.C.M.; BARBOSA, L.C.A.; NASCIMENTO, E.A.; CASALI, V.W. Essential Oil from Leaves and Flowers of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.18, n.3, p.345-347, 2006.

FRIDAY, K.S.; DRILLING, M.E.; GARRITY, D. *Imperata* grassland rehabilitation using Agroforestry and Assisted Natural Regeneration. International Centre for Research in Agroforestry, **Southeast Asian Regional Research Programme**, Bogor, Indonesia. 1999.

GARCÍA, C.C.; TALARICO, L.; ALMEIDA, N.; COLOMBRES, S.; DUSCHATZKY, C.; DAMONTE, E.B. Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina. **Phytochemistry Research**, v.17, n.9, p.1073-1075, 2003.

GEISSMAN, T.A.Y.; CROUT, D.H.G. **Organic chemistry of secondary plant metabolism**. Freeman Cooper; San Francisco, 1969.



GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; MANNELLI, L.C.; MAZZANTI, G.; BARTOLINI, A. Local anaesthetic activity of  $\beta$ -caryophyllene. **II Farmaco**, v.56, n.6, p. 387-389, 2001.

GHELARDINI, C; GALEOTTI, N; SALVATORE, G; MAZZANTI, G. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. **Planta Medica**, v.65, p.700-703, 1999.

GONÇALVES, R.B; MELO, G.A.R. A comunidade de abelhas (*Hymenoptera*, Apidae s. l.) em uma área restrita de campo natural no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná: diversidade, fenologia e fontes florais de alimento. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.49, n.4, p.557-571, 2005.

GUDAITYTĖ, O.; VENSKUTONIS, P.R. Chemotypes of *Achillea millefolium* transferred from 14 different locations in Lithuania to the controlled environment. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.35, n.9, p.582-592, 2007.

GUIGNARD, J.L.; COSSON, L.; HENRY, M. **Abrégé de phytochimie**. Masson, Paris, 1985.

GUPTA, D.; CHARLES, R.; GARG, S.N. Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Eupatorium triplinerve* Vahl. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, n.5, p.473-475, 2004.

GUPTA, M.; MAZUNDER, U.K.; CHAUDHURI, I.; CHAUDHURI, R.K.; BOSE, P.; BHATTACHARYA, S.; MANIKANDAN, L.; PATRA, S. Antimicrobial activity of *Eupatorium ayapana*. **Fitoterapia**, v.73, p.168-170, 2002.

GUTIERREZ, A.N.; BARDÓN, A.; CATALÁN, C.A.N.; GEDRIS, T.B; HERZ, W. Sesquiterpene lactones and other constituents of *Disynaphia multicrenulata* from Argentina. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.29, p.633-647, 2001.

HABTEMARIAN, S. Antiinflammatory activity of the antirheumatic herbal drug, gravel root (*Eupatorium purpureum*): Further biological activities and constituents. **Phytotherapy Research**, v.15, n.8, p.687-690, 2001.

HABTEMARIAN, S. Cistifolin, an integrin-dependent cell adhesion blocker from the anti-rheumatic herbal drug, gravel root (rhizome of *Eupatorium purpureum*). **Planta Medica**, v.64, n.8, p.683-685, 1998.

HABTEMARIAN, S.; MacPHERSON, A.M. Cytotoxicity and antibacterial activity of ethanol extract from leaves of a herbal drug, boneset (*Eupatorium perfoliatum*). **Phytotherapy Research**, v.14, n.7, p.575-577, 2000.

HAMPEL, D.; MOSANDL, A.; WÜST, M. Biosynthesis of mono- and sesquiterpenes in carrot roots and leaves (*Daucus carota* L.): metabolic cross talk of cytosolic mevalonate and plastidial methylerythritol phosphate pathways. **Phytochemistry**, v.66, p.305–311, 2005.

HENDERSEN, L.; KLEIN, H. Pompom weed—new threats to the grasslands of Limpopo, Mpumalanga and Free State. **Plant Protection News**, n.71, p.12, 2007.

HENRIQUES A.T., SIMÕES-PIRES, C.A., APEL, M.A. Óleos essenciais, importância e perspectivas terapêuticas, in YUNES, R.A. e CECHINEL FILHO, V. (Orgs), **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Ed Univali, Itajaí, 1ªEd, 303p, 2007.

HERZ, W. Chemistry of the Crotiniinae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p.1159–1185, 2004.

HERZ, W. Chemistry of the Eupatoriinae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.29, p.115–1137, 2001.

HERZ, W. Chemistry of the Oxylobinae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.31, p.963–993, 2003.

HERZ, W.; GUTIÉRREZ, A.N.; CATALÁN, C.N.; DIAZ, J.G. Sesquiterpene lactones, a labdane and other constituents of *Urolepis hecatantha* and *Chromolaena arnottiana*. **Phytochemistry**, v.39, n.4, p.795-800, 1995.

HILGERT, N.I.; GIL., G.E. Medicinal plants of the Argentine Yungas plants of the Las Yungas biosphere reserve, Northwest of Argentina, used in health care. **Biodiversity and Conservation**, v.15, p.2565–2594, 2006.

HNATYSZYN, O.; BROUSSALIS, A.; HERRERA, G.; MUSCHIETTI, L.; COUSSIO, J.; MARTINO, V.; FERRARO, G.; FONT, M.; MONGE, A.; MARTÍNEZ-IRUJO, J.J.; SANROMÁN, M.; CUEVAS, M.T.; SANTIAGO, E.; LASARTE, J.J. Argentine plant extracts active against polymerase and ribonuclease H activities of HIV-1 reverse transcriptase. **Phytotherapy Research**, v.13, n.3, p.206-209, 1999.

HOELSCHER, D.J.; WILLIAMS, D.C.; WILDUNG, M.R.; CROTEAU, R. A cDNA clone for 3-carene synthase from *Salvia stenophylla*. **Phytochemistry**, n.62, p.1081–1086, 2003.

HOFFMANN, O. Compositae, in Engler U. Prantl, **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**, n.4, v.5, p.131-140, 1897.

HOLM, Y.; LAAKSO, I.; HILTUNEN, R.; GALAMBOSI, B. Variation in the essential oil composition of *Artemisia annua* L. of different origin cultivated in Finland. **Flavour and Fragrance Journal**, v.12, n.4, p.241-246, 1997.

HOSE, S.; ZNGLEIN, A.; BERG, T. Ontogenetic variation of the essential leaf oil of *Melissa officinalis* L. **Phamazie**, v.52, n.3, p.247-53, 1997.

HOWES, M.J.; HOUGHTON, P.J. Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.75, p513-527, 2003.

HUGHES, M.; PHAN, T.; ALLEN, J.; CHERRY, G.; WOINAROWSKA, F. Upregulation of the "adhesion complex" molecules by human keratinocytes treated with an aqueous extract from the leaves of *Chromolaena odorata* (eupolin). **Journal of Dermatological Science**, v.16, n.1, p.88-88(1), 1998.

HUO, J.; YANG, S.P.; DING, J.; YUE, J.M. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium lindleyanum*. **Journal of Natural Products**, v.67, p.1470-1475, 2004.

HYATT, D.C.; CROTEAU, R. Mutational analysis of a monoterpene synthase reaction: Altered catalysis through directed mutagenesis of ( $\alpha$ )-pinene synthase from *Abies grandis*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, n.439, p.222-233, 2005.

IROBI, O.N. Antibiotic properties of ethanol extract of *Chromolaena odorata* (Asteraceae). **Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)**, v.35, n.2, p.111-115(5), 1997.

IYAZAWA, M.; YAMAFUJI, C. Inhibition of acetylcholinesterase activity by bicyclic monoterpenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1765-1768, 2005.

JONES, C.G.; GHISALBERTI, E.L.; PLUMMER, J.A.; BARBOUR, E.L. Quantitative co-occurrence of sesquiterpenes; a tool for elucidating their biosynthesis in Indian sandalwood, *Santalum album*. **Phytochemistry**, v.67, n.22, p.2463-2468, 2006.

JÖNSSON, M.; ANDERSON, P. Electrophysiological response to herbivore-induced host plant volatiles in the moth *Spodoptera littoralis*. **Physiological Entomology**, v.24, n.4, p.377, 1999.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA, 1999.

KATOCH, R.; SHARMA, O.P.; DAWRA, R.K.; KURADE, N.P. Hepatotoxicity of *Eupatorium adenophorum* to rats. **Toxicon**, v.38, n.2, p. 309-314(6), 2000.

KAUSHAL, V.; DAWRA, R.K.; SHARMA, O.P.; KURADE, N.P. Hepatotoxicity in rat induced by partially purified toxicins from *Eupatorium adenophorum* (*Ageratina adenophora*). **Toxicon**, v.39, p.615-619, 2001.

KING, R.M.; ROBINSON, H. **The genera of the Eupatorieae (Asteraceae)**. St. Louis : Missouri Botanical Garden, 581 p, 1987.

KITAZAWA, M.; YAMASAKI, T.; LAFERLA, F.M. Microglia as a potential bridge between the amyloid h-peptide and Tay. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n.1035, p.85–103, 2004.

KÖLLNER, T.G. **Molekulare Und Genetische Aspekte Der Biosynthese Von Komplexen Sesquiterpengemischen In Mais**. Dissertação. Jena, 2004.

KÖLLNER, T.G.; SCHNEE, C.; GERSHENZON, J.; DEGENHARDT, J. The sesquiterpene hydrocarbons of maize (*Zea mays*) form five groups with distinct developmental and organ-specific distributions. **Phytochemistry**, v.65, n.13, p.1895-1902, 2004.

LaFEVER, R.E.; CROTEAU, R. Hydride shifts in the biosynthesis of the *p*-menthane monoterpenes  $\alpha$ -terpinene,  $\gamma$ -terpinene, and  $\beta$ -phellandrene. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.301, n.2, p.361-366, 1993.

