

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA DA DROGA
E DO EXTRATO FLUIDO DE LIMOEIRO-BRAVO -
Siparuna apiosyce (Martius) A. DC.

DOMINIQUE CORINNE HERMINE FISCHER

Tese para a obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:

Prof. Assoc. FERNANDO DE OLIVEIRA

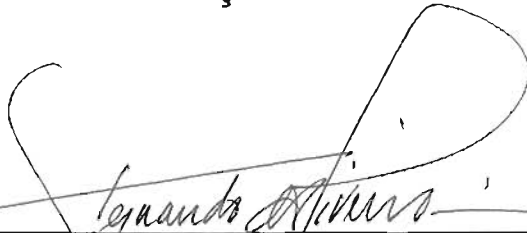
São Paulo

1997

DOMINIQUE CORINNE HERMINE FISCHER

CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA DA DROGA E DO
EXTRATO FLUIDO DE LIMOEIRO-BRAVO - *SIPARUNA*
APIOSYCE (MART.) A. DC.

COMISSÃO JULGADORA
TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR



Presidente - Orientador

PROF. ASSOC. FERNANDO DE OLIVEIRA

PROFA. DILA. MARIA LÚCIA SAITO

1º Examinador

PROF. DR. BRUNO MANCINI

2º Examinador

PROFA. DRA. MITSUKO TABA OHARA

3º Examinador

PROFA. DRA. ELFRIEDE MARIANNE BACCHI

4º Examinador

São Paulo, 09 de setembro de 1997.

*“Mergulha no amor e acharás
Deus...”*

(Pastorino, C. T. *Sugestões oportunas*, 1993)

Ao orientador,

Prof. Associado Fernando de Oliveira

Aos meus pais,
Ao Flávio,
À Katy e Bruno,
com amor, carinho e gratidão.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pelo apoio e incentivo constantes ao longo da execução deste trabalho.

À Coordenadoria e Secretaria do Curso de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos do Departamento de Farmácia e à Secretaria do Curso de Pós Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pelo apoio recebido na efetivação do curso e para a obtenção do título.

Ao Professor Doutor Vicente de Oliveira Ferro, pelos múltiplos auxílios, sugestões e incentivo recebidos, desde o início da realização deste trabalho.

À Professora Doutora Edna Tomiko Myiake Kato, pelo auxílio prestado no estudo farmacobotânico e colaboração.

À Professora Doutora Mitsuko Taba Ohara, pelo auxílio na realização dos ensaios microbiológicos, sugestões e amizade.

Ao Professor Doutor Marden Antonio Alvarenga, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelas sugestões, ensinamentos e por todo auxílio prestado na identificação espectral dos compostos isolados.

À Doutora Maria Inês Gonçalves, pela realização dos espectros das substâncias e dedicado auxílio na interpretação dos mesmos.

À Professora Doutora Elfriede Marianne Bacchi, pelo apoio, sugestões e auxílios recebidos ao longo deste trabalho.

Ao Professor Titular Paulo S. Minami do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pela permissão de uso do fotomicroscópio Nikon®.

Ao Professor Titular Renato Baruffaldi, à Professora Associada Maricê Nogueira de Oliveira e ao técnico de laboratório Nilton Bloisi, do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pela autorização de uso do concentrador semi-industrial (Precision Scientific®) e auxílio efetivo na concentração dos extratos.

À acadêmica Marilu Bazana Okabe, pelo valioso auxílio prestado na realização dos ensaios fitoquímicos e isolamento de substâncias.

Às técnicas de laboratório Iraci de Oliveira e Lígia Maria Godoy, pela grande dedicação, no seu imprescindível trabalho, e inestimável incentivo recebido ao longo de todas as etapas desta tese.

À bibliotecária Moema Rodrigues dos Santos, pela normalização das referências bibliográficas.

Ao doutorando, José Norberto Peporine Lopez, pelo padrão fornecido, sugestões e presteza no auxílio à identificação das substâncias.

Ao Prof. Titular João Fernandes Magalhães, pelo constante incentivo à carreira.

À Professora Dra. Takako Saito, com grande sentimento de admiração e gratidão pela amizade e incentivo constantes.

Ao Sr. Vítor José Belchior, pelo empenho, dedicação e qualidade dos trabalhos xerográficos executados.

À FAPESP pela aquisição e uso do espectrômetro de ressonância magnética nuclear.

Aos Professores Doutora Berta Lange de Morretes e Doutor Ramón C. Guitián, com admiração, pelo exemplo de profissionalismo e didática.

Aos Professores, *in memoriam*, Dra. Maria Kubota Akisue e Titular Andrejus Korolkovas, incentivadores na carreira.

Aos demais amigos, professores, funcionários, alunos e colegas pós-graduandos do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, cujo convívio, apoio e amizade foram indispensáveis durante todo o caminho rumo à concretização deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a efetivação deste trabalho.

SUMÁRIO

	página
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Aspectos botânicos	4
3.1.1 Generalidades	4
3.1.2 Posição taxonômica da espécie <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A.DC.	6
3.1.3 Descrição original da espécie	7
3.1.4 Descrição farmacopêica da droga	8
3.1.5 Sinonímia vulgar da espécie	9
3.1.6 Características morfológicas da família <i>Monimiaceae</i> Jussieu	10
3.1.7 Características morfológicas do gênero <i>Siparuna</i> Aublet	12
3.1.8 Caracteres anatômicos da família <i>Monimiaceae</i> Jussieu e do gênero <i>Siparuna</i> Aublet	14
3.1.9 Espécies descritas do gênero <i>Siparuna</i> Aublet	18
3.1.10 Espécies do gênero <i>Siparuna</i> Aublet sinonimizadas	40
3.2 Aspectos químicos	42
3.2.1 Aspectos químicos da família <i>Monimiaceae</i> Jussieu	42
3.2.2 Aspectos químicos do gênero <i>Siparuna</i> Aublet	43
3.2.2.1 Alcalóides	43
3.2.2.2 Óleo essencial	50
3.2.2.3 Compostos esteroidais	54
3.2.2.4 Sesquiterpenos	55
3.2.3 Aspectos químicos da espécie <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC.	57
3.3 Uso medicinal de espécies do gênero <i>Siparuna</i> Aublet	59
4 MATERIAL E MÉTODOS	63

4. 1	Material botânico	63
4. 2	Métodos	64
4. 2. 1	Caracterização da droga	64
4. 2. 1. 1	Caracterização farmacobotânica	64
4. 2. 1. 1. 1	Estudo macro e microscópico	64
4. 2. 1. 1. 2	Dissociação de elementos celulares	65
4. 2. 1. 1. 3	Análise microscópica da folha pulverizada	65
4. 2. 1. 2	Caracterização física e química da droga	66
4. 2. 1. 2. 1	Determinação de parâmetros físico e químico	66
4. 2. 1. 2. 2	Identificação de grupos de substâncias	66
4. 2. 1. 2. 3	Extração de óleo essencial	68
4. 2. 1. 2. 4	Cromatografia em camada delgada	69
4. 2. 1. 2. 5	Preparo de extratos para isolamento de substâncias	71
4. 2. 1. 2. 6	Isolamento de substância do extrato hexânico	74
4. 2. 1. 2. 7	Isolamento de substância do extrato etanólico	77
4. 2. 1. 2. 8	Identificação das substâncias isoladas	81
4. 2. 2	Caracterização física e química do extrato fluido	82
4. 2. 2. 1	Preparo do extrato fluido	82
4. 2. 2. 2	Determinação de parâmetros físicos e químico dos extratos fluidos	82
4. 2. 2. 3	Cromatografia em camada delgada	84
4. 2. 3	Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos fluidos	85
4. 2. 3. 1	Determinação da Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) para as bactérias	85
4. 2. 3. 2	Determinação da Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) para a levedura	86
5	RESULTADOS	87
5. 1	Caracterização da droga	87

5. 1. 1	Caracterização farmacobotânica	87
5. 1. 1. 1	Caracterização macroscópica de folha e caule	87
5. 1. 1. 2	Caracterização microscópica de folha	92
5. 1. 1. 3	Caracterização microscópica de folha pulverizada	103
5. 1. 1. 4	Caracterização microscópica de caule	108
5. 1. 2	Caracterização física e química da droga.....	119
5. 1. 2. 1	Determinação de parâmetros físico e químico	119
5. 1. 2. 2	Identificação de grupos de substâncias	119
5. 1. 2. 3	Teor de óleo essencial de folha e de fruto	122
5. 1. 2. 4	Análise cromatográfica em camada delgada	122
5. 1. 2. 5	Dados físicos e espectrométricos da substância S ₁	129
5. 1. 2. 6	Dados físicos e espectrométricos da substância S ₂	136
5. 2	Caracterização física e química do extrato fluido	143
5. 2. 1	Determinação de parâmetros físicos e químico	143
5. 2. 2	Análise cromatográfica em camada delgada	143
5. 3	Avaliação da atividade antimicrobiana de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC.	147
6	DISCUSSÃO	150
6. 1	Caracterização farmacobotânica	150
6. 1. 1	Caracterização macroscópica	150
6. 1. 2	Caracterização microscópica	154
6. 2	Caracterização física e química	161
6. 2. 1	Parâmetros físico e químico da droga	161
6. 2. 2	Parâmetros físicos e químico do extrato fluido	163
6. 2. 3	Identificação de grupos de substâncias	165
6. 2. 4	Determinação do teor de óleo essencial	168
6. 2. 5	Análise cromatográfica da droga	170
6. 2. 6	Análise cromatográfica do extrato fluido	174
6. 2. 7	Identificação da substância S ₁	175
6. 2. 8	Identificação da substância S ₂	180

6.3	Avaliação da atividade antimicrobiana	185
7	CONCLUSÕES	187
8	RESUMO	192
9	<i>SUMMARY</i>	194
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	195

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema de obtenção dos extratos para isolamento de substâncias da folha e do caule, em mistura 73
- Figura 2 - Esquema de isolamento de substância do extrato hexânico 76
- Figura 3 - Esquema de isolamento de substância do extrato etanólico..... 80
- Figura 4 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotografia de folha. Aspecto geral da droga 90
- Figura 5 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotografia de folha e caule 91
- Figura 6 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Desenho de folha em detalhe. Secção transversal de lâmina foliar 94
- Figura 7 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha. Epiderme superior e epiderme inferior 95
- Figura 8 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha. Desenho esquemático de secção transversal de nervura mediana 97
- Figura 9 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha. Detalhe de secção transversal de nervura mediana voltada à face adaxial e detalhe na região de sistema vascular 98

Figura 10 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha. Detalhe de secção transversal de nervura mediana	99
Figura 11 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Desenho esquemático de secção transversal de pecíolo	101
Figura 12 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Desenho em detalhe de uma região de pecíolo em corte transversal	102
Figura 13 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha pulverizada. Detalhe de epiderme e de elementos traqueais	104
Figura 14 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha pulverizada. Detalhe de pêlos tectores lignificados	105
Figura 15 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha pulverizada. Detalhe de fragmentos de epiderme superior e de epiderme inferior	106
Figura 16 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de folha pulverizada. Detalhe de células parenquimáticas contendo cristais aciculares e de parênquima esponjoso	107
Figura 17- <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Desenho esquemático de secção transversal de caule em estrutura primária	109
Figura 18 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Desenho em detalhe de secção transversal de caule em estrutura primária	110
Figura 19 - <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC. Desenho em detalhe de secção transversal de caule em estrutura secundária	113

- Figura 20 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de secção transversal de caule em estrutura secundária. Detalhe de região externa e de ritidoma 114
- Figura 21- *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de secção transversal de caule estrutura secundária. Detalhe de região externa e de região cortical limite com floema 115
- Figura 22 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de secção transversal de caule em estrutura secundária. Detalhe de região cortical e de região floemática 116
- Figura 23 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de secção transversal de caule em estrutura secundária com detalhe de xilema interno e de região medular. Secção longitudinal tangencial com detalhe de região de xilema 117
- Figura 24 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Fotomicrografia de material dissociado. Detalhe de elemento traqueal, fibra e célula parenquimática do xilema 118
- Figura 25 - Espectro na região do infravermelho (I. V.) da substância S₁, em pastilha de KBr 131
- Figura 26 - Espectro de ressonância magnética protônica (R M N ¹H) da substância isolada S₁, em CDCl₃, a 300 MHz, utilizando TMS/CCl₄, como referência externa 132
- Figura 27 - Espectro de ressonância magnética de carbono - 13 (R M N ¹³C) da substância S₁, em CDCl₃, a 75,5 MHz, utilizando TMS/CCl₄, como referência externa 133

Figura 28 - Espectro de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (R M N ^{13}C - DEPT 135°) da substância S_1 , em CDCl_3 , a 75,5 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa	134
Figura 29 - Espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) da substância S_1 , em CDCl_3 , a 300 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa	135
Figura 30 - Espectro na região do infravermelho (I. V.) da substância S_2 , em pastilha de KBr	138
Figura 31 - Espectro de ressonância magnética protônica (R M N ^1H) da substância isolada S_2 , em CDCl_3 , a 300 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa	139
Figura 32 - Espectro de ressonância magnética de carbono - 13 (R M N ^{13}C) da substância S_2 , em CDCl_3 , a 75,5 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa	140
Figura 33 - Espectro de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (R M N ^{13}C - DEPT 135°) da substância S_2 , em CDCl_3 , a 75,5 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa	141
Figura 34 - Espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) da substância S_2 , em CDCl_3 , a 300 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa	142

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Teores de substâncias voláteis a 105 °C e de cinzas totais de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC 119
- Tabela 2 - Identificação de grupos de substâncias em folha e em mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. 120
- Tabela 3 - Teor de óleo essencial de folha e de fruto de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. 122
- Tabela 4 - Cromatograma em camada delgada dos extratos hexânicos de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 1 124
- Tabela 5 - Cromatograma em camada delgada dos extratos clorofórmicos de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 2 125
- Tabela 6 - Cromatograma em camada delgada dos extratos clorofórmicos de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 3 126
- Tabela 7 - Cromatograma em camada delgada dos extratos metanólicos de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 4 127

Tabela 8 - Cromatograma em camada delgada dos extratos metanólicos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 5	128
Tabela 9 - Parâmetros físicos e químico dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC.	143
Tabela 10 - Cromatograma em camada delgada dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 6	144
Tabela 11 - Cromatograma em camada delgada dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 7	145
Tabela 12 - Cromatograma em camada delgada dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 8	146
Tabela 13 - Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC., frente a <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10531) e <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	147
Tabela 14 - Avaliação da atividade antifúngica dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de <i>Siparuna apiosyce</i> (Mart.) A. DC., frente a <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	148

- Tabela 15 - Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) dos extratos fluidos de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., frente a *Escherichia coli* (ATCC 10531), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 10231) 149
- Tabela 16 - Comparação dos valores de absorção, em cm^{-1} , relativos aos espectros na região do infravermelho da substância S_1 e do estigmasterol 178
- Tabela 17 - Principais deslocamentos químicos (δ) da substância S_1 , em ppm, a partir dos espectros de ressonância magnética nuclear protônica e de carbono 13, utilizando TMS/ CCl_4 como referência externa 179
- Tabela 18 - Comparação dos valores de deslocamento químico (δ), em ppm, nos espectros de RMN ^1H e HETCOR da substância isolada S_2 , com os dados de RMN ^1H de assimilobina, utilizando TMS/ CCl_4 como referência externa 183
- Tabela 19 - Comparação dos valores de deslocamento químico (δ), em ppm, no espectro de RMN ^{13}C da substância isolada S_2 , com assimilobina, utilizando TMS/ CCl_4 como referência externa 184

1 INTRODUÇÃO

Siparuna apiosyce (Mart.) A. DC. constitui espécie medicinal pertencente à família⁸² *Monimiaceae* Jussieu. O gênero *Siparuna* Aublet é o maior da família¹⁵² e apresenta cerca de 200 espécies¹⁴⁴, algumas destas, conhecidas como “limão-bravo”^{30,78,87}. Na medicina popular, relata-se o uso medicinal de vegetais do referido taxon em distúrbios gastrointestinais, respiratórios, dermatológicos como na escabiose^{26,27,28,30,127} e na modificação da fertilidade humana^{26,41}.

A espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. despertou particular interesse em função do uso popular, da ausência de estudo prévio mais abrangente e da sua inclusão na primeira edição da Farmacopéia Brasileira¹³⁹. É conhecida sob a denominação oficial¹³⁹ “limoeiro-bravo”, apresentando ampla sinonímia vulgar: “limoeiro-do-mato”, “limãozinho”, “cidreira-do-mato”, “cidrilha silvestre”, “limão-bravo” e outras, geralmente, em alusão ao forte odor aromático de suas partes aéreas¹³⁹. O vegetal é encontrado nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro^{30,120}.

COIMBRA^{27,28} atribui à *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. as propriedades estimulante estomacal e sedativa, citando sua utilização em problemas gástricos, tais como atonia digestiva, flatulências, dispepsias, e nos distúrbios respiratórios, relacionados à tosse, bronquite e laringite, bem como nas cólicas menstruais. A tintura é empregada externamente, no tratamento de contusões e de ferimentos^{27,28,127}.

Atualmente, a espécie consta da formulação de sete produtos, listados no Dicionário de especialidades farmacêuticas³⁶, encontrando-se na forma de extratos fluido, mole ou seco, geralmente, em associação com outros componentes fitoterápicos ou não. Estas especialidades

farmacêuticas, sob a forma de pastilhas e xaropes, recebem nomes alusivos à denominação vulgar "limão-bravo", estando indicadas nas infecções laríngeas, bucais e nas tosses, como expectorante.

Na comercialização da droga, verifica-se a freqüente substituição⁵ de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. por *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC. e *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC. evidenciando a necessidade de adequada identificação da espécie, visando a padronização da droga e, em última análise, a qualidade do produto fitoterápico final.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo fornecer subsídios para o controle de qualidade da droga e do extrato fluido de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., por meio da obtenção de dados acerca de folha e caule da espécie, na forma de droga e de extrato fluido, efetuando:

- Caracterização macro e microscópica da droga;
- Determinação de parâmetros físicos e químicos;
- Pesquisa de classes de substâncias;
- Determinação do teor de óleo essencial;
- Isolamento e identificação de componentes;
- Obtenção e análise de perfil cromatográfico;
- Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato fluido.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O levantamento bibliográfico encontra-se dividido nos subítens seguintes, referentes aos aspectos botânico e químico da família *Monimiaceae* Jussieu, do gênero *Siparuna* Aublet e da espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC, além de ser abordado o uso medicinal do mesmo gênero e espécie.

3. 1 Aspectos botânicos

3. 1. 1 Generalidades

A família *Monimiaceae* Jussieu, termo criado por Jussieu, em 1809, foi assim denominada em alusão ao gênero *Monimia* de Thouars, considerado gênero tipo, cujo nome representa uma homenagem do autor a Monimia, esposa de Mitrídates⁵⁴.

Conforme sistematas, o número de gêneros varia de 30 a 35, com cerca de 450 espécies^{9,13,31,58}. A maioria das monimiáceas são plantas arbustivas ou arbóreas, geralmente, aromáticas, sendo raras as lianas. Distribuem-se nas regiões tropical e subtropical, especialmente do hemisfério sul^{13,43,54,58,97,120}. Os principais centros de dispersão localizam-se na América do Sul, Malásia, Madagascar e Mascarenhas^{9,43,111,120,140,141}, sendo grande o número de espécies americanas^{9, 120}. PERKINS e GILG¹³⁸ consideram a Indomalásia como *habitat* natural ou ponto de origem da família.

No Brasil, as monimiáceas apresentam, aproximadamente, 85 espécies pertencentes aos gêneros¹³ seguintes: *Bracteanthus*, *Hennecartia*,

Macropeplus, *Macrotorus*, *Mollinedia*, *Siparuna* e *Peumus*. Este último é considerado exótico^{9,54}.

O gênero *Siparuna* Aublet, com mais de 150 espécies^{31,58,143} é o predominante na família³¹, estando amplamente distribuído desde a América Central (México) até Peru, Bolívia e Brasil^{9,43,58}. ENGLER⁴³ citou a ocorrência, igualmente, em território africano.

A espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. apresenta, em sua nomenclatura científica, epíteto específico derivado do grego “apio” (= pera) e “sice” (= figo), em alusão ao formato de seus frutos. Foi descrita, inicialmente, por MARTIUS¹¹⁷, em 1855, como pertencente ao gênero *Citriosma*, termo criado por RUIZ e PAVON¹⁴⁷, em 1794. Posteriormente, DE CANDOLLE³⁴, em 1868, colocou-a no gênero *Siparuna*, denominação esta criada por AUBLET¹², em 1775.

Siparuna apiosyce (Mart.) A. DC. apresenta hábitos tipicamente higrofíticos, encontrando-se em bosques, sub-bosques e à margem de córregos de cachoeiras¹²⁷. A espécie ocorre, geralmente, nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia^{9,30,127}.

3. 1. 2 Posição taxonômica da espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A.DC.

De acordo com a classificação de ENGLER⁴³, o gênero *Siparuna* Aublet está posicionado da seguinte forma:

- 17ª Divisão: *Angiospermae* Brogniart
A. Brogniart in: *En. Gen.* 2. ed., 26, 1850.
- 1ª Classe: *Dicotyledoneae* De Candolle
A. P. De Candolle in: *Syst. Nat.* 1:123, 1817.
- 1ª Sub-classe: *Archichlamydae* Engler
A. Engler in: *Sillab. Pflanzenf.* 1. ed., 92, 1892.
- 15ª Ordem: *Magnoliales* Buchheim
G. Buchheim in: Melchior, Engler, *Syll. Pflanzenf.* 12 ed. 2:108, 1964.
- Família: *Monimiaceae* Jussieu
A. L. Jussieu in: *Ann. Mus. Hist. Nat. Paris.* 14: 133, 1809.
- Sub-família: *Siparunoideae* Buchheim
G. Buchheim in: Melchior, Engler, *Syll. Pflanzenf.* 12. ed., 2: 122, 1964.
- Gênero: *Siparuna* Aublet
Aublet in: *Hist. Pl. Guian. Franc.* 2: 864, 1775.
- Espécie: *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.
in: *Prod.* 16 (2): 645, 1868.
basônimo: *Citriosma apiosyce* (Mart.) A. DC.
in: *An. Sci. Nat. Ser.* 4: 3: 34, 1855.

Segundo o sistema filogenético de CRONQUIST³¹, o gênero encontra-se na seguinte posição sistemática: Divisão: *Magnoliophyta*; Classe: *Magnoliopsida*; Subclasse: *Magnoliidae*; Ordem: *Laurales*; Família: *Monimiaceae* A. L. de Jussieu (*Nomen conservandum*).

3. 1. 3 Descrição original da espécie

A descrição original foi transcrita por OCCHIONI e LYRA¹²⁷, a partir do trabalho de PERKINS e GILG¹³⁸, sendo apresentada a seguir:

“*Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. in D.C. *Prod.* 16(2): 645, 1868; in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 695, 1901 - *Citriosma apiosyce* Mart. ex Tul. in *Ann. Sci. Nat. Sér. 4.* 3: 34, 1855; in *Monogr.* 322, 1855; in *Fl. Bras.* 4(1): 299, 1857. - Frutex dioecus; rami pilis fasciculatis pubescentes vel tomentosi. Folia opposita, lanceolato-oblonga, 15 - 20 cm longa, 6 - 8 cm lata, petiolo 3 - 5 cm longo, luteolo-tomentoso, in uno ac eodem exemplari longitudine valde variabili, apice acuta vel saepius acute acuminata, basi rotundata et quidem a latere nonnunquam cordata vel saepius basin versus sensim angustata, tenuia, utrinque dense velutina vel tomentosa, acie integerrima vel saepius undulato-crenata, crenis obtusissimis, integerrimis, nunc maxime inaequalibus, nunc crebrioribus subaequalibus. Inflorescentiae utriusque sexus petiolo plerumque dimidio breviores, cinereo-tomentosae, cymosae, semel ter dichotomae, femineae plerumque simplociores ac pauciflorae; receptaculum urceolatum, tomentosum; tepala 4 - 6 subaequalia, ovato-rotundata, obtusa aut vix acutata, utrinque dense tomentosa; velum angustissimum ore late aperto; stamina 6 - 10 brevissime exserta inaequalia; receptaculum crassius; tepala 5 - 6 majuscula, late ovato-triangularia et acuta vel ovata et obtusa, inaequalia et utrinque tomentosa; velum glabrum, crassiusculum, subplanum, ore angusto; styli numerosi manifeste exserti. Fructus obovati sive pyriformes, cerasi mole, luteolo-tomentelli”.

3. 1. 4 Descrição farmacopêica da droga

A seguir, transcreve-se *ipsis litteris* a monografia da droga “limoeiro-bravo”, referente à espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., apresentada na Farmacopéia Brasileira¹³⁹, de 1926.

“LIMOEIRO BRAVO

Limoeiro do mato. Limão bravo. Limãosinho. Cidreira do mato. Cidrilha silvestre. Negra mina.

Siparuna Apiosyce De Candolle; *Monimiaceae*.

Parte usada: folha

Caracterização - As folhas do limoeiro bravo são opostas em cruz; separadas por entre nós distanciados, de pecíolo sub-cilíndrico, às vezes canaliculado na parte superior, pubescente, de 3 a 5 cm. de comprimento e erecto-patente; o limbo é amplo, lanceolado-oblongo, de 13 a 20 cm., e às vezes mesmo mais, de comprimento, por 7 a 10 cm., na média, de largura, agudo ou estreitamente acuminado, de base arredondada e às vezes mais ou menos cordada, geralmente bastante atenuada; esse limbo é delgado, quasi velludoso em ambas as paginas, com tomento, porém muitocurto, sempre molle, um tanto rarefeito, mais denso sobre as nervuras, de côr fulvo-amarellada; suas margens, às vezes integerrimas, são geralmente ondeado-crenadas, com crenas (dentes curtos) muito obtusas, integerrimas, umas vezes muito desiguaes, outras vezes sub-iguaes; as nervuras na pagina inferior são um tanto salientes, delgadas e distendem-se até ás margens do limbo, anastomosando-se n'um trama frouxo.

Estas folhas, frescas, possuem cheiro aromático, activo, agradável, semelhante ao limão e da erva cidreira combinados; seu sabor é aromático e um tanto amargo.

Estructura microscópica - O epiderma é formado de células polygonales de paredes quasi rectas e apresenta sobre ambas as faces numerosos pêlos tectores estellares dispostos em roseta e encaixados profundamente no epiderma; esses pêlos são dilatados na base, onde sua cutícula, muito espessa é canaliculada; somente a face inferior do epiderma contém estomas, cujas células annexas não são diferenciáveis. O mesophyllo é heterogeneo asymetrico, formado na parte superior por uma fileira de células paliçádicas e na inferior por um parenchyma lacunoso, de células ramosas, rico em cristaes aciculares; esse mesophyllo apresenta grandes glandulas oleíferas unicellulares, mais numerosas na camada paliçádica. A nervura mediana é biconvexa; seu epiderma, rico de pêlos estellares, recobre em cima e em baixo um massiço de cpllenchyma; o parenchyma fundamental contém algumas glandulas oleíferas. O systema libero-lenhoso é representado por dois cordões lenhosos oppostos, sendo o superior formado pela reunião de dois feixes distinctos; são recobertos por um liber molle e um pericyclo não esclerenchymatico.

Emprego officinal. - Tintura de limoeiro bravo.”

3. 1. 5 Sinonímia vulgar da espécie

As várias denominações vulgares de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., geralmente, fazem alusão ao forte odor aromático e cítrico exalado pela espécie. Entre essas citam-se: cidreira^{30,127}, cidreira-do-mato^{30,127}, cidreira-silvestre¹²⁷, cidrilha³⁰, cidrilha-silvestre¹³⁹, folha-limão¹²⁷, erva-de-limão¹²⁷, limãozinho^{30,127}, limão-bravo^{8,9,30,78,116,127}, limão-cheiroso¹²⁷, limão-do-mato¹²⁷, limoeiro-bravo^{30,139}. A espécie é conhecida, também, como

negra-mina^{30,127}, em função do rápido escurecimento das folhas, após a coleta.

Cabe lembrar que, alguns dos nomes vulgares, acima mencionados, são empregados para outras espécies^{30,78} do gênero *Siparuna* Aublet.

3. 1. 6. Características morfológicas da família *Monimiaceae* Jussieu

As folhas de representantes da família *Monimiaceae* Jussieu são simples³¹, inteiras^{13,54,97,120}, coriáceas¹⁴², geralmente opostas^{13,54,97,120} e de tamanhos diferentes no mesmo par^{43,97}, raramente verticiladas ou alternas¹²⁰, com margem denteada ou serrilhada^{31,120}, penatinérveas^{31,39}, glabras ou pilosas¹²⁰, desprovidas de estípulas e, em geral, aromáticas^{43,58,97,120,142}.

As flores mostram-se unissexuadas, dióicas (*Mollinedia*, *Siparuna*) ou raramente monóicas^{13,97,120}, podendo apresentar-se isoladas e terminais^{13,31,120}, porém, mais freqüentemente, encontram-se reunidas em inflorescências axilares. Estas são, geralmente, cimosas^{31,43} e, com menor freqüência, racimosas, sejam simples (rácimos) ou compostas¹²⁰ (panículas). As flores são actinomorfas^{54,97}, relativamente pequenas, hipóginas ou períginas. O hipanto, quando presente, possui superfície interna nectarífera³¹.

Com relação aos verticilos florais de proteção, as flores são monoclamídeas e, raramente, diclamídeas ou aclamídeas. Quando simples, o perianto possui 2 verticilos florais pouco distintos¹²⁰. Há quatro ou mais tépalas livres ou soldadas^{97,120}. Neste último caso, podem formar 2 ou 3 séries, sendo os segmentos externos de natureza sepalóide^{97,120} e os internos, petalóides^{120,142}, persistentes ou caducos¹²⁰. O perigônio é

caliciforme, campanulado ou urceolado e, ainda, segundo BARROSO¹³, representa caráter de importância filogenética. No gênero *Siparuna* Aublet, o perigônio é crasso, dividido internamente por septos que formam lojas desiguais entre si, abertas ou fechadas no ápice, ordenadas em série circular e alojando os carpelos que compõem o gineceu dialicarpelar.

O androceu possui numerosos estames^{13,58,97,120,142}. Estes são sésseis ou possuem filete curto, estando dispostos, em 1 a 2 séries, nas paredes do cálice^{13,31}, livres entre si¹³ e, às vezes, apresentam um par de apêndices nectaríferos basais e laterais^{31,97,120,142}. As anteras, geralmente, apresentam-se biloculares^{13,120}, com lóculos livres ou unidos nas extremidades e deiscência valvar^{13,31,97,120,142} (*Atherosperma*, *Siparuna*), longitudinal^{31,120,142} ou transversal¹⁴².

O gineceu é apocárpico e, geralmente, policarpelar^{13,97,120,142}. Os carpelos encontram-se, em geral, dispostos profundamente no receptáculo carnoso^{13,31,97}. O carpelo pode ser sésil ou estipitado. O estilete possui estigma terminal globoso^{31,120}. Cada carpelo mostra-se uniovular^{31,97,120,142}, sendo os óvulos anátropos e raramente ortótropos^{31,97,120} (*Atherospermoideae*, *Siparunoideae*). Os óvulos podem apresentar os dois tegumentos ou apenas um (*Siparunoideae*).

Os frutos apocárpicos mostram carpídios representados por pequenas drupas livres ou englobadas pelo perigônio persistente^{13,97} ou dispostas sobre receptáculo amplo^{97,120,142}. Podem ocorrer frutos do tipo aquênio¹²⁰.

As sementes possuem embriões envoltos por endosperma abundante e oleoso^{31,142}. Na família *Monimiaceae* Jussieu, apenas no gênero *Siparuna* Aublet, há presença de arilo^{43,97}.

3. 1. 7 Características morfológicas do gênero *Siparuna* Aublet

O gênero *Siparuna* Aublet é constituído de espécies arbustivas a arbóreas, com pequeno ou grande porte⁵². As espécies são monóicas ou dióicas^{111,120,151}. A planta toda é aromática, apresentando forte odor cítrico^{52,111}.

As folhas mostram-se, em geral, opostas, pecioladas, sem estípulas, com margem inteira, denteada ou serrilhada, glabras ou tomentosas^{111,120}, de coloração verde escura em ambas as faces. A base foliar é arredondada-atenuada, o ápice é agudo. O formato da lâmina foliar varia de oval-oblongo a oblongo-lanceolado⁸.

As inflorescências mostram-se, geralmente, axilares e cimosas^{52,111,120}, simples ou ramificadas^{111,120}. Quanto ao comprimento, podem alcançar 10 cm e conter até 40 flores⁵².

As flores unissexuadas são, normalmente, pedunculadas embora existam espécies, como *Siparuna chiridota* A. DC, cujas flores são quase sésseis⁵².

As flores possuem formato tubuloso ou urceolado^{52,111,143} e, mais raramente, cônico, em um ou ambos os sexos^{52,143}. Uma característica típica das flores do gênero *Siparuna* Aublet são as tépalas, cuja base forma um véu ou *velum*, que cobre completamente os estames e carpelos jovens. Na antese, este véu abre-se, por meio de um poro central através do qual as extremidades dos estames se projetam¹⁴⁴. Nas flores femininas o véu, geralmente, diferencia-se na forma de um tubo central cilíndrico que envolve os estiletos.

Nas flores masculinas, o poro, através do qual as extremidades dos estames se projetam, pode ser muito estreito ou os estames podem estar completamente expostos sobre receptáculo floral tubuloso¹⁴⁴. Ainda,

com relação às flores masculinas, o receptáculo pode ser glabro a densamente piloso e até tomentoso, sendo, raramente, piloso-lepidoto. Da mesma forma, as tépalas, em número de 3 a 7^{52,120}, mostram-se glabras, pilosas ou lepidotas, em ambas as faces¹²⁰. Os estames, de um a numerosos, podem ser semelhantes entre si¹²⁰, dispostos em coroa, geralmente, projetando-se para o exterior do poro floral⁵². Os filetes são achatados ou cilíndricos^{111,120}. As anteras, pequenas, apresentam-se oblongas, biloculares, com deiscência valvar^{111,120,178} ou introrsa¹²⁰.

Nas flores femininas, os carpelos livres, em número de 4 a 20, aparecem alongados¹¹¹, com estiletos liguliformes ou filiformes, livres ou concrecidos¹²⁰. Os estigmas são secos e papilosos^{52,111} projetando-se, freqüentemente, através do poro floral. Os carpelos contêm apenas um óvulo^{52,104}, em geral, ortótropo^{120,178}. As tépalas são encontradas em número de 3 a 7^{120,178}.

O perigônio crasso está dividido internamente por septos formando lojas desiguais entre si, abertas ou fechadas no ápice, dispostas de forma circular, alojando, cada uma, 1 carpelo que, em conjunto, constituem o ovário dialicarpelar¹³.

O fruto é do tipo apocárpico, com carpídios drupáceos, livres ou englobados por perigônio persistente. As pequenas drupas, com formato globoso, subgloboso ou piriforme¹²⁰, coroadas por tépalas marcescentes, possuem epicarpo fino, mesocarpo carnoso e amarelado, recobrimdo um lado do endocarpo verrucoso. Estas drupas encerram-se no interior dos lóculos do perigônio piriforme, coroado por lacínios¹³. Ao amadurecer, as paredes do pseudofruto abrem-se, irregular e longitudinalmente, em 3 ou 4 lobos, a partir do ápice, expondo as sementes. A polpa dos frutos varia de vermelha a branca^{13,52,111,120}.

As sementes apresentam endosperma carnoso¹³ e arilo vermelho^{13,43,52,97}.

3. 1. 8 Caracteres anatômicos da família *Monimiaceae* Jussieu e do gênero *Siparuna* Aublet

Descrição detalhada da anatomia da família *Monimiaceae* Jussieu encontra-se na obra de METCALFE e CHALK¹²³. Os autores, apontaram as principais características da microscopia de folha e caule deste taxon.

Na folha¹²³, as epidermes são, geralmente, constituídas por células de tamanho reduzido. Os estômatos do tipo anomocítico ocorrem, quase exclusivamente, na epiderme inferior, embora algumas espécies do gênero *Siparuna* Aublet representem exceção a esta característica, apresentando estômatos em ambas as epidermes. Os tricomas são representados por pêlos tectores, em geral, unicelulares, dispostos em pares ou tufos e possuindo, freqüentemente, paredes celulares espessas. Tufo de pêlos longos, partindo de base lignificada foram encontrados nos gêneros *Siparuna* Aublet e *Peumus* Molina. Escamas ocorrem em *Siparuna* Aublet e outros quatro gêneros da família *Monimiaceae* Jussieu. Sob a epiderme superior, em geral, há uma ou mais camadas de células hipodérmicas, estando ausente em 8 gêneros da família entre os quais se incluem algumas espécies de *Siparuna* Aublet.

Com relação ao mesofilo foliar, os autores¹²³ observaram haver, geralmente, 1 camada de parênquima paliçádico e, raramente, dois ou mais podendo, até mesmo, este parênquima, estar ausente. Quanto ao parênquima esponjoso, apresenta-se, geralmente, frouxo.

Considerando o pecíolo, verifica-se a presença de células pétreas grandes, isoladas ou não, no parênquima fundamental de algumas monimiáceas.

Células secretoras com conteúdo claro ou castanho estão universalmente presentes, em espécies desta família, conferindo-lhes odor aromático. Na lâmina foliar, estas células são vistas, por transparência, como pontos translúcidos, estando situadas no mesofilo e, em alguns casos, na epiderme foliar de espécies do gênero *Siparuna* Aublet, entre outros.

Considerando outros idioblastos, os autores¹²³ relataram a ausência de células mucilaginosas nas monimiáceas. Cristais sob a forma de pequeninas agulhas podem estar presentes, em algumas espécies, estando, nas folhas, dispersos no mesofilo. Em algumas espécies, na região das nervuras, observam-se cristais de tamanho reduzido e de formato cúbico ou romboédrico.

No que se refere ao sistema vascular¹²³, os feixes vasculares das nervuras principais estão, em geral, envoltos por anel de esclerênquima, exceto em algumas espécies do gênero *Siparuna* Aublet. Ramificações do esclerênquima, que envolve os feixes, estendem-se para o mesofilo, em algumas espécies de *Siparuna* Aublet.

Nos caules primários¹²³, a região cortical é bem desenvolvida sendo constituída por células de paredes delgadas ou levemente colenquimatosas, como no gênero *Siparuna* Aublet. A região das paredes que delimitam os espaços intercelulares podem se tornar esclerificadas ou algumas células podem originar células pétreas, conforme se verifica em alguns representantes do gênero *Siparuna* Aublet. O periciclo é formado por anel esclerenquimático contínuo, ou quase contínuo, e constitui-se de células pétreas, com paredes tangenciais externas finas ou, ainda, pode ser representado por calotas de fibras, como se observou em espécies de *Siparuna* Aublet.

O súber surge superficialmente em algumas espécies de *Siparuna* Aublet e de *Peumus* Molina.

As células secretoras são idênticas àquelas observadas no mesofilo foliar, estando localizadas no parênquima cortical, floema, medula e, mais raramente, nos raios medulares.

No gênero¹²³ *Siparuna* Aublet, encontram-se espécies com “bolsas taníferas” na periferia da região medular e no floema. Além disso, em tecidos não lignificados de caule, comumente verifica-se a presença de cristais aciculares, dispersos ou agrupados em idioblastos.

O lenho da família *Monimiaceae* Jussieu foi objeto de estudo anátomo-sistemático de GARRATT⁵⁸, em 1934, que analisou um total de 30 espécies representadas por 12 gêneros, entre os quais o *Siparuna* Aublet. Características importantes para a diagnose destes vegetais foram arroladas. De acordo com o autor⁵⁸, os elementos de vaso de representantes da família *Monimiaceae* Jussieu apresentam placas de perfuração levemente a muito oblíquas, sendo simples e/ ou escalariformes. Em *Siparuna* Aublet a presença de ambos os tipos pode ser constatada.

O parênquima xilemático, na família *Monimiaceae* Jussieu, é normalmente pouco desenvolvido e difuso aparecendo, em faixas, entre as fibras xilemáticas. Em *Siparuna* Aublet, observa-se parênquima apotraqueal bem desenvolvido formando, freqüentemente, faixas unisseriadas, curtas, irregulares e numerosas^{58,178}.

À semelhança do que descreveu GARRATT⁵⁸ para o gênero *Siparuna* sp., WILLIS¹⁷⁸ verificou a existência de raios xilemáticos estreitos. O primeiro autor relatou a presença de raios constituídos, em geral, de 1 a 3 células de largura, raramente 4. Este autor⁵⁸ constatou na espécie *Siparuna pauciflora* A. DC. conteúdo de coloração castanha que considerou ser goma.

Conforme GARRATT⁵⁸, as fibras do xilema mostram paredes celulares variando de delgadas a muito espessas, neste caso, chegando a

quase obstruir o lúmen celular, como nas espécies seguintes: *Siparuna bifida* A. DC., *S. cervicornis* Perkins, *S. guianensis* Aublet, *S. pauciflora* A. DC., *S. poeppigii* A. DC. e *S. williamsii* MacBride. Fibras mucilaginosas ocorrem nos gêneros que apresentam fibras com paredes espessas⁵⁸. Por outro lado, fibras septadas podem ser observadas em toda a família, exceto em 2 gêneros, incluindo aquele da espécie em estudo. A mesma constatação foi feita por WILLIS¹⁷⁸.

Considerando a grande variedade de estrutura do lenho das monimiáceas, GARRATT⁵⁸ verificou gêneros com características comuns a outras famílias. Desta forma, o autor apontou a estreita semelhança existente entre o lenho de algumas espécies de *Siparuna* Aublet e aquele de espécies de miristicáceas, anonáceas, calicantáceas, hernandiáceas e urticáceas.

ESAU^{45,46} valeu-se da família para exemplificar a presença de tecido esclerenquimático envolvendo os feixes vasculares de folha. O mesmo fizeram METCALFE e CHALK¹²³.

Em 1988, MAUSETH¹²¹ descreveu a presença de hipoderme, na lâmina foliar de espécies da família em questão. O autor¹²¹ teceu comentários sobre a relação existente entre a morfologia dos elementos de vaso e das placas de perfuração com o grau evolutivo dos vegetais, tendo considerado a família *Monimiaceae* Jussieu como primitiva quanto a esta característica.

FAHN⁴⁷, em 1990, ilustrou explicação acerca da estrutura estriada de paredes secundárias lignificadas, com fibrotraqueídes da espécie *Siparuna bifida* A. DC.

Ainda no tocante à família *Monimiaceae* Jussieu, estudo anatômico de ENDRESS⁴², relacionado ao desenvolvimento morfo-embriológico de *Siparuna nicaraguensis* Hemsl., apresentou importância sistemática. O autor sustentou a teoria que leva ao surgimento da família *Siparunaceae*.

