

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE FITONEMATICIDA E INSETICIDA DE
TIPI (*Petiveria alliaceae*)

JOSÉ NOBERTO SOUSA BEZERRA

FORTALEZA-CEARÁ

2006

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE FITONEMATICIDA E INSETICIDA DE
TIPI (*Petiveria alliacea*)**

JOSÉ NOBERTO SOUSA BEZERRA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA ORGÂNICA COMO REQUISITO PARCIAL PARA A OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE.

ORIENTADOR: PROF. Dr. MANOEL ANDRADE NETO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA**

FORTALEZA-CEARÁ

2006

Ficha catalográfica elaborada pelo Bibliotecário Hamilton Rodrigues Tabosa CRB-3/888

B469c Bezerra, José Noberto Sousa

Composição química, atividade fitonemática e inseticida de *Tipi*:
Petiveria alliacea / José Noberto Sousa Bezerra

112 f. il., color., enc.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

Orientador: Dr. Manoel Andrade Neto

Área de concentração: Química Orgânica e Produtos Naturais

1. Benzaldeído 2. *Meloidogyne incognita* 3. *Bemisia tabaci* I. Andrade
Neto, Manoel II. Universidade Federal do Ceará – Mestrado em Química
Orgânica III. Título

CDD 547

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

José Noberto Sousa Bezerra

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 02/03/2006

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Manoel Andrade Neto
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Edinilza Maria Anastácio Feitosa
Universidade Estadual do Ceará - UECE

Aos meus pais, pelas angústias e preocupações que passaram por minha causa, por terem dedicado suas vidas a mim, pelo amor, carinho e estímulo que me ofereceram, dedico-lhes essa conquista como gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força infinita durante toda a minha vida, ajudando a alcançar os meus objetivos.

Agradeço a ajuda grandiosa de meu orientador, Andrade, pela paciência, amizade e respeito com que sempre me acolheu.

Agradeço a meus professores que sempre souberam me encaminhar nos estudos;

A todos os colegas do Curso Pós-Graduação em Química pelo apoio e estímulo para que eu chegasse até aqui.

Aos funcionário(a)s, Lana, Mundinha, Sr. Paulo, pela a amizade e disposição em colaborar para que eu concluísse este trabalho.

Ao amigo Francisco Sales, funcionário do Horto de Plantas Medicinais, pelo serviço de coleta do tipi, pela paciência, companheirismo e pelos momentos de conversas e descontrações.

Aos amigo(a)s de Laboratório, Nirla Romero, Franciglauber Bezerra, Elton Luz, Antonio Honório e Marília.

Aos amigos e colegas, Francisco Gonçalves, Raimundo Regivaldo, Francisco Antonio Lobato, Marcos Aurélio e Helano Luz, pela realização dos testes de atividade biológica.

A minha mãe, Maria Anézia Sousa Bezerra, pelo apoio, incentivo, carinho e compreensão em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos, Nilberto, Cláudio, Clédio, Nádia, Clésia e Natalice por acreditarem em mim e me apoiarem nesta caminhada.

Ao casal Arão Andrade Filho e Francisca da Silva Andrade, pela amizade fraterna compreensão e paciência, abrigo em sua casa aos fins de semana.

Agradeço pela amizade que tenho encontrado na, Arneide, Norma Graciela, Jonathan e Ana Caroline, pessoas de convívio diário as quais tornam o ambiente alegre e agradável.

Em especial, agradeço a minha esposa Ana Beatriz, a qual se empenhou junto comigo para a conclusão deste trabalho, pois foi compreensiva, amiga e companheira.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Aos órgãos financiadores BNB, CAPES, PRONEX e FUNCAP, pelo suporte financeiro. E ao CNPQ pela bolsa concedida.