LANE, M.L.; POTKIN, S.G.; ENZ, A. Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v.9, p.1-24, 2005.

LANS, C. Comparison of plants used for skin and stomach problems in Trinidad and Tobago with Asian ethnomedicine. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.3, n.3, p.1-12.

LANG, G; PASSREITER, C.M.; MEDINILLA, B.; CASTILLO, J.-J.; WITTE, L. Non-toxic pyrrolizidine alkaloids from *Eupatorium semialatum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.29, p.143-147, 2001.

LEAL, T.C.A.B.; FREITAS, S.P.; SILVA, J.F.S.; CARVALHO, A.J.C. Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.). **Revista Ceres**, v.48, n.455, p.445-54, 2001.

LICHTENTHALER, H.K.; SCHWENDER, J.; DISCH, A.; ROHMER, M. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate independent pathway. **FEBS Letters**, v.400, p.271-274, 1997.

LIM, G.P.; CHU, T.; YANG, F.; BEECH, W.; FRAUTSCHY, S.A.; COLE, G.M. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. **The Journal of Neuroscience**, n.21, p.8370-8377, 2001.

LINDMARK-HENRIKSSON, M.; ISAKSSON, D.; VANĚK, T.; VALTEROVÁ, I.; HÖGBERG, H.-E.; SJÖDIN, K. Transformation of terpenes using a *Picea abies* suspension culture. **Journal of Biotechnology**, v.107, p.173-184, 2004.

LOPES N.P.; KATO M.J.; DE AGUIAR ANDRADE E.H.; SOARES MAIA J.G.; YOSHIDA M. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. **Phytochemistry**, v. 46, n.4, p.689-693, 1997.

LOPES, N.P.; KATO, M.J.; ANDRADE, E.H.; MAIA, J.G.; YOSHIDA, M.; PLANCHART, A.R.; KATZIN, A.M. Antimalarial use of volatile oil from leaves of *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. by Waiapi Amazon Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, n.67, v.3, p.313-319, 1999.

LORENZETTI, B.B.; SOUZA, G.E.; SARTI, S.J.; SANTOS FILHO, D.; FERREIRA, S.H. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. **Journal of Ethnopharmacology**, v.34, n.1, p.43-8, 1991.

LORENZO, D.; PAZ, D.; DAVIES, P.; VILLAMIL, J.; VILA, R.; CAÑIGUERAL, S.; DELLACASSA, E. Application of multidimensional gas chromatography to the enantioselective characterisation of the essential oil of *Eupatorium buniifolium* Hooker et Arnott. **Phytochemical Analysis**, v.16, n.1, p.39-44, 2005.

LU, S.; XU, R.; JIA, J.-W.; PANG, J.; MATSUDA, S.T.P.; CHEN, X.Y. Cloning and functional characterization of  $\alpha$ -Pinene Synthase from *Artemisia annua* that shows a circadian pattern of expression. **Plant Physiology**, v.130, p.477-486, 2002.

LÜCKER, J.; EI TAMER, M.K.; SCHWAB, W.; VERSTAPPEN, F.W. A.; van der PLAS, L.H.W.; BOUWMEESTER, H.J.; VERHOEVEN, H.A. Monoterpene biosynthesis in lemon (*Citrus limon*): cDNA isolation and functional analysis of four monoterpene synthases. **European Journal of Biochemistry**, v.269, p.3160-3171, 2002.

MAHMOUD, S.S.; CROTEAU, R.B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. **Trends Plant Sciences**, n.7, p.366-373, 2002.

MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; SILVA, J.D.S. Essential oils composition of *Eupatorium* species growing wild in the Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, p.1071–1077, 2002.

MARTINS, E.R.; CASALI, V.W.D.; BARBOSA, L.C.A.; CARAZZA, F. Essential oil in the taxonomy of *Ocimum selloi* Benth. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.8, n.1, p.29-32, 1997.

MARSTON, A.; KISSLING, J.; HOSTETTMANN, K. A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in plants. **Phytochemical Analysis**, v.13, p.51-54, 2002.

MATA, A.T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A.R.; SERRALHEIRO, M.L.M.; NOGUEIRA, J.M.F.; ARAÚJO, M.E.M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. **Food Chemistry**, v.103, n.3, p.778-786, 2007.

MATZENBACHER, N.I. **Estudo taxonômico do gênero *Eupatorium* L. (compositae) no Rio Grande do Sul – Brasil**. Dissertação. Porto Alegre, UFRGS, 310p, 1979.

McGARVEY, D.J.; CROTEAU, R. Terpenoid metabolism. **Plant Cell**, v.7, n.7, p.1015-26. 1995.

MEINERS, T.; HACKER, N.K.; ANDERSON, P.; HILKER, M. Response of the elm leaf beetle to host plants induced by oviposition and feeding: the infestation rate matters. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.115, p.171–177, 2005.

MIÑO, J.; MUSCHIETTI, L.; FERRARO, G.; MARTINO, V.; AZEVEDO, C. Antinociceptive activity of *Eupatorium buniifolium* aqueous extrcats. **Fitoterapia**, v.76, p.100-103, 2005.

MISRA, L.N.; JAKUPOVIC, J.; BOHLMANN, F.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Isodaucane derivatives, norsesquiterpenes and clerodanes from *Chromolaena laevigata*. **Tetrahedron**, v.41, n.22, p.5353-5356, 1985.

MIYAZAWA, M.; WATANABE, H.; KAMEOKA, H. Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Monoterpenoids with a *p*-Menthane Skeleton. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, n.3, p.677-679, 1997.

MIYAZAWA, M.; WATANABE, H.; UMEMOTO, K.; KAMEOKA, H. Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Essential Oils of *Mentha* Species. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.46, n.9, p.3431-3434, 1998.

MIYAZAWA, M.; YAMAFUJI, C. Inhibition of acetylcholinesterase activity by tea tree oil and constituent terpenoids. **Flavour and Fragrance Journal**, v.20, n.6, p.617-620, 2005.

MÖLLEKEN, U.; SINNWELL, V.; KUBECZKA K.-H. The Essential Oil Composition of Fruits from *Smyrniium perfolia* Tum. **Phytochemistry**, v.47, n.6, p.1079-1083, 1998.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarín Journal of Science and Technology**, v.26, n.2, p.211-219, 2004.

MONGELLI, E.; MARTINO, V.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Screening of Argentine medicinal plants using the brine shrimp microwell cytotoxicity assay. **Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)**, v.34, n.4, p.249-254(6), 1996.

MONGELLI, E.; PAMPURO, S.; COUSSIO, J.; SALOMON, H.; CICCIA, G. Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plants used in Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.145–151, 2000.

MONKS, N.R.; FERRAZ, A.; BORDIGNON, S.; MACHADO, K.R.; LIMA, M.F.S.; ROCHA, A.B.; SCHWARTSMANN, G. In vitro cytotoxicity of extracts from Brazilian Asteraceae. **Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)**, v.40, n.7, p.494-500(7), 2002.

MUSCHIETTI, L.; DERITA, M.; SULSEN, V.; De DIOS MUNOZ, J.; FERRARO, G.; ZACCHINO, S.; MARTINO, V. In vitro antifungal assay of traditional Argentine medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.102, n.2, p.233-8, 2005.

MUSCHIETTI, L.; GORZALCZANY, S.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C.; MARTINO, V. Phenolic compounds with anti-inflammatory activity from *Eupatorium buniifolium*. **Planta Medica**, v.67, n.8, p.743-744, 2001.

NAGAMITI, K. **Contribuição ao estudo químico e ensaios biológicos de três espécies nativas de Asteraceae**. São Carlos: UFSCar, 1987. 114 p. Mestrado-UFSCar.

NASCIMENTO, J.C.; LANGENHEIM, J.H. Leaf sesquiterpenes and phenolics in *Copaifera multijuga* on contrasting soil types in a central amazonia rain forest. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.14, n.6, p.615-624, 1986.

NAVARRO GARCÍA, V.M.; GONZALEZ, A.; FUENTES, M.; AVILES, M.; RIOS, M.Y.; ZEPEDA, G.; ROJAS, M.G. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.87, p.85–88, 2003.

NJOROGE, S.M.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Changes of the volatile profile and Artifact Formation in Daidai (*Citrus aurantium*) Cold-Pressed Peel Oil on storage. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, n.14, p.4029-4035, 2003.

NORIN, T. Chiral chemodiversity and its role for biological activity. Some observations from studies on insect /insect and insect /plant relationships. **Pure and Applied Chemistry**, v.68, n.11, p.2043-2049, 1996.

OLIVEIRA, A.B.; CARAZZA, F.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S. The essential oil of *Eupatorium laevigatum*. **Journal of Essential Oil Research**, v.2, p.49–50, 1990.

OLIVEIRA, D.C.R.; TALEB, S.H.; LOPES, J.L.C. Constituents of *Grazielia gaudichaudiana* (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.27, p.547-549, 1999.

ORHAN, I.; KARTAL, M.; NAZ, Q.; EJAZ, A.; YILMAZ, G.; KAN, Y.; KONUKLUGIL, B.; ŞENER B.; CHOUDHARY, M.I. Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. **Food Chemistry**, v.103, n.4, p.1247-1254, 2004.

REDDY, P.H.; BEAL, M.F., Are mitochondria critical in the pathogenesis of Alzheimer's disease? **Brain Research Reviews**, v.49, p.618-632, 2005.

De CARVALHO J.R.; RODRIGUES P.M.; SAWAYA, R.F.O.; MARQUES, A.C.H.F.; SHIMIZU, M.O.M. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D.C. **Journal of Ethnopharmacology**, v.95, p.297-301, 2004.

PABÓN, A.; SAEZ, J.; BLAIR, T.S. *Grupo Malaria, Universidad de Antioquia, Colombia*. Plantas colombianas con actividad antimalárica. XIII CONGRESO ITALO-LATINO AMERICANO DI ETNOMEDICINA "Paolo Ceccherelli" Roma 21 Settembre 2004 Salerno 22 – 25 Settembre 2004.