3. 1. 9 Espécies descritas do gênero *Siparuna* Aublet

Na literatura, encontram-se catalogadas 222 espécies do gênero *Siparuna* Aublet, conforme se apresenta a seguir:

- ***Siparuna alternifolia*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna amazonica*** Mart. ex A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 658, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna amplifolia*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 649, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna andina*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 648, 1868.
Basônimo: *Citriosma andina* Tulasne¹¹¹
Origem: México

- ***Siparuna apicifera*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 652, 1868.
Origem: Equador

- ***Siparuna apiosyce*** (Mart.) A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 645, 1868.
in *Engl. Bot. Jahrb.*, 28: 695, 1901¹²⁷.
Basônimo: *Citriosma apiosyce* Martius - ex Tulasne⁹
in *Ann. Sci. Nat. Sér. 4. 3:* 34, 1855.¹²⁷
in *Monogr.* 322, 1855¹²⁷.
in *Fl. Bras.* 4(1): 299, 1857¹²⁷.
Origem: Brasil (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo)

- ***Siparuna archeri*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 517, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna arianae*** M. V. L. Pereira¹³⁶
in *Bradea* 4 (36): 291 - 294, 1986.
Origem: Brasil (Rio de Janeiro)

- ***Siparuna argyrochrysea*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 702, 1901.
Origem: Guiana

- ***Siparuna aspera*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 645, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna asperula*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 647, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna asterotricha*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 520, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna auriculata*** A. DC.⁸²
in: *Journ. Bot.* 3: 219, 1865.
Origem: Peru

- ***Siparuna austromexicana*** D. H. Lorence¹¹¹
in *Ann. Inst. Biol. Univ. Nat. Autôn. México* 54: 159 - 172,
1983.
Origem: México

- ***Siparuna bahiensis*** Tolmatchev⁸⁸
in: *Not. Syst. Herb. Hort. Petrop.* 2: 155, 1921.
Origem: Brasil (Bahia)

- ***Siparuna bifida*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 652, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna boliviensis*** Herzog⁸⁸
in *Meded. Herb. Leid.* 40: 3, 1921.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna brasiliensis*** (Spreng.) A. DC.^{82,120}
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Basônimo: *Citriosma brasiliensis* Sprengel^{82,120}
in *Syst.* 2: 545, 1825¹²⁰.
Origem: Brasil

- ***Siparuna budleiaefolia*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 652, 1868.
Origem: Equador

- ***Siparuna calignosa*** J. F. Mac Bride⁹⁰
in *Candollea*. 353, 1934.
Origem: Peru

- ***Siparuna calocarpa*** J. Perkins⁸⁴
in *Fedde, Repert. Nov. Sp.* 1: 153, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna caloneura*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 681, 1901.
Origem: Índia Ocidental

- ***Siparuna campi*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in *Novon.* 6 (1): 103 - 116, 1996.
Origem: Equador Central

- ***Siparuna camporum*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 654, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna cauliflora*** Hemsl.^{39,82}
in *Biol. Centr. Am. Bot.* 3: 69, 1882.
Origem: Panamá

- ***Siparuna cascada*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in *Novon.* 6 (1): 103 - 116, 1996.
Origem: Equador (Sudeste)

- ***Siparuna cavalcantei*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi Ser. Bot.*, 7 (1): 115-152,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna cervicornis*** Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47:145, 1905.
Origem: Amazônia

- ***Siparuna chiridota*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 649, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna chlorantha*** Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 677, 1901.
Origem: Brasil

- ***Siparuna chrysantha*** Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 686, 1901.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna chrysothrix*** Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 31: 746, 1902.
Origem: América Central

- ***Siparuna cinerea*** Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 695, 1901.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna colimensis*** Perk.¹¹¹
in *Bot. Jahrb. Syst.* 28: 682, 1901.
Origem: México

- ***Siparuna conica*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in *Novon.* 6 (1): 103 - 116, 1996.
Origem: Equador (Noroeste)

- ***Siparuna cordata*** Tolmatchew⁸⁸
in *Not. Syst. Herb. Hort. Petrop.* 2: 155, 1921.
Origem: Brasil (São Paulo)

- ***Siparuna coriacea*** J. Perkins^{89.137}
in *Notizbl. Bot. Gart. u. Mus. Berlin* 10 (92): 166, 1927.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna crassiflora*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 702, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna cristata*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 655, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna croatti*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴³
in *Novon* 5 (1): 61 - 62, 1995.
Origem: Equador Central

- ***Siparuna cujabana*** (Mart.) A. DC. *cujabana*⁸²
in *Prod.* 16 (2): 644, 1868.
Basônimo: *Citriosma cujabana* Martius - ex Tulasne⁹
Origem: Brasil (São Paulo e Minas Gerais)

- ***Siparuna cujabana*** variedade *plebeia* (Tul.) A. DC.⁹
in *Prod.* 16 (2)²: 644, 1868.
Basônimo: *Citriosma plebeia* Tulasne
Origem: Brasil

- ***Siparuna cujabana*** variedade *foliosa* (Tul.) Perkins^{9,120}
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 694, 1901.
Basônimo: *Citriosma foliosa* Tulasne
in *Ann. Sci. Nat. Sér.* 3. 4: 38, 1855¹²⁰.
Origem: Brasil

- ***Siparuna cuspidata*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 655, 1868.
Origem: Guiana

- ***Siparuna cuzcoana*** J. Perkins⁸⁶
in *Engl. Bot. Jahrb.* 45: 461, 1911.
Origem: Peru

- ***Siparuna cymosa*** A. Tolmatchew⁸⁸
in *Not. Syst. Herb. Hort. Petrop.* 2: 156, 1921.
Origem: Brasil (Bahia)

- ***Siparuna dasyantha*** J. Perkins⁸⁶
in *Notizbl. Bot. Gart. Berlin.* 6: 134, 1914.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna davillifolia*** J. Perkins^{84,111}
in *Journ. Engl. Jahrb.* 28: 681, 1901.
Origem: América Central (Nicarágua)

- ***Siparuna decipiens*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 643, 1868.
Origem: Guiana

- ***Siparuna depressa*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 152,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna diandra*** J. Duke³⁹
in *Ann. Missouri Bot. Gard.* 49 234, 1963.
in: *Fl. Panama*, 4: 546, 1963
Origem: Panamá

- ***Siparuna discolor*** A. DC.^{82,120}
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Baônimo: *Citriosma discolor* Poepp. et Endler¹²⁰
in *Nov. Gen et Sp.*, 3:48, 1817.
Origem: América tropical

- ***Siparuna dresslerana*** T. M. Antonio⁶⁰
in *Phytochem.* 25 (9): 2156, 1986.
Origem: Panamá

- ***Siparuna duckeana*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna echinata*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 652, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna ecuadorica*** Heilb.⁹⁰
in *Svensk. Bot. Tidskr.* 25: 203, 1931.
Origem: Equador

- ***Siparuna eggersii*** Hieron^{83,150}
in: *Engl. Bot. Jahrb* 20 (49): 17, 1895.
in: *Etnol. Stud.* 32: 115 - 138, 1972
Origem: Equador, Bolívia

- ***Siparuna elliptica*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 521, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna emarginata*** R. S. Cowan⁹³
in *Brittonia* 8: 237, 1957.
Origem: Brasil (Amapá)

- ***Siparuna episciifolia*** A. C. Smith^{90,162}
in *Phytologia* 1 (3): 127, 1935.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna eriocalyx*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 646, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna erythrocarpa*** (Mart.) A. DC.^{82,120}
in *Prod.* 16 (2): 643, 1868.
Basônimo: *Citriosma erythrocarpum* Martius ex Tulasne⁹
in *Ann. Sci. Nat Sér. 3.* 4:32, 1855¹²⁰.
Origem: Brasil (São Paulo)

- ***Siparuna espinhacensis*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna estrellensis*** (Tul.) A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 644, 1868.
Basônimo: *Citriosma estrellensis* Tulasne⁹
Origem: Brasil (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo)

- ***Siparuna exsculpta*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 144, 1905.
Origem: Peru

- ***Siparuna foetida*** B. Rodrigues^{83,120}
in *Vellozia* (1885-1888), 2 ed. 21 (1): 68, 1891.
Origem: Brasil

- ***Siparuna foliosa*** (Tul.) A. DC.^{82,120}
in *Prod.* 16 (2): 650, 1868.
Basônimo: *Citriosma foliosa* Tulasne^{9,120}
Origem: Brasil

- ***Siparuna fosbergii*** A. C. Smith⁹²
in *Amer. Journ. Bot.* 40, 469, 1953.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna fuchsiifolia*** P. C. Standley^{90,167}
in *Tropical Woods* 42: 29, 1935.
Origem: Equador

- ***Siparuna fulva*** A. DC.⁸²
in *Journ. Bot.* 3: 219, 1865.
Origem: Peru

- ***Siparuna galbina*** J. F. Mac Bride⁹⁰
in *Candollea* 354, 1934.
Origem: Peru

- *Siparuna geniculata* A. C. Smith^{101,163}
in *Am. Journ. Bot.* 27 (7): 541, 1940.
Origem: Colômbia

- *Siparuna gesnerioides* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 646, 1868.
Origem: Nova Granada

- *Siparuna gigantophylla* J. Perkins⁸⁷
in *Jahrb. Liv. Beibl.* 118: 2, 1916.
Origem: Peru

- *Siparuna gigantotepala* S. S. Renner & G. Hausner¹⁴³
in *Novon* 5 (1): 68, 1995.
Origem: Equador

- *Siparuna gilgiana* J. Perkins⁸⁵
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin.* 10 (92): 161, 1927.
Origem: Peru

- *Siparuna glabra* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Origem: Brasil

- *Siparuna glabrescens* (Mart.) A. DC.^{82,120}
in *Prod.* 16 (2): 648, 1868.
Basônimo: *Citriosma glabrescens* Martius - ex Tulasne¹²⁰
Monogr. 361, 1855.
Origem: Índia Ocidental
 - *Siparuna glabrescens* (Presl.) Stehé & Quentin⁸³
(redescrção)
in *Fl. Guadeloupe & Depend.* 2: 29, 1938; cf *Gray Herb. Card Cat.*, Issue 161: *Citriosma glabrescens*
Origem: Guadalupe

- *Siparuna glossostyla* J. Perkins^{84,120}
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 704, 1901.
Origem: Brasil (São Paulo)

- *Siparuna goudotiana* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 651, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna grandiflora*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 685, 1901.
Basônimo: *Citriosma grandiflora*
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna grisea*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 31: 747, 1902.
Origem: América Central

- ***Siparuna griseo-flavescens*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 693, 1901.
Origem: América Central

- ***Siparuna guajalitensis*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in: *Novon* 6 (1): 103 - 116, 1996.
Origem: Equador Central

- ***Siparuna guianensis*** (Aubl.) Tulasne^{9,39,82,120}
in *Hist.Pl. Guian.Fr.* 2: 865, t. 333, 1775^{9,39}.
in *Candollea*, 42 (1): 97 -106, 1987¹⁰⁶.
in *Fl. Bras.* 4 (1): 306, 1857¹²⁰.
Basônimo: *Citriosma guianensis* (Aublet)Tulasne^{39,77,120}
in: *Monogr.* 361, 1855.
in *Fl. Bras.* 4 (1): 306, 1857.
Origem: Guiana, Venezuela, Bolívia, Brasil

- ***Siparuna harlingii*** S.S. Renner & G. Hausner¹⁴³
in *Novon* :5 (1): 66-68, 1995.
Origem: Equador

- ***Siparuna harongifolia*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 686, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna hemisphaerica*** A. C. Smith^{90,162}
in *Phytologia* 1 (3): 126, 1935.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna heteropoda*** J. Perkins⁸⁶
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin.* 6: 135, 1914.
Origem: Brasil (Amazônia)

- ***Siparuna hispida*** A. DC.⁸²
in *Jour. Bot.* 3: 219, 1865.
Origem: Peru, Bolívia

- ***Siparuna holtooi*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 652, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna huilensis*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 521, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna hylophila*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 685, 1901.
Origem: Brasil

- ***Siparuna hypoglauca*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 691, 1901.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna idroboi*** A. C. Smith⁹²
in *Journ. Wash. Acad. Sci.* 43: 204, 1953.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna insculpta*** Perkins ex Ule⁸⁵
in *Engl. Bot. Jahrb.* 40: 420, 1908.
Origem: Amazônia

- ***Siparuna itacaiunensis*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna killipii*** Perkins^{89,137}
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin.* 10 (92): 164, 1927.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna krukovii*** A. C. Smith^{90,63}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 60 (5): 352, 1933.
Origem: Brasil (Mato Grosso)

- ***Siparuna kunthii*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 649, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna lagopus*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 648, 1868.
Origem: Nova Granada

- *Siparuna lanceolata* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 644, 1868.
Origem: Brasil

- *Siparuna langsdorfii* Tolmatchew⁸⁸
in *Not. Syst. Herb. Hort. Petrop.* 2: 154, 1921.
Origem: Brasil (Rio de Janeiro)

- *Siparuna laurifolia* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 651, 1868.
Origem: Nova Granada

- *Siparuna lepidantha* J. Perkins^{84,106}
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 701, 1901.
in: *Candollea*, 42 (1): 97-106, 1987.
Origem: América do Sul (tropical)

- *Siparuna lepidiflora* Perkins^{89,137}
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin* 10 (92): 166, 1927.
Origem: Peru

- *Siparuna lepidota* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 651, 1868.
Origem: Nova Granada

- *Siparuna limoniodora* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 646, 1868.
Origem: Peru

- *Siparuna lindeni* A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Origem: Brasil

- *Siparuna lorentensis* J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 143, 1905.
Origem: Peru

- *Siparuna lyrata* J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 142, 1905.
Origem: Peru

- *Siparuna macra* P. C. Standley⁹¹
in *Publ. Field Mus. Nat. Hist. Chicago, Bot. Ser.* 22: 75,
1940.
Origem: Costa Rica

- ***Siparuna macrophylla*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 646, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna macrotepala*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 140, 1905.
Origem: Peru

- ***Siparuna magnifica*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 699, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna manaonensis*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna maricata*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 651, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna mathewsii*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 680, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna metensis*** A. C. Smith^{90,162}
in *Phytologia* 1: 128, 1935.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna mexiae*** H. Sleumer⁹¹
in *Fedde, Repert.* 42, 261, 1937.
Origem: Equador

- ***Siparuna micrantha*** A. DC.⁸²
in *Journ. Bot.* 3: 219, 1865.
Origem: Brasil

- ***Siparuna microphylla*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 140, 1905.
Origem: Amazônia

- ***Siparuna minutiflora*** J. Perkins⁸⁴
in *Bot. Jahrb.* 28: 674, 1901.
Origem: Brasil

- ***Siparuna mollicoma*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 653, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna mollis*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 653, 1868.
Basônimo: *Citriosma molle* e *Citriosma dubium* H. B. K.⁹
Origem: Nova Granada, Colômbia, Brasil (S. P.)

- ***Siparuna monogyna*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi Sér. Bot.* 7 (1): 115 -152,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna mourae*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 675, 1901.
Origem: Brasil

- ***Siparuna multiflora*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in: *Novon* 6 (1): 103 -116, 1996.
Origem: Equador (Noroeste)

- ***Siparuna muricato-alata*** Herzog⁸⁸
in *Meded. Herb. Leid.* 40: 4, 1921.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna mutisii*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 650, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna neglecta*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 647, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna nicaraguensis*** Hemsl.^{39,82,111}
in *Biol. Centr. Amer. Bot.* 3: 69, 1882 .
Origem: Nicarágua, México

- ***Siparuna nigra*** Rusby.⁸³
in *Mem. Torrey Bot. Club.* 4: 252, 1895.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna obconica*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna oblongifolia*** (Spreng.) A. DC.^{82,120}
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Basônimo: *Citriosma oblongifolium* Sprengel - ex
Tulasne¹²⁰
in *Monogr.* 361, 1855.
Origem: Peru

- ***Siparuna obovata*** (Gardn.) A. DC.^{82,95,120}
in *Prod.* 16 (2): 644, 1868.
Basônimo: *Citriosma obovata* Gardner⁹⁵
Origem: Brasil

- ***Siparuna obovata*** (Gardn.) A. DC. variedade *obtusifolia*
A. DC.¹²⁰
in *Prod.* 16 (2): 644, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna obstipa*** J. F. Macbride⁹⁰
in *Candollea* 354, 1934.
Origem: Peru

- ***Siparuna oligandra*** (Tul.) A. DC.^{95,120}
Basônimo: *Citriosma oligandra* Tulasne⁹⁵
in *Monogr.* 315, 1855.
Origem: Brasil (Mato Grosso, Minas Gerais, Bahia, Rio de
Janeiro e São Paulo)

- ***Siparuna oligocarpa*** (Tul.) Martius¹²⁰
Basônimo: *Citriosma oligocarpa* Martius - ex Tulasne
in *Monogr.* 370, 1855.
Origem: Brasil, Trindade, Guiana e Bolívia

- ***Siparuna oligogyna*** A. C. Smith⁹²
in *Journ. Wash. Acad. Sci.* 43: 204, 1953.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna olivaceo-velutina*** H. Steumer^{90,160}
in *Notizbl. Bot. Gart. u. Mus. Berlin*, 12 (111): 67, 1934.
Origem: Equador

- ***Siparuna ovalis*** A. DC.^{23,82}
in *Prod.* 16 (2): 650, 1868.
in *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, 439, p. 71, 1933.
Origem: Peru, EUA (Oregon)

- ***Siparuna pachiantha*** A. C. Smith^{91,163}
in *Journ. Arn. Arb.* 20 (3), 293, 1939.
Origem: Brasil (Amazonas)

- ***Siparuna palenquensis*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴³
in *Novon* 5 (1): 63 - 66, 1995.
Origem: Equador (Pacífico)

- ***Siparuna panamensis*** A. DC.^{82,120}
in *Journ. Bot.* 3: 219, 1865.
in *Prod.* 16 (2): 648, 1868.
Origem: Panamá

- ***Siparuna paniculata*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna paralleloneura*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 688, 1901.
Origem: América Central

- ***Siparuna parviflora*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand* 47: 141, 1905.
Origem: Peru

- ***Siparuna patelliformis*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 692, 1901.
Origem: América Central

- ***Siparuna pauciflora*** (Beurl.) A. DC.^{39,82}
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Basônimo: *Citriosma pauciflora* Beurl.
in: *Vet. Akad. Handl. Stock.*, 1854:144, 1856.
Origem: Panamá

- ***Siparuna pectinata*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 522, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna pellita*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 645, 1868.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna pennellii*** J. Perkins^{89,137}
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin* 10 (92): 162, 1927.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna perkinsiana*** P. C. Standley⁹¹
in *Publ. Field. Mus. Nat. Hist. Chicago*, Bot. Ser. 13 (2):
812, 1938.
Origem: Peru

- ***Siparuna petasiformis*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna petiolaris*** A. DC.⁸²
Prod. 16 (2): 651, 1868.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna phaneroneura*** P. C. Standley^{90,167}
in *Tropical Woods* 42: 28-29, 1935.
Origem: Equador

- ***Siparuna piloso-lepidota*** Heilb.⁹⁰
in *Svensk. Bot. Tidskr.* 25: 207, 1931.
Origem: Equador

- ***Siparuna pittieri*** Knuth⁸⁹
in *Fedde, Repert. Beih.* 43: 335, 1927.
Origem: Venezuela

- ***Siparuna pittieri*** J. Steyermark^{92,168}
in *Fieldiana Bot.* 28 (1): 236, 1951.
Origem: Venezuela

- ***Siparuna plana*** J. F. Macbride⁹⁰
in *Candollea*, 355, 1934.
Origem: Peru

- ***Siparuna podocarpa*** J. Perkins⁸⁷
in *Jahrb. Liv. Beibl.* 118: 2, 1916.
Origem: Peru

- ***Siparuna poeppigii*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 653, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna polyantha*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 646, 1868.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna pseudospectabilis*** H. Sleumer⁹¹
in *Fedde, Repert.* 39: 276, 1936.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna pseudo-umbellata*** J. Perkins⁸⁷
in *Bot. Jahrb. Liv. Beibl.* 118: 2, 1916.
Origem: Peru

- ***Siparuna pubancura*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in: *Novon* 6 (1): 103 -116, 1996.
Origem: Equador Central

- ***Siparuna pyricarpa*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 690, 1901.
Basônimo: *Citriosma pyricarpa*
Origem: Peru

- ***Siparuna quadrangularis*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (5): 524, 1932.
Origem: Equador

- ***Siparuna radiata*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 656, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna reginae*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 654, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna rimbachii*** P. C. Standley^{90,167}
in *Tropical Woods*, 42: 27-28, 1935.
Origem: Equador

- ***Siparuna rionegrensis*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emilio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna riparia*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 647, 1868.
Origem: México

- ***Siparuna riparia variedade calantha*** J. Perkins¹³⁷
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin*, 10 (92):158 -1168,
1927.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna ruficeps*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 645, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna rugosa*** J. Steyermark⁹⁴
in *Phytologia* 9: 342, 1963.
Origem: Equador

- ***Siparuna salvioides*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 697, 1901.
Origem: Equador

- ***Siparuna santae-luciae*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 677, 1901.
Origem: Índia Ocidental

- ***Siparuna sarmentosa*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 145, 1905.
Origem: Amazonas

- ***Siparuna saurauifolia*** J. Perkins⁸⁴
in *Fedde, Repert. Nov. Sp.* 1: 155, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna savanicola*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna scabra*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 684, 1901.
Origem: Índia Ocidental

- ***Siparuna scandens*** D. H. Lorence¹¹¹
in *An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. México* 54: 159 - 172,
1983.
Origem: México

- ***Siparuna schimpffii*** Diels⁹¹
in *Biblioth. Bot.* 29 (116): 87 1937.
Origem: Equador

- ***Siparuna sessiliflora*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 647, 1868.
Origem: Nova Granada.

- ***Siparuna sinuata*** A. C. Smith⁹⁰
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 518, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna solimonensis*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna spectabilis*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 686, 1901.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna sprucei*** A. DC.⁸²
in *Journ Bot.* 3: 219 , 1865.
Origem: Nova Granada
 - ***Siparuna sprucei*** Rusby¹²⁰
in *Mem. Torrey Bot. Club.* 6: 112, 1896.
Origem: Brasil, Trindade, Guiana, Bolívia.

- ***Siparuna steleandra*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 700, 1901.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna stellulata*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 689, 1901.
Origem: Venezuela

- ***Siparuna suaveolens*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 647, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna subinodora*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 649, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna subscandens*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 523, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna sumichrastii*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 682, 1901.
Origem: México

- ***Siparuna surinamensis*** J. Lanjow^{90,102}
in *Rec. Trav. Bot. Néerl.* 32 (1): 240, 1935.
Origem: Guiana

- ***Siparuna tabacifolia*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver. Brand.* 47: 144, 1905.
Origem: Peru

- ***Siparuna tapatana*** A. C. Smith^{90,161}
in *Bull. Torr. Bot. Cl.* 59 (9): 519, 1932.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna tayloriana*** J. Perkins^{89,137}
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin.* 10 (92): 162, 1927.
Origem: Peru

- ***Siparuna tenuipes*** J. Perkins^{84,120}
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 680, 1901.
Origem: Brasil (São Paulo)

- ***Siparuna ternata*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 691, 1901.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna tetraceroides*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 689, 1901.
Origem: América Central

- ***Siparuna tetradenia*** J. Perkins^{89,137}
in *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin.* 10 (92): 163, 1927.
Origem: Bolívia

- ***Siparuna thea*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 657, 1868.
Origem: Brasil

- ***Siparuna thecaphora*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 657, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna tomentosa*** A. DC.⁸²
in *Prod.* 16 (2): 657, 1868.
Origem: Peru

- ***Siparuna tomentosa*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 691, 1901.
Basônimo: *Citriosma tomentosa*
Origem: Peru

- ***Siparuna tonduziana*** J. Perkins^{39,84}
in *Engl. Bot. Jahrb.* 31: 746, 1902.
Origem: América Central

- ***Siparuna trianaei*** A. DC.⁸²
in *Journ. Bot.* 3: 219, 1865.
Origem: Nova Granada

- ***Siparuna tubinambarum*** J. Jangoux⁹⁶
in *Bol. Mus. Para Emilio Goeldi. Sér. Bot.* 7 (1): 115 - 52,
1991.
Origem: Brasil (Amazonas), Bolívia, Colômbia, Peru

- ***Siparuna tulasnei*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 688, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna ucayalensis*** J. Perkins^{89,137}
in: *Notizbl. Bot. Gart. u. Mus. Berlin.* 10 (92): 167, 1927.
Origem: Peru

- ***Siparuna uleana*** J. Perkins⁸⁴
in *Verh. Bot. Ver Brand.* 47: 142, 1905.
Origem: Peru

- ***Siparuna umbelliflora*** J. Perkins⁸⁴
in *Fedde, Repert. Nov. Sp.* 1: 153, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna urbaniana*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 683, 1901.
Origem: Índia Ocidental

- ***Siparuna valenzuelae*** J. Cuatrecasas^{32,90}
in *Trab. Mus. Cienc. Nat., Madrid, Ser. Bot.* n. 27, cuadro
2, 1934.
in *Trab. Mus. Cienc. Nat., Madrid,* n. 29, 7, 1935. - descr.
Origem: Colômbia

- ***Siparuna velutina*** (Presl.) Moldenke⁹¹
in *Rev. Sudamer. Bot.* 4: 17, 1937.
Basônimo: *Callicarpa velutina*
Origem: América do Sul

- ***Siparuna venezuelensis*** J. Perkins⁸⁴
in *Engl. Bot. Jahrb.* 28: 679, 1901.
Origem: Venezuela

- ***Siparuna verrucosa*** J. Steyermark⁹⁴
in *Phytologia* 9: 343, 1963.
Origem: Equador

- ***Siparuna verticillata*** S. S. Renner & G. Hausner¹⁴⁴
in: *Novon* 6 (1): 103 -116, 1996.
Origem: Equador (Amazônia)

- ***Siparuna weberbaueri*** J. Perkins⁸⁴
in *Fedde, Repert. Nov. Sp.* 1: 154, 1901.
Origem: Peru

- ***Siparuna williamsii*** J. F. Macbride⁹⁰
in *Candollea* 353: 1934.
Origem: Peru

3. 1. 10 Espécies do gênero *Siparuna* Aublet sinonimizadas

- *Siparuna andina* A. DC.⁸²
- = *Siparuna colimensis* Perkins¹¹¹
- = *Siparuna nicaraguensis* Hemsl.¹¹¹

- *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC. var. *foliosa* (Tul.) Perkins^{9,120}
- = *Siparuna foliosa* (Tul.) A. DC.¹²⁰

- *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC.¹²⁰
- = *Siparuna oligandra* (Tul.) A. DC.^{95,120}
- = *Siparuna obovata* (Gardn.) A. DC.^{82,95,120}
- = *Siparuna obovata* (Gardn.) A. DC. var. *obtusifolia* A. DC.¹¹⁵

- *Siparuna guianensis* (Aublet) Tulasne^{82,120}
- = *Siparuna discolor* A. DC.^{39,120}
- = *Siparuna foetida* B. Rodrigues³⁹
- = *Siparuna glabrescens* (Mart.) A. DC.^{82,120}
- = *Siparuna guianensis* β *glabrescens* A. DC.³⁹
- = *Siparuna guianensis* γ *longifolia* A. DC.³⁹
- = *Siparuna guianensis* δ *divergentifolia* A. DC.³⁸
- = *Siparuna guianensis* var. *nitens* O. Kuntze³⁸
- = *Siparuna oblongifolia* (Spreng.) A. DC.^{97,120}
- = *Siparuna panamensis* A. DC.³⁹
- = *Siparuna sprucei* A. DC.^{82,120}
- = *Citrosma oligocarpa* (Tul.) Martius¹²⁰

- *Siparuna oligandra* (Tul.) A. DC.^{95,120}
- = *Siparuna obovata* (Gardn.) A. DC.¹²⁰

- = *Citrosma cujabana* Martius⁹⁵
- = *Citrosma obovata* Gardner⁹⁵
- = *Citrosma oligandra* Tulasne⁹⁵

- *Siparuna pauciflora* (Beurl.) A. DC.⁸²
- = *Siparuna cauliflora* Hemsl.³⁹

- *Siparuna riparia* A. DC.⁸²
- = *Siparuna tonduziana* J. Perkins¹¹¹

- *Siparuna sumichrastii* J. Perkins⁸⁴
- = *Siparuna tonduziana* J. Perkins¹¹¹

RENNER e HAUSNER¹⁴³ citam as seguintes espécies de *Siparuna* Aublet, que apresentam características semelhantes:

- *Siparuna aspera* A. DC.⁸²
- ~ *Siparuna harlingii* S. S. Renner & G. Hausner¹⁴³

- *Siparuna eggertii* Hieron^{83,150}
- ~ *Siparuna palenquensis* S. S. Renner & G. Hausner¹⁴³

- *Siparuna subscandens* A. C. Smith¹⁴³
- ~ *Siparuna gigantotepala* S. S. Renner & G. Hausner¹⁴³

3. 2 Aspectos químicos

3. 2. 1 Aspectos químicos da família *Monimiaceae* Jussieu

Os alcalóides são componentes freqüentes na família *Monimiaceae* Jussieu^{31,72}, sendo comuns aqueles de estrutura isoquinolínica^{61,62,156}. Entre eles encontram-se os alcalóides benzilisoquinolínicos^{61,62,154,156}, precursores biossintéticos de outras classes de alcalóides isoquinolínicos^{61,153,154,155,156} que, igualmente, ocorrem na família, sendo esses: isoquinolônicos¹⁵⁶, bisbenzilisoquinolínicos^{61,62,72,156}, proaporfínicos¹⁵⁶, noraporfínicos¹⁵⁶, aporfínicos^{61,62,65,66,67,68,72,154,156}, além daqueles derivados morfínicos^{60,156}. Outras isoquinolinas presentes na família são alcalóides derivados de aporfinas e de seus sais quaternários¹⁵⁶, sendo, respectivamente, oxoaporfínicos^{65,66,67,68,156,157} e fenantrênicos¹⁵⁶.

Em monimiáceas também são encontrados éteres e ésteres fenólicos⁶², taninos^{31,62}, flavonóides³¹, óleo essencial^{30,123} e lignanas^{31,62}. No entanto, KAPLAN⁹⁸, em seu estudo quimiosistemático, não considerou as lignanas como componentes característicos da família, ao contrário dos alcalóides benzilisoquinolínicos e bisbenzilisoquinolínicos. Outros compostos arrolados foram: leucoantocianinas⁶², monoterpenos e sesquiterpenos⁶².

3. 2. 2 Aspectos químicos do gênero *Siparuna* Aublet

O gênero *Siparuna* Aublet, apesar do número de espécies classificadas^{31,58,73,143}, não foi ainda motivo de amplo estudo químico, sendo reduzido o número de pesquisas^{11,20,26,40,60,99,108,109,110,171,172} a este respeito.

Entre os principais constituintes encontrados neste taxon, até o momento, os alcalóides foram os mais estudados^{20,26,60,99,108,109,110,164,171,172}, quando comparados aos demais componentes: óleo essencial^{11,115,134}, esteróides^{20,99,172}, flavonóides¹⁷² e sesquiterpenos⁴⁰. Outras substâncias relatadas, no gênero⁴⁰, são: esqualeno, hidrocarbonetos de cadeia reta, glicerídios, ácidos graxos e seus ésteres metílicos. O gênero foi considerado acumulador de alumínio^{62,72}, entre outros da família *Monimiaceae* Jussieu.

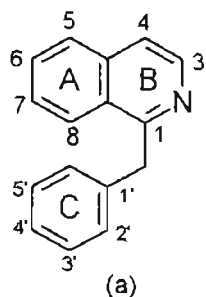
PECKOLT e PECKOLT¹³³ realizaram a primeira análise química do gênero *Siparuna* Aublet, empregando, para este mistér, *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.

Na sequência, faz-se breve relato dos principais grupos de substâncias isolados a partir do gênero *Siparuna* Aublet.

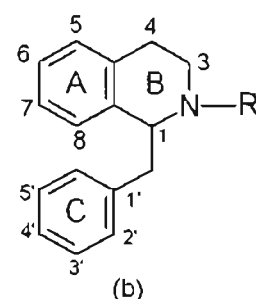
Os estudos químicos efetuados, especificamente, a partir de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. são tratados em item à parte.

3. 2. 2. 1 Alcalóides

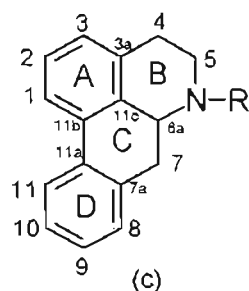
Segundo pesquisas realizadas^{20,28,60,99,108,109,110,164,171,172}, no gênero, entre os alcalóides identificados constam as seguintes estruturas: benzilisoquinolínica⁹⁹ (a); 1,2,3,4-tetrahydrobenzilisoquinolínica¹⁰⁹ (b); aporfínica (c); noraporfínica^{108,109,110,171,172} (d); oxoaporfínica^{20,26,60,108,109,110} (e); morfinandienônica⁶⁰ (f).



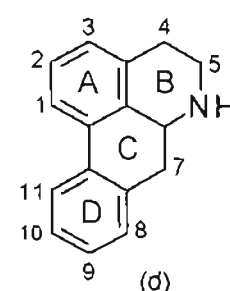
benzilisoquinolina



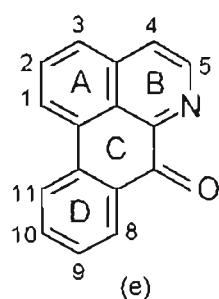
1,2,3,4-tetrahidro-benzilisoquinolina



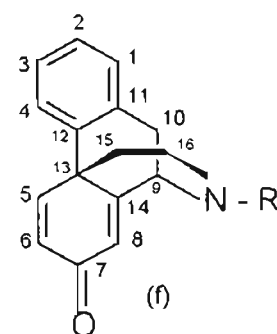
aporfina



noraporfina



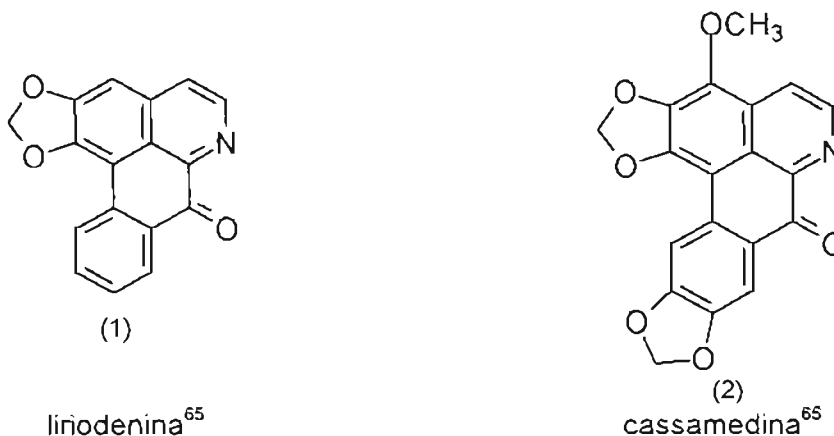
oxoaporfina



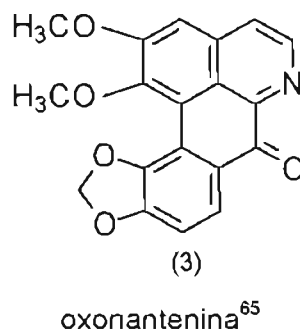
morfinandienona

A abordagem fitoquímica efetuada por SMOLENSKI e colaboradores¹⁶⁴, em 1975, foi direcionada, exclusivamente, para a pesquisa de alcalóides. Cerca de 1000 extratos vegetais foram obtidos de 573 espécies pertencentes a 102 famílias botânicas. As monimiáceas foram representadas por uma única espécie, a *Siparuna pauciflora* A. DC. Os testes fitoquímicos efetuados com frutos deste vegetal resultaram positivos para a presença desse grupo de princípios ativos.

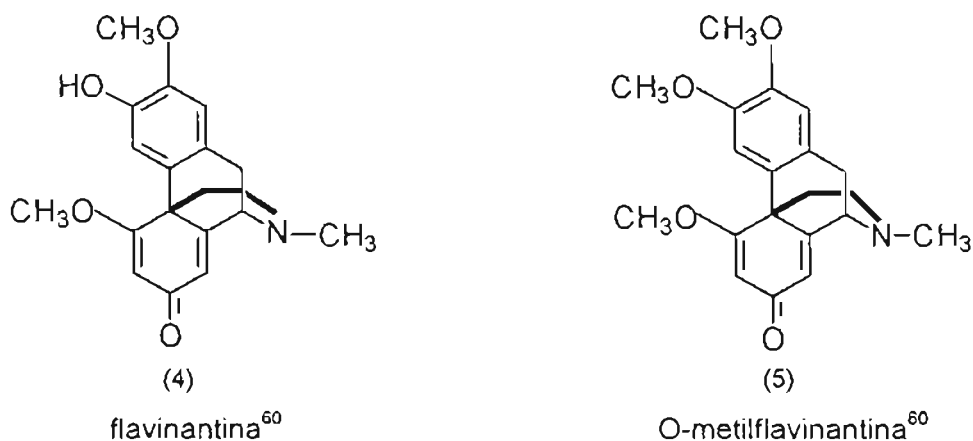
Em 1976, BRÁZ F^o. e colaboradores²⁰ realizaram o primeiro isolamento de componentes do gênero, a partir da espécie *Siparuna guianensis* Aublet. O extrato hexânico do lenho apresentou em sua composição 2 alcalóides oxoaporfínicos: liriodenina (1) e cassamedina (2).



A pesquisa de CHIU e colaboradores²⁶, em 1982, a primeira com a espécie *Siparuna gilgiana* Perkins, permitiu caracterizar oxonantenina (3), na raiz do vegetal, sendo outro alcalóide oxoaporfínico, até então inédito, no gênero. Além deste, os autores verificaram a presença de liriodenina (1). Estes resultados serviram de referência para revisão acerca de alcalóides aporfínicos e de suas fontes botânicas, empreendida por GUINADEAU e colaboradores⁶⁸. Os autores relataram a ocorrência, somente, dessas 2 oxoaporfínicas, no gênero *Siparuna* Aublet, sem haver mencionado os resultados de BRAZ F^o. e colaboradores²⁰.

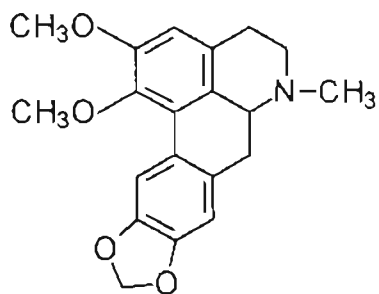


Outras 3 espécies de *Siparuna* Aublet foram analisadas por GÉRARD, e colaboradores⁶⁰, em 1986. O extrato metanólico de *Siparuna dresslerana* T. M. Antonio revelou a presença de 2 alcalóides morfinandienônicos, até então não verificados no gênero, ou seja, flavinantina (4) e O-metilflavinantina (5). Além destes, identificaram liriodenina (1), nos frutos de *Siparuna nicaraguensis* Hemsl., anteriormente constatada no taxon^{20,26}. No entanto, este alcalóide não foi encontrado nas folhas do vegetal. Todavia, verificaram apenas traços de alcalóides nas folhas de *Siparuna patelliformis* Perkins.

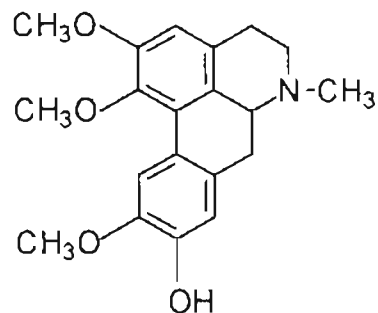


Em 1988, LOPEZ e colaboradores¹⁰⁸ deram início a uma série de estudos relativos aos alcalóides do gênero *Siparuna* Aublet. O extrato etanólico obtido a partir de caule de *Siparuna pauciflora* A. DC. foi submetido ao processo clássico de extração desses princípios ativos. A fase clorofórmica resultante foi fracionada em coluna cromatográfica e a eluição realizada com mistura de solventes com polaridade crescente constituída de clorofórmio-metanol, tendo isolado os seguintes compostos: nantenina (6), N-metil-laurotetanina (7), noroliverolina (8). A obtenção de nantenina (6) representou o primeiro isolamento desta, na família *Monimiaceae* Jussieu. Em contraste, N-metil-laurotetanina (7) foi arrolada entre outros gêneros da mesma e de outras 8 famílias^{65,66,67}. Por sua vez, a

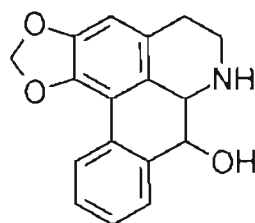
noraporfina noroliverolina (8) havia sido isolada a partir de uma espécie de anonácea¹⁸².



(6)

nantenina⁶⁵

(7)

N-metil-laurotetanina⁶⁵

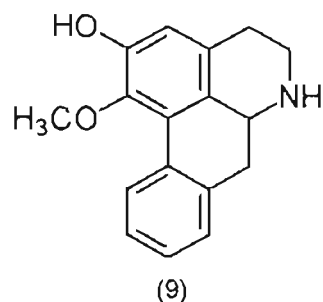
(8)

noroliverolina^{1,67}

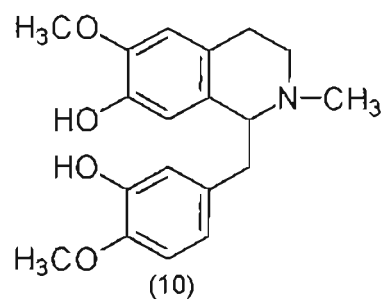
Apesar das pesquisas^{60,108} efetuadas com o gênero *Siparuna* Aublet, no período compreendido entre 1983 a 1988, GUINAUDEAU e colaboradores⁶⁸, em sua última revisão, não atualizaram os dados sobre os alcalóides aporfínicos do taxon, constando, somente, como fonte botânica de liriodenina (1).

Em estudo de 1990, LOPEZ e colaboradores¹⁰⁹ realizaram isolamento de alcalóides da espécie *Siparuna tonduziana* Perkins. Para tanto, empregaram cromatografia preparativa e fases móveis constituídas por misturas de n-hexano, acetona e hidróxido de amônio. Na raiz, evidenciaram a presença de asimilobina (9), uma noraporfina, até então, inédita no gênero e originalmente isolada de *Asimina triloba* Dunal (*Annonaceae*)^{155,170}. Os autores¹⁰⁹, também, obtiveram reticulina (10), alcalóide 1,2,3,4-tetrahidrobenzilisquinolínico, conhecido por ser

intermediário biossintético de alcalóides de estrutura altamente modificada, com esqueleto morfínico^{146,154,156}.

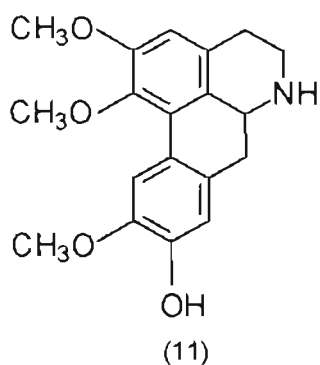


asimilobina⁶⁵

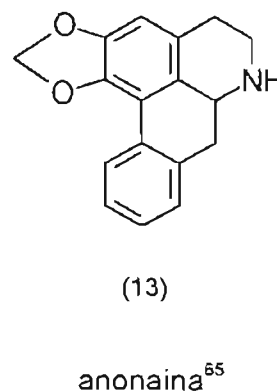
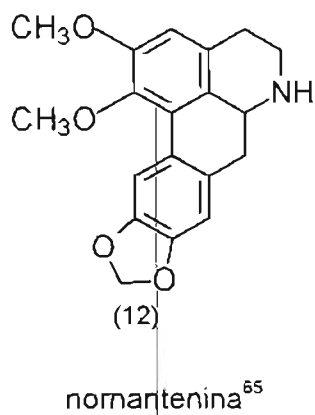


reticulina¹²²

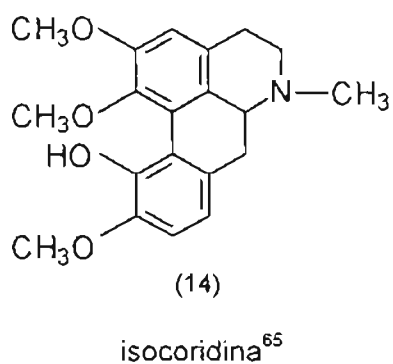
Nos caules de *Siparuna tonduziana* Perkins os autores identificaram¹⁰⁹ alcalóides isolados, anteriormente, de outras espécies de *Siparuna* Aublet^{20,26,108}, sendo 2 aporfínicos, nantenina (6) e N-metil-laurotetanina (7), e outros 2 oxoaporfínicos, a liriodenina (1) e oxonantenina (3). Caracterizaram, também, a ocorrência de 3 noraporfinas inéditas no gênero: laurotetanina (11), nornantenina (12) e anonaína (13).



laurotetanina⁶⁵



A literatura permite constatar maior freqüência de ocorrência de certos alcalóides, no gênero *Siparuna* Aublet, conforme se verifica, por exemplo, com liriodenina (1)^{20,28,109} e oxonantenina (3)^{26,109}. O mesmo pode ser dito para outros alcalóides de acordo com estudo efetuado, em 1993, por LOPEZ e colaboradores¹¹⁰, com a espécie *Siparuna griseo-flavescens* Perkins. Os autores encontraram alcalóides aporfínicos, anteriormente, isolados desse taxon, ou seja, nantenina (6)^{108,109}, N-metil-laurotetanina (7)^{108,109} e assimilobina (9)¹⁰⁹. Em contraste, a obtenção de isocoridina (14) mostrou ser inédita¹⁰⁶.



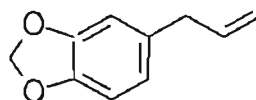
Em ensaio preliminar recente, os pesquisadores brasileiros KATO e colaboradores⁹⁹ evidenciaram a presença de alcalóides benzilisoquinolínicos nos frutos da espécie *Siparuna arianae* Pereira.

3. 2. 2. 2 Óleo essencial

O óleo essencial de espécies do gênero *Siparuna* Aublet confere-lhes forte e característico odor aromático, sendo descrito^{72.139}, em geral, como “cítrico ou semelhante àquele de melissa” ou de “limão-doce”¹²⁷.

As primeiras extrações da fração volátil do gênero foram realizadas, em 1896, por PEKOLT¹³⁴, no entanto, não efetuou análise dos componentes. O autor¹³⁴ empregou folhas, caules e cascas de caule das espécies *Siparuna obovata* A. DC., *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC. e *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.

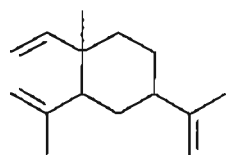
Posteriormente, FREISE⁵⁵, a partir do lenho de *Siparuna erythrocarpa* A. DC, obteve teor de óleo essencial variando de 1,15 a 1,65% (v/ m) e apresentando cerca de 45 % de safrol (15).



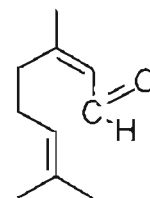
(15)

safrol¹²²

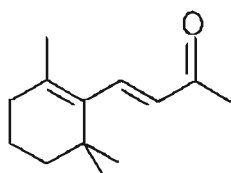
Na década de 60, os pesquisadores MANJARREZ e MENDONÇA¹¹⁵, interessados na composição da fração volátil de *Siparuna nicaraguensis* Hemsl., efetuaram a destilação de frutos da espécie. O óleo essencial extraído (0,38 % v/ m) foi fracionado e submetido à cromatografia gasosa. Na sua composição, constataram maior proporção de componentes como β -elemeno (16), citral B (17) e β -ionona (18), e menor percentagem de nonano (19), 3-octanal (20), propionato de terpinila (21), carvona (22) e outros monoterpenos.



(16)

 β -elemeno¹⁷

(17)

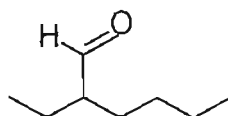
citral B¹²⁶

(18)

 β -ionona^{122,126}

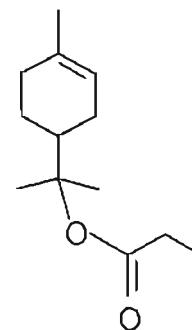
(19)

nonano

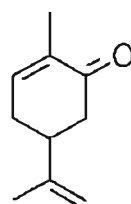


(20)

3-octanal



(21)

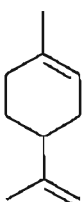
propionato de terpinila^{122,126}

(22)

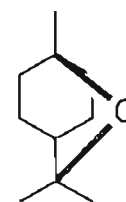
carvona^{122,126}

Em nota prévia de 1977, AKISUE⁵ realizou estudo relativo a 3 espécies do gênero: *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC. e *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC. O autor constatou,

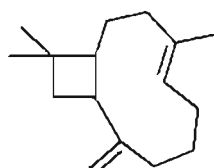
por cromatografia gasosa do óleo essencial, a presença dos seguintes constituintes: carvona (22), limoneno (23), cineol (24), cariofileno (25), citral, humuleno (26), nerol (27), cedrol (28), mirceno (29) e bisabolol (30), entre outros.



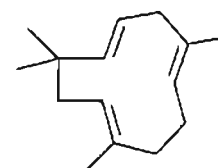
(23)

limoneno¹²²

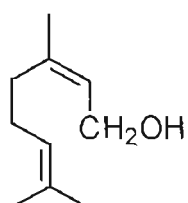
(24)

cineol¹²⁶

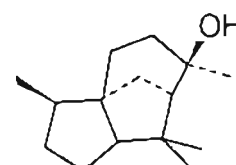
(25)

cariofileno¹²²

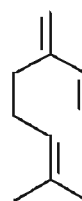
(26)

humuleno¹²²

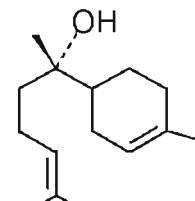
(27)

nerol¹⁷⁴

(28)

cedrol¹²²

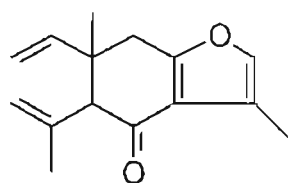
(29)

mirceno^{122,126}

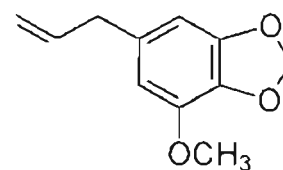
(30)

bisabolol¹²²

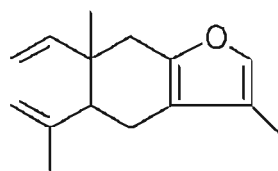
ANTONIO e colaboradores¹¹, em 1984, submeteram o óleo essencial de *Siparuna guianensis* Aublet à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, tendo identificado e quantificado 30 dos 110 componentes encontrados. Os principais foram: curzerenona (31) (26 %), estruturas assemelhadas a este (42 %) e miristicina (32) (8 %). Outros constituintes presentes, em menor proporção, foram citados: curzereno (33) (0,36 %), provável precursor biossintético de substâncias de estrutura derivada, bem como o sesquiterpeno germacrona (34) (0,76 %) e o monoterpene pentóxido de ocimeno (0,11%). Com exceção deste último, os demais compostos foram inéditos na família *Monimiaceae* Jussieu. A verificação da presença de curzerenona (31) em uma espécie desta família foi colocada em destaque, uma vez que havia sido encontrada, originalmente, como principal componente^{75,76} de rizomas da monocotiledônea *Curcuma zedoaria* (Bergius) Roscoe, pertencente à família *Zingiberaceae*, sistematicamente distante das monimiáceas. A substância, também, foi evidenciada no óleo essencial de mirra²¹ (*Commiphora abyssinica* (Berg.) Engler (*Burseraceae*)).



(31)

curzerenona⁷⁵

(32)

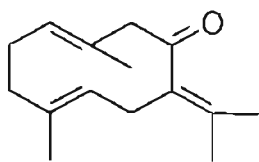
miristicina¹²²

(33)

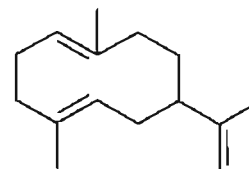
curzereno⁷⁵

Aqueles mesmos autores¹¹ notaram a semelhança estrutural existente entre germacrona (34) e o ferormônio de afídeos,

germacreno A¹⁷ (35). Este fato pareceu-lhes interessante visto que, esses insetos visitam, com freqüência, as flores de espécies de *Siparuna* Aublet.



(34)

germacrona¹²⁶

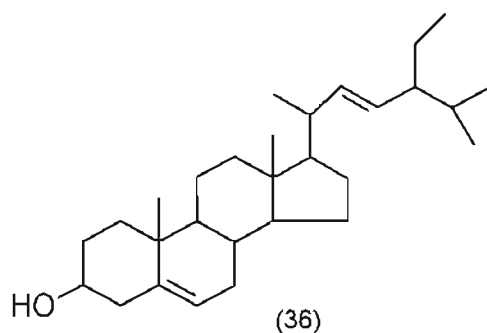
(35)

germacreno A¹⁷

3. 2. 2. 3 Compostos esteroidais

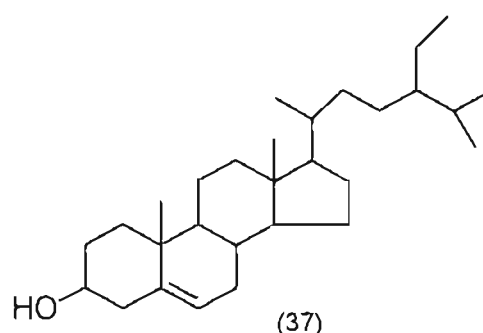
Em alguns representantes do gênero *Siparuna* Aublet foram identificados compostos de estrutura esteroidal. Isolaram-se esteróis, como: estigmasterol (36), β -sitosterol (37), e sitosterol glicosilado^{20,99,172}.

No extrato hexânico de lenho da espécie *Siparuna guianensis* Aublet, BRAZ F^o. e colaboradores²⁰ caracterizaram estigmasterol (36) e β -sitosterol (37).



(36)

estigmasterol



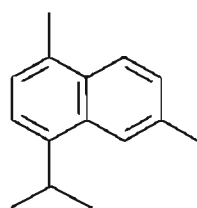
(37)

 β -sitosterol

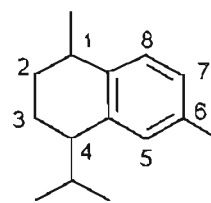
Recentemente, KATO e colaboradores⁹⁹ constataram a presença de β -sitosterol, na forma glicosilada, em *Siparuna arianae* Pereira.

3. 2. 2. 4 Sesquiterpenos

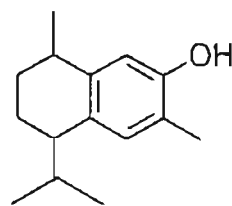
A espécie *Siparuna macrotepala* Perkins foi estudada por EL SEEDI e colaboradores⁴⁰, em 1994, com relação aos componentes sesquiterpênicos. Constataram a ocorrência, em folhas e frutos do vegetal, dos seguintes sesquiterpenos do grupo cadinano: cadaíeno (38), calameneno (39), 7-hidroxi-calameneno (40) e seu dímero (41), além de dois compostos inéditos: 1,6-dimetil-tetrahidronaftalenona-4 (42) e 1-hidroxi-calameneno (43).



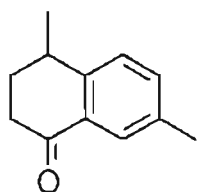
(38)

cadaíeno^{40,126}

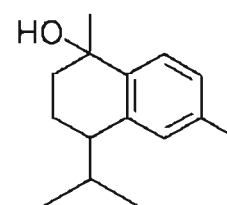
(39)

calameneno⁴⁰

(40)

7-hidroxi-calameneno⁴⁰

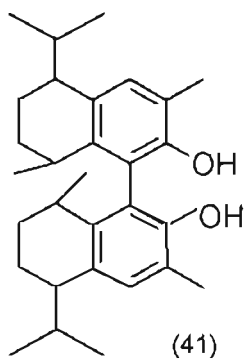
(42)

1,6-dimetil-tetrahidronaftalenona-4⁴⁰

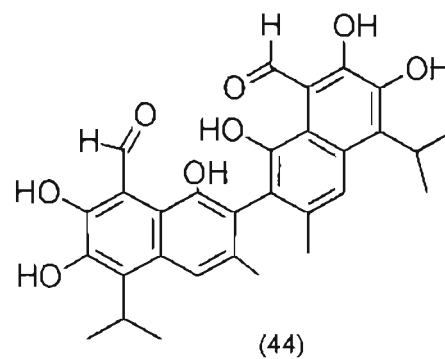
(43)

1-hidroxi-calameneno⁴⁰

Os mesmos autores⁴⁰ verificaram relação de semelhança entre as estruturas do dímero (41) isolado e do gossípol (44). Este fato mereceria estudo mais aprofundado, tendo em vista a ação anticonceptiva, atribuída a algumas espécies do gênero^{26,41} *Siparuna* Aublet e a atividade inibidora de espermatogênese do gossípol¹³².



dímero de 7-hidroxi-calameneno⁴⁰



gossípol¹³²

3. 2. 3 Aspectos químicos da espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.

A espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. despertou certo interesse de pesquisadores do ponto de vista químico. No início do século, PECKOLT e PECKOLT¹³³ foram os primeiros a realizar análise da mesma, na época, conhecida como *Citriosma apiosyce* Martius - ex Tulasne. Os autores estudaram as partes aéreas correspondentes a folhas, sob a forma de droga, caules e cascas de caule frescos. Referiram-se ao material¹³³, respectivamente, como: “folhas secas ao ar”, “galhos frescos” e “cascas frescas”. Realizaram determinações de: umidade, óleo essencial, ácido tânico, sais inorgânicos e outros compostos, que denominaram¹³³: “matéria cerácea”, “substância gordurosa”, “resinas moles A e B”, “ácido resinoso”, “citriosmina amorfa”, “matéria extrativa”, “substâncias albuminóides e gomosas...”.

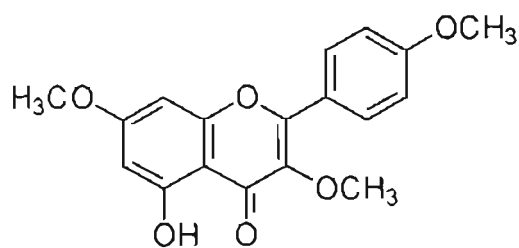
OCCHIONI e LYRA¹²⁷, em 1947, efetuaram a extração de óleo essencial a partir de folhas frescas da mesma espécie, com auxílio de destilação por arraste a vapor, tendo verificado teor de 1 % (v/ m), resultado superior àquele obtido por PECKOLT e PECKOLT¹³³, que foi de 0,15% (v/ m), com folhas transformadas em droga.

AKISUE⁵, em 1975, iniciou estudo de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. tendo apontado o óleo essencial e os alcalóides como seus principais componentes.

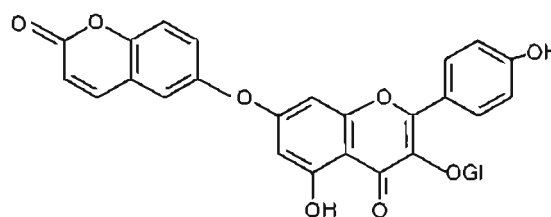
Em 1994, VALVERDE e colaboradores¹⁷¹ deram início à pesquisa preliminar motivados pelo interesse nos alcalóides benzilisoquinolínicos presentes na família *Monimiaceae* Jussieu e sua provável relação com o uso medicinal da espécie. Os autores direcionaram o trabalho, inicialmente, com vistas ao lenho. A complementação deste estudo e os primeiros resultados foram recentemente publicados¹⁷². Os extratos

hexânicos de fruto e lenho de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC mostraram em sua composição ácidos graxos e esteróis. Foram isolados estigmasterol (36) e β -sitosterol (37). Após fracionamento, os mesmos extratos revelaram a presença do flavonol 3, 7, 4'-trimetoxi-canferol (45).

A partir do extrato metanólico de casca de caule, foi obtido o alcalóide aporfínico N-metil-laurotetanina¹⁷² (7), isolado previamente de 3 outras espécies do gênero *Siparuna* Aublet^{108,109,110}. No extrato metanólico de folha de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. identificaram¹⁷² dois flavonóis. Um deles, foi o mesmo caracterizado a partir dos extratos hexânicos de frutos e de lenho e outro; o 3-glicosil-7-cumaril-canferol, denominado tilirósido (46). No mesmo extrato metanólico, verificaram a presença de um triterpeno, em fase de determinação estrutural, além do alcalóide liriodenina (1), freqüente no gênero^{20,26,109} *Siparuna* Aublet. Também evidenciaram β -sitosterol glicosilado.



(45)

3,7,4'-trimetoxi-canferol⁵⁹

(46)

3-glicosil-7-cumaril-canferol (tilirósido)³⁵

3. 3 Uso medicinal de espécies do gênero *Siparuna* Aublet

Diversos usos medicinais têm sido atribuídos ao gênero *Siparuna* Aublet. Na medicina popular, espécies deste taxon foram empregadas em distúrbios digestivos^{27,28,30,95,135,143,151,167} e das vias respiratórias^{27,28,30,55,78,95,143,151}, tratamento da escabiose⁷ e alteração da fertilidade humana^{7,41,167}. Há menção do efeito tóxico de algumas espécies, porém sem comprovação científica^{14, 151}.

HOEHNE⁷⁸ mencionou, genericamente, o uso de folhas de espécies deste gênero em afecções respiratórias e como emolientes, aromáticas e fortemente tonificantes. O emprego nas tosses foi citado por FREISE⁵⁵, em 1933.

A “vulnerária das Guianas”, ou seja, *Siparuna guianensis* Aublet, mostrou ser eficaz no combate a cólicas e a vermes de animais domésticos^{39,56}. PENNA¹³⁵ relatou o uso como excitante e carminativa.

Em 1962, DUCKE³⁹ referiu-se ao emprego, na América Central, de infuso das folhas de *Siparuna nicaraguensis* Hemsl. contra os distúrbios respiratórios.

Em 1969, CORRÊA³⁰ descreveu 8 espécies brasileiras do gênero *Siparuna* Aublet entre as quais, apenas, 4 são medicinais, sendo elas: *Siparuna camporum* A. DC., *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., *Siparuna guianensis* Aublet e *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC. A primeira é utilizada como estomáquica, emenagoga, excitante, aromática e no alívio de problemas respiratórios³⁰. *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC possui as mesmas propriedades de *Siparuna guianensis* Aublet¹³⁵ sendo, adicionalmente, usada no tratamento “das conseqüências de quedas e contusões³⁰. As folhas de *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC.

apresentam as características excitante, estomáquica, bem como antiespasmódica. As folhas de *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC. são empregadas em contusões e problemas pulmonares, auxiliando no combate à tosse³⁰.

Outra representante brasileira do gênero, e de uso popular, é *Siparuna obovata* (Gardn.) A. DC., denominada “limão-do-mato”. A espécie inclui-se no rol de plantas medicinais do estado da Bahia⁹⁵, apesar de ser encontrada, também, no sudeste brasileiro. O infuso é utilizado no tratamento de afecções hepáticas e pulmonares, além de ser carminativo.

Espécies do gênero *Siparuna* Aublet pertencem à medicina tradicional de populações indígenas das Américas do Sul e Central. Estudo de SCHULTES e RAFFAUF¹⁵¹, datado de 1990, constatou que frutos de *Siparuna magnifica* Perkins são empregados externamente por índios da Amazônia, uma vez que a ingestão produz efeito tóxico. Os índios “Tikunas” utilizam os frutos de *Siparuna guianensis* Aublet em problemas digestivos¹⁵¹. Na tribo dos “Kubeos”, as folhas de *Siparuna ternata* Perkins são usadas em acidentes ofídicos, enquanto que, o chá preparado com os frutos serve para aliviar a congestão nasal, que acompanha os resfriados.

Os índios “Quichuas”¹⁴³, do Equador, friccionam o corpo com as folhas pulverizadas de *Siparuna harlinguii* Renner & Hausner, conhecida como “malair-panga” (“panga” = folha). A espécie destina-se a curar o chamado “malair”, isto é, um conjunto de distúrbios do sistema nervoso e estômago.

RENNER e HAUSNER¹⁴³ relataram que, índios de outra tribo equatoriana, os “Coaiquer”, fazem inalação com frutos e folhas da espécie *Siparuna gigantotepala* Renner, a fim de promover a limpeza das vias respiratórias. O vegetal é conhecido como “limón de monte” ou “diablo de monte limón”, visto que apresenta odor cítrico forte e penetrante. Igualmente, no Equador, o infuso das folhas de *Siparuna*

fuchsiifolia Standley, popularmente denominada "guayusa", possui emprego nas dores estomacais e na alteração da fertilidade feminina¹⁶⁷.

No Brasil, a ação sobre a fertilidade humana foi tema de estudo etnobotânico realizado por EMMERICH e VALLE⁴¹, em 1991, no Parque Indígena do Xingu, com a tribo "Yawalapiti". As pesquisadoras⁴¹ constataram o uso de *Siparuna kujabana* (Mart.) A. DC., como anticoncepcional, administrado na forma de chá. A espécie, denominada "pejuri" pelos nativos, apresenta valor cultural para a tribo, sendo usada em cerimônias tradicionais.

Siparuna apiosyce (Mart.) A. DC., tema do presente trabalho, tem seu uso popularmente difundido. COIMBRA^{27,28} relata o emprego como estimulante estomacal e sedativa, com utilização em distúrbios gástricos, como: atonia digestiva, dispepsias e flatulências e, também, em cólicas menstruais e problemas respiratórios, como tosse, bronquite e laringite. PECKOLT e PECKOLT¹³³ mencionaram a utilização nos reumatismos articular e muscular.

Na Farmacopéia Brasileira I¹³⁹, *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC consta como "limoeiro-bravo" e a parte utilizada é a folha, sendo a tintura a forma oficial. Outras formas farmacêuticas^{27,28} preparadas com a espécie são: infuso, decocto, extrato fluido e xarope. No comércio^{36,64}, extratos da droga encontram-se na composição de xaropes e pastilhas, estas últimas podendo conter, adicionalmente, vitamina C⁶⁴. Tais formulações são indicadas no tratamento e alívio de manifestações infecciosas da laringe e boca e, também, da tosse.

Não há trabalhos científicos relativos ao aspecto farmacodinâmico de espécies do gênero *Siparuna* Aublet. No entanto, alguns dos componentes encontrados, no taxon, foram estudados de forma isolada e independentemente de sua fonte botânica. Entre esses, os alcalóides de estrutura aporfínica foram os mais estudados.

Anonaina mostrou atividade antimicrobiana, citotóxica e hipotensora¹⁴⁵. Assimilobina inibiu contrações induzidas por serotonina, em aorta de coelho^{24,145,159}. Isocoridina exibiu propriedades antimicrobiana, antitussígena, depressora do SNC, hipotensora, estimulante respiratória, espasmolítica e bloqueadora da junção neuromuscular^{44,145}. Laurotetanina apresentou ação antifibrilante, depressora do SNC, analgésica, parassimpatorlítica, anestésica local, hipotensora, hipotérmica e espasmolítica^{103,145}.

Estudos farmacológicos realizados com nantenina demonstraram atividade antiserotonínica, à semelhança de assimilobina, bem como hipotensora^{145,158,159}. Liriodenina mostrou extensa lista de ações, como: antimicrobiana, antileucêmica, antitumoral, citotóxica, hipotensora^{16,19,33,79,80,145,175,181}, entre outras. Oxonantenina foi avaliada, juntamente com liriodenina e assimilobina, quanto à propriedade antiagregante plaquetária²⁴, tendo sido testada, igualmente, a ação antimicrobiana¹⁴⁵.

O alcalóide O-metil-flavinantina (morfinandienônico) apresentou atividade analgésica superior àquela da morfina^{10,60}.

Reticulina^{81,100,177} foi utilizada em formulações cosméticas destinadas a evitar o ressecamento de pele, tendo sido comprovada sua ação umectante.

Com relação aos esteróis isolados do gênero *Siparuna* Aublet, o β -sitosterol revelou amplo espectro de atividades biológicas, como: antimicrobiana, antiinflamatória, antipirética, inibidora da fertilidade e antihipercolesterêmica^{22,69,112,113,114}. Esta última propriedade não se verificou para o estigmasterol²².

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material botânico

O material botânico da espécie *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. foi coletado em Minas Gerais, no município de Extrema, situado próximo à divisa do estado de São Paulo, no final do mês de março de 1995. A identificação da espécie foi efetuada pelo Professor Associado Fernando de Oliveira do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Elaboraram-se exsiccatas com as partes aéreas do material coletado, provido de fruto, as quais se encontram depositadas no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo, sob o n° SP 309.569.

A caracterização farmacognóstica baseou-se nas partes aéreas, principalmente, em folha e caule e, quando em mistura, foi na proporção naturalmente encontrada no vegetal.

4. 2 Métodos

4. 2. 1 Caracterização da droga

4. 2. 1. 1 Caracterização farmacobotânica

4. 2. 1. 1. 1 Estudo macro e microscópico

A caracterização macroscópica de folha e de caule foi efetuada através de observação direta e com auxílio de lupa de pequeno aumento, de material seco à sombra¹²⁹. O material foi fotografado, com auxílio de máquina Olympus[®] e filme Kodak[®], 135 mm, 400 ASA.

Para a caracterização microscópica de folha e caule empregou-se material fresco e/ ou conservado em solução aquosa de etanol 70 % (v/ v). Os cortes histológicos foram obtidos à mão livre^{128,129}. Efetuaram-se secções transversais de folha ao nível do terço médio inferior da lâmina foliar. Para a observação das epidermes, fizeram-se secções paradérmicas. O pecíolo foi cortado transversalmente, nas regiões proximal, mediana e distal. O estudo de caule deu-se por meio de cortes transversais, realizados ao nível de 3° a 7° e de 8° a 9° nós, respectivamente, para a observação de estrutura primária e de início de desenvolvimento secundário. Caules, com diâmetros de até 2,5 cm, foram empregados, no estudo de estrutura secundária plenamente desenvolvida.

Os cortes histológicos foram clareados^{128,129} com auxílio de solução aquosa de hipoclorito de sódio 50 % (v/ v) e corados¹⁰¹ com azul de Astra e safranina 1 % em etanol aquoso 50 % (m/ v), tendo-se utilizado solução aquosa de glicerina 50 % (v/ v), como meio de montagem^{128,129}. Outros cortes foram observados em montagem direta, neste meio.

Testes histoquímicos^{129,130} foram efetuados frente ao reativo de oxalato de cálcio, à floroglucina clorídrica e a soluções de: Iugol, Sudam III e cloreto férrico 2 %.

Realizou-se a observação microscópica com microscópio biocular Olympus[®] e elaboração de desenhos com auxílio de microprojeto Biotec[®]. Para as fotomicrografias empregou-se fotomicroscópio Nikon[®] e filme Kodak[®], 135 mm, 100 ASA.

4. 2. 1. 1. 2 Dissociação de elementos celulares

O material, correspondente a folha e caule fixados, foi fragmentado e imerso em uma solução de ácido acético glacial e água oxigenada⁵³ (20 volumes) 50 % (v/ v). Submeteu-se o conjunto ao aquecimento a 60 °C, por cerca de 12 horas. Após a dissociação lavou-se com água e, posteriormente, efetuou-se coloração e montagem de acordo com o item 4. 2. 1. 1. 1.

4. 2. 1. 1. 3 Análise microscópica da folha pulverizada

O material relativo a folha, previamente seco ao ar¹²⁹, foi reduzido a pó semifino, tamises n^{os} 355/ 180^{48,49}. Após a pulverização, submeteu-se à análise microscópica, conforme o item 4. 2. 1. 1. 1.

4. 2. 1. 2. Caracterização física e química da droga

O estudo foi realizado com folha e mistura de folha e caule secos e pulverizados^{48,49,129}, a pó moderadamente fino (tamises n^{os} 355/180), genericamente, denominados droga.

4. 2. 1. 2. 1 Determinação de parâmetros físico e químico

Substâncias voláteis a 105 °C

Colocou-se exatamente cerca de 1 g de droga pulverizada em triplicata de cadinhos, previamente dessecados e tarados. O conjunto foi transferido para a estufa, à temperatura de 105 °C, até peso constante⁵⁰. Calculou-se a porcentagem média de substâncias voláteis.

Cinzas totais

O resíduo da determinação anterior foi calcinado, em placa Corning⁵, e reduzido a cinzas, em mufla, à temperatura de 650 °C, até peso constante^{50,105 180}. Determinou-se a porcentagem média de cinzas totais.

4. 2. 1. 2. 2 Identificação de grupos de substâncias

Pesquisou-se a presença dos seguintes grupos de princípios ativos, na droga:

Alcalóides

Extratos clorofórmicos da droga, obtidos segundo metodologia usual para extração de alcalóides^{6,38,51,57}, a partir de extrato ácido inicial a 10 % (m/ v), foram acidificados e testados^{6,37,51,57,70,119} frente aos reativos de Bertrand, Bouchardat, Dragendorff e Mayer.

Antraderivados

A partir de extratos hidroalcoólicos da droga a 10 % (m/ v), efetuou-se a reação de Bornträeger^{6,57}.

Compostos de núcleo esteroidal

Extratos hidroalcoólicos da droga a 10 % (m/ v) foram submetidos à reação de Liebermann-Burchard^{6,37,51,57, 68, 118,119}.

Flavonóides

Extratos hidroalcoólicos da droga a 10 % (m/ v) foram testados frente às soluções de cloreto de alumínio em etanol 5% (p/ v), hidróxido de sódio 1 N e pela reação de Shinoda^{6,37,38,57,70,118}.

Mucilagens

A droga (1 g) foi submetida a teste de entumescimento com água, conforme metodologia usual^{6,57}.

Óleo essencial

Avaliou-se o desprendimento, ou não, de odor aromático pelo vegetal fresco e na droga, quando triturados. Verificou-se a presença, ou não, de odor no microdestilado da droga pulverizada, pó moderadamente fino (tamises n^{os} 355/180), que foi testado frente ao reativo de Sudam III^{6,57,129}.

Saponinas

Extratos aquosos da droga a 2, 5 e 10 % (m/ v) foram agitados, tendo-se avaliado a formação, ou não, de espuma persistente^{6,57}.

Taninos

Extratos aquosos da droga a 10 % (m/ v) foram submetidos à reação com os seguintes reativos: cloreto férrico 2% (m/ v)^{37,38,51,57,118,119,131}, acetato de chumbo 10 % (m/ v)^{38,57,119,131}, acetato de cobre 3% (m/ v)^{57,119,131}, solução de gelatina em água 2,5 % (m/ v)^{38,57,119,131} e sulfato de quinina 0,1 % (m/ v)^{57,118,119,131}. Efetuou-se prova de adstringência^{51,57,70,119,131}, realizando a degustação dos mesmos extratos.

4. 2. 1. 2. 3 Extração de óleo essencial

Extraiu-se o óleo essencial a partir de 200 g de folhas e de 300 g de frutos frescos, por processo de hidrodestilação, utilizando-se aparelho de Clevenger modificado por WASICKY e AKISUE¹⁷⁶. Calculou-se a porcentagem média (v/ m) de 2 determinações, em relação à planta fresca e à droga.

4. 2. 1. 2. 4 Cromatografia em camada delgada

Efetuuou-se maceração de 2 g de droga, por 3 horas, com 40 mL de n-hexano. Filtrou-se o extrato, e evaporou-se à pressão reduzida, em evaporador rotatório Büchii[®], até volume de 5 mL. O mesmo procedimento foi realizado com clorofórmio e metanol. Os extratos resultantes foram denominados da seguinte forma:

FH = extrato hexânico de folha;

MH = extrato hexânico de folha e caule, em mistura;

FC = extrato clorofórmico de folha;

MC = extrato clorofórmico de folha e caule, em mistura;

FM = extrato metanólico de folha;

MM = extrato metanólico de folha e caule, em mistura.

Os extratos obtidos foram submetidos à cromatografia em camada delgada^{29,165,166,174}. Empregaram-se os seguintes sistemas cromatográficos, com fases móveis constituídas por solventes p.a. Merck[®]:

Sistema cromatográfico 1

suporte: placas de vidro de 8 x 15 cm

fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄

espessura de adsorvente: 250 µm

fase móvel: clorofórmio - acetona (99:1)

saturação da cuba: completa

percurso: 12,5 cm

desenvolvimento: ascendente e simples

amostras: extratos hexânicos de folha (FH) e de folha e caule, em mistura (MH)

padrão: solução 0,1 % (m/ v) de estigmasterol em clorofórmio p. a. (Merck)

revelação: reativo p-anisaldeído sulfúrico, seguido de aquecimento a 110 °C, por 10 minutos^{165,174}

visualização: à luz natural

Sistema cromatográfico 2

suporte: placas de vidro de 8 x 15 cm

fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄

espessura de adsorvente: 250 µm

fase móvel: clorofórmio - éter etílico (98:2)

saturação da cuba: completa

percurso: 12,5 cm

desenvolvimento: ascendente e simples

amostras: extratos clorofórmicos de folha (FC) e de folha e caule, em mistura (MC)

padrão: solução 0,1 % (m/v) de estigmasterol em clorofórmio p. a. (Merck)

visualização: luz U.V. a 366 nm^{165,174}

Sistema cromatográfico 3

O sistema cromatográfico 3 constituiu variação do sistema cromatográfico 2, tendo-se empregado como revelador reativo de vanilina sulfúrica, seguido de aquecimento a 110 °C, por 10 minutos^{165,174}, com visualização à luz natural.

Sistema cromatográfico 4

suporte: placas de vidro de 8 x 15 cm

fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄

espessura de adsorvente: 250 µm

fase móvel: clorofórmio - metanol (9:1)

saturação da cuba: completa

percurso: 12,5 cm

desenvolvimento: ascendente e simples

amostras: extratos metanólicos de folha (FM) e de folha e caule, em mistura (MM)

padrão: solução 0,1 % (m/v) de assimilobina em clorofórmio p. a. (Merck)

visualização: luz U.V. a 366 nm^{165,174}

Sistema cromatográfico 5

O sistema cromatográfico 5 representa variação do sistema cromatográfico 4, tendo-se empregado como revelador o reativo de Vágujfalvi¹⁶⁵ e visualização à luz natural.

4. 2. 1. 2. 5. Preparo de extratos para isolamento de substâncias

Efetou-se a extração de 3,6 Kg de droga pulverizada⁴⁸ (tamises n^{os} 355/180), representada por mistura de folha e caule, com solventes de polaridade crescente³⁷, segundo o procedimento descrito, a seguir, e esquematizado na Figura 1.

Extrato hexânico

A droga foi macerada, por 15 h e extraída, em percolador, com cerca de 30 L de n-hexano. O extrato hexânico foi concentrado até a secura, em evaporador rotatório Büchii[®], à pressão reduzida.

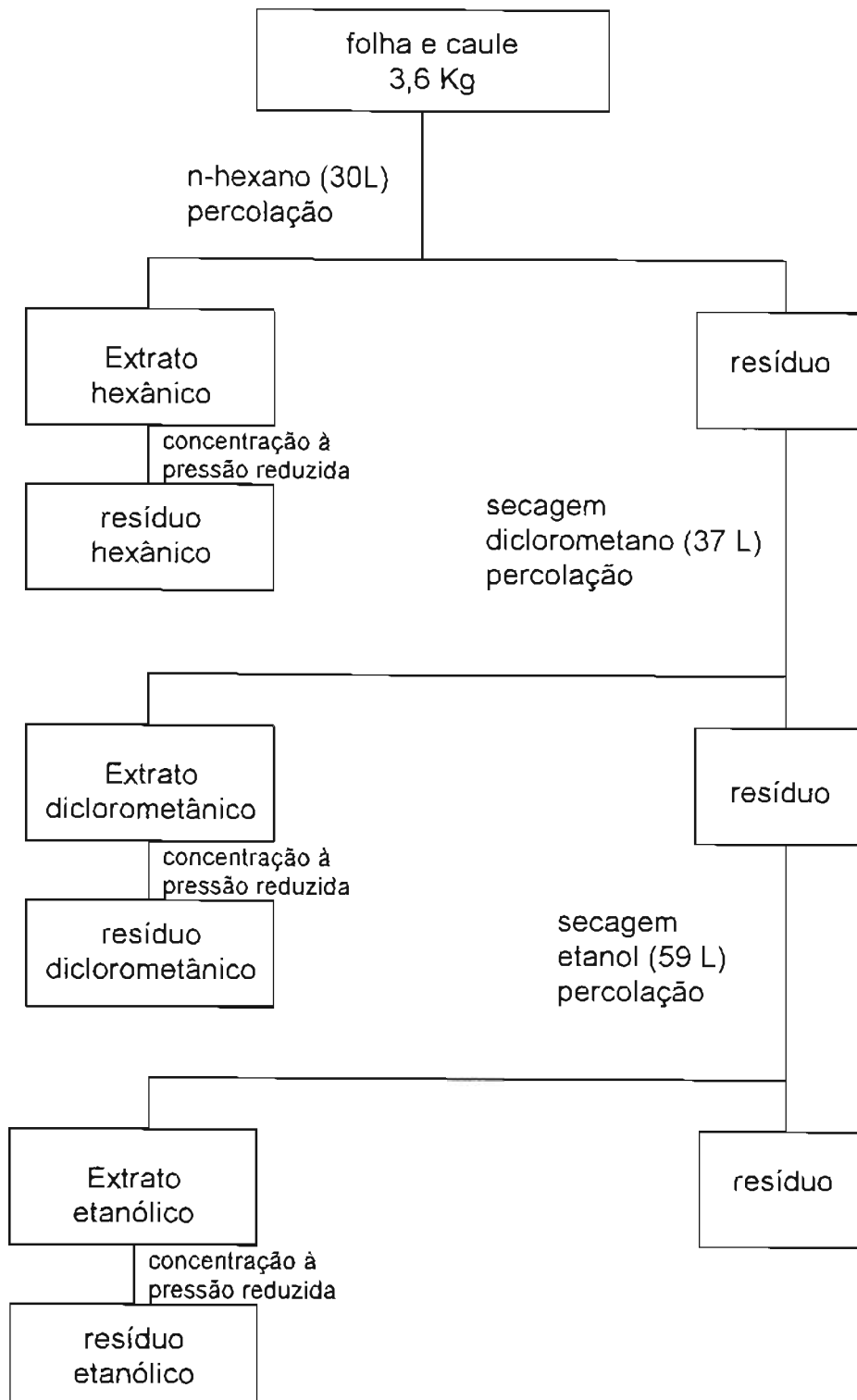
Extrato diclorometânico

A droga, previamente extraída com n-hexano, foi seca (resíduo) sob exaustão de ar e submetida ao mesmo procedimento anterior, tendo-se empregado 37 L de diclorometano. O extrato diclorometânico foi concentrado conforme o extrato hexânico.

Extrato etanólico

Efetuu-se, conforme procedimento anterior, a extração da droga (resíduo), previamente seca, com 59 L de etanol. O extrato etanólico foi concentrado até a secura, em evaporador semi-industrial Precision Scientific®.

Figura 1 - Esquema de obtenção dos extratos para isolamento de substâncias da folha e do caule, em mistura.



4. 2. 1. 2. 6 Isolamento de substância do extrato hexânico

O procedimento empregado para fracionamento do resíduo hexânico e isolamento de componente está esquematizado na Figura 2.

Efetuuou-se o fracionamento²⁹ do resíduo hexânico (12,5 g) em coluna cromatográfica de vidro (93, 4 cm de comprimento x 3,5 cm de diâmetro), utilizando-se 279,1 g de sílica gel 60 (70 - 230 mesh, ASTM) Merck[®], como adsorvente. Realizou-se a eluição com os seguintes solventes e misturas de solventes p.a. Merck[®], em ordem crescente de polaridade: mistura de clorofórmio - n-hexano (1:1, 2:1, 5:1), clorofórmio, mistura de clorofórmio - acetato de etila (2:1, 1:1, 1:2), acetato de etila, mistura de acetato de etila - metanol (2:1, 1:1, 1:2) e metanol. Coletaram-se 180 frações (H) de 65 mL, denominadas H₁ a H₁₈₀.

Cada fração foi concentrada, à pressão reduzida, em evaporador rotatório Buchii[®] até cerca de 2 mL e submetida a cromatografia em camada delgada^{165,166,174}. Utilizaram-se placas de vidro de 15 x 20 cm e sílica gel 60 GF₂₅₄ Merck[®], com 250 µm de espessura de adsorvente. Empregaram-se fases móveis constituídas pelos solventes p. a. Merck[®] e misturas seguintes: n-hexano - clorofórmio (1:2), clorofórmio, clorofórmio - acetato de etila (2:1, 1:1). O desenvolvimento foi simples e ascendente, com saturação completa e percurso de 10 cm. Efetuou-se visualização das manchas à luz U. V. a 254 nm e revelação com o reativo p-anisaldeído sulfúrico^{165,174}, seguido de observação à luz natural.

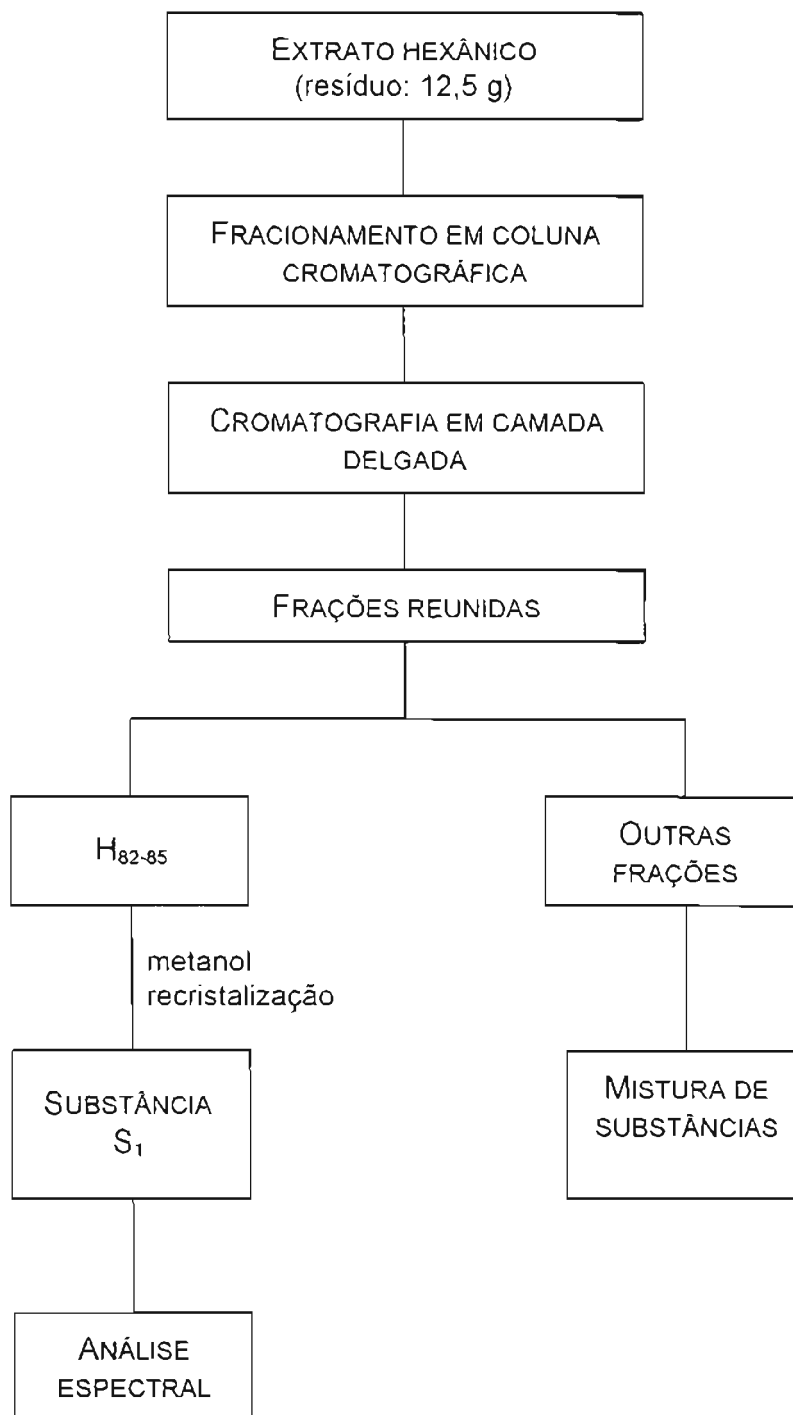
As frações que apresentaram comportamento cromatográfico semelhante foram reunidas e cromatografadas em camada delgada. Para a fração H₈₂₋₈₅ utilizou-se sistema cromatográfico constituído por: placas de vidro: 8 x 15 cm e adsorvente sílica gel 60 GF Merck[®] com 250 µm de espessura. Realizou-se desenvolvimento ascendente e simples, com percurso de 10 cm. A fase móvel constituiu-se de mistura de clorofórmio-

acetato de etila (9:1). A visualização deu-se à luz U. V. a 254 nm e à luz natural após exposição aos vapores de iodo e após revelação com o reativo de p-anisaldeído sulfúrico^{165,174}.

A fração H₈₂₋₈₅ foi submetida a leve aquecimento em acetona (40 °C) e levada a refrigerador. A porção solúvel foi recristalizada¹⁷³ em metanol p.a. Merck®. O material cristalino resultante (47,6 mg) foi recromatografado em camada delgada com o mesmo sistema anterior. Constatou-se uma única mancha situada em hRf = 55, de formato ogival, coloração roxa com o revelador p-anisaldeído sulfúrico e marrom após exposição ao iodo. O material foi denominado S₁ e encaminhado para a análise espectrométrica, por espectroscopia na região do infravermelho (IV), de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ¹H) e de carbono 13 (RMN ¹³C), de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (DEPT 135°) e de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR).

Outras frações foram analisadas e apresentaram aspecto graxo e cromatogramas acusando a presença de mistura complexa de substâncias, não sendo consideradas no presente estudo.

Figura 2 - Esquema de isolamento de substância do extrato hexânico.



4. 2. 1. 2. 7 Isolamento de substância do extrato etanólico

O extrato etanólico (item 4. 2. 1. 2. 5) foi submetido a teste com o reativo de Dragendorff^{38,51,165,174}. O procedimento para isolamento de componente a partir do mesmo resíduo encontra-se esquematizado na Figura 3.

Extração de alcalóides

O resíduo do extrato etanólico (98,1 g) foi retomado e extraído com solução de ácido clorídrico 3,6 % (v/v), até se verificar reação negativa para alcalóides frente ao reativo de Dragendorff^{38,51,165,174}. A solução ácida foi alcalinizada com solução de hidróxido de amônio 25 % (v/v) Merck®, até pH 9,0. Alíquotas de 500 mL do extrato alcalinizado foram extraídas, exaustivamente, com porções de 250 mL de clorofórmio, até reação negativa para alcalóides com o reativo de Dragendorff. As fases clorofórmicas resultantes foram reunidas e reduzidas a volume de 150 mL, à pressão reduzida, com auxílio de evaporador rotatório Büchii®. A fase clorofórmica concentrada foi extraída, de forma exaustiva, com alíquotas de 50 mL de solução de ácido clorídrico 1% (v/v), até se constatar reação negativa para alcalóides com reativo de Dragendorff. Alcalinizou-se a fase ácida resultante com solução de hidróxido de amônio 25 % até pH 9,0 e alíquotas de 500 mL foram extraídas com porções de 50 mL de clorofórmio. As fases clorofórmicas foram reunidas e filtradas através de funil contendo sulfato de sódio anidro tendo sido concentradas, até a secura, em aparelho evaporador rotatório Büchii®, à pressão reduzida. Determinou-se a massa (em g) do resíduo bruto de alcalóides.

Fracionamento em coluna cromatográfica do resíduo bruto de alcalóides

O resíduo bruto de alcalóides (4,6 g) foi fracionado em coluna²⁹ de vidro (53,5 cm de comprimento x 3,4 cm de diâmetro), utilizando como adsorvente sílica gel 60 (70 - 230 mesh, ASTM) (92,9 g) Merck[®]. Efetuou-se a eluição com clorofórmio p.a. Merck[®], misturas de metanol em clorofórmio (1 a 20 %) (v/v)^{26,108} e metanol p.a. Merck[®]. Coletaram-se 200 frações (A) de 40 mL, denominadas A₁ a A₂₀₀.

As frações foram concentradas, à pressão reduzida, em evaporador rotatório Büchii[®], e submetidas à cromatografia em camada delgada^{165,166,174}. Empregaram-se fases móveis constituídas de misturas de metanol em clorofórmio (2 a 20 %) e dietilamina (10%) Merck[®]. Efetuou-se desenvolvimento simples e ascendente, por percurso de 10 cm, em cuba com saturação completa. Empregaram-se placas de vidro de 15 x 20 cm, sílica gel 60 GF₂₅₄ Merck[®], com espessura de 250 µm. Realizou-se visualização das manchas à luz natural, sob luz U. V. a 254 nm e após exposição aos vapores de iodo¹⁷⁴. Agruparam-se as frações cujo comportamento cromatográfico foi semelhante.

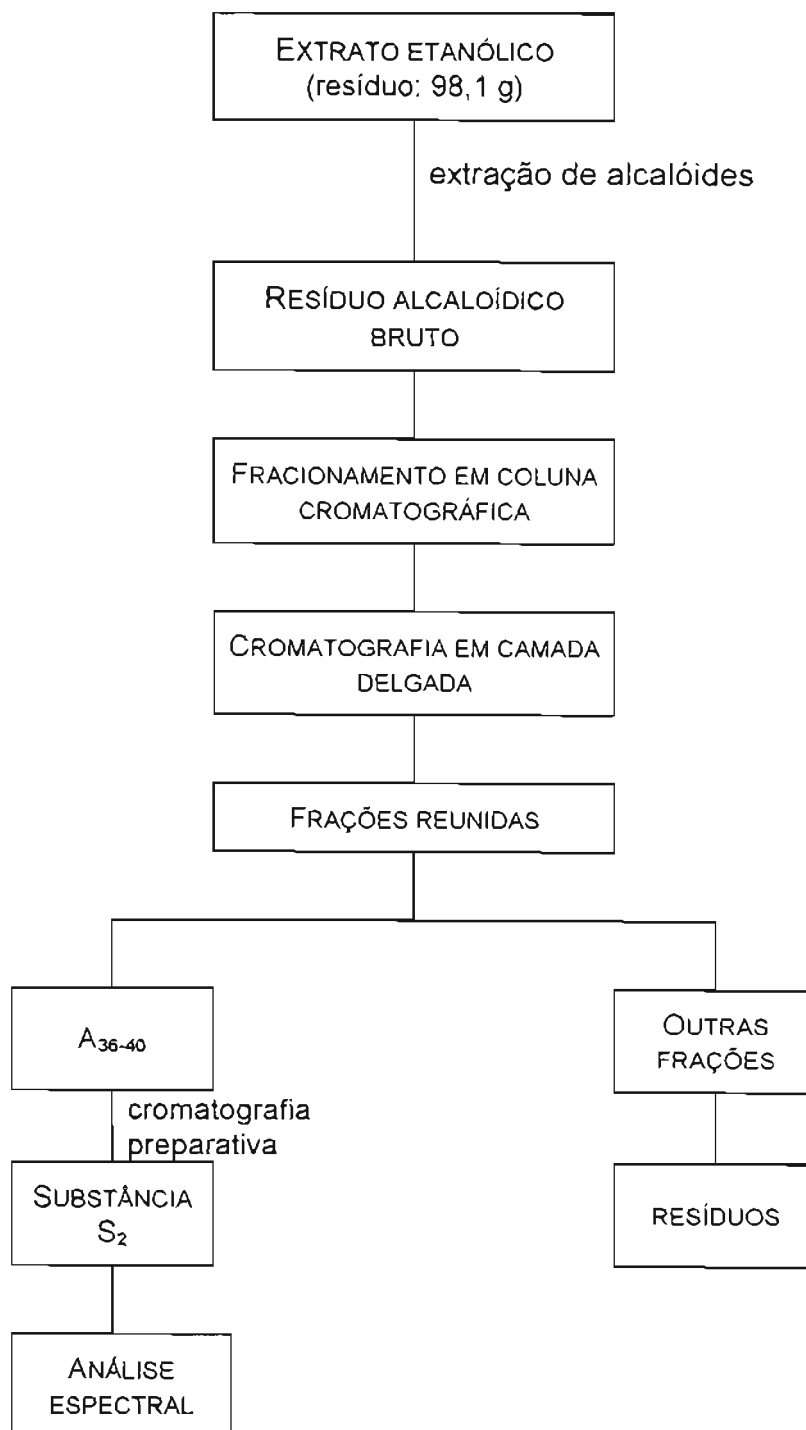
A fração A₃₆₋₄₀, originada da reunião das frações A₃₆ a A₄₀, apresentou resíduo castanho-avermelhado (144,6 mg) que, dissolvido em clorofórmio p. a. Merck[®], foi recromatografado em camada delgada^{165,166,174}. Empregaram-se placas de vidro de 7 x 15 cm, sílica gel 60 GF₂₅₄ Merck[®], com 250 µm de espessura, utilizando desenvolvimento ascendente, simples, por percurso de 12,5 cm e cubas com saturação completa. A fase móvel utilizada foi representada por mistura de clorofórmio-metanol-dietilamina (89,5:0,5:10). Efetuou-se a visualização sob luz U. V. a 254 nm e, após exposição a vapores de iodo, à luz natural.

A fração A₃₆₋₄₀ foi submetida à cromatografia preparativa¹⁶⁵, para isolamento do componente predominante. Empregaram-se placas de vidro 15 x 20 cm, sílica gel PF₂₅₄ Merck[®], com 250 µm de espessura. O desenvolvimento foi ascendente e simples, por percurso de 12,5 cm, em cuba com saturação completa. A fase móvel constituiu-se de mistura de clorofórmio-metanol-dietilamina (89,5:0,5:10). A visualização deu-se à luz natural e luz U. V. a 254 nm. A eluição foi realizada com metanol p. a. Merck[®]. A faixa correspondente à mancha de maior intensidade, hRf situado entre 43 e 56, foi raspada e eluída com metanol p.a. Merck[®]. Realizou-se cromatografia em camada delgada do eluato, com o sistema cromatográfico anterior. O cromatograma acusou a presença de mancha adicional (hRf = 0).

Repetiu-se a cromatografia preparativa com o resíduo, relativo à mancha com impureza, empregando o mesmo procedimento e sistema cromatográfico da cromatografia preparativa anterior. O resíduo resultante castanho-avermelhado (28,1 mg) mostrou mancha única (hRf = 46), quando recromatografado em camada delgada, com o mesmo sistema. Testou-se a substância frente ao reativo de Dragendorff, tendo sido denominada S₂ e encaminhada à análise espectrométrica (I V, de RMN ¹H, RMN¹³C, DEPT 135° e HETCOR).

Outras frações foram submetidas a marcha analítica semelhante, tendo resultado em resíduos quantitativamente insuficientes para serem submetidos à repurificação.

Figura 3 - Esquema de isolamento de substância do extrato etanólico



4. 2. 1. 2. 8 Identificação das substâncias isoladas

Efetuuou-se a determinação das faixas de fusão das substâncias isoladas utilizando-se aparelho de Kofler, sem fazer correção das leituras.

A análise espectrofotométrica, na região do infravermelho, foi realizada com espectrofotômetro FTIR Bomen[®], em pastilhas de brometo de potássio de grau espectrofotométrico.

Empregou-se o espectrômetro Brucker[®], operando na frequência de 300 MHz, para obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ¹H) e espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) e a 75,5 MHz para os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ¹³C) e de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (DEPT 135°).

As substâncias S₁ e S₂ foram dissolvidas em clorofórmio deuterado Merck[®], tendo-se utilizado capilar de tetrametilsilano (TMS), em tetracloreto de carbono, como padrão de referência externa.

4. 2. 2 Caracterização física e química do extrato fluido

4. 2. 2. 1 Preparo do extrato fluido

A elaboração do extrato fluido foi executada segundo processo de percolação fracionada (processo "C") da Farmacopéia Brasileira II⁵⁰, para drogas com princípios ativos voláteis ou constituintes facilmente alteráveis pelo calor. Foram preparados extratos fluidos de folha (EF) e de folha e caule, em mistura (EM). Empregaram-se 300 g de cada material pulverizado. Utilizou-se, como líquido extrator, solução etanol-água (7:3) e percolou-se à velocidade moderada⁵⁰.

4. 2. 2. 2 Determinação de parâmetros físicos e químico dos extratos fluidos

Determinaram-se os seguintes parâmetros físicos e químico referentes aos extratos fluidos de folha e de folha e caule, em mistura.

Densidade relativa a 25 °C

Para a determinação da densidade relativa⁴⁸ dos extratos fluidos empregou-se picnômetro de 5 mL, calibrado a 25 °C. Realizaram-se 5 determinações, à mesma temperatura. O resultado foi expresso pelo valor médio.

Viscosidade

A determinação da viscosidade foi realizada utilizando o viscosímetro de Ostwald^{48,173}, à temperatura de 25 °C. Efetuaram-se 10 determinações. Expressou-se o valor da viscosidade pela média aritmética das leituras efetuadas, em centipoise (cp).

Substâncias voláteis a 105 °C

Tomaram-se alíquotas de 2 mL de extrato fluido, em triplicata, e evaporou-se o veículo, até a secura, em banho de água. Em seguida, procedeu-se conforme para a droga (item 4. 2. 1. 2. 1). Determinou-se a porcentagem média de substâncias voláteis.

Cinzas totais

A determinação de cinzas totais do extrato fluido foi realizada conforme para a droga (item 4. 2. 1. 2. 1), tendo-se expresso o resultado como média das determinações, em porcentagem.

pH

Determinou-se o pH com auxílio de pHmetro Incibrás[®], provido de eletrodo Digimed[®].

4. 2. 2. 3 Cromatografia em camada delgada

A análise cromatográfica em camada delgada dos extratos fluidos foi realizada utilizando-se os sistemas cromatográficos 6, 7 e 8, descritos a seguir:

Sistema cromatográfico 6

suporte: placas de vidro de 8 x 15 cm

fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄

espessura de adsorvente: 250 µm

fase móvel: acetato de etila - metanol (3:2)

saturação da cuba: completa

percurso: 12,5 cm

desenvolvimento: ascendente e simples

amostras: extratos fluidos de folha (EF) e de folha e caule, em mistura (EM)

padrão: solução 0,1 % (m/v) de assimilobina em clorofórmio p. a. (Merck)

visualização: luz U.V. a 366 nm^{165,174}.

Sistema cromatográfico 7

O sistema cromatográfico 7 representa variação do sistema cromatográfico 6, tendo-se realizado a observação da cromatoplaça, à luz natural, após exposição aos vapores de iodo^{165,174}.

Sistema cromatográfico 8

O sistema cromatográfico 8 representa variação do sistema cromatográfico 6, tendo-se efetuado a revelação com auxílio do reativo de Dragendorff^{165,174} e visualização à luz natural.

4. 2. 3 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos fluidos

A determinação da atividade antimicrobiana nos extratos fluidos da folha e da mistura de folha e caule foi frente a 2 bactérias e 1 levedura.

4. 2. 3. 1 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) para as bactérias¹⁷⁹

Transferiu-se alíquota de 0,5 mL de cada um dos extratos, para réplica de 3 tubos, contendo 9 mL de caldo caseína-soja Difco®. Procedimento semelhante foi efetuado com diluição equivalente de etanol aquoso a 70 % (v/v). Os inóculos de *Escherichia coli* (ATCC 10531) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) corresponderam a 0,5 mL de suspensões contendo, respectivamente, cerca de 4×10^3 e 2×10^3 UFC/mL. Efetuou-se controle do crescimento microbiano de inóculo dos microrganismos.

Os tubos com *Escherichia coli* foram incubados a $35 \pm 1^\circ\text{C}$, por 24 horas, e por 48 horas para *Staphylococcus aureus*. Para a confirmação do crescimento bacteriano, adicionou-se 0,5 mL de solução aquosa de cloreto de trifeniltetrazólio a 1 % (m/v). Paralelamente, efetuou-se a sub-cultura, inoculando-se 1 alçada do material proveniente dos tubos incubados para caldo caseína-soja, tendo seguido incubação nas mesmas condições anteriores, por 24 horas. A presença de turvação nos tubos de sub-cultura e naqueles que apresentaram coloração vermelha, após a adição do indicador, foram considerados positivos para o crescimento microbiano.

4. 2. 3. 2 Determinação da Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) para a levedura¹⁷⁹

Procedimento idêntico, ao anterior, foi seguido para *Candida albicans* (ATCC 10231), tendo-se empregado caldo Sabouraud-dextrose Difco[®] e 0,5 mL de inóculo com 100 UFC/ mL. Os tubos foram incubados a 20 - 25 °C, por 72 horas. A observação de turvação foi considerada resposta positiva para o crescimento da levedura. A confirmação do crescimento foi feita em conformidade com o item anterior (4. 2. 3. 1).

5 RESULTADOS

5. 1 Caracterização da droga

5. 1. 1 Caracterização farmacobotânica

5. 1. 1. 1 Caracterização macroscópica de folha e caule

A droga comercializada é constituída, geralmente, por folha. Algumas vezes, fragmentos de caule acompanham-na. Ambas partes apresentam odor levemente aromático e sabor levemente amargo.

Quando transformada em droga, se apresenta enrolada para o lado da face superior (Figuras 4A e 4B) e possui consistência papirácea e friável. Ao ser umedecida e distendida, verifica-se ampla lâmina foliar inteira e simples, cuja margem pode ser inteira, serrilhado-denteada ou crenada. Quando presentes, os recortes da margem foliar são superficiais. O que se constata em folha fresca (Figura 5B) e em folha transformada em droga (Figuras 4C, 4D). O comprimento varia, geralmente, de 10 a 22 cm por 5 a 10 cm de largura. O contorno (Figura 4C, 4D e 5B) é predominantemente oboval ocorrendo, também, lanceolado-oblongo, elíptico-oblongo ou elíptico, principalmente, nas folhas menores. A base é, geralmente, simétrica, obtusa ou levemente reentrante (Figuras 4C, 4D e 5B) e o ápice, acuminado ou agudo (Figuras 5A e 5B).