PALUCH, M.; CASAGRANDE, M.M.; MIELKE, O.H.H. Male sleeping aggregation behavior of *Actinote surima surima* (Schaus) (Lepidoptera, Heliconiinae, Acraeini). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.22, n.2, p.410-418, 2005.

PAOLINI, J.; COSTA, J; BERNARDINI, A.F. Analysis of the essential oil from aerial parts of *Eupatorium cannabinum* subsp. corsicum (L.) by gas chromatography with electron impact and chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1076, p.170–178, 2005.



PASSOS, G.F.; FERNANDES, E.S.; DA CUNHA, F.M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L.F.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, n.110, p.323–333, 2007.

PAULO FILHO, W; RIBEIRO, J.E.G.; PINTO, D.S. Safety and efficacy of *Eupatorium laevigatum* paste as therapy for buccal aphthae: Randomized, double-blind comparison with triamcinolone 0.1% orabase. **Advances in Therapy**, v.17, n.6, p.272-281, 2000.

PAYÁ, M.; SILLA, M.; VAYÁ, E.; ALCARAZ, M.J.; COUSSIO, J.; FERRARO, G.; MARTINO, V.; HNATYSZYN, O.; DEBENEDETTI, S.; BROUSSALIS, A.; MUSCHIETTI, L. Inhibitory effects of various extracts of Argentine plant species on free-radical-mediated reactions and human neutrophil functions. **Phytotherapy Research**, v.10, n.3, p.228-232, 1996.

PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J. Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. **New Phytologist**, v.155, n.2, p.227, 2002.

PEÑUELAS, J.; MUNNÉ-BOSCH, S. Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection. **Trends Plant Sciences**, v.10, n.4, p.166-9, 2005.

PHAN, T.T.; HUGHES, M.A.; CHERRY, G.W. Effects of an aqueous extract from the leaves of *Chromolaena odorata* (Eupolin) on the proliferation of human keratinocytes and on their migration in an in vitro model of reepithelialization. **Wound Repair and Regeneration**, v.9, n.4, p.305-313(9), 2001.

PHAN, T.T.; HUGHES, M.A.; CHERRY, G.W. Enhanced proliferation of fibroblasts and endothelial cells treated with an extract of the leaves of *Chromolaena odorata* (Eupolin), an herbal remedy for treating wounds. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v.101, n.3, p.756-765, 1998.

PIO-CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional.1984.

POULOSE, A.J.; CROTEAU, R. Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of  $\gamma$ -terpinene to *p*-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.187, n.2, p.307-314, 1978a.

POULOSE, A.J.; CROTEAU, R.  $\gamma$ -Terpinene synthase: a key enzyme in the biosynthesis of aromatic monoterpenes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.191, n.1, p.400-411, 1978b.

JONES, C.G.; GHISALBERTI, E.L.; PLUMMER, J.A.; BARBOUR, E.L. Quantitative co-occurrence of sesquiterpenes; a tool for elucidating their biosynthesis in Indian sandalwood, *Santalum album*. **Phytochemistry**, v.67, p.2463–2468, 2006.

QUINTANA, A.; REINHARD, J.; FAURE, R.; UVA, P.; BAGNÈRES, A.-G.; MASSIOT, G.; CLÉMENT, J. L. Interspecific variation in terpenoid composition of defensive secretions of european *Reticulitermes termites*. **Journal of Chemical Ecology**, v.29, n.3, p.639-652, 2003.

RIOS, M.Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A.B., NAVARRO, V. Two new benzofuranes from *Eupatorium aschenbornianum* and their antimicrobial activity. **Planta Medica**, v.69, p.967-970, 2003.

RO, D-K, EHLTING, J.; KEELING, C.I.; LIN, R.; MATTHEUS, N., BOHLMANN, J. Microarray expression profiling and functional characterization of AtTPS genes: Duplicated *Arabidopsis thaliana* sesquiterpene synthase genes At4g13280 and At4g13300 encode root-specific and wound-inducible (Z)- $\gamma$ -bisabolene synthases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.448 p.104–116, 2006.

ROSAS-ROMERO, A.; MANCHADO, C.M.; CRESCENTE, O.; ACOSTA, M.; CURINI, M.; EPIFANO, F.; MARCOTULIO, M.C.; ROSATI, O.; TUBARO, A.; SOSA, S. Anti-inflammatory sesquiterpene lactones from *Lourteigia ballotaefolia*. **Phytomedicine**, v.68, n.9, p.843-845, 2002.

RØSTELIEN, T.; BORG-KARLSON, A.-K.; FÄLDT, J.; JACOBSSON, U.; MUSTAPARTA, H. The plant sesquiterpene germacrene D specifically activates a major type of antennal receptor neuron of the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*. **Chemical Senses**, v.25, n.2, p.141-148, 2000.

ROZENBLUM, E.; MALDONADO, S.; WAISMAN, C.E. Apomixis in *Eupatorium tanacetifolium* (Compositae). **American Journal of Botany**, v.75, n.3, p. 311-322, 1988.

RUBERTO, G.; BARATTA, M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, v.69, p.167-174, 2000.

RÜCKER, G.; HEIDEN, K.; SCHENKEL, E. S. Antitumor-active lactones from *Kaunia rufescens* and *Eupatorium cannabinum*. **Journal of Indian Institute Science**, v.81, p.333–334, 2001.

RÜCKER, G.; SCHENCKEL E.P.; MAYER, R.; HEIDEN, K.; HEINZMANN, B.M. Sesquiterpene peroxides from *Senecio selloi* and *Eupatorium rufescens*. **Planta Medica**, v.62 p.565-566, 1996.

RÜCKER, G.; SCHENKEL, E.P.; MANNS, D.; MAYER, R.; HAUSEN, B.M.; HEIDEN, K. Allergenic sesquiterpene lactones from *Eupatorium cannabinum* L. and *Kaunia rufescens* (Lund ex de Candolle). **Natural Toxins**, v.5, n.6, p.223-227, 1997.

RUFFINENGO, S.; EGUARAS, M.; FLORIS, I.; FAVERIN, C.; BAILAC, P.; PONZI, M. LD<sub>50</sub> and repellent effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor*. **Journal of Economic Entomology**, v.98, n.3, p.651-655, 2005.

RUIZ del CASTILLO, M.L.; BLANCH, G.P.; HERRAIZ, M. Natural variability of the enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita*. **Journal of Chromatography A**, v.1054, n.1-2, p.87-93, 2004.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v.91, 621-632, 2005.

SAFAYHI, H.; SABIJERAJ, J.; SAILER, E.R.; AMMON, H.P. Chamazulene: an antioxidant-type inhibitor of leukotriene B<sub>4</sub> formation. **Planta Medica**, v.60, n.5, p.410-3, 1994.

SALIDO, S.; ALTAREJOS, J.; NOGUERAS, M.; SÁNCHEZ, A.; LUQUE, P. Chemical composition and seasonal variations of spike lavender oil from Southern Spain. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, n.3, p.206-210, 2004.

SANDRA, P.; BICCHI, C. **Capillary gas chromatography in essential oil analysis**. Huethig: Heidelberg; Basel; New York, p.19, 1987.

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.

SASIKUMAR, J.M.; DOSS, A.P.A.; DOSS, A. Antibacterial activity of *Eupatorium glandulosum* leaves. **Fitoterapia**, v.76, p.240-243, 2005.

SAVAGE, T.J.; CROTEAU, R. Biosynthesis of monoterpenes: regio- and stereochemistry of (+)-3-carene biosynthesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.305, n.2, p. 581-587, 1993.

SAVELEV, S.; OKELLO, E.; PERRY, N.S.L.; WILKINS, R.M.; PERRY, E.K. Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.73, p.661-668, 2003.

- SCHIESTL, F. P.; AYASSE, M. Do changes in floral odor cause speciation in sexually deceptive orchids? **Plant Systematics and Evolution**, v.234, n.1-4; p.11-119, 2002.
- SCHWAB, W.; WILLIAMS, D.C.; CROTEAU, R. Mechanism of monoterpene cyclization: stereochemistry of the transformation of noncyclizable substrate analogs by recombinant (-)-limonene synthase, (+)-bornyl diphosphate synthase, and (-)-pinene synthase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.19–20, p.415–421, 2002.
- SCHWENDER, J.; ZEIDLER, J.; GROËNER, R; MÜLLER, C.; BRAUN, M.S; LICHTENTHALER, F.W.; LICHTENTHALER, H.K. Incorporation of 1-deoxy-D-xylulose into isoprene and phytol by higher plants and algae. **FEBS Letters**, v.414, 129-134, 1997.
- SEAWRIGHT, A.A.; OELRICHS, P.B.; NG, J.C.; NOLAN, C.C.; JUKES R.; DAVIS A. GSH-dependent biliary tract toxicity in the mouse caused by 9-oxo-10,11-dehydroageraphorone (euptox). **Toxicology Letters**, v.95, n.1, p.162, 1998.
- SHARMA, O.P.; DAWRA, R.K.; KURADE, N.P.; SHARMA, P.D. A review of the toxicosis and biological properties of the genus *Eupatorium*. **Natural Toxins**, v. 6, n.1, p.1-14, 1998.
- SHEN, Y.-C.; LO, K.-L.; KUO, Y.H.; KHALIL, A.T. Cytotoxic sesquiterpene lactones from *Eupatorium kiirunense*, a Coastal Plant of Taiwan. **Journal of Natural Products**, v.68, p.745-750, 2005.
- SIDDIQUI, M.F.; LEVEY, A.I. Cholinergic therapies in Alzheimer's disease. **Drugs of the Future**, v.24, n.2, p.417, 1999.
- SILVA-BRANDÃO, K.L.; SOLFERINI, V.N; TRIGO, J.R. Chemical and phylogenetic relationships among *Aristolochia* L. (Aristolochiaceae) from southeastern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, n.34, p.291-302, 2006.
- SINGH-SANGWAN, B.N.; FAROOQIF, A.H.A.; SANGWAN, R.S. Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. **New Phytologist**, v.128, p.173-179, 1994.
- STEELE, C.L.; CROCK, J.; BOHLMANN, J. ; CROTEAU, R. Sesquiterpene synthases from Grand Fir (*Abies grandis*). Comparison of constitutive and wound-induced activities, and cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of  $\delta$ -selinene synthase and gamma-humulene synthase. **Journal of Biological Chemistry**, v.273, n.4, p.2078-2089, 1998.