A lâmina foliar mostra coloração verde escura, na face superior e verde clara, na inferior (Figuras 4C, 4D, 5A e 5B). Ambas as faces são pilosas, apresentando-se velutina ao tato e à visão. A observação com lupa permite verificar a presença de pêlos nas duas faces, sendo que, na

face inferior, a região da nervura se apresenta mais densamente pilosa quando comparada à região de lâmina foliar. As folhas são peninérveas (Figura 5A e 5B) sendo possível verificar, pelo tato e por observação (Figuras 5A e 5B) direta, que as nervuras são mais salientes na face inferior. As nervuras exibem coloração variando de castanha-clara a bege-amarelada (Figuras 4C, 4D, 5A e 5B).

Quanto ao pecíolo, a folha se apresenta curta ou medianamente peciolada, com o comprimento chegando até 3,5 cm. A inserção do pecíolo é lateral, sendo reto em sua maior parte e curvo na porção basal (Figuras 4C, 4D e 5B), podendo mostrar-se levemente torcido. Constata-se pilosidade bege-amarelada, sobre superfície castanha.

A folha pulverizada apresenta coloração verde escura, odor aromático e sabor levemente amargo.

Nos caules, a disposição das folhas é oposta cruzada (Figura 5A). A secção transversal dos caules jovens apresenta contorno, geralmente, obtuso-retangular, podendo ser circular, e nos caules mais desenvolvidos mostra-se circular.

Ainda nos caules jovens, a região central é preenchida por medula de coloração bege clara e consistência mole. A superfície é pilosa, com coloração variando de castanho-esverdeada a castanho-amarelada. As regiões de nós são evidentes.

Os caules mais desenvolvidos (Figura 5C), com diâmetro de 0,5 a 2,5 cm, mostram superfície externa com estriações longitudinais e cor castanho-escura alternada por regiões mais claras correspondentes a líquenes foliáceos brancos. Nesta superfície podem ocorrer lenticelas lenticulares ou alongadas no sentido longitudinal.

Nos caules de maior calibre, acima de 2,5 cm de diâmetro, observa-se superfície externa irregular. Quando o súber se destaca, por

fenda longitudinal, permite observar região floemática externa de coloração bege-clara descoberta. Esta, quando exposta à fonte luminosa, mostra pontos refringentes e fina estriação no sentido longitudinal.

Nos fragmentos de caules de maior diâmetro, observam-se, às vezes, saliências arredondadas, correspondendo a cicatrizes provenientes da queda de ramos laterais.

Na superfície da seção transversal dos caules mais desenvolvidos, distinguem-se nitidamente duas regiões (Figura 5C), a saber: a externa apresenta-se provida de coloração castanho-escura; a interna, por sua vez, mostra-se bege ou castanho-clara, rígida, com fratura fibrosa. Na porção central, verifica-se presença de medula com consistência mole e coloração bege-clara e que pode sofrer contração motivando o aparecimento de fístula.

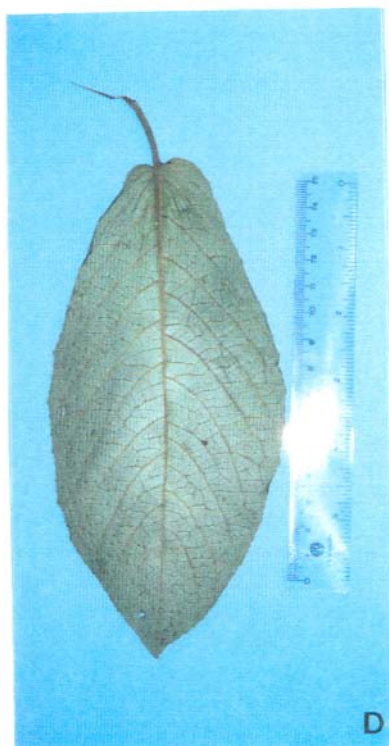
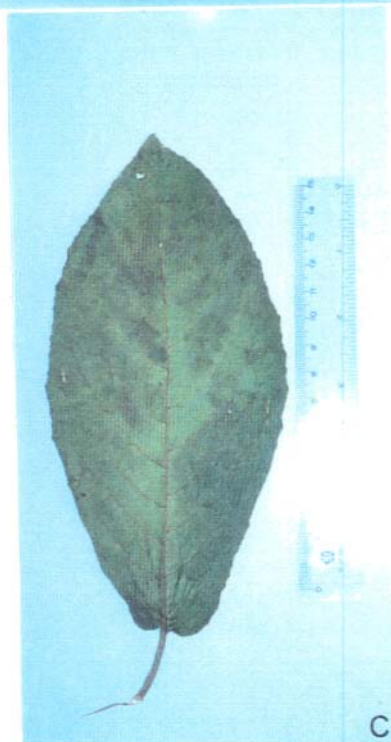


Figura 4 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. - Folha. Aspecto geral da droga. 4A,4B - Folhas. - Folhas distendidas: 4C Face superior. 4D Face inferior.



Figura 5 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha e caule.
5A - Ramo jovem. 5B - Folhas. 5C Fragmentos de caule mais desenvolvido.

5. 1. 1. 2 Caracterização microscópica de folha

Lâmina foliar

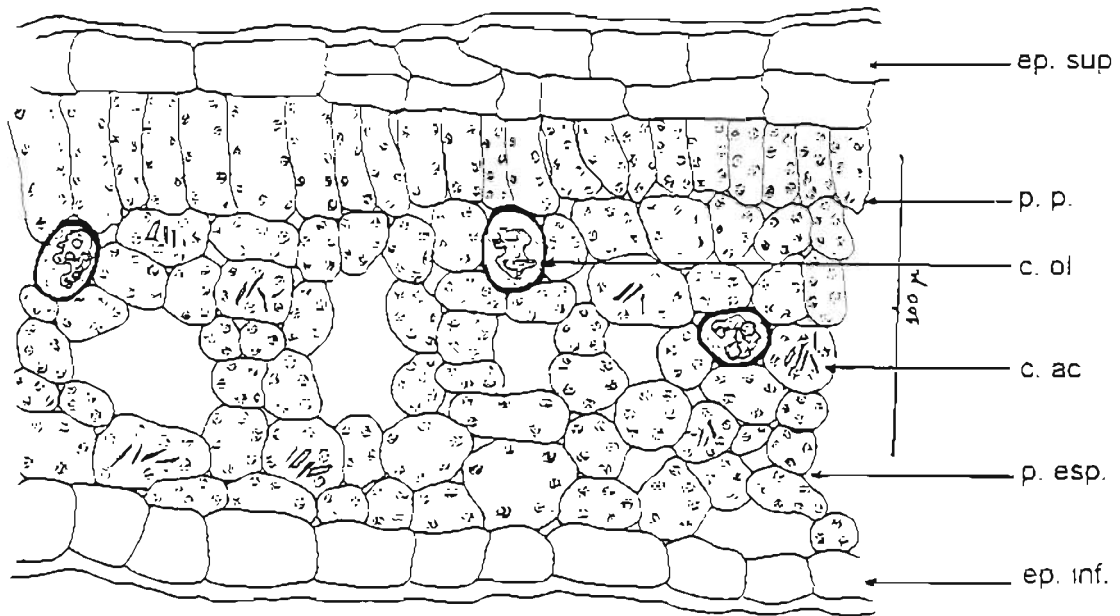
A secção transversal da lâmina foliar, ao nível do terço médio inferior, permite verificar a presença de mesofilo heterogêneo assimétrico (Figuras 6A e 6B). O parênquima paliçádico é constituído, em geral, de uma camada, podendo ocorrer duas, de células alongadas no sentido anticlinal (Figuras 6A e 6B). Este parênquima ocupa de um terço até a metade da espessura do mesofilo.

O parênquima esponjoso é representado, geralmente, por quatro a cinco camadas de células, com contorno arredondado ou lobado. As células lobadas dispõem-se tangencialmente à epiderme (Figura 6A). Neste parênquima, na região mediana do mesofilo, encontram-se células oleíferas, com conteúdo amarelado, e células contendo cristais aciculares (Figuras 6A e 6C).

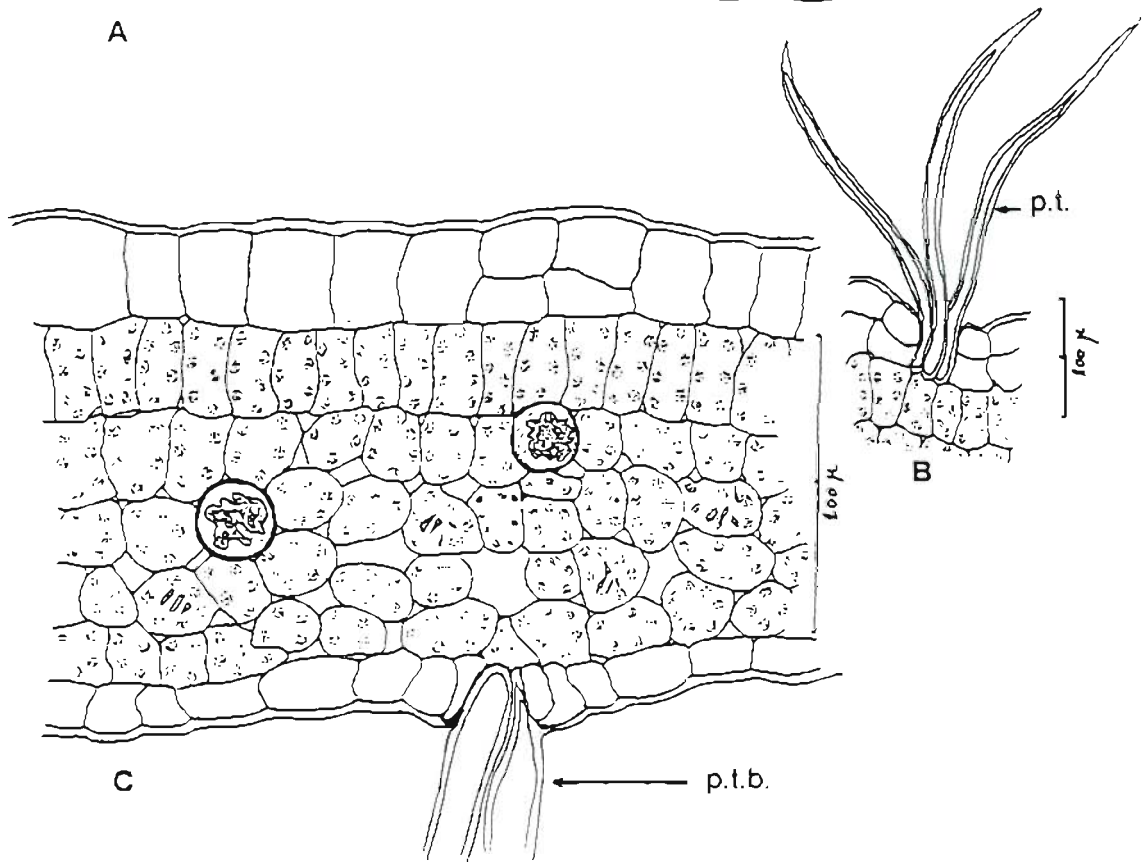
Em secção transversal, as células epidérmicas de ambas as faces são alongadas, geralmente, no sentido periclinal e apresentam comprimentos variáveis (Figuras 6A e 6C), sendo que a epiderme superior mostra de uma a duas camadas celulares. Nas duas epidermes, observam-se tufo de pêlos tectores lignificados, bifurcados (Figuras 6C e 14A) ou com maior número de elementos (Figuras 6B e 14B), podendo chegar até 10 ou mais células. A folha mostra-se hipoestomática (Figura 7).

Em corte paradérmico, observa-se que as células da epiderme superior possuem contorno poligonal, com paredes retas (Figura 7A). As células da epiderme inferior (Figura 7B) são ligeiramente sinuosas. A cutícula é lisa, em ambas as epidermes (Figuras 7A e 7B).

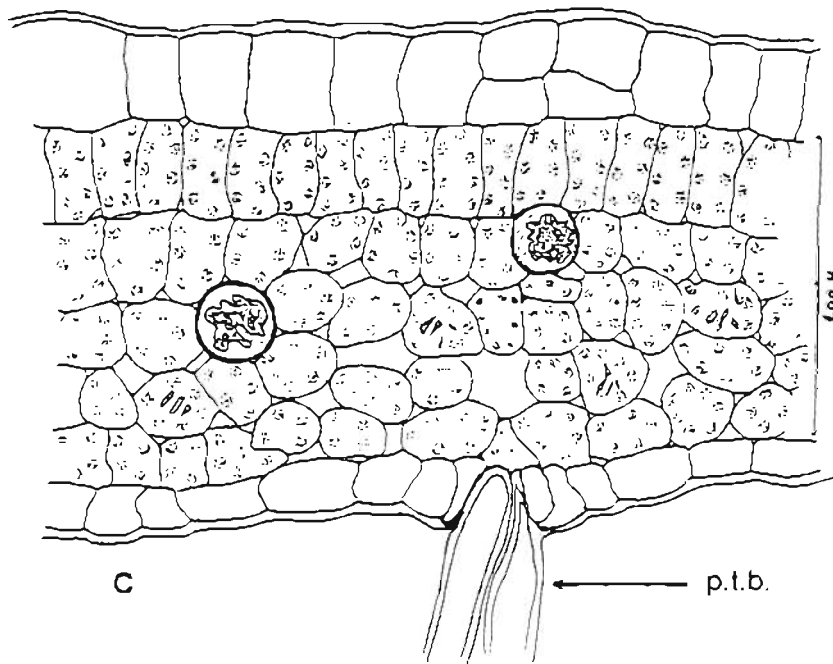
Na epiderme inferior, os estômatos são numerosos e do tipo paracítico (Figura 7B), também, verifica-se a presença de numerosos tufo de pêlos tectores, com frequência maior, particularmente, na região de nervura.



A



B



C

Figura 6 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. - Folha. Secção transversal de lâmina foliar. 6A, 6B, 6C. ep. sup. = epiderme superior; ep. inf. = epiderme inferior; p. p. = parênquima paliçádico; p. esp. = parênquima esponjoso; p. t. b. = pêlo tector bifurcado; p.t. = tufo de pêlos tectores; c. ac. = cristais aciculares; c. ol. = célula oleífera

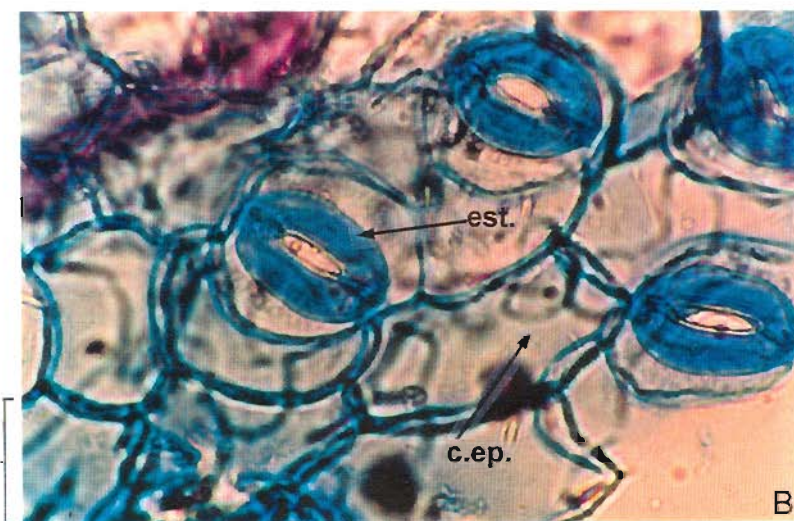
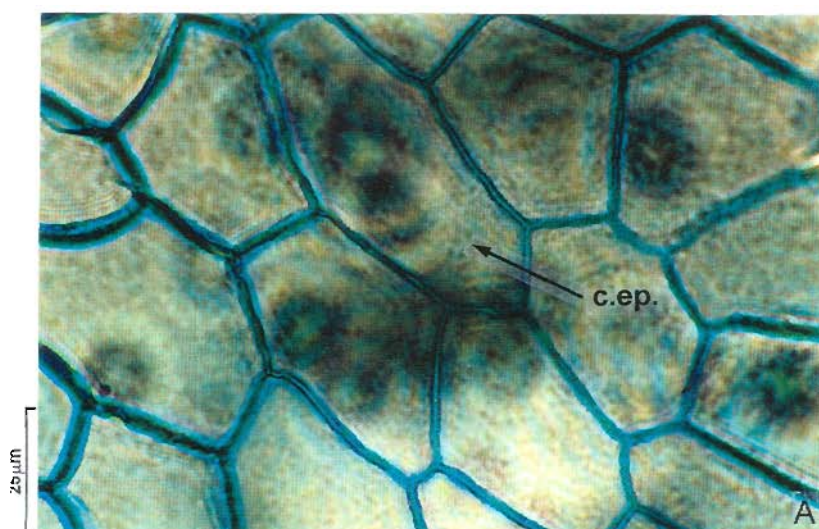


Figura 7 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha.

7A Epiderme superior. 7B Epiderme inferior. c. ep. = célula epidérmica; est. = estômato paracítico [coloração: azul de Astra] (7A, 7B, x 400)

Nervura mediana

Em corte transversal, a nervura mediana possui contorno biconvexo, mais proeminente na face abaxial (Figura 8). Na epiderme superior desta região, as células são aproximadamente quadrangulares, convexas e menores que as demais observadas na lâmina foliar (Figura 9A). De forma contígua à epiderme, encontram-se de 3 a 8 camadas de colênquima angular (Figura 9A). Voltada para a face adaxial observa-se camada descontínua de parênquima paliádico (Figura 9A).

O feixe vascular, do tipo colateral aberto, encontra-se disposto em arco. Estreita faixa parenquimática interrompe esta distribuição praticamente circular com a concavidade maior voltada para a face adaxial. Verificam-se calotas fibrosas adjacentes ao floema (Figura 8). As células contendo compostos fenólicos dispõem-se, principalmente, na região interna ao xilema (Figuras 8 e 23 A). Em cortes histológicos de material fixado, este conteúdo mostra-se com coloração acastanhada. Após tratamento com solução de cloreto férrico 2 % (m/v), adquire cor preta. Muitas vezes, ao se submeterem os cortes histológicos às técnicas de descoloração e coloração, ocorre o desaparecimento deste conteúdo (Figura 9B).

Os elementos traqueais aparecem agrupados ou separados por células parenquimáticas (Figura 9B). O parênquima fundamental que envolve o feixe vascular é bem desenvolvido (Figura 8) e constituído de células arredondadas, de tamanhos variados, com espaços intercelulares do tipo meato (Figuras 9A e 9B). Células oleíferas, com conteúdo amarelo (Figura 10A), e células contendo cristais aciculares (Figura 10B) são encontradas no parênquima fundamental. Observam-se pêlos tectores bifurcados ou na forma de tufo ao longo da nervura (Figuras 8, 14A e 14B).

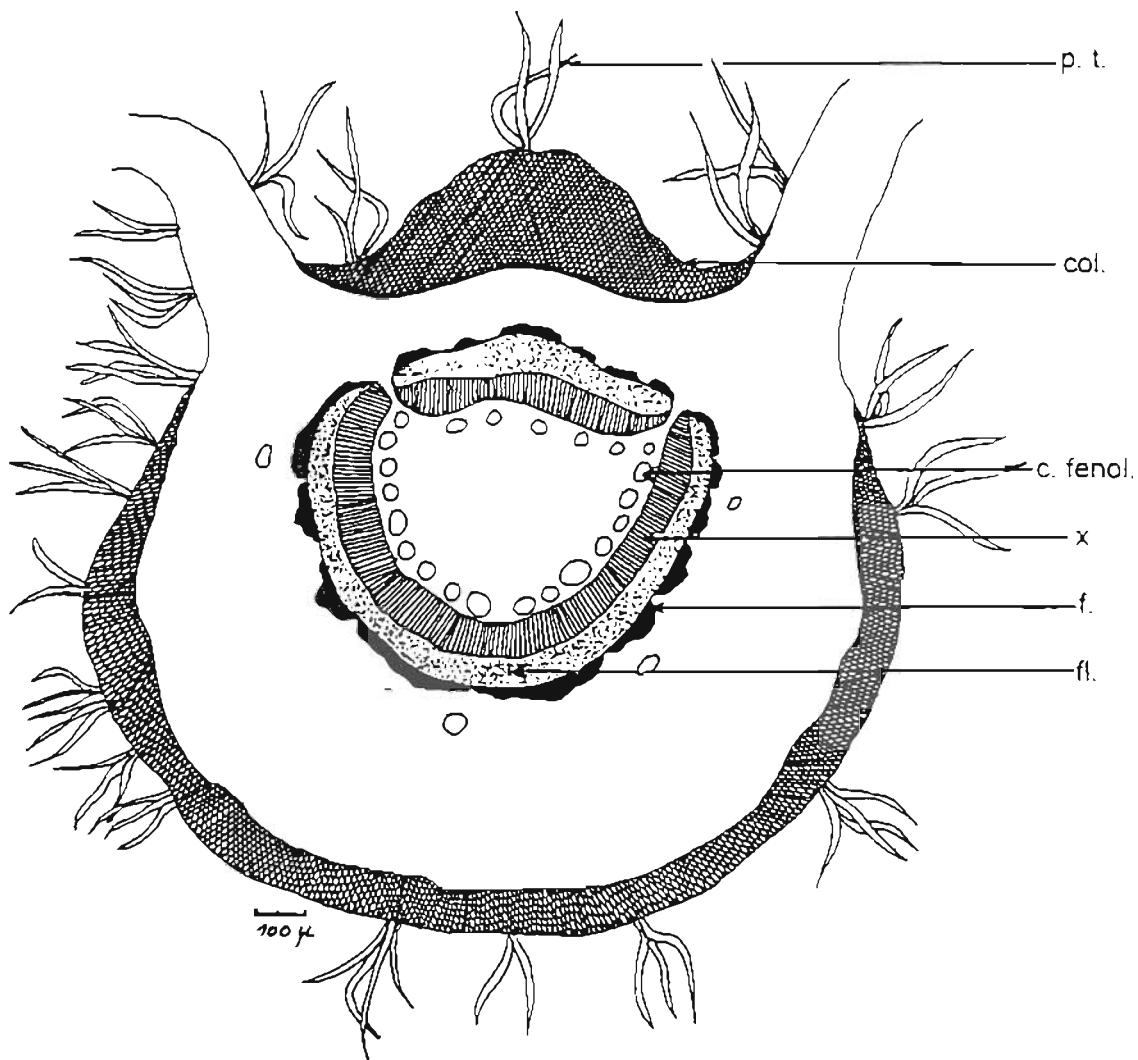


Figura 8 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha. Desenho esquemático de secção transversal de nervura mediana. p. t. = tufo de pêlos tectores; col. = colênquima; f. = fibras; fl. = floema; x. xilema; c. fen. = célula contendo compostos fenólicos

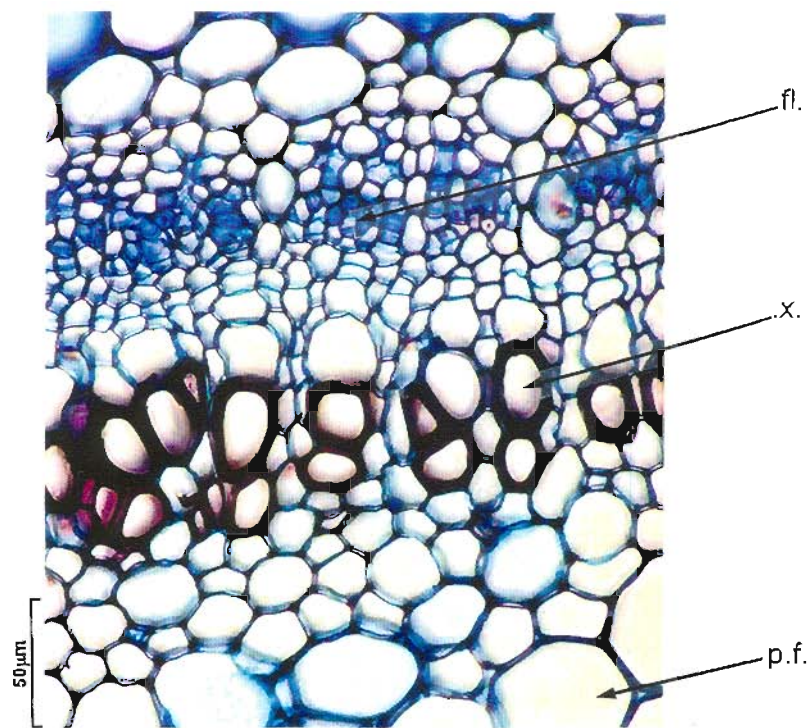
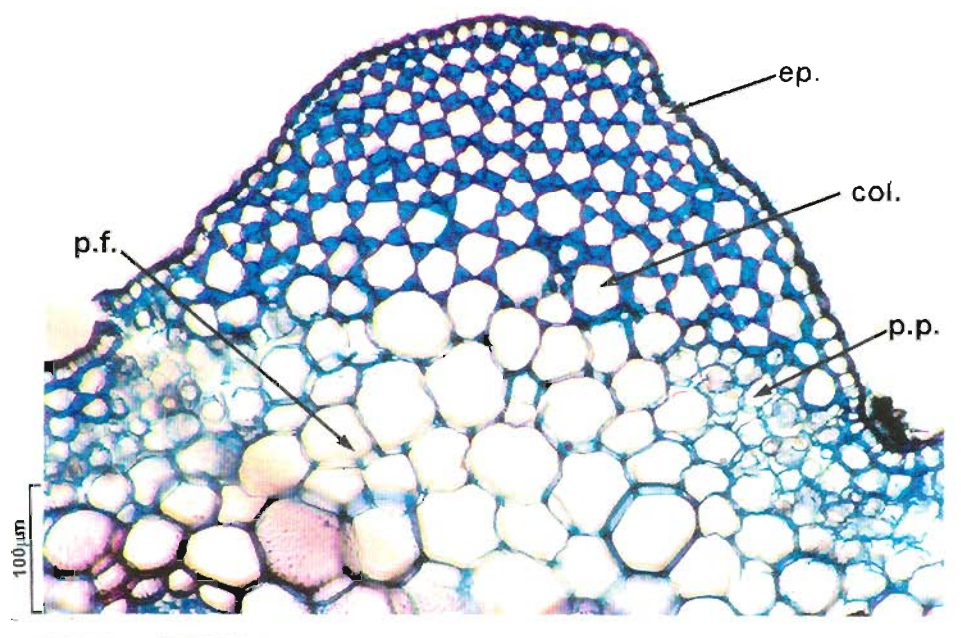


Figura 9 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha.

9A Detalhe de seção transversal de nervura mediana voltada à face adaxial. 9B Detalhe de seção transversal na região de sistema vascular. ep. = epiderme; col. = colênquima angular; p. p. = parênquima paliçádico; p. f. = parênquima fundamental; fl. = floema; x. = xilema (elemento de vaso) [coloração: azul de Astra e safranina] (9A, x 100; 9B, x 200)

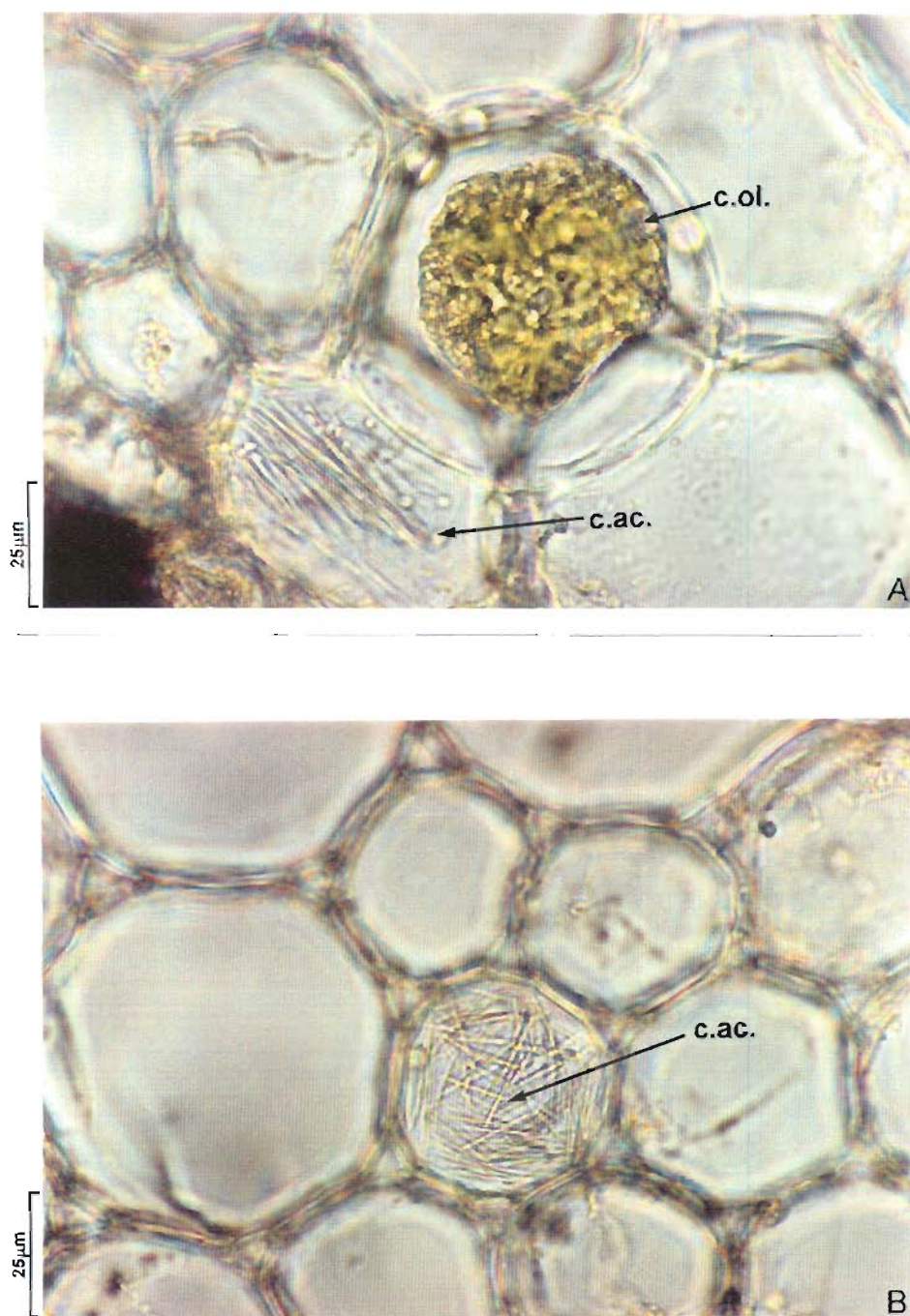


Figura 10 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha.

10A, 10B Secção transversal de nervura mediana. c.ac. = cristais aciculares; c. ol. = célula oleífera [montagem direta em solução aquosa de glicerina 50 % (v/ v)] (10A,10B, x 400)

Pecíolo

A secção transversal do pecíolo apresenta contorno arredondado (Figura 11). As células epidérmicas são ligeiramente alongadas no sentido periclinal, podendo ocorrer tufos de pêlos tectores (Figura 12).

O colênquima angular é contínuo (Figura 11) e constituído por até dez camadas celulares.

O sistema vascular colateral aberto (Figura 12) dispõe-se de forma quase circular e formando duas arestas opostas (Figura 11).

As células do parênquima fundamental externo são, geralmente, menores que as mais internas, verificando-se a presença de cristais aciculares (Figura 12) e de células oleíferas (Figuras 11 e 12), com maior frequência, ao redor do floema. Na parte interna, encontram-se células contendo compostos fenólicos (Figura 11).

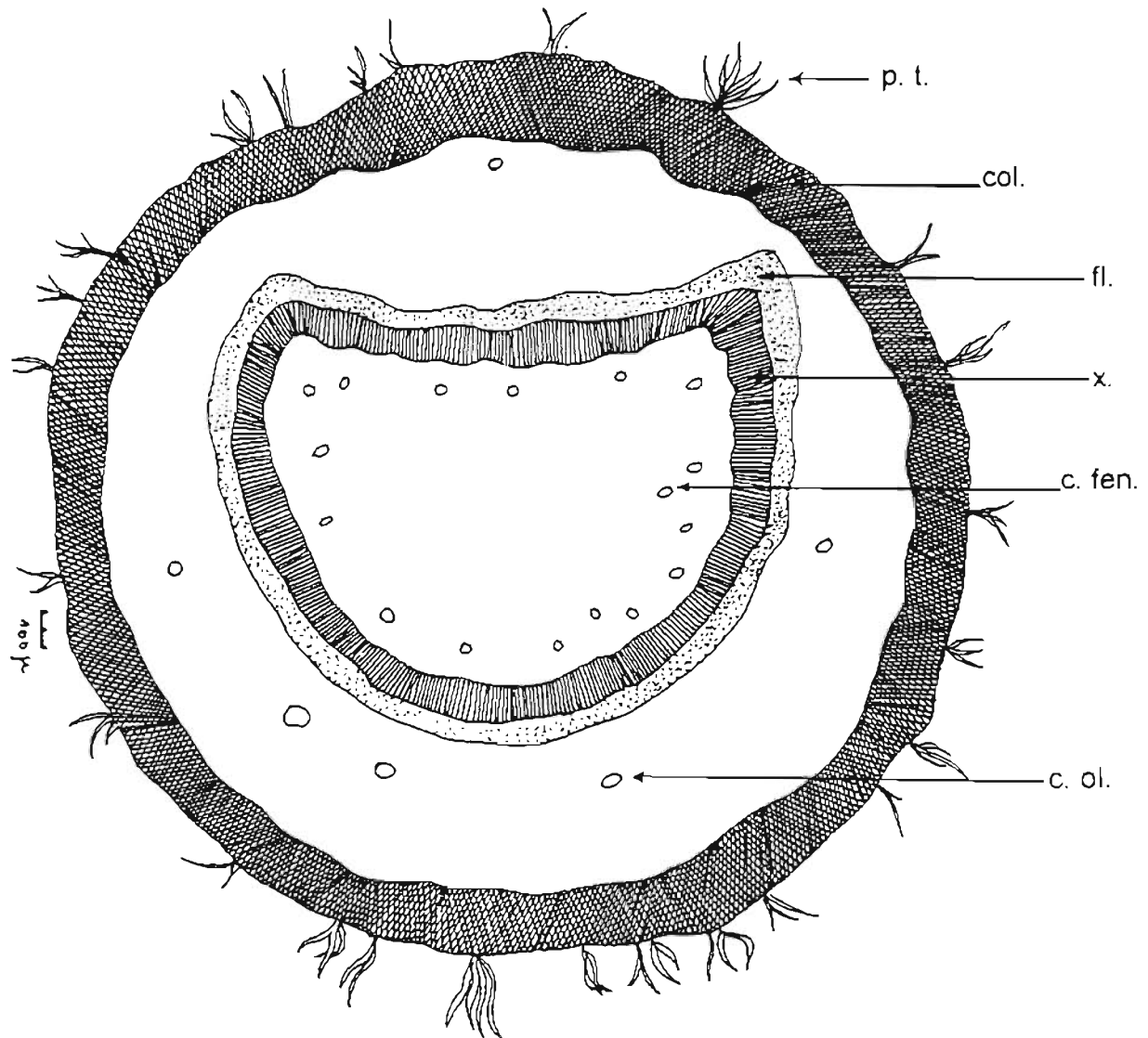


Figura 11 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Pecíolo. Desenho esquemático de secção transversal. p. t. = tufo de pêlos tectores; col. = colênquima; c. fen. = célula contendo compostos fenólicos; c. ol. = célula oleífera; fl. = floema; x. = xilema

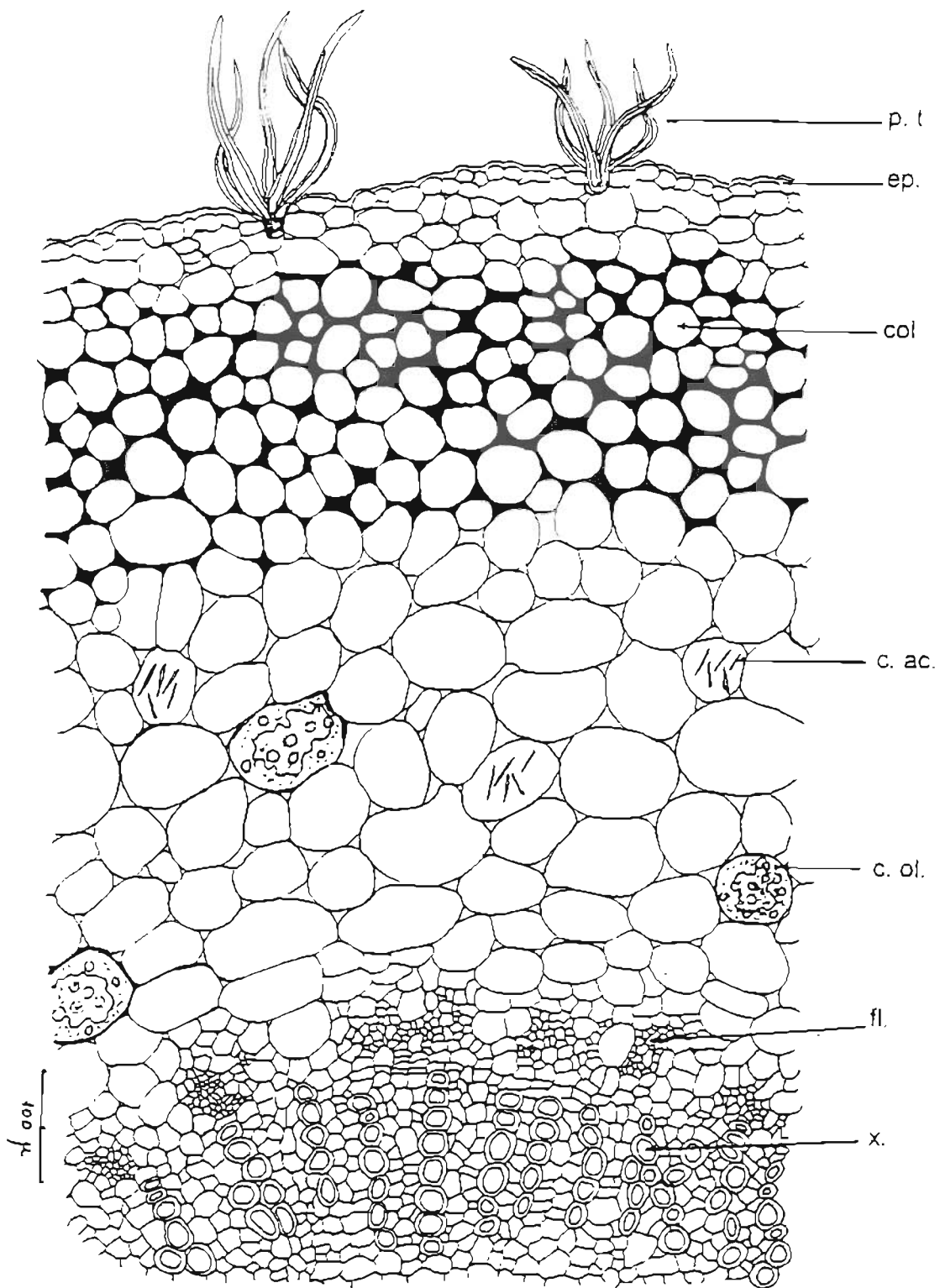


Figura 12 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Pecíolo. Corte transversal. Detalhe de uma região. p.t. = tufo de pêlos tectores; ep. = epiderme; col. = colênquima; c. ac. = cristais aciculares; c. ol. = célula oleífera; fl. = floema; x. = xilema

5. 1. 1. 3 Caracterização microscópica de folha pulverizada

As Figuras 13, 14, 15 e 16 mostram elementos histológicos de pó de folhas transformadas em droga. Verifica-se que, os tufos de pêlos tectores são freqüentes e representam elementos característicos para a diagnose da droga pulverizada (Figuras 13A, 14A e 14B). Pêlos tectores lignificados, bifurcados (Figura 14A) e na forma de tufos, com maior número de células, são encontrados, freqüentemente (Figura 14B).

Elementos traqueais espiralados são observados (Figura 13B). Na Figura 13B, verifica-se a presença de bainha de feixe vascular de natureza parenquimática. Fragmentos das epidermes superior (Figura 15A) e inferior (Figura 15B) são evidentes, mostrando característica de folha hipoestomática.

O tecido parenquimático é observado na amostra. Células deste tecido dispõem-se nas Figuras 14A, 14B, 15A, 16A e 16B. Na Figura 16A, ressalta-se o conteúdo celular representado por cristais aciculares. A Figura 16B evidencia células do parênquima esponjoso com projeções e espaço intercelular.

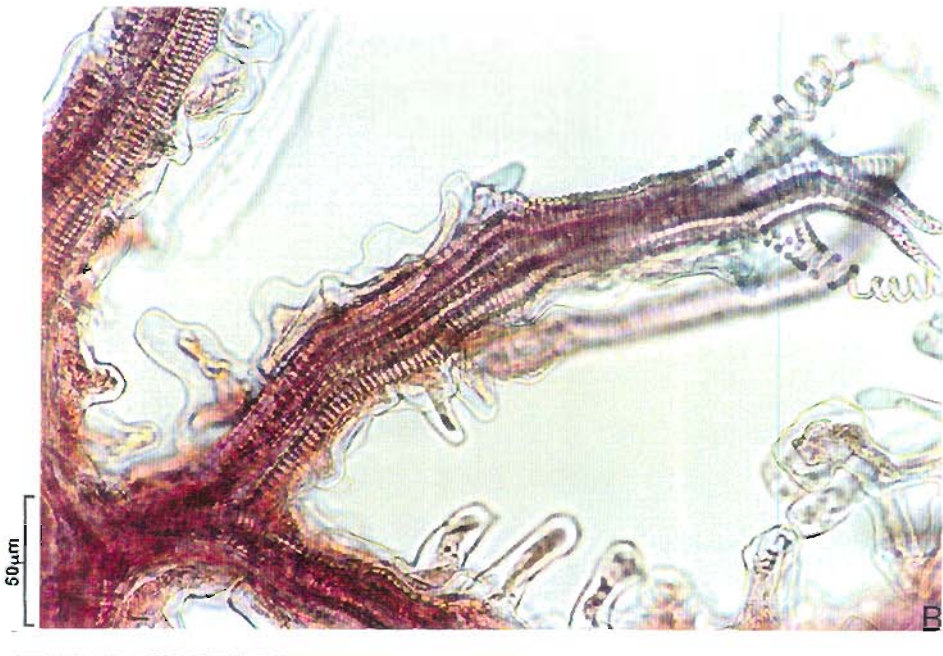
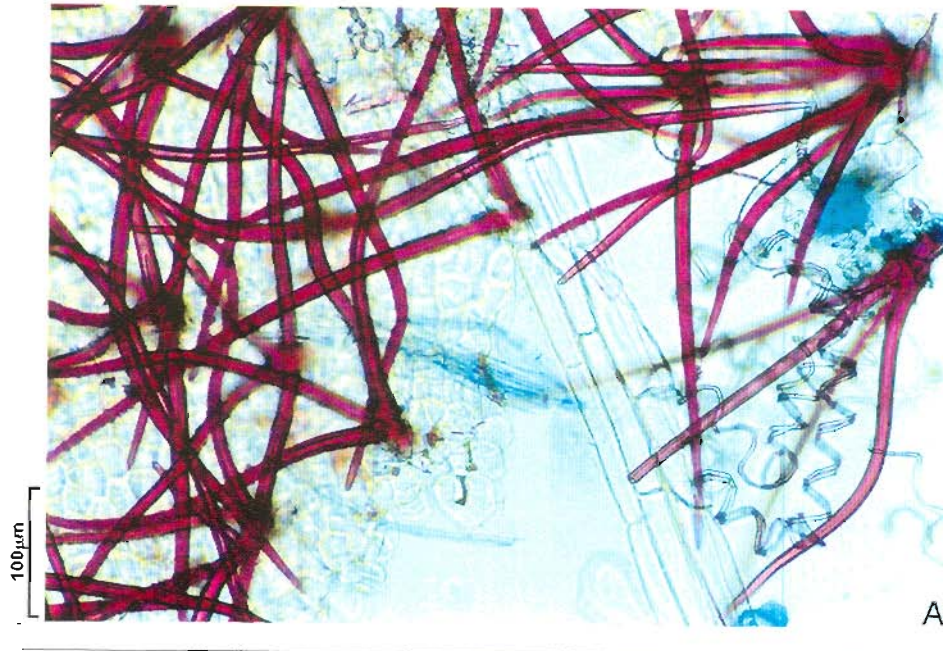


Figura 13 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha. Material pulverizado.
13A Epiderme. Detalhe de tufo de pêlos tectores e elementos traqueais [coloração: azul de Astra e safranina] **13B** Detalhe de elementos traqueais com espessamento espiralado de lignina [coloração: safranina] (13A, x 100; 13B, x 200)

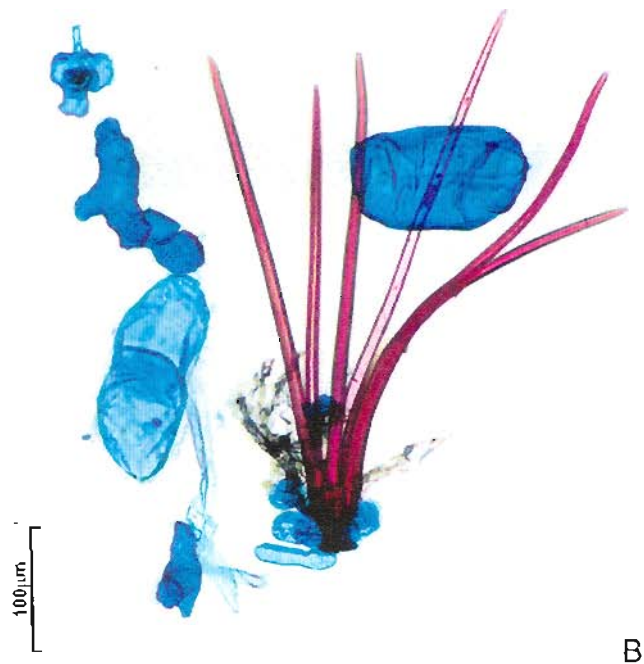
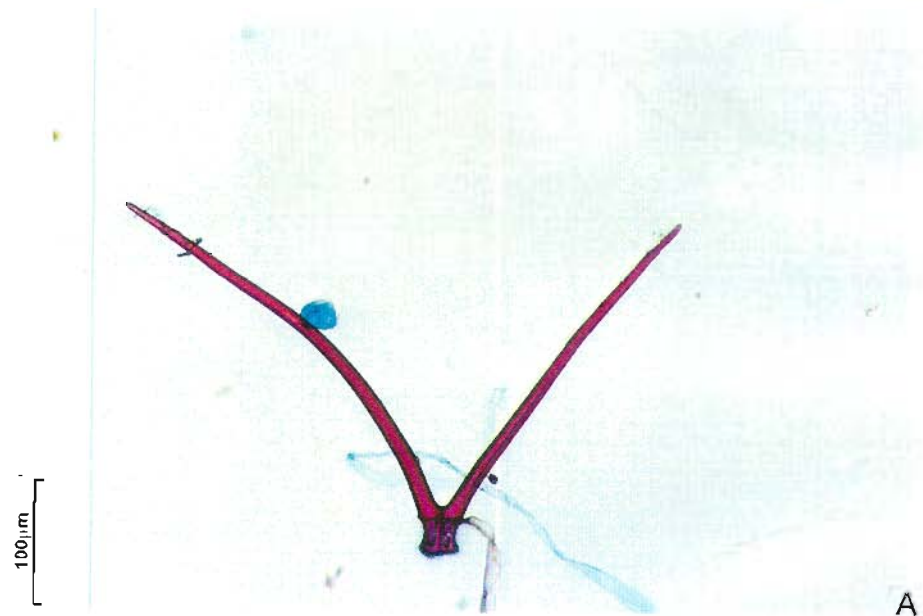


Figura 14 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha. Material pulverizado.
14A Detalhe de pêlo tector bifurcado 14B Detalhe de tufo de pêlos tectores lignificados, constituído de seis células. Acompanham células parenquimáticas coradas em azul [coloração: azul de Astra e safranina] (14A, 14B, x 100)

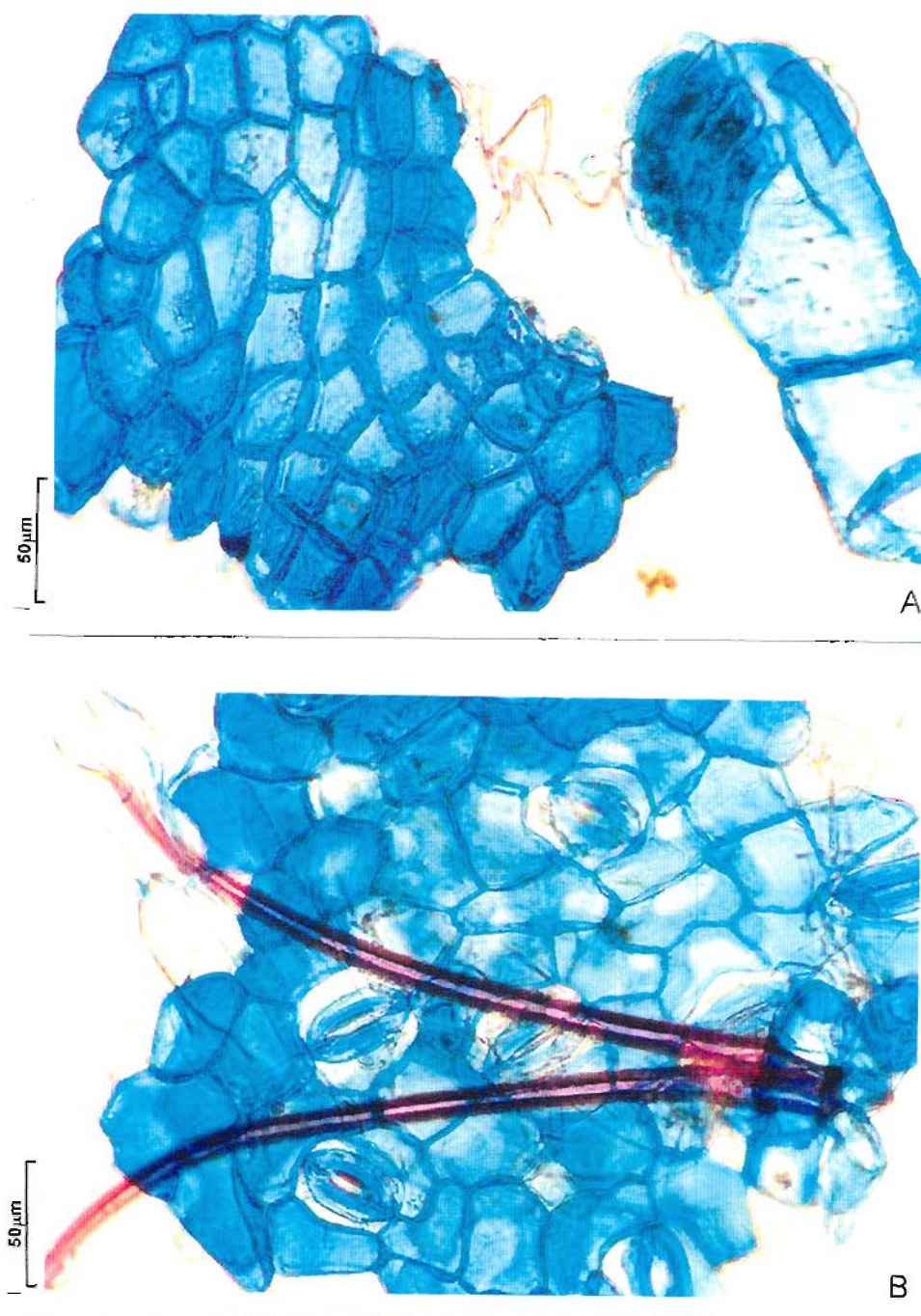


Figura 15 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha. Material pulverizado. **15A** Detalhe de fragmentos de epiderme superior. [coloração: azul de Astra] **15B** Detalhe de fragmento de epiderme inferior, com estômatos e pêlo tector bifurcado [coloração: azul de Astra e safranina] (15A, 15B, x 200)

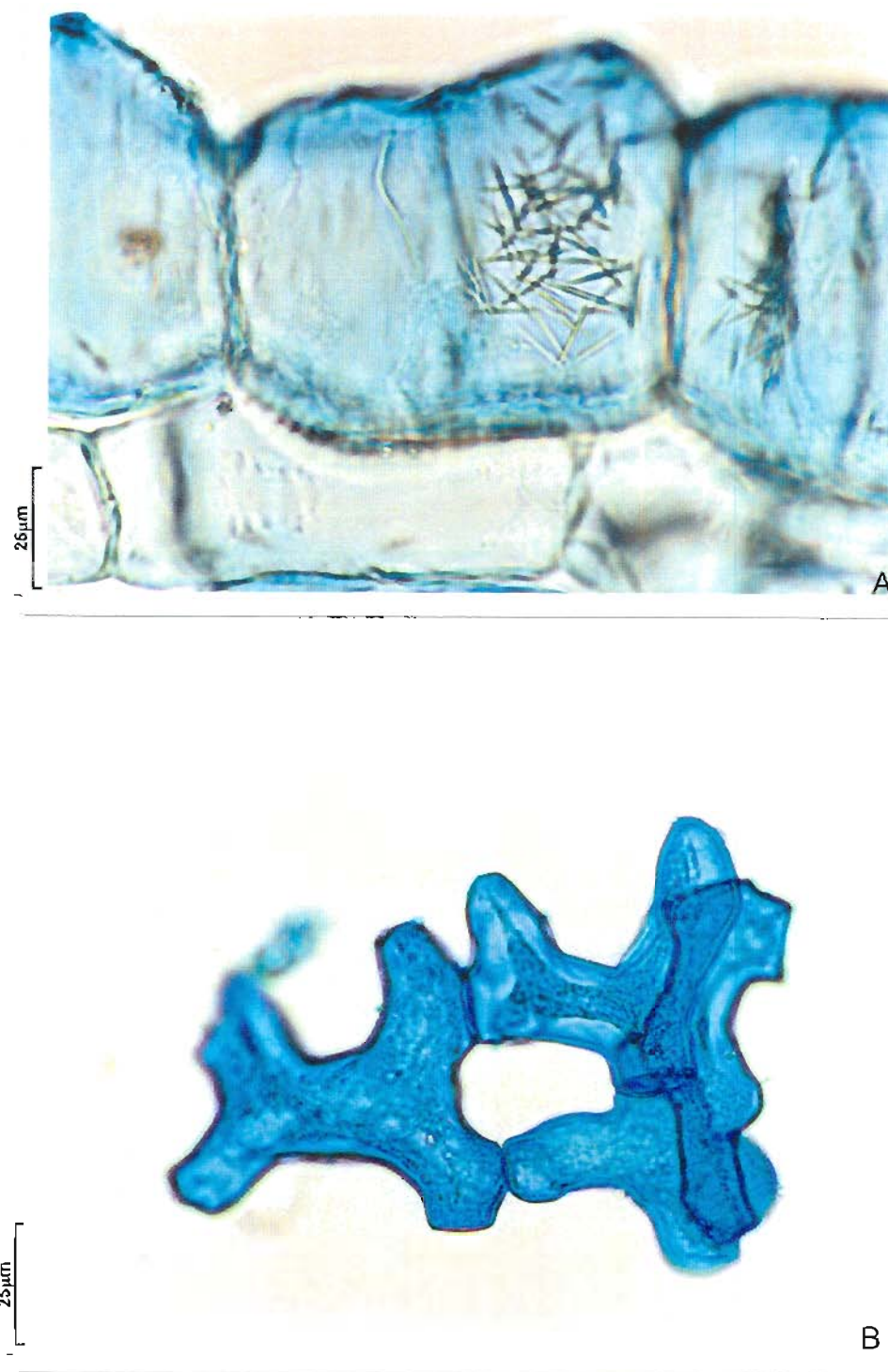


Figura 16 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Folha. Material pulverizado. **16A** Detalhe de células parenquimáticas contendo cristais aciculares. **16B** Detalhe de células de parênquima esponjoso [coloração: azul de Astra] (16A, 16B, x 400)

5. 1. 1. 4 Caracterização microscópica de caule

Estrutura primária de caule

Na Figura 17, a seção transversal do caule, em estrutura primária, mostra-se aproximadamente circular.