STEVENS, J.F.; ELEMA, E.T.; WOLLENWEBER, E. Exude flavonoids of *Eupatorium cannabinum*. **Biochemistry Systematics and Ecology**, v.23, n.4, p.451-452, 1995.

STRANDEN, M.; BORG-KARLSON, A.-K.; MUSTAPARTA, H. Receptor neuron discrimination of the germacrene D enantiomers in the Moth *Helicoverpa armigera*. **Chemical Senses**, v.27, n.2, p.143-152, 2002.

STRANDEN, M.; LIBLIKAS, I.; KÖNIG, W.A.; ALMAAS, T. J.; BORG-KARLSON, A.-K.; MUSTAPARTA, H. (-)-Germacrene D receptor neurones in three species of *heliiothine* moths: structure-activity relationships. **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v.189, n.7, 2003.

SUKSAMRARN, A.; CHOTIPONG, A.; SUAVANSRI, T.; BOONGIRD, S.; TIMSULKSAI, P.; VIMUTTILPONG, S.; CHUAYNUGUL, A. Antimycobacterial activity and cytotoxicity of flavonoids from the flowers of *Chromolaena odorata*. **Archives of Pharmacal Research**, v.27, n.5, p.507-511, 2004.

SÜLSEN, V.; GÜIDA, C.; COUSSIO, J.; PAVETO, C.; MUSCHIETTI, L.; MARTINO, V. *In vitro* evaluation of trypanocidal activity in plants used in Argentine traditional medicine. **Parasitology Research**, v.98, n.4, p 370-374, 2006.

TAIWO, O.B.; OLAJIDE, O.A.; SOYANNWO, O.O.; MAKINDE, J.M. Anti-inflammatory, antipyretic and antispasmodic properties of *Chromolaena odorata*. **Pharmaceutical Biology**, v.38, n.5, p.367-370, 2000.

TALAPATRA, S.K.; BHAR, D.S.; CHAKRABORTI, R.; TALAPATRA, B. Eupacannol, a pentacyclic triterpene of a new skeletal type, and other chemical constituents from *Eupatorium cannabinum*. **Journal of the Indian Chemical Society**, v.80, n.12, p.1209-1216, 2003.

TALEB, S.H.; DE OLIVEIRA, D.C.R.; LOPES, J.L.C. Constituents of *Grazielia gaudichaudiana* (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.27, n.5, p. 547-549(3), 1999.

TALEB-CONTINI, S. H., SALVADOR, M. J., WATANABE, E., ITO, I. Y., OLIVEIRA, D. C. R. de. Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.4, p.403-408, 2003.

TALEB-CONTINI, S.H.; SALVADOR, M.J.; BALANCO, J.M.F.; ALBUQUERQUE, S.; DE OLIVEIRA, D.C.R. Antiprotozoal effect of crude extracts and flavonoids isolated from *Chromolaena hirsuta* (Asteraceae). **Phytotherapy Research**, v.18, n.3, p.250–254, 2004.

TALEB-CONTINI, S.H.; KANASHIRO, A.; KABEYA, L.M.; POLIZELLO, A.C.M.; LUCISANO-VALIM, Y.M.; OLIVEIRA, D.C.R. Immunomodulatory effects of methoxylated flavonoids from two *Chromolaena* species: structure-activity relationships. **Phytotherapy Research**, v.20, n.7, p.573 – 575, 2006.

TEPE, B.; SIHOGLU-TEPE, A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Clinopodium vulgare* L. **Food Chemistry**, v.103, p.766–770, 2007.

TEPE, B.; SOKMEN, M.; SOKMEN, A.; DAFERERA, D.; POLISSIOU, M. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. **Journal of Food Engeneering**, v.69, p335-342, 2005.

THANG, P.T.; PATRICK, S.; TEIK, L.S; YUNG, C.S. Anti-oxidant effects of the extracts from the leaves of *Chromolaena odorata* on human dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes against hydrogen peroxide and hypoxanthine–xanthine oxidase induced damage. **Burns**, v.27, p.319–327, 2001.

THOLL, D.; CHEN, F.; PETRI, J.; GERSHENZON, J.; PICHERSKY, E. Two sesquiterpene synthases are responsible for the complex mixture of sesquiterpenes emitted from *Arabidopsis* flowers. **The Plant Journal**, n.42, p.757–771, 2005.

TOMAINO, A.; CIMINO, F.; ZIMBALATTI, V.; VENUTI, V.; SULFARO, V.; DE PASQUALE, A.; SAIJA, A. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, n.89, p.549–554, 2005.

TORI, M.; OHARA, Y.; NAKASHIMA, K.; SONO, M. Thymol Derivatives from *Eupatorium fortunei*. **Journal of Natural Products**, v.64, p.1048-1051, 2001.

TORI, M.; TAKEICHI, Y.; KUGA, H.; NAKASHIMA, K.; SONO, M. Seven Germacranolides, Eupaglehnins A, B, C, D, E, and F, and 2a-Acetoxyepitulipinolide from *Eupatorium glehni*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.50, n.9, p.1250-1254, 2002.

TOYOTA, M.; KOYAMA, H.; MIZLJTANI M.; ASAKAWA, Y. (-)-ent-Spathulenol isolated from liverworts is an artefact. **Phytochemistry**, v.41.n.5, p.1347-1350, 1996.

UMLAUF, D.; ZAPP, J.; BECKER, H.; ADAM, K.P. Biosynthesis of the irregular monoterpene artemisia ketone, the sesquiterpene germacrene D and other isoprenoids in *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae). **Phytochemistry**, v.65, n.17, p.2463-70, 2004.

URZUA, A.; CAROLI, M.; VASQUEZ, L.; MENDOZA, L.; WILKENS, M.; TOJO, E. Antimicrobial study of the resinous exudate and of diterpenoids isolated from *Eupatorium salvia* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.62, p.251–254, 1998.

VARMA, V.; RAO, P.G.; ZUTSCHI, U; SOBTI, S.N. An understanding of the factors influencing citral biosynthesis in *Cymbopogon khasianus*. **Indian Drugs**, v.23, p.291–293, 1985.

VAZ, A.P.A.; SCARANARI, C.; BATISTA, L.A.R; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; De MAGALHÃES, P.M. Biomassa e composição química de genótipos melhorados de espécies medicinais cultivadas em quatro municípios paulistas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.5, p.869-872, 2006.

VOIRIN, B.; NAIR, A.G.; GUNASEGARAN, R.; KRISHNAN, S.; BAYET, C. Flavonol glycosides from leaves of *Eupatorium glandulosum*. **Phytochemistry**, v.40, n.1, p.283-285, 1995.

WANG, Z.H.; CHRISTIE, P.; CHEN, Q.B.; LIU, X.X.; XIE, L.L.; BAI, C.J.; LI, X.L. Allelopathic potential and chemical constituents of volatile oil from *Praxelis clematidea*. **Allelopathy Journal**, v.18, n.2, p.225-236, 2006.

WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL, H.; SEELMANN, I.; KAUL, V.K. Constituents of the flower essential oil of *Ageratina adenophora* (Spreng.) K. et R. from India. **Flavour and Fragrance Journal**, v.12, n.6, p.387-396, 1997.

WUNSCH, D.; NUNES, J.S.; SCHOSSLER, P.; LAZZARETTI, L.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S.; CARAMÃO, E.B.; ZINI, C.A. Caracterização do óleo volátil de *Eupatorium laevigatum* e investigação de sua atividade antioxidante. In: III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, 2005, Campinas. Documentos, IAC, v.77, p.66-66, 2005.

[wwf.org.au/publications](http://wwf.org.au/publications) acessado em 27 de agosto de 2007.

YU, L.L.; ZHOU, K.K.; PARRY, J. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. **Food Chemistry**, v.91, p.723–729, 2005.

YUE, J.M.; HUO, J.; WANG, Y.; LOU, L.G.; YANG, S.P. Cytotoxic sesquiterpenoids from *Eupatorium chinense*. **Journal of Natural Products**, v.67, p.638-643, 2004.

ZANON, S.M.; CERIATTI, F.S.; ROVERA, M.; SABINI, L.J.; RAMOS, B.A.; Search for antiviral activity of certain medicinal plants from Cordoba, Argentina. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v.41, n.2, p.59-62, 1999.

ZYGADLO, J.A.; MAESTRI, D.M.; GUZMÁN, C.A. Comparative study of the essential oils from three species of *Eupatorium*. **Flavour and Frangrance Journal**, v.11, n.3, p.153-155, 1996.