As células epidérmicas são aproximadamente isodiamétricas ou ligeiramente alongadas no sentido periclinal (Figura 18). Tufos de pêlos tectores podem ser observados nesta região (Figuras 17 e 18). O colênquima angular é contínuo (Figura 17) e constituído, em geral, por quatro camadas celulares (Figura 18).

O parênquima cortical e o medular apresentam células de tamanhos variados, com espaços intercelulares do tipo meato. Nestas regiões e no colênquima, encontram-se células contendo cristais aciculares, sendo mais freqüentes no parênquima medular (Figura 18). Células oleíferas são vistas no parênquima cortical (Figuras 17 e 18).

A estrutura é sifonostélica ectoflóica (Figura 17), observando-se estreita faixa cambial (Figura 18). O floema possui, externamente, calotas de fibras (Figuras 17 e 18). Os elementos traqueais mostram-se agrupados ou separados por células parenquimáticas (Figura 18). Internamente à região onde se encontram estes elementos, há células com conteúdo acastanhado, dispostas em círculo (Figuras 17 e 18). Com o emprego de solução de cloreto férrico 2% (m/ v), evidenciou-se a natureza química deste material constituído de compostos fenólicos.

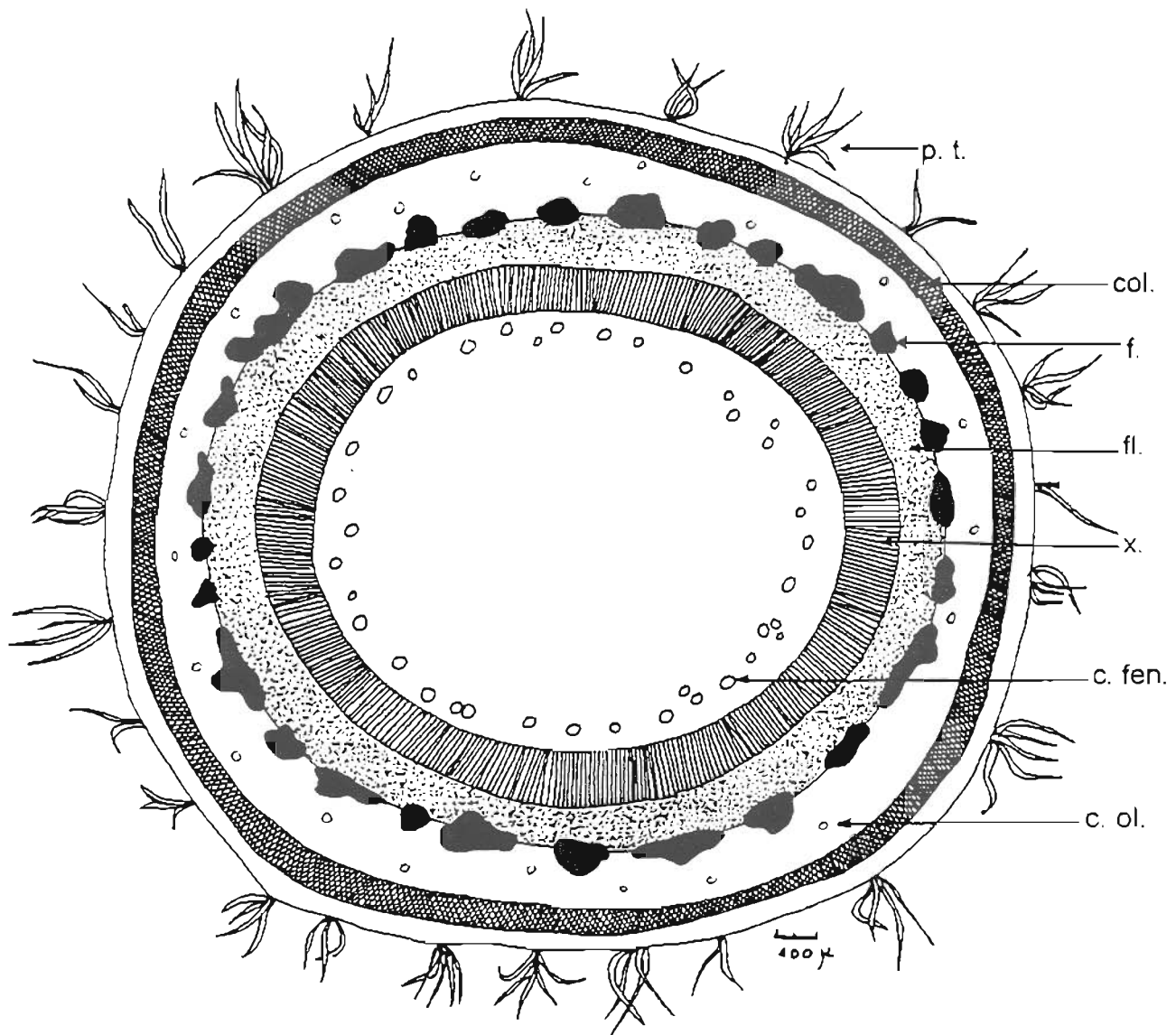


Figura 17- *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule. Estrutura primária. Desenho esquemático de secção transversal. p. t. = tufo de pêlos tectores; col. = colênquima; f. = fibras; fl. = floema; x. = xilema; c. ol. = célula oleífera; c. fen. = célula contendo compostos fenólicos

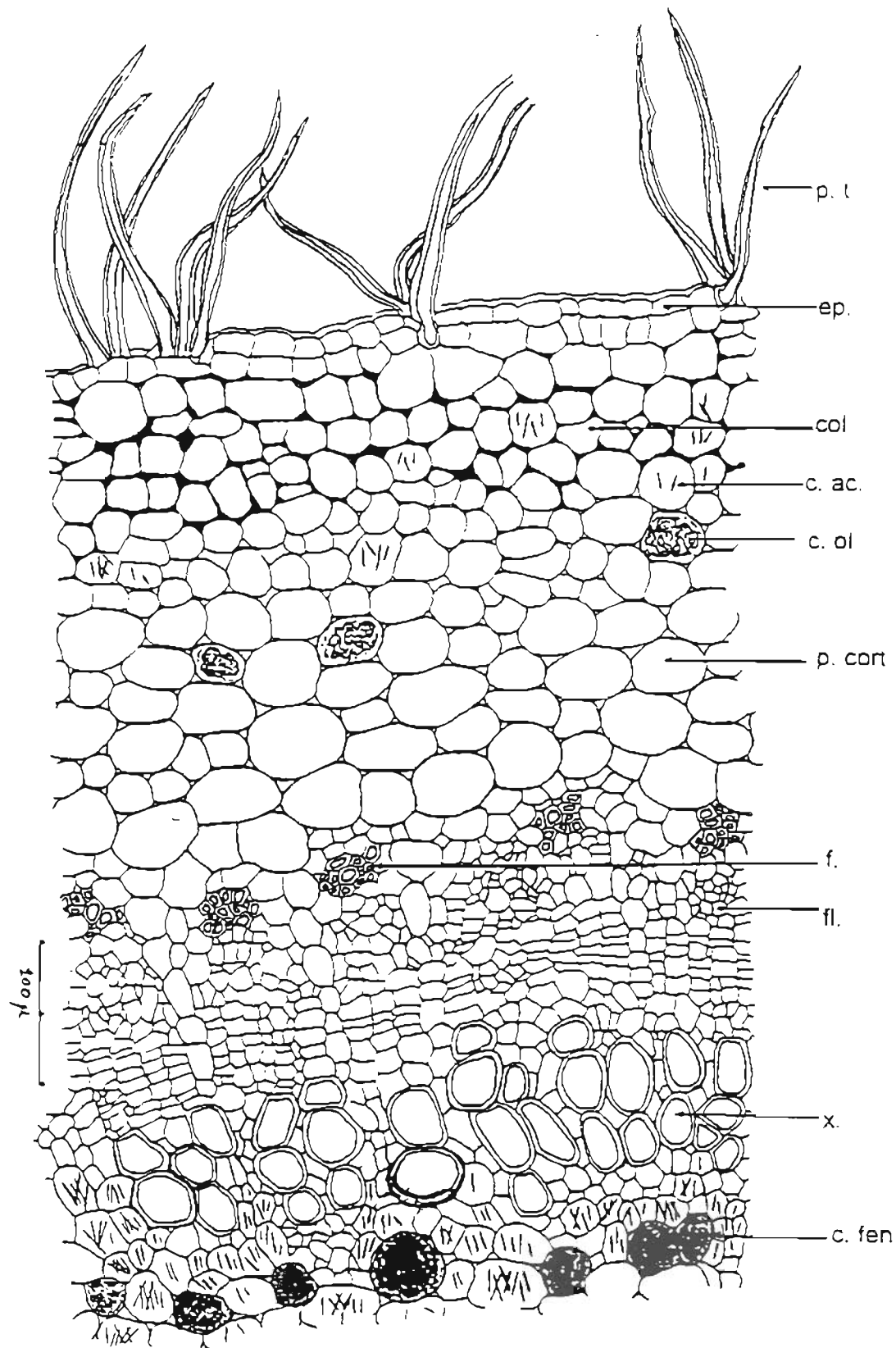


Figura 18 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule. Estrutura primária. Secção transversal. p. t. = tufo de pêlos tectores; ep. = epiderme; col. = colênquima; c. ac. = cristais aciculares; c. ol. = célula oleífera; p. cort. = parênquima cortical; f. = fibras; fl. = floema; x. = xilema; c. fen. = célula contendo compostos fenólicos

Estrutura secundária de caule

A sequência dos tecidos observados na secção transversal de caule, em estrutura secundária plenamente desenvolvida, encontra-se na Figura 19.

O súber, visto em secção transversal, apresenta numerosas camadas de células de formato retangular, alongadas no sentido periclinal (Figuras 19, 20B, 21A e 22A). As paredes celulares finas adquirem coloração róseo alaranjada, quando tratadas com Sudam III. Na Figura 22A, evidencia-se região, com lenticela.

O parênquima cortical é constituído por células de contorno arredondado, neste, grupos de células pétreas ocorrem (Figura 22A), algumas vezes, associados com fibras (Figuras 19 e 21B). Células oleíferas, com conteúdo amarelo e, com menor frequência, células contendo cristais aciculares são vistas nesta região (Figura 19).

O floema apresenta elementos crivados, células parenquimáticas, algumas delas contendo material lipófilo, além de células pétreas (Figuras 19 e 22B). Os raios vasculares são estreitos, apresentando de uma a duas fileiras de células (Figura 22B). Externamente ao floema, evidenciam-se grupos formados de fibras e células pétreas (Figuras 19 e 21B).

O xilema possui elementos traqueais, fibras e células parenquimáticas (Figuras 23A, 23B, 24A e 24B). Na secção transversal, os vasos dispõem-se radialmente. Células com conteúdo acastanhado e de natureza fenólica encontram-se, junto e, muitas vezes, nas proximidades dos elementos de protoxilema, dispostas de forma circular. Internamente ao xilema, observam-se células contendo cristais aciculares (Figura 19), sendo pouco frequentes.

Na Figura 23B, representando a secção longitudinal tangencial de caule, na região de xilema, vêem-se vaso pontuado e raio vascular alongado constituído de uma a duas fileiras de células. As fibras, igualmente, são evidentes nas Figuras 23B e 24A.

Detalhes dos elementos traqueais podem ser vistos, no material dissociado, conforme observa-se nas Figuras 24A e 24B, onde é possível notar placa perfurada simples (Figura 24A) e o espessamento pontuado da parede celular (Figuras 24A e 24B).

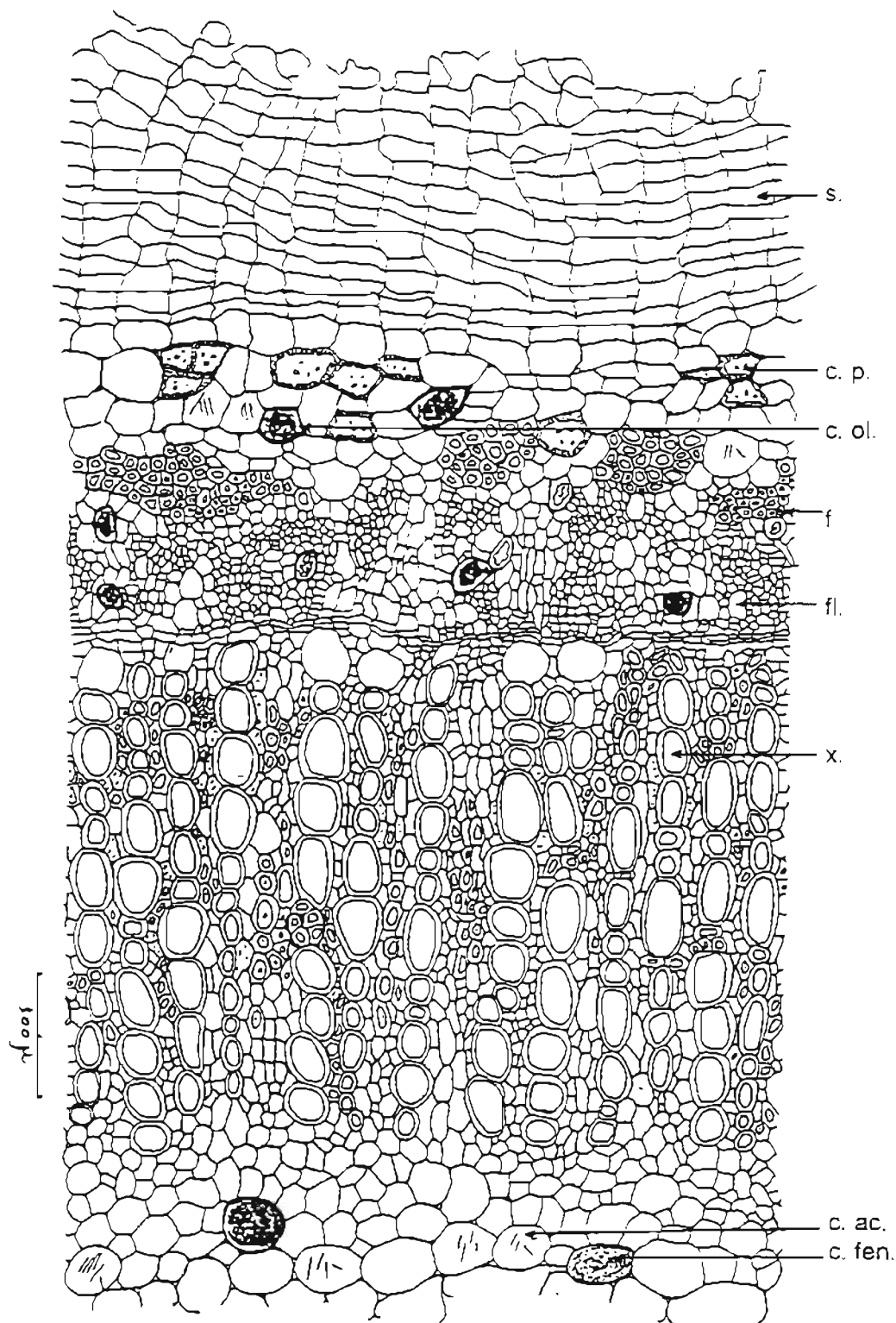


Figura 19 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule. Estrutura secundária. Secção transversal. s. = súber, c. p. = célula pética; c. ol. = célula oleífera; f. = fibras; fl. = floema; x. = xilema; c. ac. = cristais aciculares; c. fen. = célula contendo compostos fenólicos

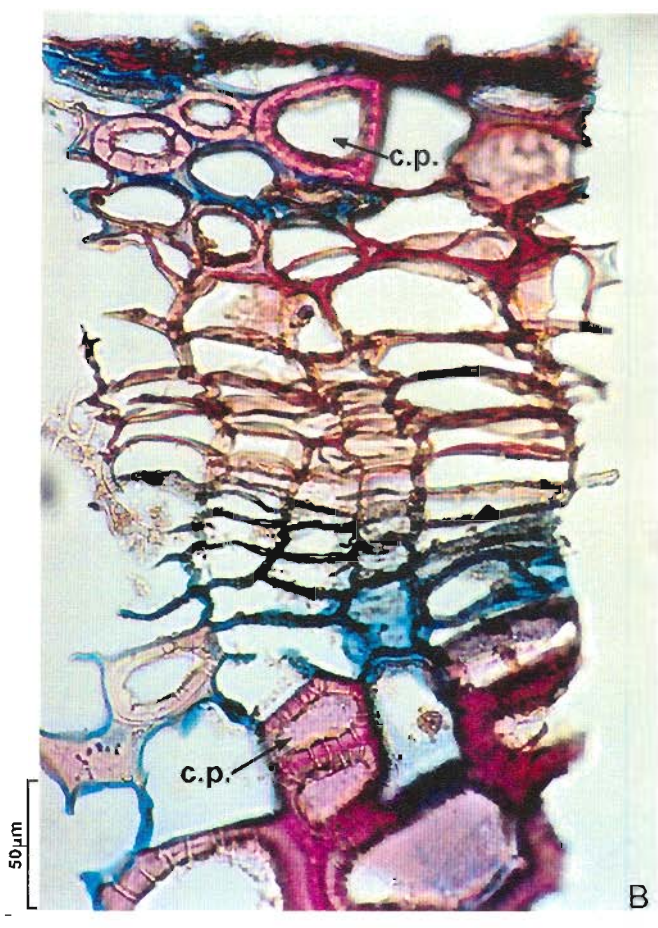
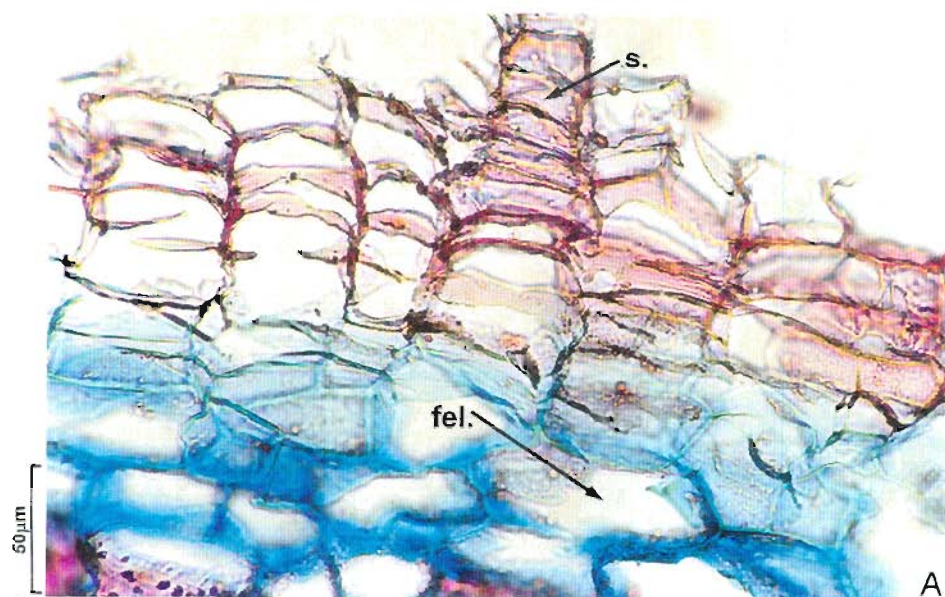


Figura 20 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule em secção transversal. Estrutura secundária. 20A Detalhe de região externa. 20B Detalhe de ritidoma. s = súber; fel. = feloderme; c. p. = célula pética [coloração: azul de Astra, safranina e Sudam III] (20A, 20B, x 200)

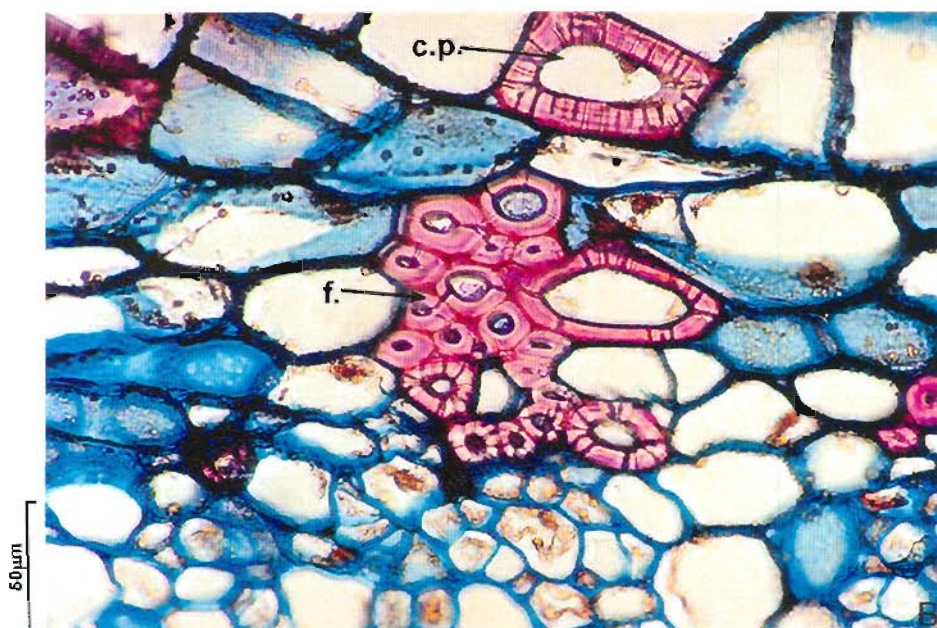
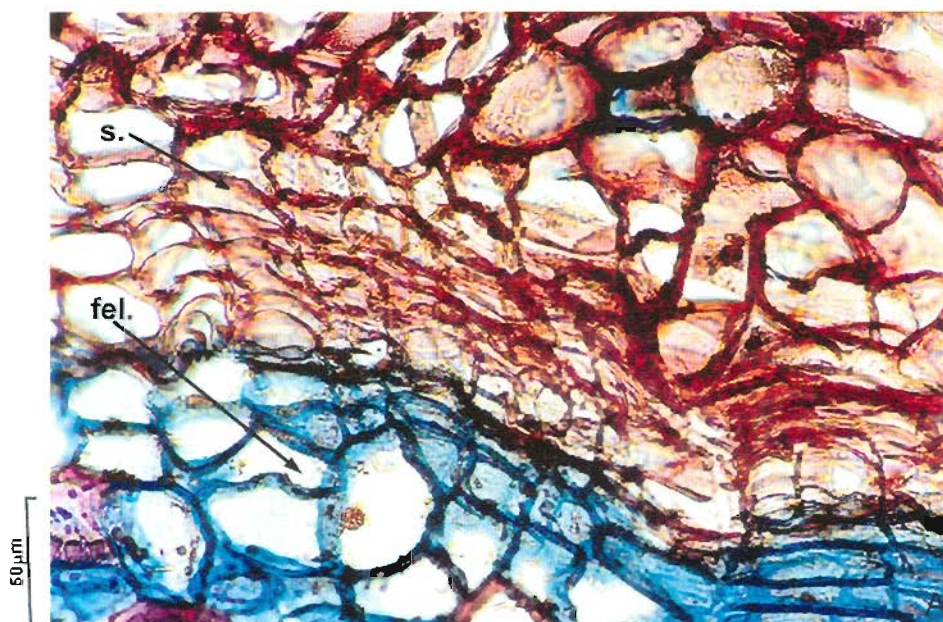


Figura 21- *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule em secção transversal. Estrutura secundária. 21A Detalhe de região externa. [coloração: azul de Astra, safranina e Sudam III] 21B Detalhe de região cortical limite com floema. s. = súber; fel. = feloderme; c. p. = célula pétreia; f. = fibras [coloração: azul de Astra e safranina] (21A, 21B, x 200)

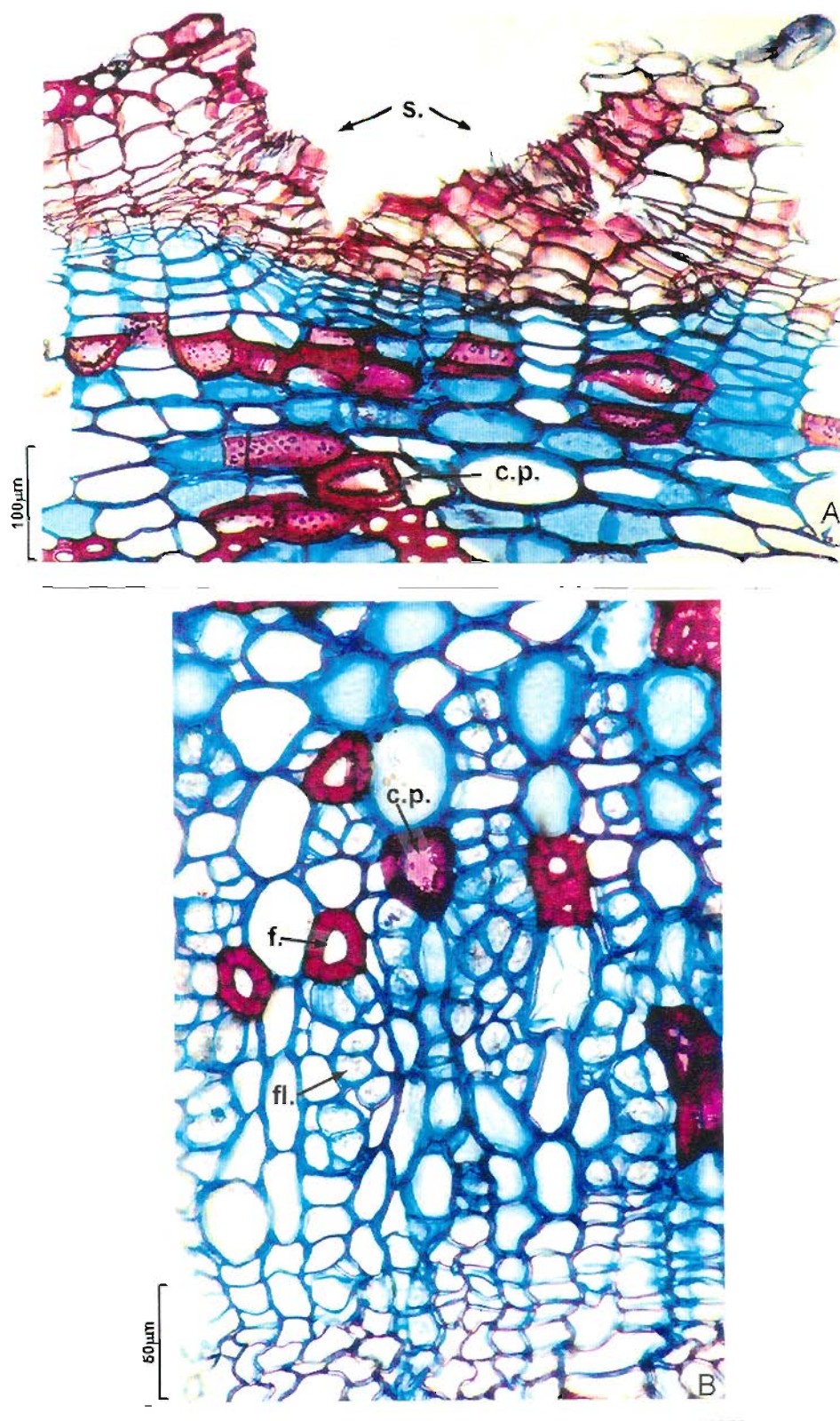


Figura 22 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule em secção transversal. Estrutura secundária. **22A** Detalhe de região cortical. [coloração: azul de Astra, safranina e Sudam III] **22B** Detalhe de região floemática. s = sùber (região de lenticela); c. p. = cùlula pùtrea; f. = fibras; fl. = floema [coloração: azul de Astrã e safranina] (22A, x 100; 22B, x 200)

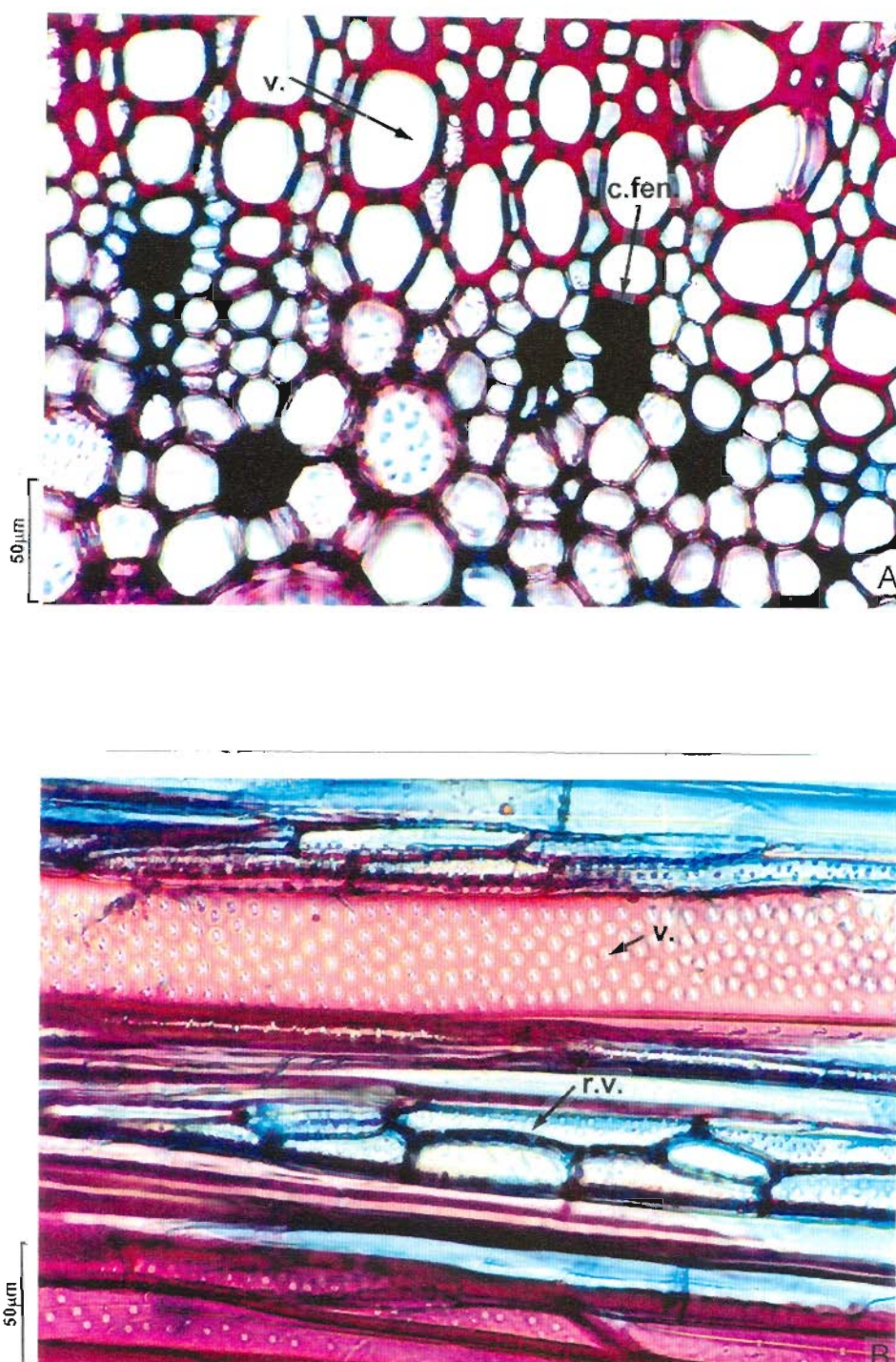


Figura 23 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Caule. Estrutura secundária. **23A** Secção transversal. Detalhe de xilema interno e de região medular, observando-se células com conteúdo escuro (compostos fenólicos). [coloração: Azul de Astra, safranina e solução de cloreto férrico 2% m/ v] **23B** Secção longitudinal tangencial. Detalhe de região de xilema. c. fen. = célula contendo compostos fenólicos; v = vaso do xilema; r. v. = raio vascular [coloração: azul de Astra e safranina] (23A, 23B, x 200)

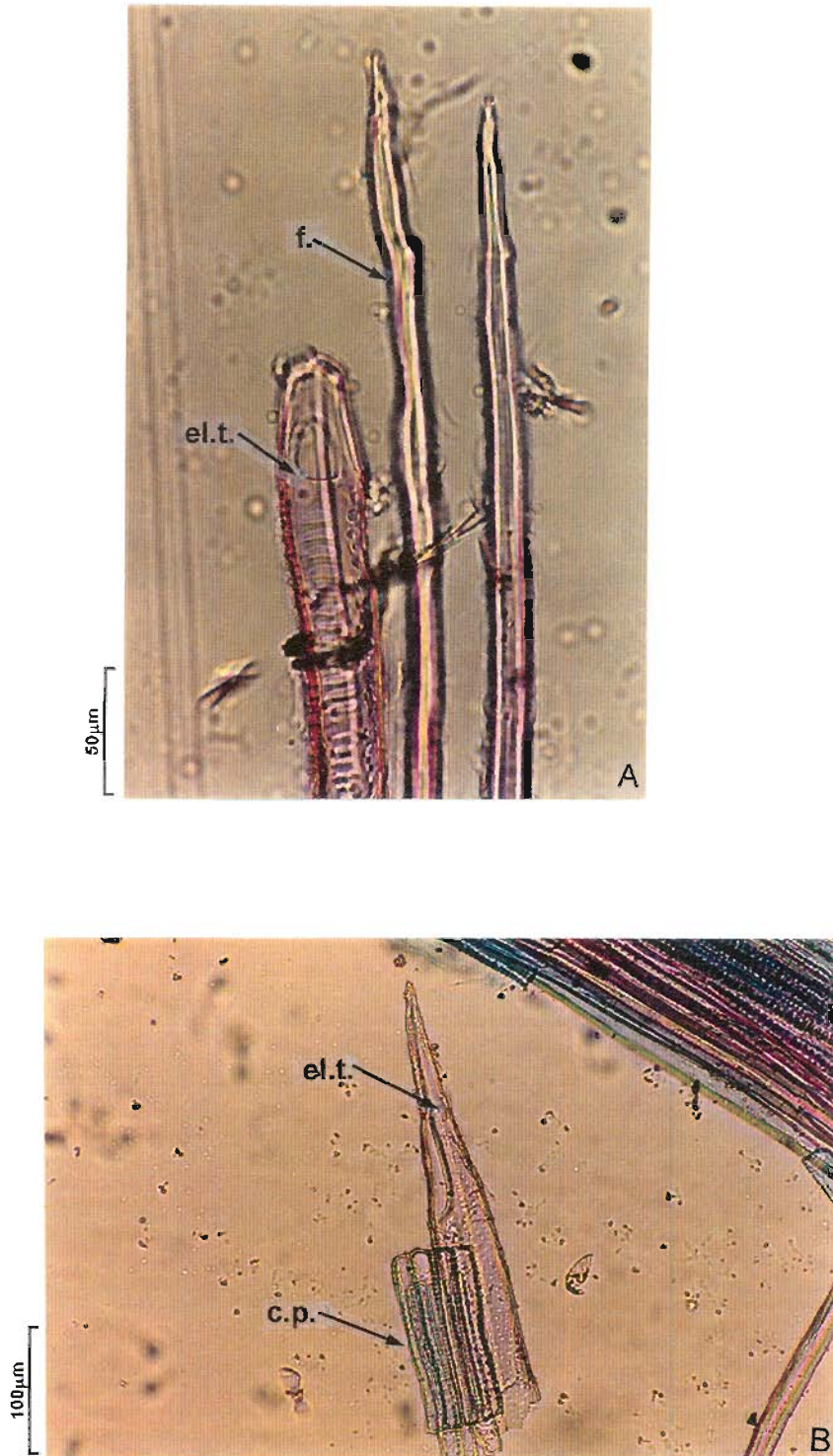


Figura 24 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Material dissociado. **24A** Elemento traqueal e fibra. **24B** Elemento traqueal e célula de parênquima do xilema. el. t. = elemento traqueal; f. = fibra; c. p. = célula de parênquima do xilema [coloração: azul de Astra e safranina] (24A, x 200; 24B, x 100)

5. 1. 2 Caracterização física e química da droga

5. 1. 2. 1 Determinação de parâmetros físico e químico

Substâncias voláteis a 105 °C e cinzas totais

Os resultados relativos às determinações de substâncias voláteis a 105 °C e de cinzas totais de folha e de folha e caule em mistura, realizados de acordo com o ítem 4. 2. 1. 2. 1, estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 - Teores de substâncias voláteis a 105 °C e de cinzas totais de folha e de mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.

	SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS A 105°C	CINZAS TOTAIS
	% (m/ m)	% (m/ m)
FOLHA	6,06	7,88
FOLHA E CAULE (MISTURA)	11,80	4,90

5. 1. 2. 2 Identificação de grupos de substâncias

A Tabela 2 apresenta os resultados da abordagem fitoquímica realizada com folha e com mistura de folha e caule.

Tabela 2 - Identificação de grupos de substâncias em folha e em mistura de folha e caule de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.

GRUPO DE SUBSTÂNCIAS	REAÇÃO, REATIVO* e VERIFICAÇÃO	OBSERVAÇÕES E RESULTADO			
		FOLHA		FOLHA E CAULE (MISTURA)	
ALCALÓIDES	r. Bertrand	ppt. esbranquiçado	+	ppt. esbranquiçado	+
	r. Bouchardat	ppt. castanho escuro	+	ppt. castanho escuro	+
	r. Dragendorff	ppt. vermelho escuro	+	ppt. vermelho escuro	+
	r. Mayer	ppt. bege	+	ppt. bege	+
ANTRADERIVADOS	R. Borntraëger	fase aquosa incolor	-	fase aquosa incolor	-
COMPOSTOS DE NÚCLEO ESTEROIDAL	R. Liebermann-Burchard	interface dos líquidos castanho-avermelhada	+	interface dos líquidos castanho-avermelhada	+
FLAVONÓIDES	sol. cloreto de alumínio 5 %	fluorescência intensa cor amarelo-esverdeada	+	fluorescência fraca cor amarelo-esverdeada	+
	sol. hidróxido de sódio 1 N	sol. amarelo-alaranjada	+	sol. amarelo-alaranjada	+
	R. Shinoda	sol. castanho-escura, levemente avermelhada	+	sol. castanho-clara, levemente avermelhada	+
MUCILAGENS	aumento de volume	ocorreu	+	ocorreu	+
	volume inicial de 1 g da droga (mL)	8		4	
	volume final de 1g da droga (mL)	14		9	

Tabela 2 - Continuação

GRUPO DE SUBSTÂNCIAS	REAÇÃO, REATIVO* e VERIFICAÇÃO	OBSERVAÇÕES E RESULTADO			
		FOLHA		FOLHA E CAULE (MISTURA)	
ÓLEO ESSENCIAL	odor da planta fresca	intenso, fortemente aromático e cítrico	+	intenso, fortemente aromático e cítrico	+
	odor da droga	fracamente aromático	+	fracamente aromático	+
	midrodestilado + Sudam III	gotículas de coloração avermelhada	+	gotículas de coloração avermelhada	+
SAPONINAS	sol. droga 2% (m/ v)	espuma não persistente	-	espuma não persistente	-
	sol. droga 5% (m/ v)	espuma não persistente	-	espuma não persistente	-
	sol. droga 10% (m/ v)	espuma não persistente	-	espuma não persistente	-
TANINOS	adstringência	fracamente adstringente	+	fracamente adstringente	+
	sol. gelatina 2,5 % (m/ v)	ppt. esbranquiçado	+	ppt. esbranquiçado	+
	sol. sulfato de quinina 0,1% (m/ v)	ppt. castanho	+	ppt. castanho	+
	sol cloreto férrico 2 % (m/ v)	ppt. marrom	+	ppt. marrom	+
	sol. acetato de chumbo 10 % (m/ v)	ppt. bege-esverdeado	+	ppt. bege	+
	sol. acetato de cobre 3 % (m/ v)	ppt. bege-esverdeado	+	ppt. bege-esverdeado	+

OBS: *R = reação; r = reativo;

(+) reação positiva ou presença de composto; (-) reação negativa ou ausência de composto; ppt.= precipitado; sol.= solução

5. 1. 2. 3 Teor de óleo essencial de folha e de fruto

O resultado da determinação do teor de óleo essencial de folha e de fruto (item 4. 2. 1. 2. 3), bem como da percentagem relativa de matéria seca, em relação ao vegetal fresco, foram arrolados na Tabela 3.

Tabela 3 - Teor de óleo essencial de folha e de fruto de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC.

	TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL EM RELAÇÃO À PLANTA FRESCA % (v/ m)	TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL EM RELAÇÃO À DROGA % (v/ m)	MATÉRIA SECA EM RELAÇÃO AO VEGETAL FRESCO % (m/m)
FOLHA	0,1	0,5	20,0
FRUTO	0,2	1,0	19,1

5. 1. 2. 4 Análise cromatográfica em camada delgada

Os resultados da análise cromatográfica realizada (item 4. 2. 1. 2. 4), encontram-se nas Tabelas 4 a 8, a seguir.

A Tabela 4 apresenta o cromatograma dos extratos hexânicos de folha (FH) e de caule e folha (MH), em mistura, obtido com auxílio do sistema cromatográfico 1.

As Tabelas 5 e 6 mostram os cromatogramas dos extratos clorofórmicos de folha (FC) e de folha e caule (MC), em mistura, empregando, respectivamente, os sistemas cromatográficos 2 e 3.

O cromatograma dos extratos metanólicos de folha (FM) e de folha e caule (MM), em mistura, empregando os sistemas cromatográficos 4 e 5, encontram-se, respectivamente nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 4 - Cromatograma em camada delgada dos extratos hexânicos de folha (FH) e de mistura de folha e caule (MH) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 1. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: clorofórmio-acetona (99:1); percurso: 12,5 cm; revelador: p-anisaldeído sulfúrico, seguido de aquecimento a 110 °C, por 10 minutos; visualização à luz natural]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			FH	MH
0	circular	cinza	+++	+++
27	arredondada	roxa	++	++
35	ogival	roxa	++	++
43	arredondada	roxa	++	++
64	arredondada	roxa	++	++
82	arredondada	roxa	++	++
88	arredondada	roxa	++	++
estigmasterol				
27	ogival	roxa	+++	

* (++) = média; (+++) = forte

Tabela 5 - Cromatograma em camada delgada dos extratos clorofórmicos de folha (FC) e de mistura de folha e caule (MC) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 2. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: clorofórmio-éter etílico (98:2); percurso: 12,5 cm; visualização: luz U.V. a 366 nm]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			FC	MC
0	circular	marrom	+++	+++
3	ogival	amarela	+++	+++
21	ogival	vermelha	+++	+++
23	arredondada	branca (levemente azulada)	+	+
estigmasterol				
23	arredondada	branca (levemente azulada)		+

* (+) = fraca; (+++) = forte

Tabela 6 - Cromatograma em camada delgada dos extratos clorofórmicos de folha (FC) e de mistura de folha e caule (MC) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 3. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: clorofórmio-éter etílico (98:2); percurso: 12,5 cm; revelador: vanilina sulfúrica, seguido de aquecimento a 110 °C, por 10 minutos; visualização à luz natural]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			FC	MC
0	circular	roxo-escuro	+++	+++
18	arredondada	roxa	+	+
21	ogival	verde	++	++
23	arredondada	roxa	++	++
44	arredondada	roxa	++	+
64	arredondada	violeta	++	++
72	arredondada	azulada	+	+
80	arredondada	azul	++	+
89	arredondada	azul	++	+
estigmasterol				
23	ogival	roxa	++	

* (+) = fraca; (++) = média; (+++) = forte

Tabela 7 - Cromatograma em camada delgada dos extratos metanólicos de folha (FM) e de mistura de folha e caule (MM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 4. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: clorofórmio-metanol (9:1); percurso: 12,5 cm; visualização: luz U.V. a 366 nm]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			FM	MM
0	circular	marrom-alaranjada	++	++
23	arredondada	marrom	++	++
40	arredondada	alaranjada	+	+
50	arredondada	laranja	+	++
61	arredondada	amarela	+++	+++
76	arredondada	azul	+	+++
88	arredondada	branco-azulada	+	++
93	arredondada	avermelhada	+++	+++
asimilobina				
23	ogival	marrom		++

* (+) = fraca; (++) = média; (+++) = forte

Tabela 8 - Cromatograma em camada delgada dos extratos metanólicos de folha (FM) e de mistura de folha e caule (MM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 5. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: clorofórmio-metanol (9:1); percurso: 12,5 cm; revelador: reativo de Vágufalvi; visualização à luz natural]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			FM	MM
0	circular	laranja	+++	+++
23	arredondada	marrom	++	++
61	arredondada	alaranjada	++	++
76	arredondada	castanho-clara	+	+
asimilobina				
23	ogival	marrom	++	

* (+) = fraca; (++) = média; (+++) = forte

5. 1. 2. 5. Dados físicos e espectrométricos da substância S₁

A substância S₁, proveniente do extrato hexânico, apresentou os seguintes dados analíticos:

Cristais brancos, ponto de fusão: 169 - 171 °C

O espectro na região do infravermelho (I.V.) (Figura 25), em pastilha de KBr, mostrou as seguintes absorções:

I. V. (KBr, ν , cm^{-1}): 3386 (ν - OH), 2944 (ν - CH), 2867 (ν - CH), 1651 (ν C=C), 1455 (δ - CH), 1377 (δ - CH), 1058 (ν - C-O), 1023 (ν - C-O), 970 (δ - CH).