**Anexo 1. Nomes de famílias botânicas citadas no decorrer do trabalho.**

<b>Famílias</b>	<b>Sinonímia</b>
Amaryllidaceae J.St.-Hil.	
Apiaceae Lindl.	Umbelliferae Juss.
Asteraceae Bercht. & J.Presl	Compositae Giseke
Cistaceae Juss.	
Fabaceae Lindl.	Leguminosae Juss.
Fumariaceae Marquis	
Ginkgoaceae Engl.	
Lamiaceae Martinov	Labiatae Adans.
Lauraceae Juss.	
Lycopodiaceae P.Beauv. ex Mirb.	
Malvaceae Juss.	
Myrtaceae Juss.	
Pinaceae Spreng. ex Rudolphi	
Poaceae Barnhart	Gramineae Juss.
Polygalaceae Hoffmanns. & Link	
Rosaceae Juss.	
Rutaceae Juss.	
Scrophulariaceae Juss.	
Solanaceae Juss.	
Zingiberaceae Martinov	

## Anexo 2. Nomes de gêneros botânicos citados no decorrer do trabalho

Gêneros	Família
<i>Lycoris</i> Herb.	Amaryllidaceae
<i>Centella</i> L.	Apiaceae
<i>Petroselinum</i> Hill	Apiaceae
<i>Foeniculum</i> Mill.	Apiaceae
<i>Acanthostyles</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Austroeupatorium</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Barrosoa</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Campovassouria</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Campuloclinium</i> DC.	Asteraceae
<i>Chromolaena</i> DC.	Asteraceae
<i>Conoclinium</i> DC.	Asteraceae
<i>Disynaphia</i> Hook. & Arn. ex DC.	Asteraceae
<i>Eupatorium</i> L.	Asteraceae
<i>Grazielia</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Hatschbachiella</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Heterocondylus</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Kaunia</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Koanophyllon</i> Arruda	Asteraceae
<i>Malmeanthus</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Macropodina</i> R.M. King & H. Rob.	Asteraceae
<i>Neocabreria</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Raulinoreitzia</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Stomatanthes</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Symphypappus</i> Turcz.	Asteraceae
<i>Urolepis</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Vittetia</i> R.M.King & H.Rob.	Asteraceae
<i>Achillea</i> L.	Asteraceae
<i>Porophyllum</i> Guett.	Asteraceae
<i>Artemisia</i> L.	Asteraceae
<i>Osmia</i> Sch.Bip.	Asteraceae
<i>Adenostemma</i> J.R.Forst. & G.Forst.	Asteraceae
<i>Mikania</i> Willd.	Asteraceae
<i>Stevia</i> Cav.	Asteraceae
<i>Kaminia</i> Gardner	Asteraceae
<i>Ageratum</i> L.	Asteraceae
<i>Cordia</i> L.	Boraginaceae
<i>Cistus</i> L.	Cistaceae
<i>Crotalaria</i> L.	Fabaceae
<i>Clitoria</i> L.	Fabaceae
<i>Copaifera</i> L.	Fabaceae

<b>Gêneros</b>	<b>Família</b>
<i>Corydalis</i> DC.	Fumariaceae
<i>Ginkgo</i> L.	Ginkgoaceae
<i>Lavandula</i> L.	Lamiaceae
<i>Rosmarinus</i> L.	Lamiaceae
<i>Mentha</i> L.	Lamiaceae
<i>Ocimum</i> L.	Lamiaceae
<i>Melissa</i> L.	Lamiaceae
<i>Salvia</i> L.	Lamiaceae
<i>Thymus</i> L.	Lamiaceae
<i>Clinopodium</i> L.	Lamiaceae
<i>Huperzia</i> Bernh.	Lycopodiaceae
<i>Gossypium</i> L.	Malvaceae
<i>Eucalyptus</i> L'Hér.	Myrtaceae
<i>Abies</i> Mill.	Pinaceae
<i>Cymbopogon</i> Spreng.	Poaceae
<i>Melinis</i> P.Beauv.	Poaceae
<i>Polygala</i> L.	Polygalaceae
<i>Ruta</i> L.	Rutaceae
<i>Citrus</i> L.	Rutaceae
<i>Bacopa</i> Aubl.	Scrophulariaceae
<i>Nicotiana</i> L.	Solanaceae
<i>Curcuma</i> L.	Zingiberaceae

### Anexo 3. Nomes de espécies do gênero *Eupatorium* L. citadas no decorrer do trabalho.

Espécie	Sinonímia
<i>Eupatorium acuminatum</i> Kunth	<i>Critoniella acuminata</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium adenophorum</i> Spreng.	
<i>Eupatorium africanum</i> Oliv. & Hiern	<i>Stomatanthus africanus</i> (Oliv. & Hiern) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium albicaule</i> Sch.Bip. ex Klatt	<i>Koanophyllon albicaule</i> (Sch.Bip. ex Klatt) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium amygdalinum</i> Lam.	<i>Ayapana amygdalina</i> (Lam.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium angusticeps</i> Malme	<i>Chromolaena angusticeps</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium argentinum</i> Ariza	
<i>Eupatorium articulatum</i> Sch.Bip. ex Hieron.	<i>Ageratina articulata</i> (Sch.Bip. ex Hieron.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium ascendens</i> Sch.Bip. ex Baker	<i>Chromolaena ascendens</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium ascendens</i> Sch.Bip. ex Baker var. <i>parcisetosum</i> B.L.Rob.	
<i>Eupatorium axilliflorum</i> Griseb.	
<i>Eupatorium ballotifolium</i> Kunth	<i>Lourteigia ballotifolia</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium betoniciiforme</i> (DC.) Baker	<i>Barrosoa betoniciiformis</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium betoniciiforme</i> (DC.) Baker var. <i>betoniciforme</i>	
<i>Eupatorium betoniciiforme</i> (DC) Baker var. <i>hastatum</i> Baker	
<i>Eupatorium bishopii</i> (R.M.King & H.Rob.) B.L.Turner	<i>Cronquistianthus bishopii</i> R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium buniifolium</i> Hook. ex Arn.	<i>Acanthostyles buniifolius</i> (Hook. ex Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC.	<i>Campovassouria bupleurifolia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC. var. <i>bupleurifolium</i>	
<i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC. var. <i>asclepiadeum</i> (DC.) Baker	
<i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC. var. <i>linifolium</i> (DC.) Baker	
<i>Eupatorium bupleurifolium</i> DC. var. <i>microcephalum</i> Hieron.	

Espécie	Sinonímia
<i>Eupatorium calyculatum</i> Hook. & Arn.	<i>Disynaphia calyculata</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium candolleanum</i> Hook. & Arn.	<i>Barrosoa candolleana</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium cannabinum</i> L.	
<i>Eupatorium capillifolium</i> (Lam.) Small ex Porter & Britton	
<i>Eupatorium chachapoyense</i> (R.M.King & H.Rob.) B.L.Turner	<i>Cronquistianthus chachapoyensis</i> R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium chaparense</i> B.L.Rob.	<i>Austroeupatorium chaparense</i> (B.L.Rob.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium chilca</i> Kunth	<i>Ophryosporus chilca</i> (Kunth) Hieron.
<i>Eupatorium chinense</i> L.	
<i>Eupatorium clematideum</i> Griseb.	<i>Praxelis clematidea</i> (Griseb.) R.M.King & H.Rob. = <i>Eupatorium catarium</i> Veldkamp <i>Gyptis commersonii</i> Cass.
<i>Eupatorium commersonii</i> (Cass.) Hieron.	
<i>Eupatorium congestum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena congesta</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium congestum</i> Hook. & Arn. var. <i>hirsutum</i> (Hook. & Arn.) Cabrera	<i>Chromolaena hirsuta</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium consanguineum</i> DC.	<i>Koanophyllon consanguineum</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium conyzoides</i> Mill.	
<i>Eupatorium corumbense</i> B.L.Rob.	<i>Stomatantes corumbensis</i> (B.L.Rob.) H.Rob.
<i>Eupatorium ericoides</i> DC.	<i>Disynaphia ericoides</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium fistulosum</i> Barratt	<i>Eupatoriadelphus fistulosus</i> (Barratt) R.M.King & H.Rob. = <i>Eutrochium fistulosum</i> (Barratt) E.E.Lamont
<i>Eupatorium fortunei</i> Turcz.	
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	<i>Dimorpholepis gaudichaudeana</i> (DC.) R.M.King & H.Rob. = <i>Grazielia gaudichaudeana</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC. var. <i>gaudichaudianum</i>	
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC. var. <i>leucodon</i> (Sch.Bip.) Baker	
<i>Eupatorium glutinosum</i> Lam.	<i>Aristeguietia glutinosa</i> (Lam.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium grande</i> Sch.Bip. ex Baker	<i>Heterocondylus grandis</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium hecatanthum</i> (DC.) Baker	<i>Urolepis hecatantha</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.

Espécie	Sinonímia
<i>Eupatorium heptanthum</i> Sch.Bip. ex Wedd.	<i>Ophryosporus heptanthus</i> (Sch.Bip. ex Wedd.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium intermedium</i> DC.	<i>Dimorpholepis intermedia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium inulifolium</i> Kunth	= <i>Grazielia intermedia</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium ivifolium</i> L.	<i>Austroeupatorium inulifolium</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium kleinioides</i> Kunth	= <i>Austroeupatorium entrerriense</i> (Hieron.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium kuntzei</i> Hieron.	<i>Chromolaena ivifolia</i> (L.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium laetevirens</i> Hook. & Arn.	<i>Campuloclinium kleinioides</i> (Kunth) DC.
<i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.	= <i>Praxelis kleinioides</i> (Kunth) Sch.Bip.
<i>Eupatorium lancifolium</i> (Torr. & A.Gray) Small	<i>Austroeupatorium laetevirens</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium lanigerum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena laevigata</i> (Lam.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium ligulifolium</i> Hook. & Arn.	<i>Gyptis lanigera</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium macrocephalum</i> Less.	<i>Disynaphia ligulifolia</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium macrophyllum</i> L.	<i>Campuloclinium macrocephalum</i> (Less.) DC.
<i>Eupatorium margaritense</i> Hassl.	<i>Chromolaena margaritensis</i> (Hassl.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium marginatum</i> Poepp. & Endl.	<i>Fleischmannia marginata</i> (Poepp. & Endl.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium missionum</i> Malme	<i>Praxelis missiona</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium multicrenulatum</i> Sch.Bip. ex Baker	<i>Disynaphia multicrenulata</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium multifidum</i> DC.	<i>Dimorpholepis multifida</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium niederleinii</i> Hieron.	= <i>Grazielia multifida</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium nummularium</i> Hook. & Arn.	<i>Neocabreria malachophylla</i> (Klatt) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium oblongifolium</i> (Spreng.) Baker	<i>Dimorpholepis nummularia</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium oblongifolium</i> (Spreng.) Baker var. <i>elongatum</i> (Hook. & Arn.) Baker	= <i>Grazielia nummularia</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium oblongifolium</i> (Spreng.) Baker var. <i>oblongifolium</i>	<i>Stomatantes oblongifolius</i> (Spreng.) H.Rob.