Pelo espectro de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ¹H) (Figura 26), em clorofórmio deuterado (CDCl₃), a 300 MHz, verificaram-se os seguintes deslocamentos químicos:

R M N ¹ H (CDCl₃, ppm): 5,16 - 5,14 (m, CH), 4,99 - 4,77 (dd, CH₂), 3,34 - 3,29 (m, CH), 2,07 (d, CH₂), 1,66 - 0,93 (m), 0,83 - 0,81 (d, CH₃), 0,65 - 0,63 (t, CH₃), 0,61 - 0,59 (d, CH₃), 0,50 - 0,48 (d, CH₃)

O espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ¹³C) (Figura 27), empregando clorofórmio deuterado como solvente, a 75,5 MHz, permitiu a observação dos sinais seguintes:

R M N ¹³ C (CDCl₃, ppm): 140,32, 137,88, 128,84, 121,29, 71,39, 56,43, 55,52, 50,81, 49,72, 41,87, 41,79, 40,06, 39,24, 36,82, 36,08, 33,51, 31,46, 31,23, 28,48, 24,97, 23,93, 20,78, 20,65, 18,55, 18,34, 11,81, 11,61

O espectro de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (DEPT 135°) e o espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) determinados em clorofórmio deuterado (CDCl₃), respectivamente, a 75,5 e 300 MHz encontram-se, nesta sequência, nas Figuras 28 e 29.

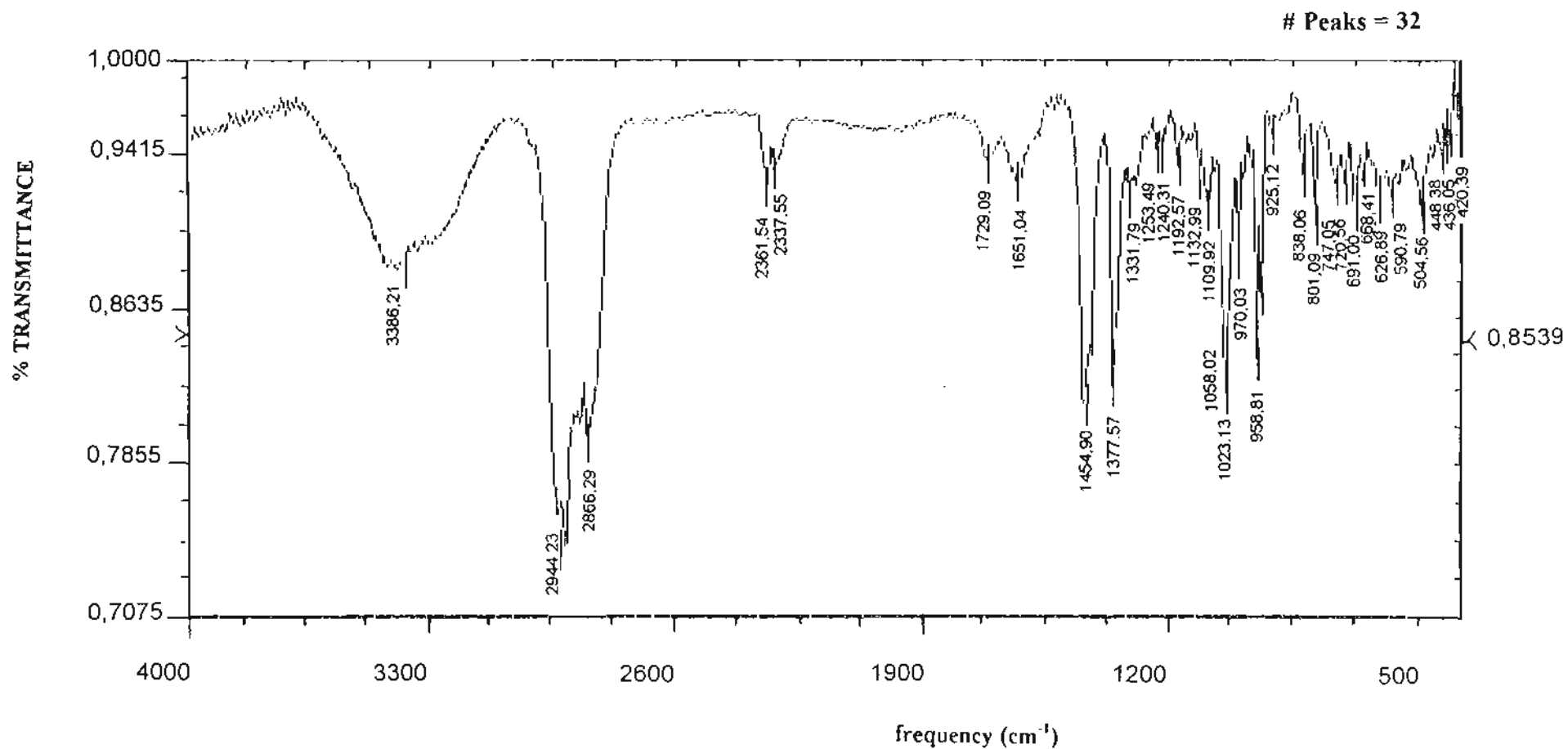


Figura 25 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro IV da substância S₁, em pastilha de KBr

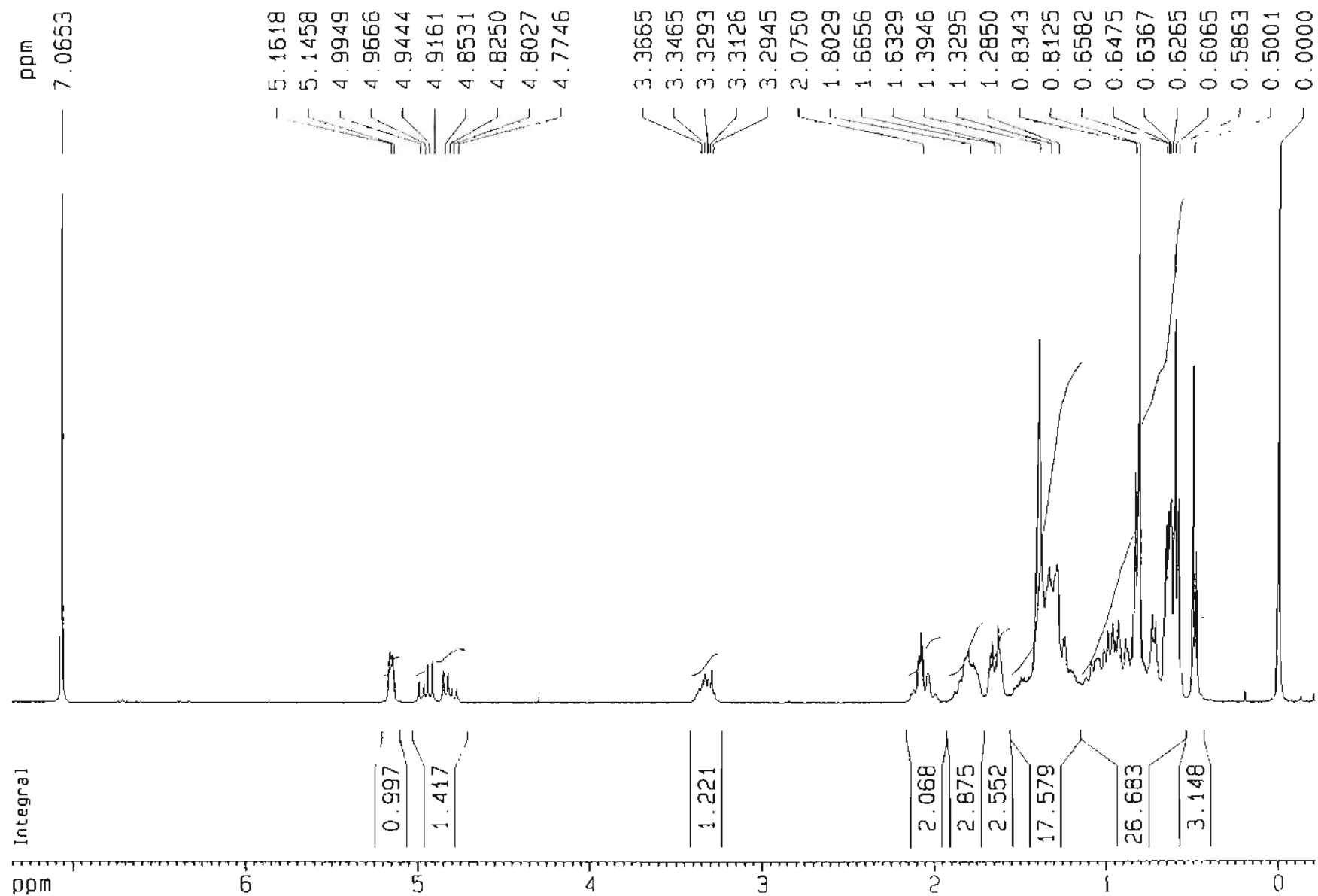


Figura 26 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro de RMN ^1H da substância S_1 , em CDCl_3 , a 300 MHz, utilizando TMS/CCl_4 , como referência externa.

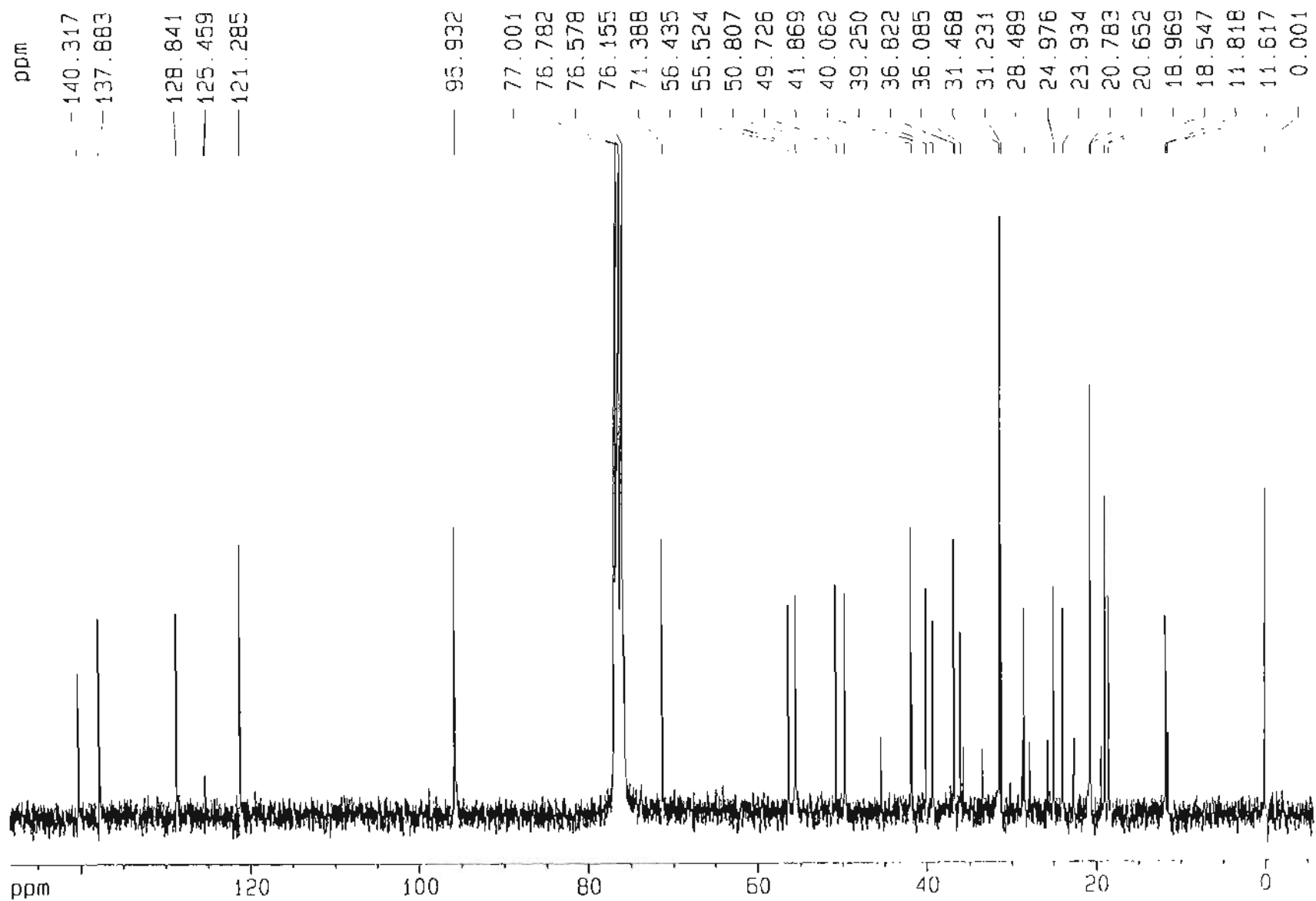


Figura 27 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro de RMN ^{13}C da substância S_1 , em CDCl_3 , a 75,5 MHz, utilizando TMS/CCl_4 , como referência externa.

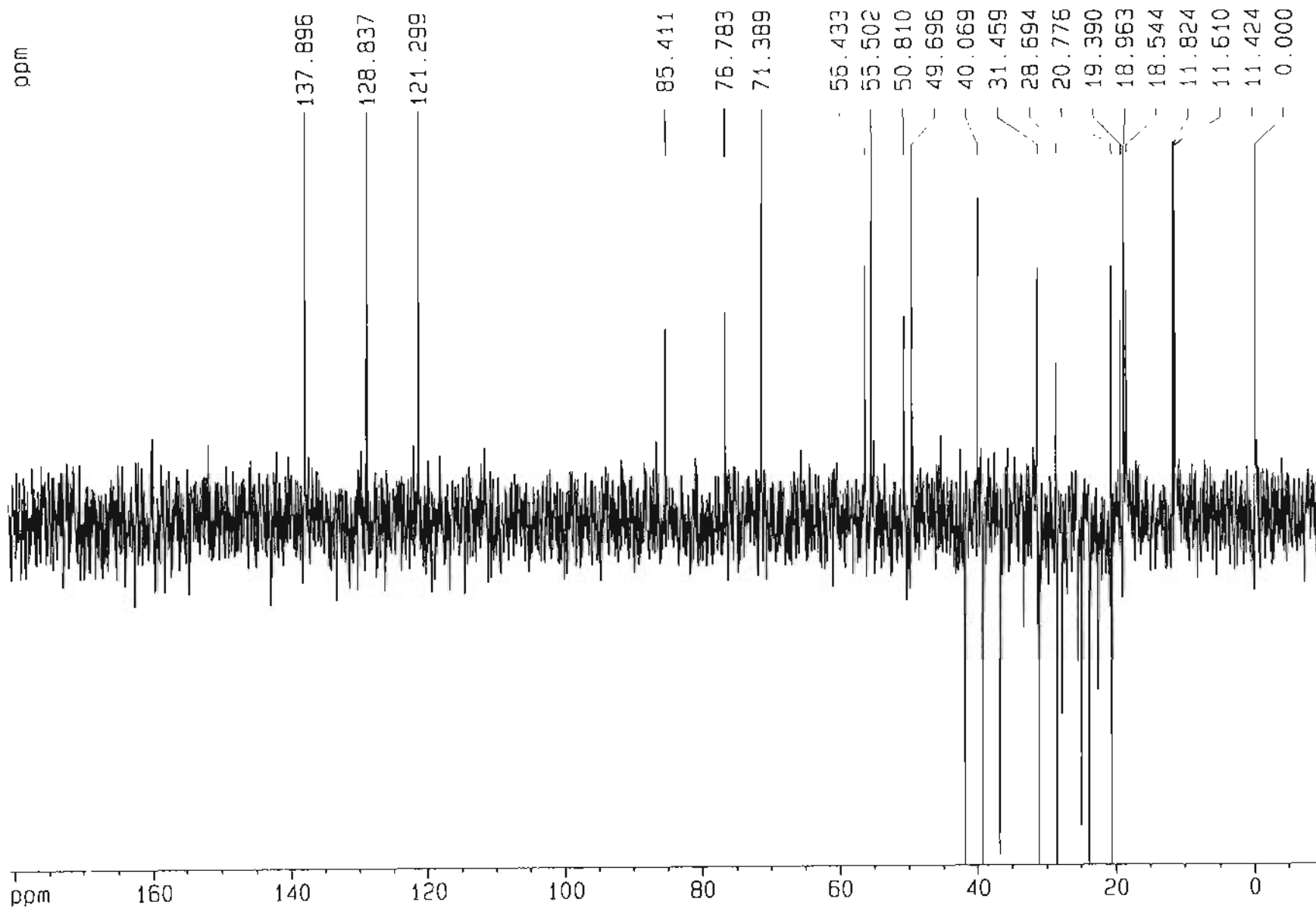


Figura 28 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A DC. Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° da substância S_1 , em CDCl_3 , a 75,5 MHz, utilizando TMS/ CCl_4 , como referência externa.

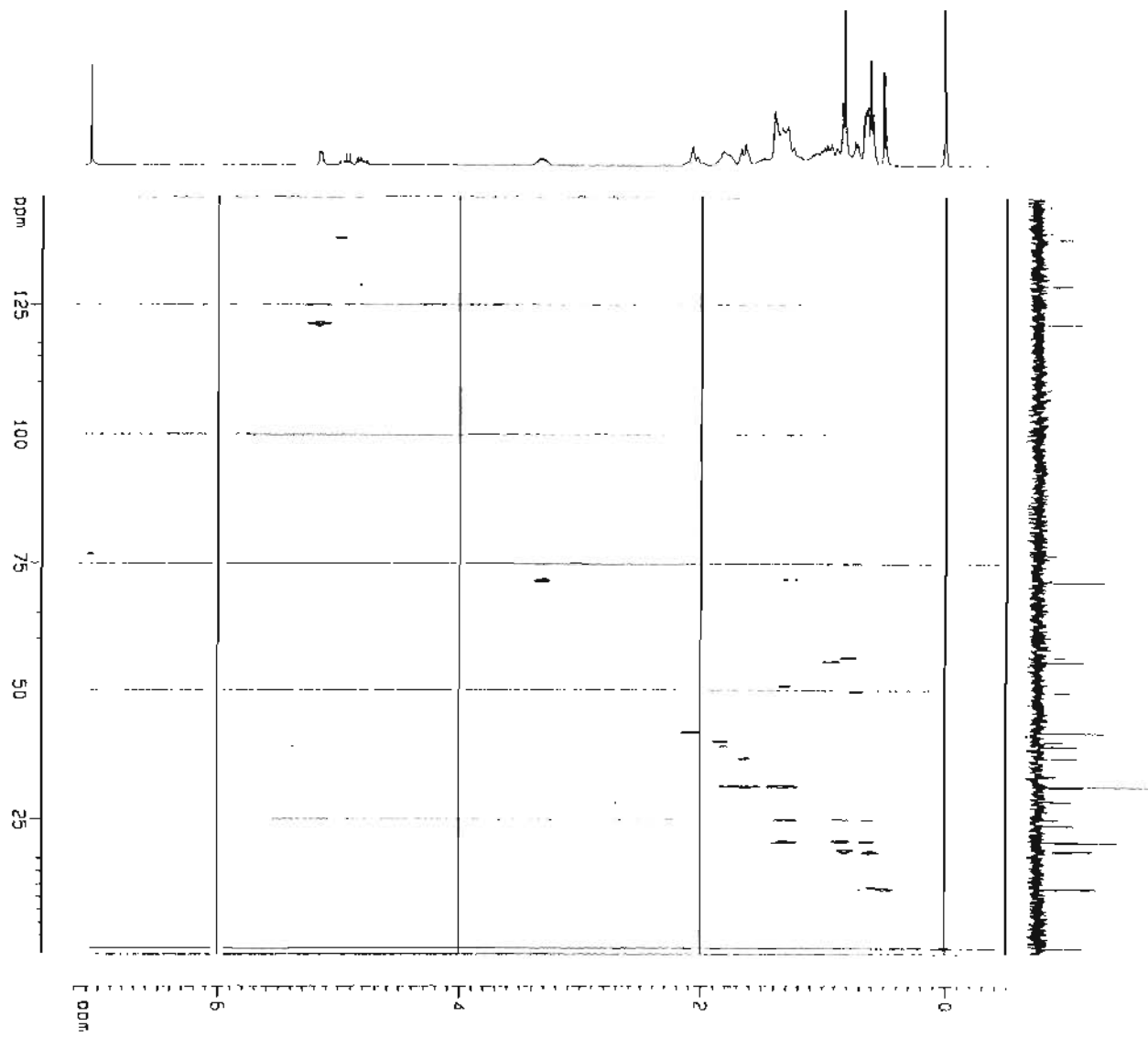


Figura 29 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro HETCOR da substância S₁, em CDCl₃, a 300 MHz, utilizando TMS/CCl₄, como referência externa.

5. 1. 2. 6. Dados físicos e espectrométricos da substância S₂

A substância S₂, proveniente do extrato bruto de alcalóides originado do extrato metanólico, apresentou os seguintes dados analíticos:

Cristais castanho-avermelhados, ponto de fusão: 175 -178 °C

Verificaram-se as seguintes absorções a partir do espectro, na região do infravermelho (I.V.) (Figura 30), em pastilha de KBr:

I. V. (KBr, ν , cm^{-1}): 3435 (ν - OH, ν - NH), 2927 (ν -CH aromático), 1598 (ν C=C aromático), 1458 (ν C=C aromático)

Na Figura 31, consta o espectro de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ¹H), a 300 MHz, utilizando clorofórmio deuterado (CDCl₃) como solvente, tendo-se verificado os seguintes deslocamentos químicos:

R M N ¹ H (CDCl₃, ppm): 8,08 - 8,06 (d, CH), 7,12 - 7,01 (m, CH), 6,50 (s, CH), 3,68 - 3,62 (dd, CH), 3,38 (s, CH₃O), 3,21 - 3,19 (m, CH), 2,82 - 2,47 (m, 5H)

A partir do espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ¹³C) (Figura 32), empregando clorofórmio deuterado como solvente, a 75,5 MHz, foram registrados os seguintes deslocamentos químicos:

R M N ¹³ C (CDCl₃, ppm): 147,96, 142,53, 135,62, 131,49, 129,45, 127,82, 127,60, 127,18, 126,95, 126,82, 124,97, 114,24, 60,0, 53,15, 42,74, 36,83, 28,35

Para a obtenção dos espectros de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (DEPT 135°) e de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR), respectivamente, a 75,5 e 300 MHz, utilizou-se clorofórmio deuterado (CDCl_3), como solvente. Os registros dos mesmos foram dispostos nas Figuras 33 e 34.

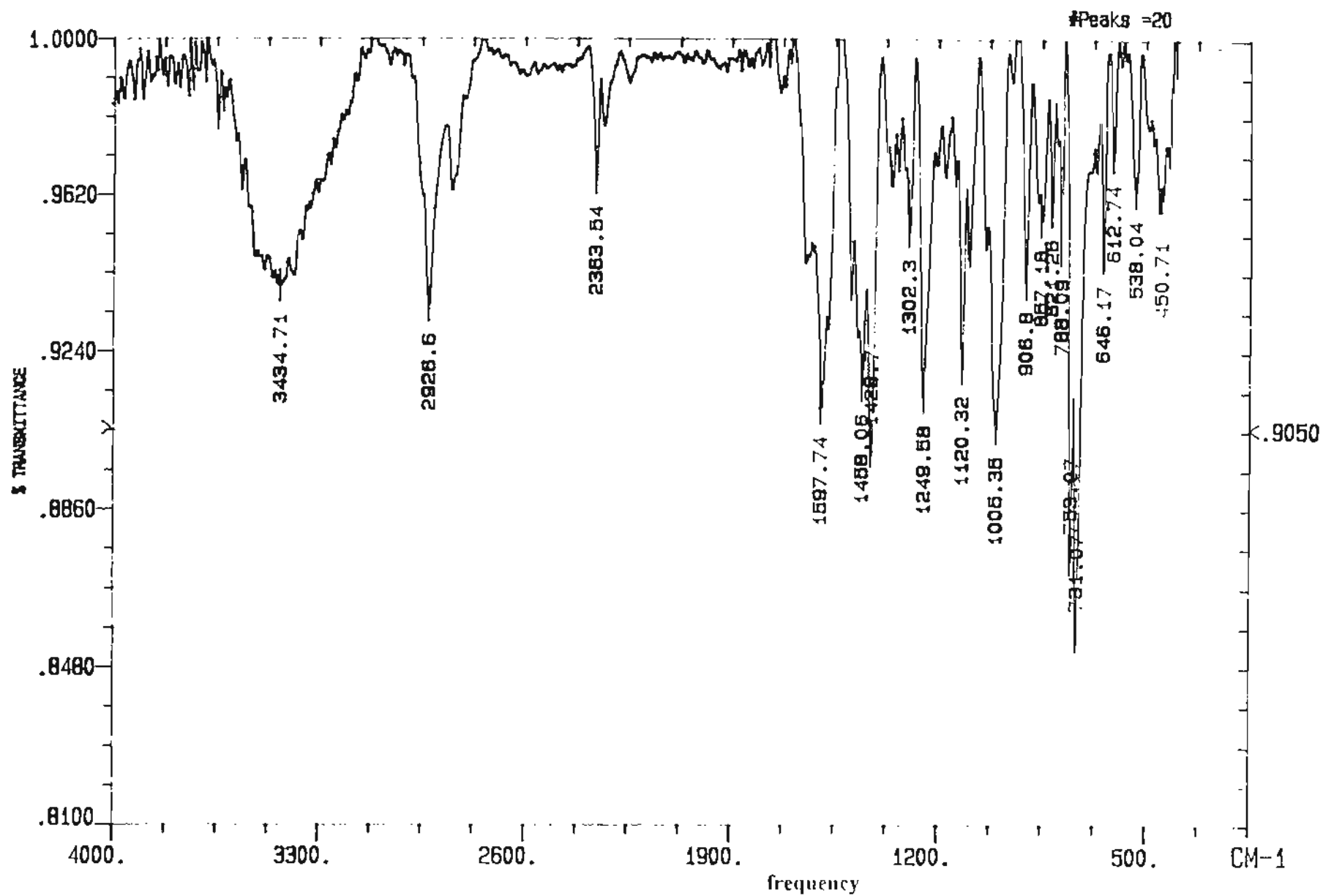


Figura 30 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro IV da substância S₂, em pastilha de KBr

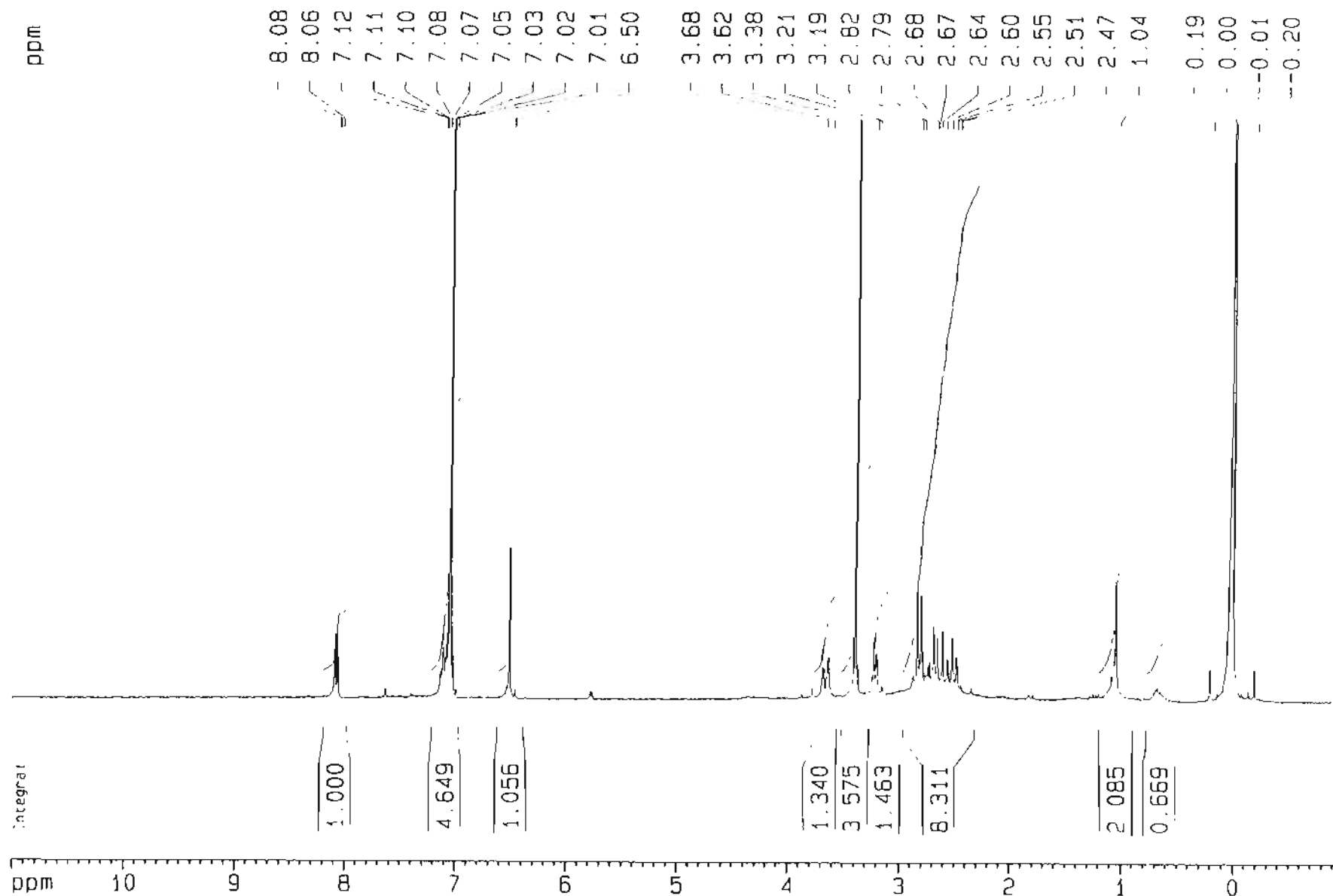


Figura 31 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro de RMN ¹H da substância S₂, em CDCl₃, a 300 MHz, utilizando TMS/CCl₄, como referência externa

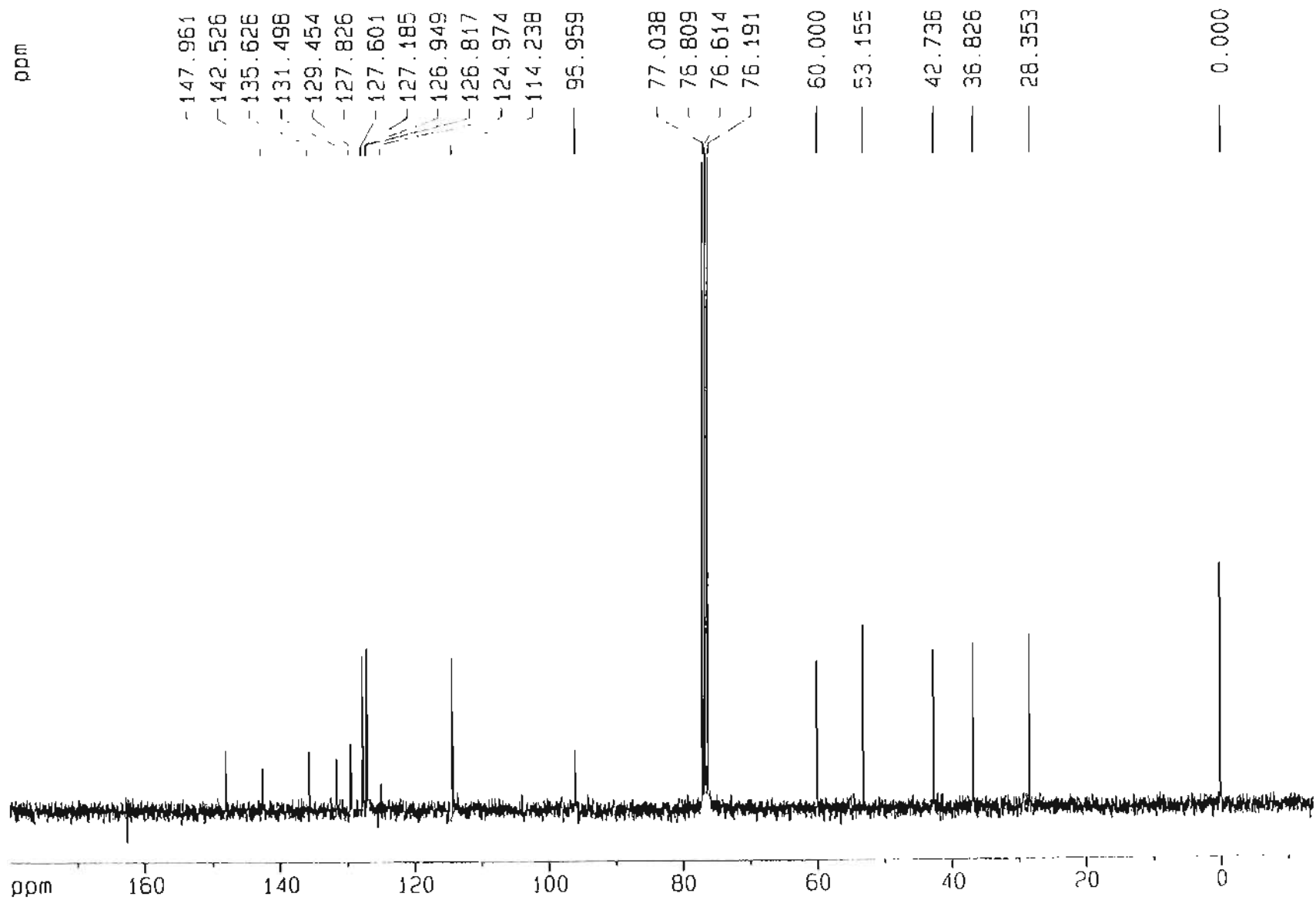


Figura 32 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro de RMN ^{13}C da substância S_2 , em CDCl_3 , a 75,5 MHz, utilizando TMS/CCl_4 , como referência externa

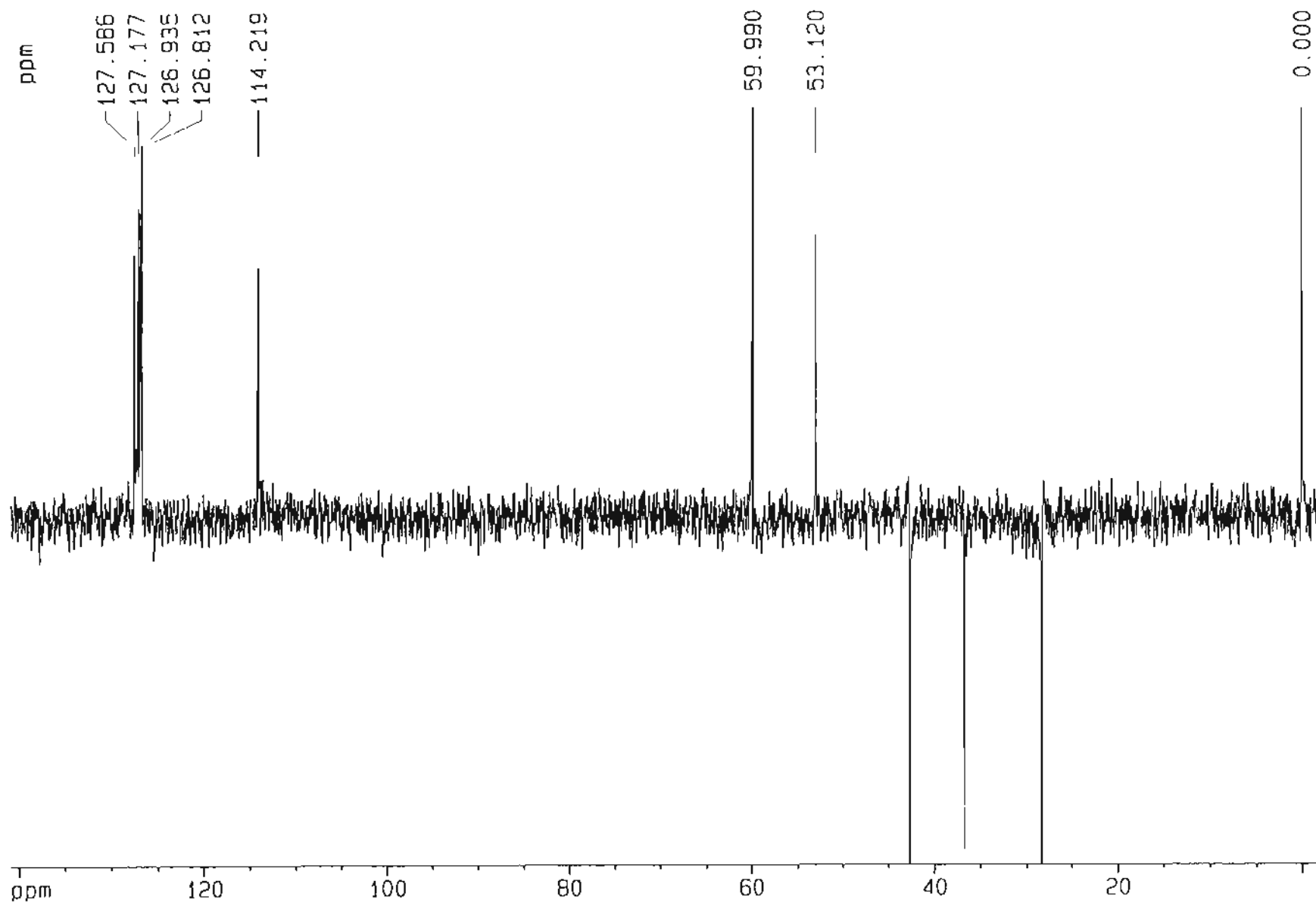


Figura 33 - *Siparuna apiosyce* (Mart) A.DC. Espectro de RMN ¹³C - DEPT 135° da substância S₂, em CDCl₃, a 75,5 MHz, utilizando TMS/CCl₄, como referência externa.

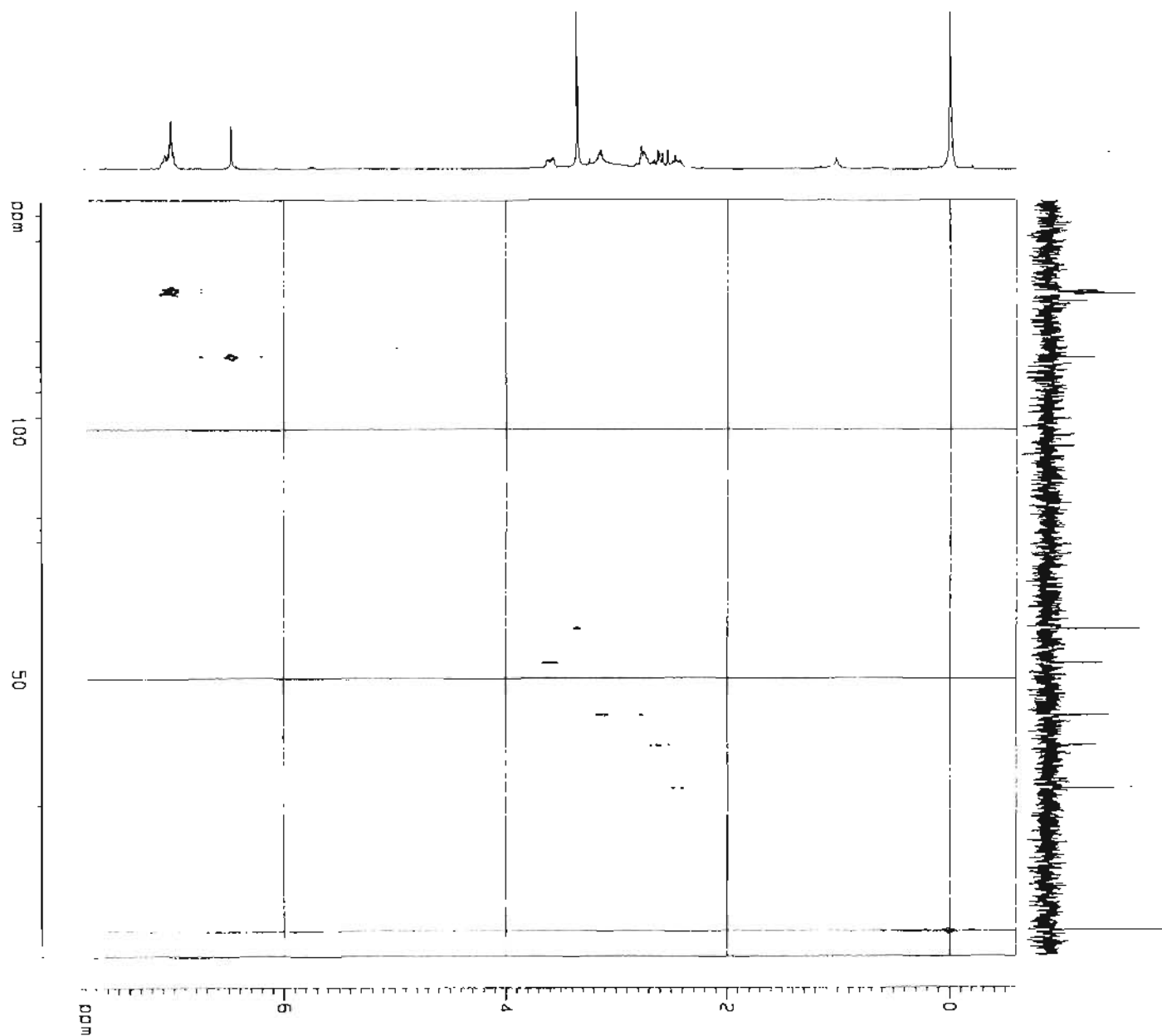


Figura 34 - *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. Espectro HETCOR da substância S₂, em CDCl₃, a 300 MHz, utilizando TMS/CCl₄, como referência externa

5. 2 Caracterização física e química do extrato fluido

5. 2. 1 Determinação de parâmetros físicos e químico

Na Tabela 9, estão dispostos os resultados da determinação realizada, segundo o item 4. 2. 2. 2, relativas aos seguintes parâmetros: densidade, viscosidade, resíduo seco, cinzas totais e pH dos extratos fluidos de folha (EF) e de folha e caule (EM), em mistura.

Tabela 9 - Parâmetros físicos e químico dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A.DC.

	DENSIDADE RELATIVA A 25 °C	VISCOSIDADE a 25 °C (cp)	% SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS A 105 °C (m/ m)	% CINZAS TOTAIS (m/ m)	pH
FOLHA	0,9699	2,5	17,25	12,40	5,7
FOLHA E CAULE (MISTURA)	0,9508	2,4	14,90	13,51	5,6

5. 2. 2 Análise cromatográfica em camada delgada

As Tabelas 10, 11 e 12 representam os cromatogramas dos extratos fluidos de folha (EF) e de folha e caule (EM), em mistura, utilizando, respectivamente, os sistemas cromatográficos 6, 7 e 8.

Tabela 10 - Cromatograma em camada delgada dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 6. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: acetato de etila-metanol (3:2); percurso: 12,5 cm; visualização: luz U.V. a 366 nm]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			EF	EM
0	circular	laranja	+++	+++
30	ogival	marrom	++	++
45	ogival	bege	++	++
61	ogival	alaranjada	+	+
70	ogival	castanha	+	++
84	arredondada	amarelada	+++	+++
92	ogival	marrom	++	++
asimilobina				
30	ogival	marrom	+++	

* (+) = fraca; (++) = média; (+++) = forte

Tabela 11 - Cromatograma em camada delgada dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 7. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: acetato de etila-metanol (3:2); percurso: 12,5 cm; visualização: luz natural após exposição aos vapores de iodo]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			EF	EM
0	circular	marrom	+++	+++
30	ogival	marrom	+	+
52	ogival	amarela	+	+
92	arredondada	amarela	+	+
asimilobina				
30	ogival	marrom	++	

* (+) = fraca; (++) = média; (+++) = forte

Tabela 12 - Cromatograma em camada delgada dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., utilizando o sistema cromatográfico 8. [fase estacionária: sílica gel 60 GF₂₅₄; fase móvel: acetato de etila-metanol (3:2); percurso: 12,5 cm; revelador: reativo de Dragendorff; visualização à luz natural]

hRf	forma	cor	intensidade*	
			EF	EM
0	circular	laranja	+++	+++
30	arredondada	marrom	+	+
75	arredondada	amarelada	+	+
asimilobina				
30	ogival	marrom	+++	

* (+) = fraca; (+++) = forte

5. 3 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato fluido

Na Tabela 13, dispõem-se os dados da avaliação da atividade antibacteriana (ítem 4. 2. 3. 1) dos extratos fluidos de folha (EF) e de folha e caule (EM), em mistura, frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* enquanto, na Tabela 14, apresentam-se os dados da avaliação da atividade antifúngica (ítem 4. 2. 3. 2) frente a *Candida albicans*.

Tabela 13 - Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., na concentração de 50 μ L/ mL, frente a *Escherichia coli* (ATCC 10531) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) [réplica de 3 tubos, meio de cultura: caldo caseína-soja (Difco), incubação: 35 \pm 1 °C, por 24 e 48 h, respectivamente]

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
EF	+++	+++
EM	+++	+++
ETANOL 70 % (v/ v)	+++	---

(-) = ausência de crescimento; (+) = crescimento

Tabela 14 - Avaliação da atividade antifúngica dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., na concentração de 50 μ L/mL, frente a *Candida albicans* (ATCC 10231) [réplica de 3 tubos, meio de cultura: caldo Sabouraud-dextrose (Difco), incubação: 20 - 25 °C , por 72 h]

	<i>Candida albicans</i>
EF	+++
EC	+++
ETANOL 70 % (v/v)	- - -

(-) = ausência de crescimento; (+) = crescimento

Na Tabela 15, encontram-se os resultados da determinação da Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) dos extratos fluidos de folha (EF) e de folha e caule (EM), em mistura frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

Tabela 15 - Concentração Mínima Inibitória (C. M. I.) dos extratos fluidos de folha (EF) e de mistura de folha e caule (EM) de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., frente a *Escherichia coli* (ATCC 10531), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 10231) [réplica de 3 tubos, meios de cultura: caldo caseína-soja e caldo Sabouraud-dextrose (Difco), incubação: 35 ± 1 °C, por 24 e 48 h, e 20 - 25 °C, por 72 h]

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
EF	>50µL/ mL	>50µL/ mL	>50µL/ mL
EM	>50µL/ mL	>50µL/ mL	>50µL/ mL

6 DISCUSSÃO

6. 1 Caracterização farmacobotânica

6. 1. 1. Caracterização macroscópica

Siparuna apiosyce (Mart.) A. DC. constitui droga farmacopêica, oficialmente denominada “limoeiro-bravo” e cuja parte usada é a folha¹³⁹. Considerando o fato de que o material comercializado é acompanhado, freqüentemente, por fragmentos de caule, procurou-se direcionar a análise farmacobotânica de forma a obter elementos de diagnose de folha e do material caulinar, eventualmente, presente.

Adicionalmente, as observações realizadas por AKISUE⁵, em material comercializado, reforçam a necessidade da correta identificação da droga. O autor⁵ relatou ser comum a substituição da espécie oficial¹³⁹, por *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC. e *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC.

Em seu estudo sobre as monimiáceas do estado de São Paulo, MATTOS¹²⁰ apresentou a chave analítica de espécies do gênero *Siparuna* Aublet, que arrola algumas características da espécie estudada e daquelas usadas em sua substituição⁵, permitindo distingüi-las. *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. é citada pela pilosidade de sua folha, diferentemente de *Siparuna brasiliensis* (Spreng.) A. DC. Esta última é tida, pelo autor¹²⁰, como portadora de margem inteira, irregularmente crenulada-denteada ou, ainda, denticulada, enquanto refere-se à espécie estudada, no presente trabalho, como possuidora de folha com margem serreado-denteada.