Espécie	Sinonímia
<i>Eupatorium oblongifolium</i> (Spreng.) Baker var. <i>oxyodontum</i> B.L.Rob.	
<i>Eupatorium odoratum</i> L.	<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium orbiculatum</i> DC.	<i>Vittetia orbiculata</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium patens</i> D.Don ex Hook. & Arn.	<i>Austrobrickellia patens</i> (D.Don ex Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium pauciflorum</i> Kunth	<i>Praxelis pauciflora</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium pedunculatum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena pedunculosa</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob. = <i>Chromolaena foliata</i> (Hieron.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium perfoliatum</i> L.	
<i>Eupatorium picturatum</i> Malme	<i>Austroeupatorium picturatum</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium piquerioides</i> DC.	
<i>Eupatorium polystachyum</i> DC.	<i>Raulinoreitzia crenulata</i> (Spreng.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium purpurascens</i> Sch.Bip. ex Baker	<i>Campuloclinium purpurascens</i> (Sch.Bip. ex Baker) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium purpureum</i> L.	<i>Eupatoriadelphus purpureus</i> (L.) R.M.King & H.Rob. = <i>Eutrochium purpureum</i> (L.) E.E.Lamont
<i>Eupatorium rimbachii</i> B.L.Rob.	<i>Grosvenoria rimbachii</i> (B.L.Rob.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium riparium</i> Regel	<i>Ageratina riparia</i> (Regel) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium rufescens</i> P.W.Lund ex DC.	<i>Kaunia rufescens</i> (P.W.Lund ex DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium semialatum</i> Benth.	
<i>Eupatorium serratum</i> Spreng.	<i>Dimorpholepis serrata</i> (Spreng.) R.M.King & H.Rob. = <i>Grazielia serrata</i> (Spreng.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium serrulatum</i> DC.	<i>Neocabreria serrulata</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium spathulatum</i> Hook. & Arn.	<i>Disynaphia spathulata</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium squalidum</i> DC.	<i>Chromolaena squalida</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium squarulosum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena squarulosa</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium subglabratum</i> (Hieron.) Cabrera & Vittet	<i>Eupatorium kleinioides</i> Kunth var. <i>subglabratum</i> Hieron.
<i>Eupatorium subhastatum</i> Hook. & Arn.	<i>Chromolaena hirsuta</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium subintegerrimum</i> Malme	<i>Malmeanthus subintegerrimus</i> (Malme) R.M.King & H.Rob.

Espécie	Sinonímia
<i>Eupatorium tanacetifolium</i> Gillies ex Hook. & Arn.	<i>Gyptis pinnatifida</i> Cass.
<i>Eupatorium tanacetifolium</i> Gillies ex Hook. & Arn forma <i>albiflorum</i>	
<i>Eupatorium toppingianum</i> Elmer	
<i>Eupatorium tremulum</i> Hook. & Arn.	<i>Raulinoreitzia tremula</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium triplinerve</i> Vahl	<i>Ayapana triplinervis</i> (Vahl) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium tubaraoense</i> Hieron.	<i>Campuloclinium tubaraoense</i> (Hieron.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium tweedieanum</i> Hook. & Arn.	<i>Hatschbachiella tweedieana</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium ulei</i> Hieron.	= <i>Austroeupatorium tweedieanum</i> (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium umbelliforme</i> Dusén	<i>Chromolaena ulei</i> (Hieron.) R.M.King & H.Rob.
<i>Eupatorium verbenaceum</i> DC.	<i>Chromolaena umbelliformis</i> (Dusén) R.M.King & H.Rob.
<i>Symphypappus casarettoi</i> B.L.Rob.	<i>Chromolaena verbenacea</i> (DC.) R.M.King & H.Rob.
<i>Symphypappus compressus</i> (Gardner) B.L.Rob.	<i>Eupatorium casarettoi</i> (B.L.Rob.) Steyerm.
<i>Symphypappus lymansmithii</i> B.L.Rob.	<i>Eupatorium compressum</i> Gardner
<i>Symphypappus reticulatus</i> Baker var. <i>vernicosus</i> (Sch.Bip.) Baker	= <i>Symphypappus polystachyus</i> Baker
	<i>Eupatorium lymansmithii</i> (B.L.Rob.) Steyerm.
	<i>Eupatorium reitzii</i> Cabrera
	= <i>Symphypappus reitzii</i> (Cabrera) R.M.King & H.Rob.

**Anexo 4. Artigo publicado na Revista Brasileira de Farmacognosia (Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.17, n.3, p.368-372, 2007).**

SOUZA, T.J.T.; APEL, M.A.; BORDIGNON, S.; MATZENBACHER, N.I.; ZUANAZZI, J.A.; HENRIQUES, A.T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. ***Brazilian Journal of Pharmacognosy***, v.17, n.3, p.368-372, 2007.





## Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC.

Tiago J. T. Souza<sup>1</sup>, Miriam A. Apel<sup>1</sup>, Sérgio Bordignon<sup>2</sup>, Nelson Ivo Matzenbacher<sup>3</sup>, José Ângelo S. Zuanazzi<sup>1</sup>, Amélia T. Henriques<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil,

<sup>2</sup>Curso de Ciências Biológicas, Centro Universitário La Salle, Av. Victor Barreto 2288, 92010-000, Canoas, RS, Brasil,

<sup>3</sup>Departamento de Biologia, Faculdade de Biociências, PUCRS, Av. Ipiranga 6681, 90619-900, Porto Alegre, RS, Brasil

**RESUMO:** Os óleos voláteis das folhas e inflorescências de *Eupatorium polystachyum* DC. (Asteraceae), coletado no Rio Grande do Sul, Brasil, foram caracterizados por CG-EM e sua atividade antioxidante foi avaliada utilizando-se o método de DPPH. Foram obtidos rendimentos de 1,6 e 0,9% de óleo em relação às folhas e inflorescências frescas, sendo identificados 34 compostos, correspondendo a 99,1 e 99,5% do óleo volátil, respectivamente. Os óleos apresentaram exclusivamente compostos terpênicos, sendo que as folhas contêm grande quantidade de monoterpenos (66,4%) enquanto que as inflorescências apresentaram quantidades equivalentes de mono e sesquiterpenos (51,8 e 47,7%, respectivamente). As amostras apresentaram-se qualitativamente muito semelhantes sendo constituídas majoritariamente por:  $\beta$ -pineno (14,7 e 9,8%),  $\beta$ -mirceno (15,3 e 10,8%) e limoneno (22,8 e 20,5%) entre os monoterpenos e  $\beta$ -cariofileno (10,4 e 15,4%), germacreno D (7,2 e 9,4%) e biciclogermacreno (12,0 e 19,2%) entre os sesquiterpenos. As diferenças entre as amostras foram basicamente quantitativas. Os óleos apresentaram atividade antioxidante pelo ensaio com DPPH por bioautografia na diluição de 1:10 em éter etílico (v/v).

**Unitermos:** *Eupatorium polystachyum*, óleos voláteis, atividade antioxidante, DPPH.

**ABSTRACT:** "Chemical composition and antioxidant activity of the volatile oil from *Eupatorium polystachyum* DC". The essential oil obtained from leaves and flowers of *Eupatorium polystachyum* DC. (Asteraceae) collected in Rio Grande do Sul State, Brazil, was characterized by GC-MS and its antioxidant activity was assessed by DPPH assay. The yield of essential oil, relative to fresh material, was 1.6 and 0.9% for leaves and flowers, respectively. Both oils are constituted exclusively by terpenic compounds. Leaf oil contains great quantity of monoterpenes (66.4%); on the other hand, inflorescence oil contains comparable quantities of mono- and sesquiterpenes (51.8 and 47.7%, respectively). The same compounds are majority in both oils:  $\beta$ -pinene (14.7 and 9.8%),  $\beta$ -myrcene (15.3 and 10.8%) and limonene (22.8 and 20.5%) among monoterpenes and  $\beta$ -caryophyllene (10.4 and 15.4%), germacrene D (7.2 and 9.4%) and bicyclogermacrene (12.0 and 19.2%) among sesquiterpenes. The oils had antioxidant activity by DPPH assay in 1:10 dilution in ethyl ether (v/v).

**Keywords:** *Eupatorium polystachyum*, essential oils, antioxidant activity, DPPH.

### INTRODUÇÃO

Os óleos voláteis de plantas são conhecidos e utilizados desde a Antiguidade por suas propriedades biológicas, especialmente antibacteriana, antifúngica e antioxidante (Deans; Waterman, 1993). Além disso, as evidências de que alguns compostos antioxidantes sintéticos largamente utilizados na indústria podem promover o desenvolvimento de células tumorais (Botterweck et al., 2000) tem levado a um aumento crescente na procura de similares naturais, dentre

estes os óleos voláteis constituídos por compostos terpênicos com importante atividade antioxidante (Candan et al., 2003; Sacchetti et al., 2005). Aliado a isso, o grande interesse das indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética na utilização de novos óleos voláteis e a receptividade dos consumidores para produtos de origem natural transformaram a avaliação sistemática desses produtos vegetais em uma ferramenta muito utilizada na busca de novos compostos com atividade antioxidante. Tais compostos são amplamente estudados por serem capazes de proteger os sistemas

biológicos, especialmente membranas lipídicas, dos danos produzidos pelo estresse oxidativo, considerado a principal causa do envelhecimento, das doenças degenerativas e do câncer (Cozzi et al., 1997).

Além dessas doenças, os processos inflamatórios também envolvem espécies reativas do oxigênio, originadas pela ativação de leucócitos durante a degranulação. Os óleos voláteis podem atenuar esses processos através da captura dos radicais hidroxila gerados (Graßmann et al., 2000). Sendo assim, um *screening* de atividade antioxidante também pode fornecer indicações importantes sobre o potencial antiinflamatório de um óleo volátil.

O gênero *Eupatorium* (Asteraceae) compreende aproximadamente 600 espécies, a maioria delas nativas da América do Sul, das quais mais de 250 são nativas do Brasil e 49 foram descritas no Rio Grande do Sul. A espécie *Eupatorium polystachyum* DC., seção *Subinbricata* (DC.) HOFFM., é um arbusto de 1-3 m de altura, ramoso, de flores brancas, cuja floração ocorre no período que vai de janeiro a maio. Essa espécie ocorre no Centro, Sul e Nordeste do Brasil, desde o Piauí até o Rio Grande do Sul, e em países vizinhos, como Peru, Bolívia, Paraguai e Nordeste da Argentina. *Baccharis crenulata* Spreng. e *Raulinoreitzia crenulata* (Spreng.) R.M. King & H. Rob. são considerados seus sinônimos botânicos (Matzenbacher, 1979).

Muitas espécies do gênero *Eupatorium* já foram avaliadas quanto aos seus componentes químicos voláteis e atividades biológicas, (Albuquerque et al., 2001; Albuquerque et al., 2004; Ding et al., 1994; Habtemariam; MacPherson, 2000; Mongelli et al., 1996; Mongelli et al., 2000; Paolini et al., 2005; Sharma et al., 1998; Souza et al., 2005; Souza et al., 2006; Tori et al., 2001). Os componentes majoritários dos óleos voláteis das espécies já estudadas são terpenos hidrocarbonados como  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, sabineno,  $\alpha$ -felandreno, germacreno D,  $\beta$ -cariofileno e biclogermacreno (Paolini et al., 2005; Maia et al., 2002); terpenos oxigenados como espatulenol e globulol (Maia et al., 2002), além de cromenos (Albuquerque et al., 2004), também são descritos para o gênero e são apontados como componentes majoritários em algumas espécies. Igualmente têm sido relatadas variações decorrentes da coleta em diferentes locais para algumas espécies.

Diversos ensaios foram desenvolvidos para *screening* de atividade antioxidante de extratos vegetais. Os mais utilizados são o ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etil-benzotiazolino-6-sulfônico)), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), redução do íon férrico (FRAP) e capacidade de absorção de radical oxigênio (ORAC) (Leon; Shui, 2002; Thaipong et al., 2006). Como alguns desses ensaios possuem mecanismos diferentes, sua resposta depende do tipo e da relação oxidante/antioxidante utilizados. O ensaio de descoloração do radical DPPH em que ocorre captura de e radicais

formação de DPPH-H é bastante robusto e independe da polaridade do extrato para exercer sua atividade, já tendo sido utilizado no *screening* de outras espécies de *Eupatorium* e no ensaio de atividade antioxidante de diversos óleos voláteis de utilização medicinal e alimentícia (Parejo et al., 2003; El-Massry et al., 2002).

Considerando a possibilidade de identificar substâncias com potente atividade biológica, o objetivo deste trabalho foi identificar a composição química do óleo volátil das folhas e das inflorescências de *E. polystachyum* DC., e avaliar o seu potencial antioxidante pelo ensaio de captura de radicais DPPH. Este estudo faz parte de uma investigação sistemática de espécies brasileiras do gênero *Eupatorium*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

O material vegetal foi coletado durante a floração da espécie *E. polystachyum* em São Francisco de Paula, região serrana do Rio Grande do Sul, Brasil, em abril de 2005. Uma exsiccata foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN) (Bordignon 3095).

### Extração do óleo volátil

Os óleos voláteis foram obtidos das folhas e inflorescências, separadamente, por hidrodestilação durante 4 horas, utilizando um aparelho tipo-Clevenger. O rendimento do óleo volátil foi calculado em função do volume de óleo obtido e do peso de material vegetal fresco. Para a análise, os óleos voláteis obtidos foram diluídos em éter etílico na razão de 2:100 (v/v).

### Análise do óleo volátil

A análise em CG foi realizada em um cromatógrafo Shimadzu GC17-A equipado com detector de ionização em chama (DIC), usando coluna capilar de sílica fundida DB-5 (25 m x 0,25 mm d.i., 0,25  $\mu$ M de espessura do filme). Foi utilizado Hélio como gás carreador, a um fluxo de 1,0 mL/min e pressão de 80 kPa. A temperatura do forno foi programada de 60° a 300° a 3 °C/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C e 250 °C, respectivamente. A razão de fluxo do injetor foi de 1:20. Nitrogênio, ar sintético e hidrogênio foram utilizados como gases auxiliares, na razão de 1:1:10, respectivamente. A composição percentual foi obtida por integração eletrônica pela técnica de normalização utilizando *software* CR10 (Shimadzu).

A análise por Cromatografia a Gás - Espectrometria de Massa (CG-EM) foi realizada em um sistema Shimadzu QP-5000-Quadrupole MS, operando com energia de ionização de 70 eV. Foi utilizada coluna

capilar de sílica fundida DB-5 (25 m x 0,25 mm d.i., 0,25 µM de espessura do filme); Hélio como gás carreador, fluxo de 1 mL/min com split. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C e 250 °C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada de 60 °C a 300 °C a 3 °C/min, e os espectros de massa foram obtidos de 30 a 400 *m/z*.

A identificação dos componentes dos óleos foi realizada por comparação de seus espectros de massa, bem como de seus índices de retenção (IR), calculados utilizando-se como padrões uma série homóloga de hidrocarbonetos C8 a C22, com dados da espectroscopia NIST (National Institute of Standards and Technology) ou com dados espectrais da literatura (Adams, 2001, Apel et al., 2005, 2006).

#### Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante de cada óleo volátil foi avaliada em cromatoplasmas de cromatografia em camada delgada, com gel de sílica, utilizando DPPH (2,2'-difenil-1-picrilhidrazila) como reagente. Foram preparadas três diluições do óleo em éter etílico, nas proporções de 1:10, 1:100 e 1:1000 (v/v). Como substância de referência foi utilizada a quercetina dissolvida em metanol (1 mg/mL). Foram aplicados 10 µL de cada diluição dos óleos e da substância de referência sobre a cromatoplasma. Após evaporação do solvente a placa foi nebulizada com a solução de DPPH. Após 30 min foi realizada a leitura da placa, em que halos brancos ou amarelados no ponto de aplicação, sobre o fundo violeta, são considerados positivos. O ensaio avaliou a capacidade do óleo de prevenir a oxidação do DPPH (Cavin et al., 1998).

#### RESULTADOS

Os óleos voláteis foram obtidos por hidrodestilação das folhas e inflorescências de *E. polystachyum* com rendimento de 1,6 e 1,9% em relação peso de material fresco utilizado, respectivamente. Pela análise em CG-EM foi possível identificar 34 componentes, correspondendo a 99,1 e 99,5% do óleo volátil. No óleo das folhas foi caracterizada grande quantidade de monoterpenos (66,4%) enquanto no óleo das inflorescências observaram-se quantidades equivalentes de mono e sesquiterpenos (51,8 e 47,7%).

Os mesmos compostos são majoritários em ambas as amostras (folhas e inflorescências, respectivamente): β-pineno (14,7 e 9,8%), β-mirceno (15,3 e 10,8%) e limoneno (22,8 e 20,5%) entre os monoterpenos e β-cariofileno (10,4 e 15,4%), germacreno D (7,2 e 9,4%) e biciclogermacreno (12,0 e 19,2%) entre os sesquiterpenos (Tabela 1). O ensaio de atividade antioxidante frente ao radical DPPH em placas cromatográficas de gel de sílica revelou atividade de captura de radicais livres na diluição de 1:10 (v/v).

#### DISCUSSÃO

Óleos voláteis são metabólitos vegetais secundários produzidos pelas plantas por outras necessidades que não a de nutrição, por exemplo, para a atração e repelência de insetos e ação alelopática. A sua produção está integrada à fisiologia de toda a planta, por isso sua composição e quantidade dependem das enzimas específicas que catalisam a produção de compostos voláteis em um órgão, do estágio de desenvolvimento e de estresses abióticos, como a salinidade do solo, a umidade e a temperatura (Sangwan et al., 2001).

O óleo volátil de *E. polystachyum* é composto exclusivamente por derivados mono- e sesquiterpênicos, não tendo sido identificados compostos voláteis de outras rotas metabólicas, como os derivados fenilpropanóides e compostos alifáticos. Também não foram identificados cromenos, substâncias comuns em algumas espécies de *Eupatorium*, e sesquiterpenos furânicos, característicos de *E. laevigatum* (seção *Cylindrocephala*). A composição química dos óleos analisados não diferiu significativamente da composição já relatada para outras espécies do gênero, apesar de seu rendimento ser maior.

Os seis compostos majoritários que caracterizam o óleo das folhas e das inflorescências foram os mesmos (β-pineno, β-mirceno, limoneno, β-cariofileno, biciclogermacreno e germacreno D), havendo apenas diferenças quantitativas entre eles. Alguns destes compostos apresentam interessantes atividades biológicas, como o limoneno e o germacreno D funcionam que funcionam como sinalizadores fundamentais no relacionamento de plantas e insetos (Petraakis et al., 2005). Ensaio farmacológico demonstraram ação anestésica para o β-cariofileno (Ghelardini et al., 2001), e analgésica para o β-mirceno (Lorenzetti et al., 1991). β-pineno possui ação anti-séptica e antimicrobiana. Além disso, todos os compostos identificados como majoritários no óleo volátil de *E. polystachyum* possuem aplicação como precursores químicos para a semissíntese de compostos voláteis com atividade biológica.