Com relação a *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC, a chave analítica¹²⁰ relaciona formato de lâmina foliar semelhante a um daqueles

constatado para *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., no entanto, com dimensões inferiores, ou seja, comprimento de 4,5 cm e largura variando de 1,5 a 5 cm. O mesmo pode ser dito acerca do pecíolo, com 1 cm de comprimento. A pilosidade parece ser um elemento diferencial importante entre estas duas espécies¹²⁰, uma vez que, se verificou, em *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., superfície foliar de aspecto velutino, em contraste com aquele de *Siparuna cujabana* (Mart.) A. DC. classificado como "hirtotomentoso", por MATTOS¹²⁰.

Ao confrontar as observações efetuadas com a descrição da monografia farmacopêica¹³⁹ acerca da espécie analisada, constatou-se identidade de características, havendo pequena variação com relação às dimensões de lâmina e contorno foliares. A Farmacopéia Brasileira I¹³⁹ descreve comprimento variando de 13 a 20 cm, ou mais, largura de 7 a 10 cm e contorno lanceolado-oblongo, embora tenha-se verificado igualmente, na prática, a ocorrência de outros tipos, como elíptico-oblongo, elíptico e, predominantemente, oboval.

Destacam-se, para a diagnose macroscópica de folha, na forma de droga, as seguintes características: superfície foliar pilosa, velutina; margem sem recortes ou com recortes superficiais, podendo ser inteira, serrilhado-denteada ou crenada.

As nervuras são elementos importantes para a sua identificação, no que se refere à proeminência observada na face foliar inferior, além da coloração da superfície desta face, que é castanho-clara ou bege, com pilosidade abundante e amarelada.

Considera-se, igualmente, relevante para a diagnose, o aspecto geral da folha transformada em droga, que se mostra caracteristicamente enrolada para o lado da face superior (Figuras 4A e 4B). A diferença de coloração entre ambas as faces pode ser usada como dado adicional para a identificação (Figuras 4C, 4D, 5A e 5B).

Quanto ao pecíolo, CORREA³⁰ relata comprimento alcançando até 5 cm, embora se tenha observado, neste trabalho, material com o máximo de 3,5 cm. Tendo em vista a relação entre as dimensões da lâmina foliar e do pecíolo¹²⁸, a folha da espécie pode ser classificada como curta a medianamente peciolada. No tocante à superfície, a pilosidade é característica, sendo idêntica àquela verificada nas nervuras.

As observações realizadas, no presente estudo, permitem reconhecer, na espécie analisada, algumas características morfológicas da família *Monimiaceae* Jussieu. Destacam-se as seguintes características da folha: simples, inteira, presença de margem denteada ou serrilhada, nervação peninérvea e ausência de estípulas^{13,31,39,43,54,97,120,142}. De forma semelhante, considerando-se os caracteres arrolados para o gênero^{8,39,106,120}, a folha possui disposição oposta, sendo peciolada, sem estípulas, com margem inteira, denteada ou serrilhada, ápice agudo, lâmina foliar com formato variando de oval-oblongo a oblongo-lanceolado e apresentando densa pilosidade.

No que se refere às características organolépticas, o odor relatado como aromático, para o gênero e família, e cítrico, para espécies do gênero *Siparuna* Aublet, foi verificado tanto em folha quanto em caule, transformados em droga. A Farmacopéia Brasileira I¹³⁹ descreve-o como sendo uma “combinação de limão e de capim-limão”. Na degustação, a espécie mostrou-se em conformidade com a descrição farmacopêica¹³⁹, possuindo sabor levemente amargo.

Havendo necessidade de diagnose do caule, algumas características mostraram-se úteis para a sua identificação, como por exemplo, a disposição oposta cruzada das folhas. Nos caules jovens, destacam-se as seguintes: secção transversal com contorno, geralmente, obtuso-retangular, exibindo na região central medula de consistência mole. A superfície, mostra-se pilosa. Nos caules mais desenvolvidos, cita-se a presença de líquenes foliáceos brancacentos, conferindo aspecto claro a

regiões da casca, além das estriações longitudinais superficiais, naqueles mais jovens, e de irregularidades mais profundas, nos caules de maior calibre.

A variação de coloração observada em diferentes regiões da secção transversal de caule mais desenvolvido corresponde a tecidos distintos. A porção externa (Figura 5C), castanha-escura, corresponde ao súber, constituído de numerosas camadas celulares, conforme observação microscópica efetuada (Figuras 20A, 21A e 22A). A região mais interna da casca apresenta coloração bege ou castanho-clara, semelhantemente ao lenho, mostrando-se fibrosa, em correspondência às características microscópicas verificadas, ou seja, presença de grupos de fibras (Figuras 19, 20B e 21A). Os pontos refringentes observados na superfície da casca interna, quando o súber se destaca, pode ser devido à presença de células pétreas existentes nesta região (Figuras 19, 20B, 21B, 22A). A porção central do caule mostra, claramente, retração do tecido parenquimático delicado correspondente, como consequência da desidratação ocorrida, com a secagem do órgão.

Odor fortemente aromático e característico desprende-se quando se destaca a porção mais externa da casca. Este fato está em concordância com a observação microscópica realizada, tendo em vista que as células oleíferas ocorrem, justamente, nesta região (Figura 19).

No que se refere ao material pulverizado, ainda que o processo direto de identificação não seja suficiente¹²⁹, características como cor, odor e sabor não podem ser negligenciadas. O pó de folha apresentou coloração verde-escura, odor cítrico e aromático e sabor levemente amargo semelhante ao do órgão inteiro.

6. 1. 2 Caracterização microscópica

A análise microscópica de folha permitiu o reconhecimento de características relatadas para a família *Monimiaceae* Jussieu¹²³. São elas: mesofilo heterogêneo, tricomas representados por pêlos tectores unicelulares dispostos aos pares (bifurcados) ou em tufos com paredes espessas, células secretoras, células contendo cristais aciculares e parênquima paliçádico constituído, geralmente, por uma camada celular.

Com relação ao gênero *Siparuna* Aublet, METCALFE e CHALK¹²³ descreveram a presença de tufos de pêlos tectores longos, partindo de base lignificada, o que confere, portanto, com as observações efetuadas. Inclusive, com auxílio dos reativos histoquímicos (safranina e floroglucina clorídrica), verificou-se a natureza lignificada das paredes celulares, não somente na base como, em todo o pêlo tector.

Considerando, ainda, a descrição daqueles autores¹²³, não foram evidenciadas escamas na espécie estudada.

As epidermes fornecem dados relevantes para a identificação de drogas¹²⁹. Assim, ressalta-se a presença, na folha, de: cutícula lisa, células epidérmicas de contorno poligonal e sinuoso, respectivamente, nas epidermes superior e inferior, bem como de pêlos tectores bifurcados (Figura 6C) e tufos de pêlos tectores, com maior número de elementos (Figura 6B).

A folha é hipoestomática. Os estômatos mostraram-se paracíticos (Figura 7B), portanto, confirmando-se a observação de METCALFE e CHALK¹²³, que consideraram o gênero exceção da família *Monimiaceae* Jussieu, quanto a esta característica, uma vez que, nesta, prevalece o tipo anomocítico.

Com relação às células contendo inclusões celulares, o uso de reações histoquímicas permitiu verificar a natureza do seu conteúdo. Para as células secretoras, verificou-se reação positiva, do conteúdo amarelado, com Sudam III, caracterizando-se a natureza lipófila da inclusão. Semelhantemente, a natureza química dos cristais aciculares foi confirmada como de oxalato de cálcio, tendo sido empregado, para este fim, o reativo para oxalato.

Encontram-se divergências, na literatura, no que se refere à localização das células secretoras e daquelas contendo cristais aciculares bem como ao número de camadas de parênquima paliçádico. A descrição de OCCHIONI e LYRA¹²⁷ mostrou-se concordante com as observações efetuadas. Na prática, as células secretoras foram vistas, no parênquima esponjoso e, em geral, na porção mediana do mesófilo e o parênquima paliçádico apresentou, algumas vezes, duas camadas celulares. Diferentemente, a Farmacopéia Brasileira¹³⁹ descreve o parênquima paliçádico como sendo constituído por uma camada celular, onde se situam as células secretoras.

No tocante às células contendo cristais aciculares, verificou-se estarem localizadas no parênquima esponjoso, de acordo, portanto, com a descrição farmacopêica¹³⁹, ao contrário daquela de OCCHIONI e LYRA¹²⁷. As autoras relataram a sua presença no parênquima paliçádico.

As variações observadas em relação à literatura podem ser atribuídas ao uso freqüente de outras espécies no lugar de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., o que novamente revela a importância da correta identificação botânica da droga.

Quanto à secção transversal, a nervura mediana mostrou contorno biconvexo, com proeminência acentuada na face abaxial (Figura 8), coerentemente com a observação macrocópica que permitiu verificar nervuras salientes na face inferior da folha. Destacam-se, ainda,

outras características de importância para a diagnose: colênquima angular, calotas de fibras localizadas externamente ao floema, sistema vascular em arco com a face côncava voltada para a face adaxial. A presença de tecido esclerenquimático envolvendo o feixe vascular é característica das monimiáceas¹²³, assim como as células com conteúdo escuro, que ocorrem de forma característica na região interna ao xilema (Figura 8). Estas células tiveram sua natureza fenólica caracterizada pela reação positiva frente à solução de cloreto férrico.

Igualmente na nervura mediana, verificou-se a presença, no parênquima fundamental, de células oleíferas (Figura 10A) e de células contendo cristais aciculares (Figura 10B). Tufos de pêlos tectores semelhantes àqueles encontrados na lâmina foliar são observados na epiderme.

No pecíolo, arrolam-se como características relevantes para a diagnose: contorno circular, colênquima angular contínuo, sistema vascular colateral aberto com disposição circular apresentando duas arestas opostas (Figura 11). OCCHIONI e LYRA¹²⁷ relataram presença de colênquima com até oito camadas celulares porém, neste trabalho verificou-se a presença de até dez camadas celulares. Assim como nas outras partes da folha, as inclusões celulares estão presentes, na forma de material lipófilo (células oleíferas), cristais aciculares de oxalato de cálcio e compostos fenólicos (Figuras 11 e 12) e os tricomas são representados por pêlos tectores com parede celular lignificada, apresentando-se bicelulares (bifurcados) ou, em tufos, com número maior de células.

No caule primário verificou-se estrutura sifonostélica ectoflóica (Figura 17). A presença de grupos de fibras na região imediatamente externa ao floema constitui característica comum à família *Monimiaceae* Jussieu¹²³, mais especificamente, ao gênero a que pertence a espécie estudada, o que também foi constatado no estudo realizado por OCCHIONI

e LYRA¹²⁷. A natureza da parede lignificada evidenciou-se com auxílio de safranina e, também, com floroglucina clorídrica, tendo-se observado coloração avermelhada.

O parênquima cortical mostra-se desenvolvido (Figura 18), conforme descreve-se para a família¹²³. Foram observadas, geralmente, quatro camadas celulares de colênquima, sendo que OCCHIONI e LYRA¹²⁷ mencionaram a ocorrência de até seis camadas.

Consideram-se importantes para a diagnose de caule primário, as seguintes características: pêlos tectores lignificados bifurcados ou em tufo, colênquima angular contínuo, células secretoras predominando no parênquima cortical, células com conteúdo fenólico no parênquima medular, na região próxima aos elementos de protoxilema (Figura 18). Cristais aciculares ocorrem nos parênquimas cortical e medular, parecendo ser mais freqüentes neste último. Esta característica está em conformidade com a descrição de METCALFE e CHALK¹²³ para as monimiáceas.

Em caules, com estrutura secundária desenvolvida, constata-se súber (Figuras 19, 20A, 21A e 22A) constituído de numerosas camadas celulares de paredes finas e presença de lenticelas (Figura 22A).

Verifica-se, ainda, ritidoma englobando peridermes sucessivas (Figura 20B) e presença de grupos de fibras e de células pétreas, na região externa ao floema secundário (Figuras 19, 20 B, 21B e 22). Esta última constitui característica da família *Monimiaceae* Jussieu¹²³.

O xilema da espécie mostra raios medulares, estreitos, com até duas fileiras de células (Figuras 19, 22B e 23). Esta constatação está de acordo com as características descritas por WILLIS¹⁷⁸ e GARRATT⁵⁸ para o gênero *Siparuna* Aublet. Os autores referiram-se a estes elementos, como faixas unisseriadas, curtas, irregulares e numerosas.

METCALFE e CHALK¹²³ relataram a presença de células oleíferas, na família *Monimiaceae* Jussieu, em caules com estrutura secundária, idênticas àsquelas observadas no mesofilo foliar, localizando-se no parênquima cortical, floema, medula e, mais raramente, nos raios medulares. Em *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. confirmou-se a ocorrência, na região de parênquima cortical e de floema (Figura 19), porém com menor freqüência em comparação ao caule em estrutura primária.

Quanto às células contendo compostos fenólicos, a análise indicou localização semelhante àquela observada em caule primário, ou seja, na região interna ao xilema (Figuras 19 e 23A), à semelhança do que foi descrito por METCALFE e CHALK¹²³ para a família *Monimiaceae* Jussieu. Os mesmos autores¹²³ referiram-se à presença de "bolsas taníferas", igualmente, na região de floema.

No tocante aos cristais aciculares, METCALFE e CHALK¹²³ verificaram sua presença nos tecidos não lignificados de representantes da família, confirmando a observação feita na espécie, onde verifica-se maior freqüência de ocorrência no parênquima medular em relação ao cortical (Figura 19). Comparativamente, os cristais foram menos freqüentes do que em caule primário (Figura 18).

No estudo de lenho do gênero *Siparuna* Aublet, GARRATT⁵⁸, relatou que os elementos traqueais possuem placas de perfuração oblíquas, simples ou escalariformes. Em *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., observaram-se placas do tipo simples (Figura 24A).

Considerando a análise de drogas vegetais, é freqüente a presença de outras partes ou órgãos vegetais da mesma espécie, além daquela denominada "parte usada". Com relação a este fato, existe uma faixa de tolerância permitida¹²⁹ sendo, em geral, de 10 a 15 %. Esta observação ocorre, comumente, com a droga estudada, sendo

comercializada a folha em mistura com caule. Portanto, faz-se necessário averiguar a origem ou natureza dos fragmentos de caule que acompanham a folha. Para isto, há necessidade de observação macroscópica minuciosa, seguida de análise microscópica, na qual deverá ser pesquisada a presença de elementos histológicos de caule.

Tendo em vista a possibilidade de comercialização da droga pulverizada e a dificuldade de identificação intrínseca a esta forma de apresentação, verificou-se a necessidade da determinação de elementos histológicos de folha, os mais freqüentes, para agilizar a identificação do material, em análises de rotina. Neste caso, é também recomendável a averiguação da presença de elementos descritos para a anatomia de caule, pelos mesmos motivos expostos anteriormente para a análise da droga inteira.

No tocante ao grau de fragmentação dos tecidos após a moagem, deve-se considerar, na análise microscópica, a importância da epiderme e de seus anexos na diagnose do material pulverizado. O que foi ressaltado por OLIVEIRA e colaboradores¹²⁹ e constatado na prática, uma vez que, entre os fragmentos observados no pó, os elementos histológicos da epiderme e anexos mostraram-se de fácil reconhecimento (Figuras 13A, 14A, 14B, 15A e 15B).

Os itens mais freqüentes e relevantes para a diagnose de pó da folha foram os seguintes: pêlos tectores lignificados bicelulares (bifurcados) (Figuras 14A e 15B) ou, em tufo, com maior número de células (Figura 13A e 14B), cutícula lisa e presença de estômatos do tipo paracítico (Figura 15B). A presença de células contendo cristais aciculares (Figura 16A), fragmentos de parênquima esponjoso com células de contorno característico e projeções celulares (Figura 16B) são elementos adicionais para a identificação. O mesmo pode ser dito para os elementos traqueais, providos de parede celular com espessamento espiralado, podendo estar acompanhados de bainha de feixe (Figura 13B).

Fragmentos do pó originados da região de nervura da folha podem fornecer elementos, para a diagnose, representados pelas células com conteúdo fenólico, provenientes da região interna aos elementos de protoxilema, conforme constatado na microscopia da folha inteira (Figura 8). Entretanto, a inclusão pode não ser constatada, dependendo do extravasamento do conteúdo celular e, mesmo, do procedimento empregado no preparo e montagem do material pulverizado.

Conforme mencionado, anteriormente, a complementação da análise microscópica do pó da droga deve ser realizada avaliando-se as características organolépticas do mesmo.

6. 2. Caracterização física e química

6. 2. 1 Parâmetros físico e químico da droga

O material estudado correspondente à mistura de folha e caule representou a mistura natural, destes órgãos, no vegetal. A estimativa efetuada mostrou, nesta mistura, a presença de 60 % (m/ m) de caule, sendo o restante constituído por folha.

O valor calculado para o teor de substâncias voláteis a 105 °C foi superior, no material constituído pela mistura dos órgãos (11,8 % m/ m), quando comparado àquele do material constituído exclusivamente por folha (6,06 % m/ m) (Tabela 1).

Considerando a presença de óleo essencial, em folha e caule, comprovada igualmente a nível histológico (Figuras 6A, 6B, 10A, 12, 18 e 19), as substâncias voláteis, em ambos os casos, foram representadas pelo óleo essencial e água presentes no material.

Para a interpretação do resultado relativo à mistura de folha com caule, deve-se levar em consideração a percentagem em que estes órgãos se apresentaram, na mistura. Assim, com relação à percentagem de substâncias voláteis da mistura (11,8 % m/ m), pode-se dizer que, 2,4 % (m/ m) provêm de folha e, portanto, o caule contribuiu com 9,4 % (m/ m) de substâncias voláteis a 105 °C. Desta forma, não somente a mistura, mas o próprio caule, separadamente, possuem teor de substâncias voláteis superior àquele de folha.

Com referência ao teor de cinzas (Tabela 1), o material constituído exclusivamente de folha apresenta valor (7,88 % m/ m) correspondendo a quase o dobro daquele apresentado pela mistura dos órgãos citados (4,90 % m/ m). Neste caso, considerando a percentagem

destes órgãos, na mistura, avalia-se que o teor de cinzas originadas pelo caule corresponde, na realidade, a cerca de 1,75 % (m/m).

As monografias das diferentes edições da Farmacopéia Brasileira^{48,49,50,139} apresentam limites máximo e mínimo para este parâmetro. No caso da droga limoeiro-bravo de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., este dado não está fixado.

Embora a faixa de tolerância esteja compreendida, em geral, entre 10 e 15 % para a presença de outros órgãos, da mesma espécie em uma certa droga¹²⁹, sabe-se que, no comércio, pode ocorrer a adição accidental ou intencional de quantidades maiores do que a permitida. Neste caso, portanto, o teor de cinzas mostrará alteração. De forma semelhante, a variação deste parâmetro pode acusar a adição ilícita de outros materiais, na droga comercializada como substâncias inorgânicas, por exemplo areia, levando, neste caso, a um aumento da porcentagem de cinzas no material.

Tendo-se constatado, na prática, diferença no teor de cinzas, no caso de folha e da mistura desta com caule, este parâmetro confirma ser um dado útil na averiguação da pureza e qualidade da droga, indicando eventuais variações que possam ocorrer^{18,180}.

6. 2. 2 Parâmetros físicos e químico do extrato fluido

A Farmacopéia Brasileira I³⁹ apresenta, a tintura de “limoeiro-bravo” como forma oficial. No entanto, a forma extrativa mais comumente encontrada nos produtos comercializados é o extrato fluido³⁶, tendo sido objeto do presente estudo. O preparo do extrato fluido foi realizado com solução de etanol-água (70:30), tendo em vista a presença de alcalóides e de óleo essencial na droga⁷⁴ (Tabela 2).

O processo C, de percolação fracionada, recomendado para drogas com princípios ativos voláteis ou termolábeis⁵⁰, foi empregado, em função da presença de óleo essencial (Tabela 2).

Na determinação dos parâmetros físicos e químico dos extratos fluidos preparados a partir do material correspondente à folha (EF) e à mistura de folha e caule (EM) algumas considerações podem ser feitas. Os parâmetros de ambos os extratos fluidos foram próximos (Tabela 9), tanto com relação ao teor de substâncias voláteis a 105 °C como de cinzas totais. O teor de substâncias voláteis no extrato fluido elaborado a partir de folha (EF) (17,25 % m/ m) foi superior àquele verificado para o extrato fluido obtido da mistura (EM) (14,90 % m/ m).

Ao se comparar os valores de porcentagem de substâncias voláteis relativos aos extratos fluidos de folha (17,25% (m/ m)) e da mistura de folha e caule (14,90 (m/ m)) (Tabela 9) com os respectivos valores correspondentes aos órgãos na forma de droga (6,06 % (m/ m)) (11,80% (m/ m))(Tabela 1), verifica-se teor superior nos extratos fluidos, o que pode ser atribuído à presença de água residual proveniente do líquido extrator (etanol-água (70:30)) empregado no preparo dos extratos fluidos.

Na determinação de cinzas totais dos extratos fluidos (EF e EM), os valores para aquele de folha (EF) (12,40 % m/ m) e para a mistura (13,51 % m/ m) mostraram-se relativamente próximos.

Os resultados da determinação de densidade e viscosidade dos extratos fluidos (EF e EM) (Tabela 9) permitiram constatar que o da folha (EF) possui valores ligeiramente superiores (0,9699; 2,5 cp) àqueles encontrados para o extrato fluido da mistura (EM) (0,9508; 2,4 cp).

A diferença verificada entre os valores da densidade de ambos extratos fluidos (EF e EM), não parece ser suficiente para diferenciá-los, na prática. O mesmo foi observado para os valores de pH (Tabela 9). Em contraste, a viscosidade apresentou variação de aproximadamente 10 %, entre os dois extratos fluidos, tendo se mostrado mais viscoso aquele elaborado com folha (EF) (Tabela 9).

6. 2. 3. Identificação de grupos de substâncias

Os resultados da pesquisa de grupos de substâncias em folha e mistura de folha e caule, em proporção natural, permitiu verificar, na composição da espécie estudada, variedade de componentes (Tabela 2). A triagem fitoquímica acusou a presença de: alcalóides, compostos de núcleo esteroidal, flavonóides, mucilagem, óleo essencial e taninos.

Procurou-se estudar melhor a fração alcaloídica de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. pelo fato desta classe de substâncias ser muito comum na família *Monimiaceae* Jussieu^{31,61,62,72,73,156}. Estudos prévios^{20,26,60,108,109,164} com outras representantes do gênero *Siparuna* Aublet, quase sempre, mostraram resultado positivo para a presença deste tipo componente. Esta tendência se confirmou no material estudado (Tabela 2), obtendo-se resultado positivo frente aos reativos de Bertrand, Bouchardat, Dragendorff e Mayer.

A presença de compostos contendo núcleo esteroidal em sua estrutura foi verificada com auxílio da reação de Liebermann-Burchard, confirmando dados obtidos em pesquisa de BRÁZ F^o e colaboradores²⁰, na qual se verificou o isolamento de esteróis a partir de *Siparuna guianensis* Aublet, além de que estes componentes estão presentes em praticamente todos os organismos¹⁵.

A ocorrência de flavonóides foi verificada pelos resultados positivos do material frente aos reativos constituídos por solução de cloreto de alumínio, solução de hidróxido de sódio e pela reação de Shinoda. Recentemente, trabalho de VALVERDE-SOARES e colaboradores¹⁷² confirmou esta observação, tendo em vista o isolamento, a partir da mesma espécie, de 3, 7, 4' - trimetoxi-canferol (45) e de um derivado glicosilado do canferol (tilirósido) (46). Também HEGNAUER⁷³ mencionou a presença desta classe de compostos em monimiáceas.

Tanto em folha, isoladamente, quanto em mistura com caule se constatou entumescimento do material, em contato com água. Este entumescimento foi superior para folha (6 mL) quando comparada com a mistura (5 mL) (Tabela 2). No entanto, considera-se este resultado como índice de valor relativo, visto que, não foram observadas células mucilaginosas na análise microscópica efetuada em folha e caule. METCALFE e CHALK¹²³, igualmente, apontaram para ausência destas células, em monimiáceas. Em seu estudo quimiotaxonômico, GIBBS⁶² considerou esta classe de substâncias ausente na família. Portanto, este resultado mereceria estudo mais aprofundado.

Caracterizou-se a presença de óleo essencial (Tabela 2) pelo odor fortemente aromático e cítrico, no vegetal fresco, e menos intenso, no material transformado em droga. Esta constatação confirmou dados da literatura^{43,97,120,142} acerca do odor aromático das espécies pertencentes à família *Monimiaceae* Jussieu, bem como da presença de óleo essencial no gênero *Siparuna* Aublet^{11, 55,115,134}.

Adicionalmente, o microdestilado reagiu com a solução de Sudam III, produzindo coloração vermelha, o que demonstrou a sua natureza lipófila. Verificou-se, portanto, coerência com as observações realizadas, a nível histológico, no estudo anatômico de folha e de caule, no qual foi evidenciada a presença de células secretoras, cujo conteúdo mostrou semelhante comportamento. Foi, posteriormente, isolada e quantificada esta fração de componentes.

Previamente à realização dos ensaios, a ocorrência de compostos fenólicos e de taninos na espécie estudada era tida como, praticamente, certa, tendo em vista ser característica arrolada para a família *Monimiaceae* Jussieu^{31,62}. No estudo anatômico do material, a presença de células contendo inclusão, que reagiu com cloreto férrico, localizadas tanto em folha quanto em caule (Figuras 8, 11, 17, 18 e 19), representou confirmação inicial da presença de compostos fenólicos na espécie.

Posteriormente, a reação positiva dos extratos aquosos da droga com os reativos constituídos pelas soluções de cloreto férrico, acetato de chumbo e acetato de cobre reforçaram esta assertiva (Tabela 2).

Com o uso de reações mais específicas para taninos, constatou-se, na prática, a adstringência das soluções aquosas de ambos os materiais (folha e mistura desta com caule), além de resultado positivo, com formação de precipitado, frente à solução de gelatina, tendo em vista a complexação com as proteínas do reativo, e com a solução do alcalóide, o sal de quinina (Tabela 2).

Em contraste, a reação de Bornträeger mostrou resultado negativo para os dois tipos de material ensaiado, indicando a ausência de antraderivados. Resultado negativo foi, igualmente, encontrado para a presença de saponinas (Tabela 2). Apesar de ter-se observado halo de espuma abundante, imediatamente, após a agitação, não houve manutenção deste, até mesmo, em concentrações da droga (folha ou mistura) superiores (5 e 10 % m/ v) àquela testada usualmente (1 %) ^{6,57}. Portanto, o resultado está de acordo com as observações de GIBBS ⁶² acerca da ausência desta classe de componentes em monimiáceas.

Deve-se considerar, que as reações empregadas na abordagem fitoquímica constituem, na realidade, um indicativo da presença dos componentes pesquisados, tendo em vista que, algumas delas, não apresentam especificidade suficiente ^{37,51}, podendo resultar, por exemplo, em resultado "falso-positivo".

6. 2. 4 Determinação do teor de óleo essencial

Uma vez confirmada a presença deste componente, tendo em vista o forte odor aromático apresentado pelo material recém coletado, bem como considerando os resultados da análise microscópica, histoquímica e de abordagem fitoquímica, passou-se para a etapa de extração do óleo essencial, com objetivo de quantificá-lo.

De início, visou-se a quantificação do componente em folha, tendo em vista ser a parte usada da droga, que consta da primeira edição da Farmacopéia Brasileira¹³⁹. Entretanto, o fato de que o material coletado, em época de frutificação, apresentava frutos com odor levemente distinto daquele exibido pelas folhas frescas e, também, fortemente aromático, serviu de motivação a sua quantificação, em paralelo. Cabe lembrar que, não há menção, na literatura, do uso medicinal dos frutos de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., diferentemente de outras espécies do gênero^{143,151}.

Os resultados da determinação do teor de óleo essencial nos órgãos frescos (Tabela 3) mostraram que, em folha (0,1 % v/ m), o teor correspondeu à metade daquele encontrado em fruto (0,2 % v/ m), o que, em relação à matéria seca equivaliu a 0,5 % (v/ m) e 1 % (v/ m), respectivamente, para folha e fruto, considerando que a proporção de matéria seca no vegetal fresco foi, aproximadamente, a mesma para ambos os órgãos e de cerca de 20 % (m/ m) (Tabela 3).

Conforme verificado na literatura, escassos foram os estudos realizados com óleo essencial, no gênero *Siparuna* Aublet. Ao comparar-se os resultados obtidos, com aqueles de FREISE⁵⁶, para o lenho de *Siparuna erythrocarpa* A. DC., constataram-se teores (1,15 a 1,65 % v/ m) superiores àqueles encontrados em folha e fruto de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. No caso do valor encontrado por MANJARREZ e MENDONÇA¹¹⁵, relativo

aos frutos de *Siparuna nicaraguensis* Hemsl. (0,38 % v/ m), verificou-se maior aproximação com aquele de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., para o mesmo órgão.

6. 2. 5 Análise cromatográfica da droga

Para a análise cromatográfica de folha e da mistura de folha e caule efetuou-se a extração com solventes de diferentes polaridades, a fim de obter melhor separação dos constituintes. Para tanto, empregaram-se n-hexano, clorofórmio e metanol, visando separar componentes de baixa, média e alta polaridade, respectivamente³⁷.

Na separação cromatográfica de componentes do extrato hexânico, a fase móvel constituída pela mistura de clorofórmio e acetona, na proporção de 99:1 foi a mais eficiente, entre várias outras testadas, quando se empregou o adsorvente sílica gel 60 GF₂₅₄ (sistema cromatográfico 1), como fase estacionária.

Na literatura^{4,107} fase móvel de composição semelhante a esta foi empregada na cromatografia em camada delgada de estigmasterol e de β -sitosterol, porém com proporção diferente de clorofórmio e acetona (9:1).

Tendo-se realizado a extração com n-hexano, era esperada no extrato a presença de constituintes de baixa polaridade, como: esteróis, terpenóides, carotenóides, clorofilas, ceras e lipídios³⁷. A escolha do revelador, o reativo p-anisaldeído sulfúrico, objetivou, particularmente, a visualização de manchas correspondentes, eventualmente, a componentes terpênicos, fenilpropanóides e outros do óleo essencial, além de compostos esteroidais¹⁷⁴.

O perfil cromatográfico deste extrato (Figura 4) permitiu a visualização de 7 manchas, entre as quais se encontra aquela de $R_f = 27$, correspondente ao estigmasterol, que foi empregado como padrão.

O fato do estigmasterol ter sido isolado a partir de resíduo hexânico proveniente do extrato hexânico, originalmente, preparado por percolação realizada com 3,6 Kg de folha e caule em mistura, levou a sua utilização como padrão, no sistema cromatográfico 1. Este mesmo sistema permitiu verificar a semelhança de composição dos extratos hexânicos de folha (FH) e da mistura de folha e caule (MH).

A análise cromatográfica dos extratos clorofórmicos de folha (FC) e desta em mistura com caule (MC), mostrou adequada separação dos componentes com o emprego de fase móvel constituída por clorofórmio e éter etílico, na proporção de 98:2 (sistema cromatográfico 2) (Tabela 5).

Com auxílio do sistema cromatográfico 2, constatou-se a presença de 4 manchas detectáveis à luz U.V. de 366 nm de comprimento de onda, embora não tenha sido boa a visualização da mancha correspondente ao padrão de estigmasterol (Tabela 5), que apresentou fraca intensidade e coloração levemente azulada. A dificuldade de visualização, desta substância, à luz U.V. a 366 nm, pode ser atribuída à ausência, na estrutura, de duplas ligações conjugadas¹⁷⁴. Verificou-se, no entanto, que a revelação com vanilina sulfúrica (sistema cromatográfico 3) permite observar, em mesmo R_f (= 23), mancha de cor roxa e intensidade média.

Com o uso do sistema cromatográfico 3 (Tabela 6), representando variação do sistema cromatográfico 2, foi observado número maior de manchas (9), com boa separação, tendo-se verificado comportamento cromatográfico semelhante de ambos os extratos clorofórmicos (FC e MC). A revelação com vanilina sulfúrica (Tabela 6) possibilitou constatar maior número de componentes, comparativamente, à observação direta do cromatograma à luz U.V. a 366 nm (Tabela 5). Apenas três manchas visíveis à luz natural, após revelação com vanilina sulfúrica, tiveram correspondência com aquelas observadas à luz UV a 366 nm (Tabela 6).

Ainda, pela Tabela 6, é possível verificar que, a mancha roxa observada em $hRf = 44$, exibiu maior intensidade no extrato clorofórmico de folha (FC), em comparação àquele da mistura de folha e caule (MC).

Assim como os extratos hexânicos (FH e MH), os extratos clorofórmicos (FC e MC) mostraram comportamento cromatográfico semelhante de folha e da mistura desta com caule, frente aos sistemas cromatográficos empregados.

Para a análise dos extratos metanólicos de folha (FM) e da mistura de folha e caule (MM), verificou-se que a fase móvel constituída pela mistura de clorofórmio e metanol, na proporção 9:1 (sistemas cromatográficos 7 e 8) foi eficiente na separação dos componentes desses extratos, ao se empregar como adsorvente sílica gel GF₂₅₄.

A visualização da cromatoplaça, com auxílio de luz U. V. a 366 nm, permitiu observar a presença de 8 manchas, em ambos os extratos metanólicos (FM e MM), sendo que 3 delas apresentaram menor intensidade, naquele de folha (FM), estando situadas em $hRf = 50$, $hRf = 76$ e $hRf = 88$.

A mancha, localizada em $hRf = 93$, foi igualmente encontrada nos dois extratos (FM e MM) e mostrou-se esverdeada à luz natural e vermelha à luz U.V. a 366 nm, indicando, pois, tratar-se de clorofila.

O estigmasterol, no sistema cromatográfico 4, apresentou mancha que atingiu a linha de frente, em função da polaridade da fase móvel, e por isso não foi utilizado como referência, neste sistema. Empregou-se, no lugar, a asimilobina, cuja presença foi evidenciada no extrato etanólico da planta da qual foi isolada e identificada. Tanto o sistema cromatográfico 4 quanto o 5 possibilitaram a constatação desta substância ($hRf = 23$), em ambos os extratos (FM e MM) com mesma intensidade de mancha.

Considerando as pesquisas realizadas a partir de espécies de *Siparuna Aublet*^{20,26,60,99,108,109,110} das quais se isolaram alcalóides e com a confirmação de sua presença na espécie em estudo, pelos ensaios fitoquímicos e isolamento da noraporfina, assimilobina, direcionou-se o estudo cromatográfico para a verificação de sua presença. Na revelação do cromatograma (sistema cromatográfico 5), elegeu-se o reativo de Vágujfalvi¹⁶⁵ com esta finalidade. Após a nebulização do revelador, constatou-se menor número de manchas (hRf = 0, hRf = 23, hRf = 61 e hRf = 76) (Tabela 8), em relação àquele observado sob luz U.V. a 366 nm (Tabela 7). Por outro lado, estas manchas foram visíveis, igualmente, à luz U. V. a 366 nm (Tabelas 7 e 8). Os componentes alcaloídicos foram os mesmos em ambos os extratos (FM e MM).

A partir da Tabela 8, nota-se mancha, situada em hRf = 0, de intensidade forte, que reage com o reativo usado para a revelação dos alcalóides, provavelmente, correspondendo a alcalóides cuja separação requer fase móvel de maior polaridade.

6. 2. 6 Análise cromatográfica do extrato fluido

A análise cromatográfica dos extratos fluidos de folha (EF) e da mistura desta com caule (EM) evidenciou semelhança de comportamento entre eles (Tabelas 10, 11 e 12), tendo-se verificado a presença de asimilobina, utilizada como padrão, em ambas preparações.

A fase móvel constituída por acetato de etila e metanol, na proporção 3:2 (Tabelas 10, 11 e 12) possibilitou a melhor separação, entre outras testadas. À luz U.V. a 366 nm (sistema cromatográfico 6) observaram-se 7 manchas equivalentes nos dois extratos (EF e EM) (Tabela 10). Com exposição aos vapores de iodo (sistema cromatográfico 5) (Tabela 11), o cromatograma dos extratos (EF e EM) apresentou 4 manchas, sendo visualizadas, igualmente, sob luz U. V. a 366 nm (Tabela 10), com exceção da mancha de $hRf = 52$. As três outras manchas ($hRf = 0$, $hRf = 30$ e $hRf = 92$), cuja coloração varia de amarela a marrom, após exposição ao iodo, correspondem, provavelmente, a compostos contendo duplas ligações conjugadas¹⁷⁴, o que se verifica com a asimilobina ($hRf = 30$).

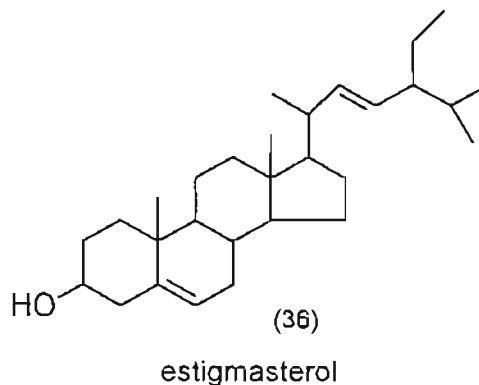
Nos três sistemas cromatográficos (6, 7 e 8) é possível constatar mancha de forte intensidade, no ponto de partida, tendo sido revelada pelo reativo de Dragendorff (sistema cromatográfico 8) (Tabela 12) evidenciando, portanto, a sua natureza alcaloídica e alta polaridade.

6. 2. 7 Identificação da substância S₁

O espectro no infravermelho da substância S₁ (Figura 25), apresenta banda larga na região de 3386 cm⁻¹, sendo característica de grupo OH^{124,125}. A ausência de banda forte na região de 1870 a 1540 cm⁻¹ permite concluir, que não há grupo carbonila na estrutura. Assim, a absorção observada em 1651 cm⁻¹ pode ser atribuída à presença de dupla ligação olefínica^{124,125}.

O espectro de ressonância magnética nuclear protônica (Figura 26) mostra boa resolução, tendo-se observado claramente a ocorrência de absorções correspondentes a dois prótons não equivalentes, ligados à dupla ligação em 4,99 - 4,77 ppm, na forma de duplo dubleto e a um próton, igualmente, ligado à dupla ligação, em 5,16 - 5,14 ppm, na forma de multipletto. É, ainda, evidente, no espectro, a presença de três grupamentos CH₃, que ocorrem na forma de dubletos, na região de 0,83 - 0,48 ppm, indicando acoplamento com CH.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (Figura 27) e de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (DEPT 135°) (Figura 28) mostram boa resolução, permitindo identificar quatro carbonos na região de absorção de dupla ligação (140,31 - 121,28 ppm). O carbono, cujo sinal se encontra em 140,32 ppm mostra ser quaternário enquanto que, os outros três são terciários. O grande número de absorções observadas no espectro de carbono 13, indica a possibilidade de tratar-se de estrutura esteroidal, com presença de duas duplas ligações e de hidroxila. Portanto, é possível tratar-se de um derivado esteroidal de estrutura semelhante ao β-sitosterol, com uma dupla adicional.



Comparando-se os dados dos espectros na região do infravermelho da substância S_1 (Figura 25) com aqueles da literatura^{71,148} (Tabela 16) para o stigmasterol, verifica-se identidade entre eles.

Com relação ao espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (Figura 27), há, igualmente, identidade deste com aquele da literatura¹⁴⁹ para o stigmasterol, onde se encontram valores dos deslocamentos químicos (ppm), de acordo com o que se segue: 140,9 (C5), 138,4 (C22), 129,4 (C23), 121,7 (C6) e 71,8 (C3). Os demais dados estão compatíveis com aqueles atribuídos no ACD³, para a mesma substância.

Na Tabela 17, atribuem-se os valores de deslocamento químico de próton e de carbono 13 da substância S_1 , mostrando-se em concordância com a estrutura do stigmasterol (36).

O espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) (Figura 29) evidencia os hidrogênios ligados especificamente a cada ^{13}C e permite confirmar as atribuições feitas anteriormente.

Complementarmente, submetendo-se a substância S_1 à reação de Liebermann-Bourchard^{6 37,51,57,118,119,169}, o resultado indicou a presença de núcleo esteroidal, estando de acordo com a conclusão anterior. O mesmo pode ser dito com relação à faixa de fusão determinada, que foi de

169 - 171 °C, estando compatível com o ponto de fusão (170 °C) do estigmasterol¹²².

A análise dos dados obtidos permite dizer que a substância S₁ é o estigmasterol.

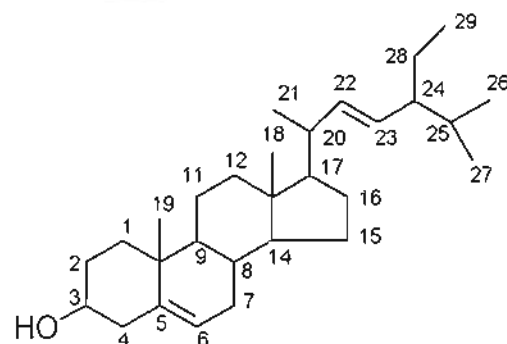
Conforme constatado, recentemente, na literatura, a mesma espécie apresentou idêntico componente, em fruto e lenho¹⁷². Ainda, no gênero *Siparuna* Aublet, foi encontrado em lenho²⁰ de *Siparuna guianensis* Aublet.

Do ponto de vista farmacológico, o estigmasterol (36) não apresentou atividade antihipercolesterêmica²², ao contrário de outro esterol de estrutura muito parecida, o β -sitosterol (37)., o que foi atribuído à presença da dupla ligação no carbono 22 do estigmasterol, única característica estrutural que diferencia os dois compostos.

Tabela 16 - Comparação dos valores de absorção, em cm^{-1} , relativos aos espectros na região do infravermelho da substância S_1 e do estigmasterol^{71,148}

ABSORÇÃO (cm^{-1})		
S_1 (Figura 25)	ESTIGMASTEROL	
	SADTLER ¹⁴⁸	HARKISHAN e col ⁷¹
970 (δ - CH)	970	980
1651 (ν - C=C)	1650	1650
3386 (ν - OH) (banda larga)	3400-3280 (banda larga)	3500-3400 (banda larga)

Tabela 17 - Principais deslocamentos químicos (δ) da substância S₁, em ppm, a partir dos espectros de ressonância magnética nuclear protônica e de carbono 13, em CDCl₃, respectivamente, a 300 e 75,5 MHz, utilizando TMS/CCl₄ como referência externa



Núcleo (H)	δ (ppm)	Grupo	n° de H	Núcleo (C)	δ (ppm)	Grupo	Núcleo (C)	δ (ppm)	Grupo
18,19	0,50 - 0,48 (d)	CH ₃	6	1	36,82	CH ₂	16	39,24	CH ₂
21	0,61 - 0,59 (d)	CH ₃	3	2	31,23	CH ₂	17	55,52	CH
29	0,65 - 0,63 (t)	CH ₃	3	3	71,39	CH	18	11,81	CH ₃
26,27	0,83 - 0,81(d)	CH ₃	6	4	41,87	CH ₂	19	18,55	CH ₃
				5	140,32	C	20	40,06	CH
1, 2, 7, 8, 9				6	121,29	CH	21	18,34	CH ₃
11, 12, 14, 15,	1,66 - 0,93 (m)		23	7	33,51	CH ₂	22	137,88	CH
16, 17, 20				8	31,46	CH	23	128,84	CH
24, 25, 28				9	49,72	CH	24	50,81	CH
				10	36,08	C	25	31,46	CH
4	2,07 (d)	CH ₂	2	11	20,65	CH ₂	26	20,78	CH ₃
3	3,34 - 3,29 (m)	CH	1	12	28,48	CH ₂	27	20,78	CH ₃
22,23	4,99 - 4,77 (dd)	CH	2	13	41,79	C	28	23,93	CH ₂
6	5,16 - 5,14(m)	CH	1	14	56,43	CH	29	11,61	CH ₃
				15	24,97	CH ₂			

Obs: os valores de δ foram arredondados; d = duplete; dd = duplo duplete; m = multiplete; t = tripete

6. 2. 8 Identificação da substância S₂

No espectro da substância S₂, na região do infravermelho (Figura 30) verifica-se banda na região de 3435 cm⁻¹, que é característica dos grupos OH e NH^{124,125}. Não se observa absorção na região de carbonila. A presença de anel aromático é sugerida pelas bandas que ocorrem em 1598 e 1458 cm⁻¹.

O espectro de ressonância magnética nuclear protônica (Figura 31) confirma a presença de anel aromático, mostrando absorções entre 8,08 - 6,50 ppm, correspondendo a cinco prótons. Em 8,08 - 8,06 ppm, nota-se um dubleto muito característico, indicando a presença de um próton aromático que acopla em orto com um próton vizinho. Em 6,50 ppm, verifica-se um sinal na forma de singleto, correspondendo a um próton, o que permite supor a inexistência de prótons vizinhos a ele. O multiplete situado em 7,12 - 7,01 ppm corresponde a três hidrogênios de anel aromático, com acoplamento entre eles. Na região de 3,68 - 2,47 ppm, observa-se grande multiplicidade de sinais, para os quais, uma identificação adequada, necessitou de uma expansão de escala. Em 3,38 ppm verifica-se um singleto muito característico para três prótons, indicando a presença de um grupo metila ligado a átomo mais eletronegativo como, por exemplo, oxigênio. Após a expansão da escala, é possível notar em 3,68 - 3,62 ppm um duplo dubleto, correspondendo a um próton, indicativo de acoplamento com dois prótons não equivalentes.

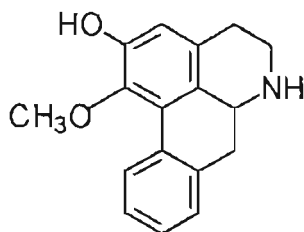
O espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (Figura 32) comprova a ausência de grupos carbonila e a presença de carbonos sp² de anel aromático, em 147,96 - 114,24 ppm. Alguns destes carbonos devem estar ligados a elementos mais eletronegativos que hidrogênio ou carbono como, por exemplo, aqueles que absorvem em

147,96 e 142,53 ppm. É evidente, também, a presença de carbonos alifáticos, na região de 60,00 a 28,35 ppm.

Os dados do espectro de intensificação de sinal sem distorsão por transferência de polarização (DEPT 135°) (Figura 33) possibilitam distinguir os carbonos presentes no composto, em primários, secundários, terciários e quaternários e verificar que a substância S₂ deve possuir dezessete carbonos.

Conforme visto, anteriormente, a banda larga do espectro na região do infravermelho (Figura 30) indica a presença de grupamento hidroxila, portanto, dos carbonos que apresentam sinal em 147,96 e 142,53 ppm no espectro de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (Figura 32) um deve estar ligado à metoxila e outro à hidroxila. Isto se confirma com os espectros de DEPT 135° (Figura 33) e espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) (Figura 34), pois, em ambos, não aparecem indicando serem carbonos quaternários.

Esses dados levam à suposição de que a substância S₂ pode ser assimilobina (9). Efetuou-se a comparação dos resultados obtidos com aqueles da literatura, nas Tabelas 18 e 19. O espectro de correlação de deslocamento químico heteronuclear (HETCOR) permite distinguir os prótons situados na região de 2,78 - 2,46 ppm, o que não se verifica na literatura^{2,65,170} (Tabela 18).



(9)

assimilobina

Complementarmente, a faixa de fusão, compreendida entre 175 - 178 °C, verificada para a substância S₂, está de acordo com aquela da assimilobina^{65,170} (177 - 179 °C). Além disso, S₂ mostrou reação positiva frente ao reativo de Dragendorff^{6,37,51,57}, confirmando sua natureza alcaloídica.

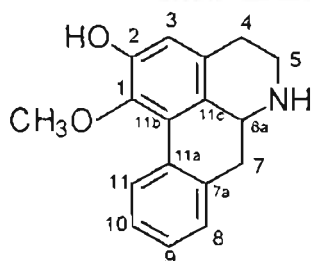
A análise dos dados torna possível concluir que, a substância S₂ é a assimilobina

Segundo o levantamento bibliográfico efetuado, pode-se dizer que, o isolamento de assimilobina é inédito em *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC. No entanto, no gênero, a substância foi encontrada pela primeira vez, por LOPEZ e colaboradores¹⁰⁹, em 1990, em estudo realizado com a espécie *Siparuna tonduziana* Perkins. Os mesmos autores¹¹⁰, verificaram a sua presença, igualmente, em *Siparuna griseo-flavescens* Perkins, em 1993.

Obteve-se 28,1 mg de assimilobina, a partir do extrato etanólico, proveniente da extração de 3,6 Kg de folha e caule em mistura (0,0008 % m/ m). Este resultado pode ser considerado baixo, igualmente, com relação à espécie *Siparuna griseo-flavescens* Perkins, visto que LOPEZ e colaboradores¹¹⁰ obtiveram 45 mg da mesma substância, tendo utilizado, inicialmente, 1,2 Kg de caule pulverizado (0,0037 % m/ m).

Até o momento, assimilobina teve, somente, a sua atividade antiserotonínica testada, tendo inibido as contrações induzidas por serotonina, em aorta extraída de coelho¹⁵⁹.