Muitos compostos de origem vegetal possuem potente atividade antioxidante. Recentemente foi comprovada a ação provedora de termotolerância, fotoprotetora e antioxidante de monoterpenos de plantas, relacionadas especialmente à sua capacidade de captar radicais de oxigênio oriundos do processo fotossintético (Peñuelas; Llusia, 2002; Peñuelas; Munné-Bosch, 2005). O ensaio com DPPH demonstrou que na diluição de 1:10 em éter etílico (v/v) tanto o óleo volátil das folhas como das inflorescências de *E. polystachyum* é capaz de capturar os radicais existentes, neutralizando-os. Pelo resultado obtido e considerando a similaridade na composição química da cada óleo, observa-se que a diferença quantitativa existente entre os principais constituintes da cada amostra não

**Tabela 1.** Composição química do óleo volátil das folhas e inflorescências de *Eupatorium polystachyum* DC.

Composto	IR	Folhas (%)	Inflor. (%)	Composto	IR	Folhas (%)	Inflor. (%)
santolinatrieno	901	0,3	0,7	$\beta$ -elemeno	1380	0,1	0,2
$\alpha$ -tujeno	919	0,3	0,1	$\beta$ -cariofileno	1406	10,4	15,4
$\alpha$ -pineno	926	5,8	3,0	aromadendreno	1424	0,4	0,2
sabineno	965	3,8	2,3	$\alpha$ -humuleno	1438	0,6	0,8
$\beta$ -pineno	969	14,7	9,8	$\gamma$ -muuroleno	1464	tr	
$\beta$ -mirceno	986	15,3	10,8	germacreno D	1465	7,2	9,4
$\delta$ -2-careno	994	0,4	0,9	biciclogermacreno	1481	12,0	19,2
$\alpha$ -felandreno	998	0,1	0,2	$\alpha$ -muuroleno	1485	tr	0,3
$\alpha$ -terpineno	1010	0,1	tr	germacreno A	1488	0,2	0,5
<i>p</i> -cimeno	1017	0,4	0,5	$\gamma$ -cadineno	1497	0,2	
limoneno	1024	22,8	20,5	$\delta$ -cadineno	1508	0,9	1,0
( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimeno	1031	0,3	0,5	espatulenol	1568	0,4	0,5
( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimeno	1041	1,7	2,5	óxido de cariofileno	1573	tr	
$\gamma$ -terpineno	1051	0,2	tr	óxido de humuleno I	1584	0,3	0,2
terpinoleno	1081	tr	tr				
terpinen-4-ol	1168	0,2	tr	MTH		66,2	51,8
$\alpha$ -terpineol	1183	tr		MTO		0,2	0
acetato de nerila	1354	tr	tr	STH		31,0	47,0
$\alpha$ -copaeno	1364	tr		STO		0,7	0,7
$\beta$ -bourboneno	1372	tr		Total		98,1	99,5

IR = Índice de retenção; Inflor. = Inflorescências; MTH = Monoterpenos hidrocarbonados, MTO = Monoterpenos oxigenados; STH = Sesquiterpenos hidrocarbonados; STO = Sesquiterpenos oxigenados.

influenciou na resposta da inibição frente ao DPPH. Mesmo as amostras apresentando os mesmos compostos majoritários não é possível inferir com precisão que sejam estes os responsáveis pela ação observada, pois o efeito antioxidante dos óleos voláteis, muitas vezes, decorre do sinergismo existente entre as substâncias (Candan et al., 2003).

## CONCLUSÃO

O óleo volátil das folhas e inflorescências de *E. polystachyum* DC. foi analisado pela primeira vez. Foram identificados 34 componentes, contabilizando 99,1-99,5 % do total. O óleo apresentou atividade antioxidante pelo ensaio de captura de radicais DPPH. Estudos posteriores poderão incluir a identificação do(s) composto(s) responsável(is) por essa ação, bem como a avaliação do potencial antiinflamatório desses óleos.

## REFERÊNCIAS

- Adams RP 2001. *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured Publishing Corporation.
- Albuquerque MRJR, Souza EB, Mesquita EF, Nunes EP, Cunha AN, Silveira ER 2001. Volatile constituents from leaves of *Vernonia chalybaea* Mart. and *Eupatorium ballotaefolium* HBK. *J Essent Oil Res* 13: 376-377.
- Albuquerque MRJR, Silveira ER, Uchôa DEA, Lemos TLG, Souza EB, Santiago GMP, Pessoa ODL 2004. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). *J Agric Food Chem* 52: 6708-6711.
- Apel MA, Sobral M, Zuanazzi JA, Henriques AT 2006. Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). *Flav Frag J* 21: 565-567.
- Apel MA, Sobral M, Sachapoval EES, Henriques AT, Menut C, Bessiere JM 2005. Volatile constituents of *Eugenia mattsosii* Legr (Myrtaceae). *J Essent Oil Res* 3: 284-285.
- Botterwerck AAM, Verhagen H, Goldbohm RA, Kleinjans J, Brandt PA 2000. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. *Food Chem Toxicol* 38: 599-605.
- Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sökmen A, Akpulat HA 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J Ethnopharmacol* 87: 215-220.
- Cavin A, Potterat O, Wolfender JL, Hostettman K, Dyatmyko W 1998. Use of on-flow LC/H-1 NMR for the study of an antioxidant fraction from *Orophea emeandra* and isolation of a polyacetylene, lignans, and a tocopherol derivative. *J Nat Prod* 61: 1497-1501.



- Cozzi R, Ricordy R, Aglitti T, Gatta V, Perticone P, De Salvia R 1997. Ascorbic acid and b-carotene as modulators of oxidative damage. *Carcinogenesis* 18: 223-228.
- Deans SG, Waterman PG 1993. Biological Activity of Volatile Oils. In: Hay RKM, Waterman GP (Ed). *Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production*. Londres: John Willey & Sons.
- Ding JK, Yu XJ, Yu W, Ding ZH, Chen ZL, Hayashi N, Komae H 1994. Aromatic components of the essential oils of 4 Chinese medicinal-plants (*Asarum petelotii*, *Elsholtzia souliei*, *Eupatorium adenophorum*, *Micromeria biflora*) in Yunnan. *Z Naturforsch C* 49: 703-706.
- El-Massry KF, El-Ghorab AH, Farouk A 2002. Antioxidant activity and volatile components of Egyptian *Artemisia judaica* L. *Food Chem* 79: 331-336.
- Ghelardini C, Galeotti N, Mammelli LC, Mazzanti G, Bartolini A 2001. Local anaesthetic activity of  $\beta$ -caryophyllene. *Il Farmaco* 56: 387-389.
- Graßmann J, Hippeli S, Dornisch K, Rohmert U, Beuscher N, Elstner EF 2000. Antioxidant properties of essential oils. Possible explanations for their anti-inflammatory effects. *Arzneimittel-Forsch* 50: 135-139.
- Habtemarian S, MacPherson AM 2000. Cytotoxicity and antibacterial activity of ethanol extract from leaves of an herbal drug, boneset (*Eupatorium perfoliatum*). *Phytother Res* 14: 575-577.
- Leong LP, Shui G 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem* 76: 69-75.
- Lorenzetti BB, Souza GE, Sarti SJ, Santos Filho D, Ferreira SH 1991. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. *J Ethnopharmacol* 34: 43-48.
- Maia JGS, Zoghbi MGB, Andrade EHA, Silva MHL, Luz AIR, Silva JDS 2002. Essential oils composition of *Eupatorium* species growing wild in the Amazon. *Biochem Syst Ecol* 30: 1071-1077.
- Matzenbacher NI 1979. *Estudo taxonômico do gênero Eupatorium L. (Compositae) no Rio Grande do Sul - Brasil*, 310p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Mongelli E, Martino V, Coussio J, Ciccía G 1996. Screening of Argentine medicinal plants using the brine shrimp microwell cytotoxicity assay. *Pharm Biol* 34: 249-254.
- Mongelli E, Pampuro S, Coussio J, Salomon H, Ciccía G 2000. Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plants used in Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 145-151.
- Paolini J, Costa J, Bernardini AF 2005. Analysis of the essential oil from aerial parts of *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* (L.) by gas chromatography with electron impact and chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1076: 170-178.
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Saavedra G, Murcia MA, Jiménez MA, Codina C 2003. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sci* 73: 1667-1681.
- Peñuelas J, Llusià J 2002. Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytologist* 155: 227-238.
- Peñuelas J, Munné-Bosch S 2005. Isoprenoids: an evolutionary pool for photoprotection. *Trends Plant Sci* 10: 166-169.
- Petrakis VP, Roussis V, Papadimitriou D, Vagias C, Tsitsimpikou C 2005. The effect of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*. *Behav Process* 69: 303-322.
- Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M, Bruni R 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem* 91: 621-632.
- Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS 2001. Regulation of essential oil production in plant. *Plant Growth Regul* 34: 3-21.
- Sharma OP, Dawra RK, Kurade NP, Sharma PD 1998. A review of the toxicosis and biological properties of the genus *Eupatorium*. *Nat Toxins* 6: 1-14.
- Souza TJT, Apel MA, Bordignon SAL, Henriques AT 2005. Composição química do óleo volátil das folhas de *Symphopappus reticulatus* Baker. *V Reunión de la Sociedad Latino-Americana de Fotoquímica*. Montevideo, Uruguay.
- Souza TJT, Apel MA, Bordignon SAL, Henriques AT 2006. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium ivifolium* L. var *hirsutum* e *Eupatorium inulifolium* HBK. *XXIX reunião anual da Sociedade Brasileira de Química*. Águas de Lindóia, Brasil.
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Comps Anal* 19: 669-675.
- Tori M, Ohara Y, Nakashima K, Sono M 2001. Thymol derivatives from *Eupatorium fortunei*. *J Nat Prod* 64: 1048-1051.