Tabela 18 - Comparação dos valores de deslocamento químico (δ), em ppm, nos espectros de RMN ^1H e HETCOR (CDCl_3 , a 300 MHz) da substância isolada S_2 , com os dados de RMN ^1H de assimilobina^{2,65,170}, utilizando TMS/ CCl_4 como referência externa

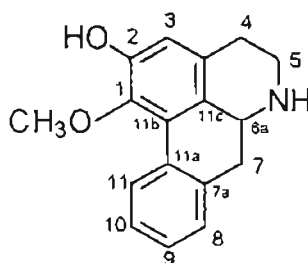


SUBSTÂNCIA S_2			ASIMILOBINA	
NÚCLEO (H)	δ (ppm) (Figuras 31 e 32)	nº de H	TOMITA, M e col. ¹⁷⁰ e GUINAUDEAU, H. e col. ⁶⁵ δ (ppm)	ACHENBACH, H. e col. ² δ (ppm)
CH_3O -	3,38 (s)	3	3,58	
4, 4'	2,48 - 2,46 (m)*	2		
5'	2,78 - 2,74 (m)*	1		3,10 - 2,63
7, 7'	2,66 - 2,57 (m)*	2		
5	3,21 - 3,19 (m)	1		3,43
6a	3,68 - 3,62 (dd)	1		3,88
3	6,50 (s)	1	6,64	
8, 9, 10	7,12 - 7,01 (m)	3	7,30 - 7,17	
11	8,08 - 8,06 (d)	1	8,33	

Obs: d = duplete; dd = duplo duplete; m = multiplete; s = singlete

* Valores correspondentes ao espectro HETCOR

Tabela 19 - Comparação dos valores de deslocamento químico (δ), em ppm, no espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , a 75,5 MHz) da substância isolada S_2 , com asimilobina², utilizando TMS/ CCl_4 como referência externa



NÚCLEO (C)	SUBSTÂNCIA S_2		ASIMILOBINA ²	
	δ (ppm)	Grupo	δ (ppm)	
C_1	142,53	C	143,0	
C_2	147,96	C	148,5	
C_3	114,24	CH	114,7	
C_{3a}	129,45	C	130,0	
C_4	28,35	CH_2	28,9	
C_5	42,74	CH_2	43,3	
C_{6a}	53,15	CH	53,7	
C_7	36,83	CH_2	37,4	
C_{7a}	135,62	C	136,2	
C_8	127,60	CH	128,0	
C_9	127,18	CH	127,6	
C_{10}	126,95	CH	127,4	
C_{11}	126,82	CH	127,2	
C_{11a}	131,49	C	132,0	
C_{11b}	124,97	C	125,4	
C_{11c}	127,82	C	128,5	
$-\text{OCH}_3$	60,00	$-\text{OCH}_3$	60,4	

Obs: os valores dos deslocamentos químicos foram arredondados

6.3 Avaliação da atividade antimicrobiana

O estudo microbiológico foi direcionado para a análise do extrato fluido, tendo em vista o seu uso como componente de especialidade farmacêutica^{36,64}. A indicação destas especialidades em infecções orais e da laringe levou ao interesse pela averiguação da atividade antimicrobiana do extrato fluido da espécie enfocada. Os testes foram realizados com ambos os extratos fluidos (EF e EM).

Para a validação do método realizaram-se os controles de viabilidade do crescimento microbiano das cepas e dos meios de cultura. Paralelamente, efetuou-se controle dos extratos (EF e EM), a fim de garantir a não ocorrência de eventual contaminação nos mesmos, em caso da diminuição do teor alcoólico, por exemplo, por evaporação do solvente.

Considerando a composição do veículo dos extratos fluidos, ou seja, solução etanol-água (70:30) e a reconhecida atividade antimicrobiana²⁵ do solvente, nesta concentração, fêz-se necessária a determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) do mesmo, para garantir a validade do ensaio.

Os resultados relativos à atividade antimicrobiana e antifúngica dos extratos fluidos (EF e EM) (Tabelas 13 e 14) mostraram que os extratos fluidos à concentração de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ não inibiram o crescimento de *Escherichia coli* (ATCC 10531), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e de *Candida albicans* (ATCC 10231). Embora a esta concentração a solução de etanol-água (70:30) tenha inibido o crescimento de *Staphylococcus aureus* e de *Candida albicans*, o resultado do teste não foi invalidado uma vez que, ocorreu crescimento microbiano, com ambos extratos (Tabelas 13 e 14). O mesmo pode ser dito, ainda que tenha havido evaporação de solvente dos extratos.

Tendo-se constatado que à concentração testada de 50 µL/ mL não houve inibição do crescimento das bactérias e da levedura testadas (Tabelas 13 e 14), pode-se dizer que, a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos fluidos de folha (EF) e desta em mistura com caule (EM) é superior a 50 µL/ mL (Tabela 15) para estes microrganismos.

No entanto, o ensaio com concentração maior do extrato fluido, ainda que, após a evaporação do veículo, mostra-se difícil, uma vez que incorre em problemas decorrentes da insolubilização de componentes do resíduo correspondente, em meio não alcoólico e, por conseguinte, no próprio caldo de cultura.

Na escolha dos microrganismos para o ensaio, procurou-se abranger maior espectro destes, com a utilização de indicadores de crescimento bacteriano um Gram-positivo, um Gram-negativo e para o crescimento fúngico, de uma levedura. Considerando o resultado obtido com *Candida albicans*, o ensaio frente a bolor mostrou-se sem fundamento, tendo em vista possuir formas resistentes esporuladas.

No tocante à semelhança de composição dos extratos testados (EF e EM), comprovada pela análise cromatográfica, os resultados idênticos verificados no ensaio microbiológico (Tabelas 13, 14 e 15) eram previsíveis.

Na literatura, constatou-se ausência de estudo anterior relativo à atividade antimicrobiana de qualquer espécie de *Siparuna* Aublet. No entanto, dois alcalóides oxoaporfínicos (liriodenina e oxonantenina), encontrados em representantes deste taxon^{20,26,60,109} foram ensaiados, neste sentido, tendo exibido atividade antimicrobiana^{79,80}.

O ensaio com asimilobina não foi possível, tendo em vista o baixo rendimento obtido do alcalóide.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, no estudo de *Siparuna apiosyce* (Mart.) A. DC., permitem as seguintes conclusões:

- 7.1 São características importantes para a diagnose macroscópica de folha, representando a droga farmacopêica:

Folha distendida: simples, inteira, contorno predominantemente oboval podendo ser lanceolado-oblongo, elíptico-oblongo ou elíptico, margem inteira, serrilhado-denteada ou crenada, base simétrica, obtusa ou levemente reentrante, ápice acuminado ou agudo, coloração da lâmina foliar mais escura na face superior, pilosa, com aspecto velutino, nervuras castanho-claras a bege-amareladas salientes na face inferior, com pilosidade abundante, pecíolo com pilosidade bege-amarelada, inserção lateral, predominantemente reto e curvo na base;

Folha não distendida: lâmina foliar enrolada, com margens voltadas para a face superior, consistência papirácea e friável.

- 7.2 São características macroscópicas úteis para a identificação de caule:

Caules jovens: disposição oposta cruzada das folhas, secção transversal, geralmente, obtuso-retangular, medula de consistência mole, superfície pilosa;

Caules mais desenvolvidos: superfície irregular ou com fina estriação, presença de líquens foliáceos brancacentos, lenticelas alongadas longitudinalmente ou lenticulares, secção transversal com duas regiões distintas, sendo a mais externa castanho-escura e a

interna bege-clara, apresentando na porção central tecido mole ou fístula.

7. 3 As principais características microscópicas de folha, com valor de diagnose são:

Lâmina foliar: mesofilo heterogêneo assimétrico, apresentando, em geral, uma camada de parênquima paliádico e parênquima esponjoso constituído de células lobadas podendo apresentar células contendo cristais aciculares, além de células secretoras situadas, geralmente, na porção mediana do mesofilo; epiderme com até duas camadas celulares, presença de estômatos paracíticos na epiderme inferior, cutícula lisa, pêlos tectores lignificados bifurcados ou em tufos;

Nervura mediana: feixe vascular colateral aberto, células contendo compostos fenólicos internamente aos elementos de protoxilema, células oleíferas, células contendo cristais aciculares, pêlos tectores lignificados semelhantes àqueles da lâmina foliar;

Pecíolo: contorno circular, pêlos tectores semelhantes àqueles da lâmina foliar, colênquima angular contínuo, feixe vascular colateral aberto, células contendo compostos fenólicos internamente ao xilema, células oleíferas e células contendo cristais aciculares situadas, em geral, na região externa do parênquima fundamental.

7. 4 As principais características microscópicas de caule, importantes para a sua identificação, são:

Estrutura primária: secção transversal circular, estrutura sifonostélica ectoflóica, pêlos tectores lignificados bifurcados ou em tufos, colênquima angular contínuo, células oleíferas com maior freqüência no parênquima cortical, células contendo cristais aciculares, mais freqüentes no parênquima medular, calotas de fibras

externamente a floema, células contendo compostos fenólicos internamente ao xilema.

Estrutura secundária: numerosas camadas de súber com parede celular fina, grupos de células pétreas associadas a fibras no parênquima cortical, células com conteúdo lipófilo no parênquima do floema e no parênquima cortical, raios vasculares estreitos com até duas fileiras de células, células com conteúdo fenólico situadas nas proximidades dos elementos de protoxilema.

7. 5 São elementos histológicos importantes na diagnose de folha pulverizada: pêlos tectores lignificados bifurcados e na forma de tufo, cutícula lisa, fragmentos de epiderme mostrando células de contorno poligonal e parede reta (epiderme superior) ou células de parede sinuosa (epiderme inferior) com estômatos do tipo paracítico, células parenquimáticas contendo cristais aciculares.
7. 6 O teor de substâncias voláteis de folha (6,06 % m/ m) foi superior àquele da mistura desta com caule (11,8 % m/ m) e o inverso foi observado com relação ao teor de cinzas totais dos mesmos materiais (7,88 e 4,90 % m/ m).
7. 7 A viscosidade dos extratos fluidos de folha (2,5 cp) foi 10 % superior àquela da mistura desta com caule (2,4 cp).
7. 8 A pequena variação dos valores de densidade relativa, porcentagem de substâncias voláteis a 105 °C, porcentagem de cinzas totais e pH existente entre os extratos fluidos de folha (0,9600; 17,25; 12,20; 5,7) e de folha em mistura com caule (0,9508; 14,90; 13,55; 5,6) faz com que não constituam parâmetros de diferenciação dos mesmos.
7. 9 Os extratos hexânicos de folha e de folha em mistura com caule apresentaram a mesma composição, inclusive com relação à presença de estigmasterol, quando submetidos à cromatografia em

camada delgada utilizado o sistema cromatográfico 1, que emprega como fase móvel a mistura de clorofórmio-acetona, na proporção 99:1, adsorvente sílica gel 60 GF₂₅₄ e visualização à luz U. V. a 366 nm.

7. 10 Os extratos clorofórmicos de folha e de folha em mistura com caule apresentaram a mesma composição, tendo acusado a presença de estigmasterol, quando submetidos à cromatografia em camada delgada utilizando os sistemas cromatográficos 2 e 3, que empregam como fase móvel a mistura de clorofórmio-éter etílico, na proporção 98:2, adsorvente sílica gel 60 GF₂₅₄ e visualização, respectivamente, à luz U. V. a 366 nm e à luz natural após nebulização com vanilina sulfúrica.
7. 11 Os extratos metanólicos de folha e de folha em mistura com caule apresentaram a mesma composição, inclusive quanto ao conteúdo alcaloídico, tendo ambos acusado a presença de assimilobina, quando submetidos à cromatografia em camada delgada utilizando os sistemas cromatográficos 4 e 5, que empregaram como fase móvel a mistura de clorofórmio-metanol, na proporção 9:1, adsorvente sílica gel 60 GF₂₅₄ e visualização, respectivamente, à luz U. V. a 366 nm e à luz natural após nebulização com reagente de Váguffalvi.
7. 12 Os extratos fluidos de folha e de folha em mistura com caule apresentaram a mesma composição, tendo acusado a presença de assimilobina, quando submetidos à cromatografia em camada delgada e empregando os sistemas cromatográficos 6, 7 e 8, com fase móvel constituída pela mistura de acetato de etila-metanol, na proporção 3:2, adsorvente sílica gel 60 GF₂₅₄ e visualização, respectivamente, à luz U. V. a 366 nm e à luz natural após exposição aos vapores de iodo e nebulização com reagente de Dragendorff.

7. 13 A espécie estudada apresenta, em sua composição, alcalóides, compostos de núcleo esteroidal, flavonóides, óleo essencial, taninos e, provavelmente, mucilagem.
7. 14 O teor de óleo essencial de fruto fresco (0,2 % v/ m) corresponde ao dobro daquele encontrado em folha.
7. 15 São constituintes da mistura de folha e caule (40:60) a asimilobina (noraporfina) e o estigmasterol.
- 7.16 Os extratos fluidos de folha e da mistura de folha e caule não apresentaram atividade antimicrobiana à concentração de 50 μ L/ mL, quando testados frente a *Escherichia coli* (ATCC 10531), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 10231).

8 RESUMO

Siparuna apiosyce (Mart.) A. DC., espécie vegetal aromática da família *Monimiaceae* Jussieu, encontrada no sudeste brasileiro, conhecida vulgarmente como "limão-bravo", é planta medicinal de uso popular. As folhas são empregadas em problemas gástricos e respiratórios. A espécie consta na primeira edição da Farmacopéia Brasileira, sob a denominação "limoeiro-bravo", sendo considerada a folha, como parte usada. Efetuou-se análise macro e microscópica de folha e de caule para fins de identificação da droga inteira, em análises de rotina. O estudo microscópico incluiu folha, na forma pulverizada. Empregaram-se as técnicas usuais de análise. Elaboraram-se desenhos esquemáticos e em detalhe das estruturas microscópicas. As descrições são, igualmente, acompanhadas de fotografias e de fotomicrografias. Efetuou-se análise comparativa de folha e desta em mistura com caule, na proporção naturalmente encontrada no vegetal, tendo-se realizado a determinação de parâmetros físico e químico, abordagem fitoquímica e estudo cromatográfico em camada delgada de ambos. Realizou-se avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos fluidos frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Foi determinado o teor de óleo essencial presente em folha e em fruto da espécie. Considerando a comercialização da droga, na forma de extrato fluido, estes foram preparados, pelo processo de percolação fracionada (processo "C"), segundo a Farmacopéia Brasileira II, a partir das partes aéreas, anteriormente referidas. Efetuou-se a determinação comparativa, para ambos os extratos fluidos, de parâmetros físicos e químico e análise cromatográfica em camada delgada. Para o estudo químico foram elaborados os extratos hexânico, diclorometânico e etanólico, com vistas ao isolamento de componentes de folha e caule. Com o resíduo etanólico efetuou-se processo de extração de alcalóides. O resíduo hexânico e o

resíduo bruto de alcalóides foram submetidos à separação por coluna cromatográfica. As frações resultantes foram cromatografadas em camada delgada, tendo sido reunidas aquelas de comportamento cromatográfico semelhante. Posteriormente, efetuaram-se procedimentos específicos para o isolamento de compostos. Entre os vários componentes obtidos, dois foram identificados, por via espectral, tendo sido o estigmasterol e o alcalóide noraporfínico assimilobina. Espectros das substâncias (I.V., RMN ¹ H, RMN ¹³ C, RMN ¹³ C - DEPT 135° e HETCOR) acompanham o trabalho.

9 SUMMARY

Siparuna apiosyce (Mart.) A. DC., an aromatic medicinal specie of southeast Brazil, commonly known as "limão - bravo", is traditionally used to treat gastric and pulmonary diseases. The leaves are included in the first edition of the Brazilian Pharmacopeia and officially named "limoeiro-bravo". Macro and microscopical descriptions and analysis were made, concerning leaves and twigs. It was performed by usual techniques. Photographies (macro and microscopical analysis) and drawings follow the descriptions. Comparative assays were made considering leaves and twigs with leaves. The author determined physical and chemical parameters, followed by phytochemical screening and thin layer chromatography profile. The respective fluid extrats were prepared by fractionated percolation, as directed under second edition of the Brazilian Pharmacopeia. Physical and chemical parameters and antimicrobial activity of fluid extract were determined. Essential oil content of leaf and fruit were obtained. Twigs and leaves were extracted by percolation and successively with *n*-hexane, dichlorometane and ethanol. Extraction procedures for alkaloidal content was performed, with the ethanolic residue, by traditional methods. The hexanic residue and the concentrated alkaloidal phase were submitted to chromatographic column techniques. Specific procedures were applied for the component isolation. Two compounds were identified by spectrometric determination: stigmasterol and the noraporphine asimilobine alkaloid. This work include RMN ¹H, RMN ¹³C, DEPT 135° and HETCOR spectra.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. ABU - Z., M. H. A., SHAMMA, M. A spectral method for the determination of the position of a phenolic group on a ring A of an aporphine. Four new aporphines from *Polyalthia acuminata*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 45, n. 4, p. 471 - 475, 1982.
2. ACHENBACH, H., RENNER, C., ADDAE - M., I. Untersuchung der inhaltsstoffe von *Hexalobius crispiflorus*. *Lieb. Ann. Chem.*, Weinheim, n. 9, 1623 - 1633, 1982.
3. ADVANCED Chemical Development (ACD) - CNMR - Molecule editor Windows[®], 1.0 version, Toronto, 1994-1995. [software]
4. AHMED, Z. F., WASSEL, G. M., BARY, E. S. A. - E. Phytochemical study of *Periploca angustifolia* Labill. grown in Egypt. Part 1 "Lipid". *J. Pharm. Sci. UAR*, Cairo, v. 10, n. 2, p.329 - 336, 1969.
5. AKISUE, G. Contribuição ao conhecimento do óleo essencial e dos alcalóides do gênero *Siparuna* Aubl. (*Siparuna apiosyce* (Martius) A.DC., *Siparuna cuiabana* (Martius) A. DC., *Siparuna brasiliensis* (Sprengel) A. DC). *An. Farm. Quím. São Paulo*, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 107 - 108, 1977.

* De acordo com a norma NBR 6023/89, preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos de periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI), 1996.

6. AKISUE, G., AKISUE, M., OLIVEIRA, F. *Farmacognosia - Curso de identificação de drogas vegetais*. São Paulo: Ed. do autor (Pharmakon), 1991. p. 2 - 3, 8, 11, 21, 23 - 4, 42 (prática) - p. 86 (teoria).
7. ALTCHUL, S. V. R. *In: Drugs and foods from little-known plants*. Cambridge: Harvard University, 1973. p. 77. *Apud* CHIU, S. Y. C., DOBBERSTEIN, R. H., FONG, H. H. S., FARNSWORTH, N. R. Oxoaporphine alkaloids from *Siparuna gilgiana*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 45, n. 2, p. 229 - 230, 1982.
8. ANDRADE, E. N. , VECCHI, O. *Les bois indigènes de São Paulo*. São Paulo: Ed. do autor. 1916. p. 209.
9. ANGELY, J. *Flora analítica e fitogeográfica do Estado de São Paulo*. São Paulo: Phytos, 1969. p. 117 -122.
10. ANSA - A., R., STARMER, G. A. Studies on O - methylflavinantine. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 50, n. 1, p. 69 - 73, 1984.
11. ANTONIO, T. M., WALLER, G. R., MUSSINANT, C. J. Composition of essential oil from the leaves of *Siparuna guianensis* (Monimiaceae). *Chem. Ind.*, London, n. 14, p. 514 - 515, 1984.
12. AUBLET, F. *Hist. Pl. Guian. Fr.* 2: 864, t. 333, 1775. *Apud*: OCCHIONI, A., LYRA, M. E. M. Contribuição ao estudo das Monimiáceas medicinais brasileiras. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 253 - 273, 1947.
13. BARROSO, G. M. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. São Paulo: EDUSP, 197. v. 1, p. 19 - 39.

14. BLOHM, H. In: *Poisonous plants of Venezuela*. Cambridge: Harvard University Press, 1962. p. 24-25. Apud: LOPEZ, J. A., ALY, Y., Jr. SCHIFFF, P. L. Alkaloids of *Siparuna pauciflora*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 54, n. 6, p. 552 - 553, 1988.
15. BORIN, M. R. M. B. *O valor dos esteróides como marcadores em quimiosistemática*. São Paulo. 1988. 192 p. [Dissertação de mestrado, Instituto de Química - USP].
16. BORUP-GROCHTMANN, I., KINGSTON, D. G. I. Aporphine alkaloids from *Annona acuminata*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 45, p. 102, 1982.
17. BOWERS, W. S., NISHINO, C., MONTGOMERY, M. E., NAULT, M. W. Sesquiterpene progenitor, germacrene A: an alarm pheromone in aphids. *Science*, Washington , v. 196, n. 4290, p. 680 - 681, 1977.
18. BRAIN, K. R., TURNER, T. D. *The practical evaluation of phytopharmaceuticals*. Bristol: Wright-Scientifica, 1975. p. 83.
19. BRASH, R. M., SNEDEN, A. T. Oxoaporphine alkaloids from *Rollinia sericea*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 46, p. 437, 1983.
20. BRAZ F^o. , R. , GABRIEL, S. J. , GOMES, C. M. R. , GOTTLIEB, O. R., BICHARA, M. G. A., MAIA, J. G. S. Oxoaporphine alkaloids from *Fusea longifolia* and *Siparuna guianensis*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 15, p. 1187 - 1188, 1976.

21. BRIESKORN, C. H., NOBLE, P. Inhaltsstoffe des etherischen Öls der Myrrhe. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 44, p. 87 - 90, 1982.
22. CHANDLER, R., F., HOOPER, S. N., ISMAIL, H. A. Antihypercholesterolemic studies with sterols: β -sitosterol and stigmasterol. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 68, n. 2, p. 245 - 247, 1979.
23. CHANEY, R. W., SABORN, E. I. The Goshen flora of west central Oregon. *Carnegie Inst. Washington Publ.*, 439. 1-103. 40 pl. 1933. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 8, res. 20867, 1934.
24. CHANG, F. - R., CHEN, K. - S., KO, F. - N., TENG, C. - M., WU, Y. C. Bioactive alkaloids from *Annona reticulata*. *Chin. Pharm. J.*, Taiwan, v. 47, n. 5., p. 483 - 491, 1995. *Apud: Int. Pharm. Abstr.*, Washington, v. 33, res. 10638, 1996.
25. CHILE. Ministerio de la Salud. Instituto de Salud Publica de Chile. *Compêndio de aspectos teorico-practicos en el manejo de areas de contaminacion controlada*. Santiago do Chile: Universitaria, 1984.
26. CHIU, S. Y. C., DOBBERSTEIN, R. H., FONG, H. H. S., FARNSWORTH, N. R. Oxoaporphine alkaloids from *Siparuna gilgiana*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 45, n. 2, p. 229 - 230, 1982.
27. COIMBRA, R. *Notas de fitoterapia - catálogo de dados principais sobre plantas utilizadas em medicina e farmácia*. Rio de Janeiro: Laboratório Clínico Silva Araújo, 1942.
28. COIMBRA, R. *Manual de fitoterapia*. 2. ed. Belém: CEJUP, 1994. p. 181.
29. COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. *Introdução a métodos cromatográficos*. Campinas: Ed. UNICAMP, 1990.

30. CORRÊA, M. P. *Dicionário de plantas úteis*, Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1969. v. 4, p. 40, 41, 646, 650, 656.
31. CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1981. p. 68 - 69.
32. CUATRECASAS, J. *Plantae novae Colombiae. series altera. Trab. Mus. Nac. Cienc. Nat. y Jardin Bot [Madrid]* Bot. n. 29, 1 - 47, 18 fig, 1935. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 10, res. 4210, 1936.
33. DABRAH, T. T., SNEDEN, A. T. Oxoaporphine alkaloids from *Rollinia papilionella* *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 46, p. 436, 1983.
34. DE CANDOLLE, A. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, Paris. XVI, n. 2, p. 640 - 676, 1868. *Apud: OCCHIONI, A., LYRA, M. E. M. Contribuição ao estudo das Monimiáceas medicinais brasileiras. Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 253 -273, 1947
35. DEY, P. M., HARBORNE, J. B. *Methods in plant biochemistry: plant phenolics*. London: Academic Press, 1989. p. 224.
36. DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas 96/97. 25. ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1996.
37. DOMINGUEZ, X. A. Analisis fitoquímico. *Ciência*, Mexico, v. 21, p. 125 - 135, 1961.
38. DOMINGUEZ, X. A. *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa, 1983.

39. DUKE, J. A. *Monimiaceae*. In : WOODSON, R. E., SCHERY, R. W. Flora of Panama. *Ann. Miss. Bot. Gard.*, Saint Louis, v. 69, n. 3 - 4, p. 225 - 239, 1962.
40. EL-SEEDI, H., GHIA, F., TORSSELL, K. B. G. Cadinane sesquiterpenes from *Siparuna macrotrepala*. *Phytochemistry*, Oxford, v. 35, p. 1495 - 1497, 1994.
41. EMMERICH, M., VALLE, L. S. Estudos de etnobotânica no Parque Indígena do Xingu. VII - Plantas abortivas, anticoncepcionais, conceptivas e sexo-determinantes. *Bradea*, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 13 - 20, 1991.
42. ENDRESS, P. K. Zur vergleichenden Entwicklungs - Morphologie, Embriologie und Systematik bei Laurales [On the comparative developmental morphology, embriologie and systematics in Laurales]. *Bot. Jahrb. Syst. Pflanzengesch Pflanzen - Geogr*, v. 92, n. 2/3, p. 331 - 428, 1972 (illus.). *Apud : Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 55, n. 9, res. 47273, 1973.
43. ENGLER, A. *Syllabus der pflanzenfamilien*. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1964. v. 2, p. 120 - 123.
44. ERHARDT, P. W., SOINE, T. O. Stereochemical preferences for curarimimetic neuromuscular junction blockade I: Enantiomeric monoquaternary amines as probes. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 64, n. 1, p. 53 - 62, 1975.
45. ESAU, K. *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo: Edgard Blücher, 1976. p. 221.

46. ESAU, K. *Anatomy of seed plants*. New York: John Wiley & Sons, 1977. p. 357.
47. FAHN, A. *Plant anatomy*. 4. ed. Oxford: Pergamon, 1990.
48. FARMACOPÉIA brasileira. 3. ed. São Paulo: Organização Andrei, 1977.
49. FARMACOPÉIA brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
50. FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959. p.449, 665-667, p. 944, 1043-1044.
51. FARNSWORTH, N. R. Biological and phytochemical screening of plants. *J. Pharm. Sci.*, Whashington, v. 55, n. 3, p. 225-276, 1966.
52. FEIL, J. P. Reproductive ecology of dioecious *Siparuna* (*Monimiaceae*) in Ecuador - a case of gall midge pollination. *Bot. J. Linn. Soc.*, London. v. 110, n.3, p. 171 - 203, 1992.
53. FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*, London, v. 155, n. 3924, p. 51, 1945.
54. FREIRE, C. V. *Chaves analíticas*. 3. ed., Rio de Janeiro: Oficinas Gráficas do Jornal do Brasil, 1943. p. 98, 197.
55. FREISE, F. W. Plantas medicinais brasileiras. *Bol. Agric.*, São Paulo, v. 34, p. 395, 1933.
56. FREISE, F. W., *Pharm. Zentralhalle*, 75, 627, 1934. *Apud*: HEGNAUER, R. *Chemotaxonomie der pflanzen*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1969. v. 5, p. 99 - 107.

57. FREITAS, P. C. D., BACCHI, E. M. *Práticas de farmacognosia*. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP, 1990. p. 12, 24, 28-9, 31-2, 36. [Postila]
58. GARRATT, G. A. Systematic anatomy of the woods of the *Monimiaceae*. *Tropical Woods*, New Haven, v. 39, p. 18 - 44, 1934.
59. GEISSMAN, T. A. *The chemistry of flavonoid compounds*. New York: Macmillan, 1962. p. 331.
60. GÉRARD, R. V., MACLEAN, D. B. , ANTONIO, T. M. Examination of three *Siparuna* species for alkalod content. *Phytochemistry*, Oxford ,v. 25, p. 2155 - 2156, 1986.
61. GIBBS, R. D. *Chemotaxonomy of flowering plants*. Cambridge: McGill - Queen's University, 1974. v. 1, p. 235-264.
62. GIBBS, R. D. *Chemotaxonomy of flowering plants*. Cambridge: McGill - Queen's University, 1974. v. 3, p.1413-1443.
63. GLEASON, H. A., SMITH, A.C. *Plantae Krukovianae*. *Bull. Torrey Bot. Club*. V. 60, n. 5, p. 349 - 365; n. 6, p. 379-396. 2pl. 1933. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 9, res. 7913, 1935.
64. GUIA da Farmácia. São Paulo: ABAFARMA, ano 3, fev., n. 46, 1996.
65. GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, A. Aporphine alkaloids. *Lloydia*, Cincinatti, v. 38, n. 4, p. 275 - 338, 1975.
66. GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, A. Aporphine alkaloids II. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 42, n. 4, p. 325 - 360, 1979.

67. GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids III. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 46, n. 6, p. 761 - 835, 1983.
68. GUINAUDEAU, H., LEBOEUF, M., CAVÉ, A. Aporphinoid alkaloids IV. *Lloydia*, Cincinnati, v. 51, n. 3, p. 389 - 474, 1988
69. GUPTA, M. B., NATH, R., SRIVASTAVA, N., SHANKER, K., KISHOR, K., BHARGAVA, K. P. Anti-inflammatory and antipyretic activities of β -sitosterol. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 39, n. 2, p. 157 - 163, 1980.
70. HARBORNE, J. B. *Phytochemical methods*. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1984. p. 55, 84.
71. HARKISHAN, S., KAPOOR, V. K., MANHAS, M. S. Investigation of *Strichnos* spp. III. Study of triterpenes and sterols of *Strichnos potatorum* seeds. *Plant. Med.* Stuttgart, v. 28, n. 4, p. 392 - 396, 1975.
72. HEGNAUER, R. *Chemotaxonomie der pflanzen*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1969. v. 5, p. 99 - 107.
73. HEGNAUER, R. *Chemotaxonomie der pflanzen*. Basel: Birkhäuser Verlag, 1990. v. 9, p. 66 - 72.
74. HELÔU, J. H. Preparações farmacêuticas obtidas por extração. *Rev. Bras. Farmacogn.* v. 2, 3 e 4, p. 106 - 169, 1987/ 1989.
75. HIKINO, H., AGATSUMA, K., TAKEMOTO, T. Structure of curzerenone, epicurzerenone and isofuranogermacrene (curzerene). *Tetrahedron Lett.*, London, v. 24, p. 2855 - 2858, 1968.

76. HIKINO, H., KONNO, C., AGATSUMA, K., TAKEMOTO, T. Sesquiterpenoids. Part XLVII. Structure, configuration, conformation, and thermal rearrangement of furanodienone, isofuranodienone, curzerenone, epicurzerenone, and pyrocurzerenone, sesquiterpenoids of *Curcuma zedoaria*. J. Chem. Soc. Perk. Trans. I, London, 1975. p. 478 - 484.
77. HOEHNE, F. C. KUHLMANN, J. G. *Índice bibliográfico e numérico das plantas colhidas pela Comissão Rondon*. São Paulo: Ministério da Agricultura, 1951. p. 206, 207.
78. HOEHNE, F. C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo: Departamento de Botânica do Estado, 1978. p. 124.
79. HUFFORD, C. D., FUNDENBURK, M. J., MORGAN, J. M. , ROBERTSON, L. W. Two antimicrobial alkaloids from heartwood of *Liriodendron tulipifera* L. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 64, n. 5, p. 789 - 792, 1975.
80. HUFFORD, C. D., SHARMA, A. S., OGUNTINEIN, B. O. Antibacterial and antifungal activity of liriodenine and related oxoaporphine alkaloids *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 69, n. 10, p. 1180 - 1183, 1980.
81. IDSON, B. "Natural" moisturizers for cosmetics. *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v. 136, n. 5, p. 24 - 26, 1985.
82. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1895. v. 2, p. 915.
83. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1906. Suppl. 1, p. 400.

84. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1908. Suppl. 3, p. 166.
85. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1913. Suppl. 4, p. 221.
86. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1921. Suppl. 5, p. 243.
87. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1926. Suppl. 6, p. 195,.
88. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1929. Suppl. 7, p. 225.
89. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1933. Suppl. 8, p. 224.
90. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1938. Suppl. 9, p. 261.
91. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1947. Suppl. 10, p. 215.
92. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1959. Suppl. 12, p. 132.
93. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1966. Suppl. 13, p. 127.
94. INDEX Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. Oxford: Clarendon, 1969. Suppl. 14, p. 125.

95. INVENTÁRIO de plantas medicinais do estado da Bahia. Salvador: SEPLANTEC, 1979. p 636-637.
96. JANGOUX, J. New species of *Monimiaceae* (*Bracteanthus* & *Siparuna*) from Brazil and the adjacent areas of Bolivia, Colombia and Peru. *Bol. Mus. Para Emílio Goeldi Ser. Bot.*, Belém, v. 7, n. 1., p. 115 - 152, 1991.
97. JOLY, A. B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 4. ed. São Paulo: Nacional, 1977. p. 289, 294-5.
98. KAPLAN, M. A. C., KLAUS, K. , BARROS, J. R. T., GOTTLIEB, O. R. Expressão alternativa de caracteres químicos em famílias Magnoliâneas de plantas floríferas. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, Rio de Janeiro. v. 60, n. 2, p. 169 - 172, 1988.
99. KATO, N., CLAROS, B. M. G., BRITO, A. P. P., VARVERDE - SOARES, S. S., MACHADO - BRITO, T. B., LEITÃO, G. G. Constituintes químicos de dois gêneros de *Monimiaceae*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., Florianópolis, 1996. Resumos. Florianópolis, 1996. p. 195. res. Q - 099.
100. KIMURA, I., KIMURA, M., YOSHIZAKI, M., YANADA, K., KADOTA, S., KIKUCHI, T. Neuromuscular blocking action of alkaloids from a japanese crude drug "shin-I" (flos *Magnoliae*) in frog skeletal muscle. *Plant Med.*, Stuttgart, v. 48, n. 1, p. 43 -47, 1983.
101. KRAUS, J. E. *Técnicas básicas em morfologia vegetal*. São Paulo: Instituto de Biociências - USP. s.d. p. 38. [Postila]

102. LANJOUW, J. Additions to Pulle's flora of Surinam. I. Plants collected by J. Lanjouw in 1933. *Rec. Trav. Bot. Néerland.* 32 (1): 215-261. 1 pl., 4 fig., 1935. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 10, res. 11826, 1936.
103. LEBOEUF, M., CAVÉ, A., PROVOST, J., TIBERGHIEU, R., FORGACS, P. Alcaloïdes du *Monimia rotundifolia* Pet.-Th.; Préparation de dérivés de la laurotétanine à propriétés antiarytmiques. *Ann. Pharm. Fr.*, Paris, v. 38, n. 6, p. 537 - 544, 1980.
104. LEINFELLNER, W. On the carpels of different Magnoliales. II. Xymalos, *Hedyacarya* & *Siparuna* (*Monimiaceae*). *Osterreich Bot. Zeitschr.* 113 (3 - 4): 448 - 458, 1966. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 48, n. 20, 1967. res: 10259.
105. LIST, P. H., SCHMIDT, P. C. *Phytopharmaceutical technology*. Boca Raton: CRC, 1989. p. 227-230.
106. LOIZEAU, P. A., SPICHIGER, R. The *Monimiaceae* of the Arboretum Jenaro Herrera (province of Requena, department of Loreto, Peru): Contribution to the study of the flora and vegetation of the Peruvian Amazonia: XII. *Candollea*, Genève, v. 42, n. 1, p. 97 - 106, 1987.
107. LONGO, R., TIRA, S. Steroidal and other components of *Pygeum africanum* bark. *Farmaco*, Pavia, v. 38, n. 7, p. 287 - 292, 1983.
108. LOPEZ, J. A., ALY, Y., Jr. SCHIFFF, P. L. Alkaloids of *Siparuna pauciflora*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 54, n. 6, p. 552 - 553, 1988.

109. LOPEZ, J. A., LAURITO, J. G., LIN, F. - T., DUAH, F. K., SHARAF, M., ALY, Y., WONG, L. K, Jr. SCHIFF, P. L. Alkaloids of *Siparuna tonduziana*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 56, n. 5, p. 492, 1990.
110. LOPEZ, J. A., LAURITO, J. G., LIN, F. - T., SHARAF, M., WONG, L. K., Jr. SCHIFF, P. L.. Alkaloids of *Siparuna griseo-flavescens*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 59, n. 1, p. 100, 1993.
111. LORENCE, D. H. Systematics of the genus *Siparuna* (*Monimiaceae*, *Siparunoideae*) in Mexico, with descriptions of two new species. *An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. Mexico*. México, v. 54, p. 159 -172, 1983.
112. MALINI, T., VANITHAKUMARI, G. J. Rat toxicity studies with β -sitosterol. *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne, v. 28, n. 2 , p. 221 - 234, 1990.
113. MALINI, T., VANITHAKUMARI, G. J. Antifertility effects of β -sitosterol in male albino rats. *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne, v. 35, n. 2, p. 149 - 153, 1991.
114. MALINI, T., VANITHAKUMARI, G. J. Comparative study of effects of β -sitosterol, estradiol and progesterone on selected biochemical parameters of the uterus of ovariectomised rats *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne, v. 36, n. 1, p. 51 - 55, 1992.
115. MANJARREZ, A., MENDOZA, V. The volatile oil of the fruits of *Siparuna nicaraguensis*. *Perfum. Essent. Oil Rec.* v. 58, n. 1, p. 23 - 24, 1967. *Apud: Chem. Abstr.*, Columbus, v. 66, p. 7459, res. 79488, 1967.

116. MARTINEZ, M. *Plantas mexicanas: catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. México: Fondo de Cultura Económica, 1987.
117. MARTIUS ex Tulasne, *Ann. Sci. Nat.*, Sér. IV, 3, 34, 1855. *Apud*: OCCHIONI, A., LYRA, M. E. M. Contribuição ao estudo das Monimiáceas medicinais brasileiras. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 253 -273, 1947.
118. MATOS, F. J. A., SOUZA, M. P., BARROS, M., LIMA, M. E. Marcha sistemática de abordagem fitoquímica. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v. 46, n. 3, p. 151 - 161, 1965.
119. MATOS, J. M. D., MATOS, M. E. O. *Farmacognosia*. Fortaleza: Ed. UFC., 1989. p. 201-207
120. MATTOS, J. R. Monimiáceas do estado de São Paulo. *Arq. Bot. Est. São Paulo*. São Paulo, v. 4, n. 4 -6, p. 247 -258, 1969.
121. MAUSETH, J. D. *Plant anatomy*. Menlo-Park: Benjamin/ Cummings, 1988.
122. MERCK index. 12. ed. Whitehouse Station: Merck, 1996.
123. METCALFE, C. R., CHALK, L. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford: Clarendon Press, 1950. v. 2 . p. 1138 -1145, 1148, 1158.
124. MURADIAN, J. *Espectroscopia no infravermelho*. [Universidade de São Paulo - Instituto de Química - Departamento de Química Fundamental], São Paulo: Ed. do Autor , 1980.
125. NAKANISHI, K. *Infrared absorption spectroscopy*. Tokyo: Nankodo, 1969.

126. NEWMAN, A. A. *Chemistry of terpenes and terpenoids*. London: Academic Press, 1972.
127. OCCHIONI, A., LYRA, M. E. M. Contribuição ao estudo das Monimiáceas medicinais brasileiras. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 253 -273, 1947.
128. OLIVEIRA, F., AKISUE, G. *Fundamentos de farmacobotânica*. Rio de Janeiro: Atheneu, 1989.
129. OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M. K. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu, 1991.
130. OLIVEIRA, F., AKISUE, G., AKISUE, M. K., KATO, E. T. , FISCHER, D. C. H. *Curso prático de Farmacognosia I - morfodiagnose, histoquímica e microquímica da droga*. São Paulo, 1995. v. 2., p. 1 - 4. [Postila]
131. PARIS, R. R., MOYSE, H. *Précis de matière médicale*. 2. ed. Paris: Masson, 1976. p. 190, 192.
132. PEARSON, R. M. Update on vaginal spermicides. *Pharm. J.*, London, v. 234, n. 6329, p. 686 - 687, 1985.
133. PECKOLT, G., PECKOLT, P. *História das plantas medicinais e úteis do Brasil*. Rio de Janeiro, n. 8, p. 17 - 19, 1914. *Apud*: OCCHIONI, A., LYRA, M. E. M. Contribuição ao estudo das Monimiáceas medicinais brasileiras. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, v. 7, p. 253 - 273, 1947.

134. PEKOLT, T. H. *Ber. dt. Pharm. Ges.*, v. 6, p. 93 - 97, 1896. *Apud:* ANTONIO, T. M., WALLER, G. R., MUSSINAN, C. J. Composition of essential oil from the leaves of *Siparuna guianensis* (*Monimiaceae*). *Chem. Ind.*, London, n. 14, p. 514 - 515, 1984.
135. PENNA, M. *Dicionário brasileiro de plantas medicinais*. Rio de Janeiro: A Noite, 1941.
136. PEREIRA, M. V. L. Nova espécie de *Siparuna* (*Monimiaceae*, *Siparunoideae*). *Bradea*, Rio de Janeiro, v. 4, n. 36, p. 291 - 294, 1986.
137. PERKINS, J. Beiträge zur kerntris der südamerikanischen *Monimiaceae*. *Notizbl. Bot. Gart. u Mus. Berlin - Dahlem*. 10 (92): 158 - 168, 1927. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v.3, 1929. res. 3032
138. PERKINS, J. R., GILG, E. *Monimiaceae*. In: *Engler's das pflanzenreich*, Leipzig: William Engelmann, v. 4, n. 101, 122 p., 1901. *Apud:* GARRATT, G. A. *Systematic anatomy of the woods of the Monimiaceae*. *Trop. Wood*, New Haven, p. 18 - 44, 1934.
139. PHARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. São Paulo: Nacional, 1926.
140. PHILLIPSON, W. R., A synopsis of the Malesian species of *Steghanthera* (*Monimiaceae*). *BLUMEA*, Leiden, v. 29, n. 2, p. 481 - 498, 1984. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, jan-dez, 1985. (CD-ROM)

141. PHILIPSON, W. R. A synopsis of the Malesian species of *Kibara* (*Monimiaceae*). *BLUMEA*. Leiden, v. 30, n. 2, p. 389 - 416, 1985.
Apud : *Biol. Abstr.*, Philadelphia, vol. 80, n. 11, res. 92626, 1985.
142. RENDLE, A. B. *The classification of flowering plants. II. Dicotyledons*. London: Cambridge. 1925. 636 p. *Apud*: GARRATT, G. A. *Systematic anatomy of the woods of the Monimiaceae*. *Trop. Wood*, New Haven, v. 39, p. 18 - 44, 1934.
143. RENNER, S. S., HAUSNER, G. New species of *Siparuna* (*Monimiaceae*) I. Four new species from Ecuador and Colombia. *Novon*, St. Louis, v. 5, n. 1, p.61 - 70, 1995.
144. RENNER, S. S., HAUSNER, G. New species of *Siparuna* (*Monimiaceae*) II. Seven new species from Ecuador and Colombia. *Novon*, St. Louis, v. 6., n. 1, p. 103 - 106, 1996.
145. RIOS, J. L., SIMEON, S., VILLAR, A. Pharmacological activity of aporphinoid alkaloids. A review. *Fitoterapia*, Milano, v. 60, n. 5, p. 387 - 412, 1989.
146. ROBBERS, J. E., SPEEDIE, M. K., TYLER, V. E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 155.
147. RUIZ, PAVON, *Flora Per. et Chil. Citriosma*, 134, 1794. *Apud*: MATTOS, J. R. Monimiáceas do estado de São Paulo. *Arqs. Jard. Bot. Est. S. Paulo*. São Paulo, v. 4, n. 4 - 6, p. 247 - 258, 1969.
148. SADTLER Standard Spectra Collection. Infrared Prism. Philadelphia: SADTLER Research Laboratories. n. 5978, 1962.

149. SADTLER Standard Spectra Collection. Carbon-13 - NMR Spectra
Philadelphia: SADTLER Research Laboratories. n. 12274C, 1982.
150. SCHULTES, R. E. *Ilex guayusa* from 500 A. D. to the present. *Etnol. Stud.* 32: 115 - 138, 1972. *Apud: Biol. Abstr.* Philadelphia. v. 56, n. 4, res. 22012, 1973.
151. SCHULTES, R. E., RAFFAUF, R. F. *The healing forest. Medicinal and toxic plants of the northwest Amazonia.* Portland: Dioscorides Press, 1990. v.2. p. 310 - 311.
152. SCHULTZ, A. *Introdução à botânica sistemática.* 5. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade, 1985. v.2.
153. SCHÜTTE, H. R., LIEBISH, H. W. Aporphine alkaloids and derived compounds. *In: Biochemistry of alkaloids.* Berlin: VCH, 1985. p. 207 - 209.
154. SEIGLER, D. S. Plant systematics and alkaloids. *In: Alkaloids,* Washington, v. 16, p. 29, 35, 1977.
155. SHAMMA, M. The aporphine alkaloids. *Alkaloids.* Washington, v. 9, p. 1 - 39, 1967.
156. SHAMMA, M. *The isoquinoline alkaloids: chemistry and pharmacology.* New York: Academic Press, 1972.
157. SHAMMA, M., CASTENON, R. L. The oxoaporphine alkaloids. *Alkaloids.* Washington, v. 14, p. 226 - 264, 1973.
158. SHOJI, N., UMEYAMA, A., TAKEMOTO, T., OHIZUMI, Y. Serotonergic receptor antagonist from *Nandina domestica* Thunberg. *J. Pharm. Sci.,* Washington, v. 73, n. 4, p. 568 - 570, 1984.

159. SHOJI, N., UMEYAMA, A., SAITO, N., IUCHI, A., TAKEMOTO, T., KAJIWARA, A., OHIZUMI, Y. Asimilobine and lirinidine, serotonergic receptor antagonists from *Nelumbo nucifera*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 50, n. 4, p. 773 - 774, 1987.
160. SLEUMER, H. Vermischte Diagnosen *Notizbl. Bot. Gart. u. Mus. Berlin-Dahlem*, 12 (111): 65 - 70, 1934. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 10, res. 4258, 1936.
161. SMITH, A. C. Studies of South American plants II. New *Loranthaceae* and *Monimiaceae* from the Northern Andes. *Bull. Torrey Bot. Club.* 59 (9): 513 - 524, 1932. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v.8, res. 4409, 1934.
162. SMITH, A. C. Studies of South American plants. IV - New *Monimiaceae*, *Trigonaceae* and *Vacciniaceae*. *Phytologia.* 1 (3): 126 - 132, 1935. *Apud: Biol. Abstr.*, Philadelphia, v. 10, res. 16850, 1936.
163. SMITH, A. C. Studies of south american plants IX. New and noteworthy species from the northern Andes. *Am. J. Bot.*, Burlington, v. 27, n. 7, p. 541 - 547, 1940.
164. SMOLENSKY, S. J., SILINIS, H., FARNSWORTH, N. R. Alkaloids screening VIII. *Lloydia*, Cincinnati, v. 38, n. 6, p. 497 - 528, 1975.
165. STAHL, E. *Thin-layer chromatography*. New York: Springer - Verlag, 1969.
166. STAHL, E. *Analyse chromatographique et microscopique des drogues*. Paris: Technique et Documentation, 1975. p. 236, 238.

167. STANDLEY, P. C. New trees and shrubs from Panama, Colombia, and Ecuador. *Trop. Woods*, New Haven, v. 42, n. 41 - 48, p. 22 - 33, 1936.
168. STEYERMARK, J. A. Contribution to the flora of Venezuela *Field. Botany*, Chicago, v. 28, n. 1, p. 236 - 237, 1951.
169. TOMCZYK, H. KISIEL, W. β -amyryna, fitosterole i glucozyd β -sitosterolu w nasionach *Amsonia angustifolia* Michx. *Herb. Pol.*, Poznań, v. 23, n. 1, p. 25 - 28, 1977.
170. TOMITA, M., KOZUKA, M. Alkaloids of *Asimina triloba* Dunal. *J. Pharm. Soc. Jpn.*, Tokyo, v. 85, n. 1, p. 77 - 82, 1965.
171. VALVERDE, S. S., MACHADO, T. B., LEITÃO, G. G. Alcalóides da madeira de *Siparuna apiosyce*. Parte I. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., Fortaleza, 1994. *Resumos*, Fortaleza, UFC, 1994. res. 246.
172. VALVERDE - SOARES, S. S., MACHADO - BRITO, T. B., LEITÃO, G. G., DELLE MONACHE, F. Alcalóides e flavonóides de *Siparuna apiosyce*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., Florianópolis, 1996. p. 174, res. Q-023.
173. VOGEL, A. I. *Vogel's textbook of practical organic chemistry*. 5. ed. New York: Longman Scientific and Technical, 1994. p. 135 - 138, 240.
174. WAGNER, H., BLADT, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Berlin: Springer-Verlag, 1995.

175. WARTHEN, D., GOODEN, E. L., JACOBSON, M. Tumor inhibitors: liriodenine, a cytotoxic alkaloid from *Annona glabra*. *J. Pharm. Sci.*, Washigton, v. 58, n. 5, p. 637 - 638, 1969.
176. WASICKY, R., AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para extração de óleos essenciais. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo*, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 339 - 405, 1969.
177. WATANABE, H., IKEDA, M., WATANABE, K., KIKUCHI, T. Effects on central dopaminergic systems of d-coclaurine and d-reticuline, extracted from *Magnolia salicifolia*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 42, n. 3, p. 213 - 222, 1981.
178. WILLIS, J. C. A dictionary of the flowering plants and ferns. 8. ed. Cambridge: University Press, 1973.
179. WOODS, G. L., WASHINGTON, J. A. Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. *In*: MURRAY, P. R., ed. *Manual of clinical microbiology*. 6. ed. Washington: ASM, 1995. p. 1327 - 1341.
180. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Quality control methods for medicinal plant materials*. WHO/PHARM/ 92559. p. 25. [fotocópia]
181. WU, Y.- C., DUH, C. - Y., WANG, S. - K., CHEN, K. - S., YANG, T. - H. Two new natural azafluorene alkaloids and a cytotoxic aporphine alkaloid from *Polyalthia longifolia*. *J. Nat. Prod.*, Columbus, v. 53, n. 5, p. 1327 - 1331, 1990.