Sumário

| | |
|--|----|
| Introdução | 01 |
| Capítulo 01 Levantamento bibliográfico | |
| 1.1 Considerações botânicas..... | 05 |
| 1.2 Levantamento bibliográfico sobre o estudo químico e biológico de <i>P. Alliaceae</i> | 05 |
| Capítulo 02 Estudo dos Constituintes Voláteis | |
| 2.1 Estudo dos constituintes voláteis das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 16 |
| 2.2 Determinação estrutural dos constituintes voláteis das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 22 |
| 2.2.1 Determinação estrutural de PAR-01 | 22 |
| 2.2.2 Determinação estrutural de PAR-02..... | 32 |
| Capítulo 03 Determinação Estrutural | |
| 3.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos não-voláteis das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 38 |
| 3.1.1 Determinação estrutural de PAR-03..... | 38 |
| 3.1.2 Determinação estrutural de PAR-04..... | 47 |
| 3.1.3 Determinação estrutural de PAR-05 | 57 |
| Capítulo 04 Atividade Biológica de <i>P. alliaceae</i> | |
| 4.1 Atividade biológica das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 67 |
| 4.1.1 Mosca branca (<i>Bemisia tabaci</i>) | 67 |
| 4.1.2 Resultados obtidos dos testes de atividade inseticida do óleo essencial das raízes contra a mosca branca <i>Bemisia tabaci</i> | 68 |
| 4.2 Gorgulho-do-feijão de corda <i>Callosobruchus maculatus</i> | 71 |
| 4.2.1 Atividade inseticida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> sobre (<i>Callosobruchus maculatus</i>)..... | 71 |
| 4.3 Nematóides - <i>Meloidogyne incognita</i> | 72 |
| 4.3.1 Testes de atividade nematocida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> sobre <i>M. incognita</i> | 73 |

Capítulo 05 Parte Experimental

| | | |
|---------|---|----|
| 5.1 | Material botânico..... | 77 |
| 5.1.1 | Raízes..... | 77 |
| 5.2 | Método de análise..... | 77 |
| 5.3 | Métodos Espectrométricos..... | 78 |
| 5.3.1 | Espectroscopia na região do infravermelho | 78 |
| 5.3.2 | Espectrometria de massa | 78 |
| 5.3.3 | Espectrometria de ressonância magnética nuclear de Hidrogênio-1 (RMN ¹ H) e Carbono -13 (RMN ¹³ C)..... | 78 |
| 5.4 | Obtenção do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 80 |
| 5.5 | Obtenção dos extratos das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 81 |
| 5.6 | Fracionamento cromatográfico | 83 |
| 5.6.1 | Cromatografia de PARE/H..... | 83 |
| 5.6.2 | Cromatografia de PARE/HF2..... | 84 |
| 5.6.3 | Cromatografia de PARE/HF2.1..... | 85 |
| 5.6.4 | Cromatografia de PAR-OE | 85 |
| 5.6.5 | Cromatografia de PARE/EtOAC..... | 86 |
| 5.6.6 | Cromatografia de PARE/EtOH das raízes de <i>P. Alliaceae</i> | 88 |
| 5.7 | Obtenção de PAR-05..... | 91 |
| 5.8 | Ensaio de atividade inseticida e nematocida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 91 |
| 5.8.1 | Atividade inseticida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> contra <i>B. tabaci</i> biotipo B | 91 |
| 5.8.1.1 | Origem da população de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B (mosca branca) | 91 |
| 5.8.1.2 | Criação massal da mosca branca..... | 92 |
| 5.8.1.3 | Preparação das soluções | 92 |
| 5.8.1.4 | Ensaio de atividade inseticida..... | 92 |

| | | |
|--|---|-----|
| 5.8.2 | Atividade inseticida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> sobre o <i>Callosobruchus maculatus</i> | 93 |
| 5.8.2.1 | Origem dos insetos <i>Callosobruchus maculatus</i> | 93 |
| 5.8.2.2 | Ensaio de atividade inseticida..... | 93 |
| 5.8.3 | Atividade nematicida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> contra <i>M. incognita</i> | 94 |
| 5.8.3.1 | Obtenção de juvenis de <i>M. incognita</i> | 94 |
| CONCLUSÃO | | 95 |
| CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>P. ALLIACEAE</i> | | 97 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | | 104 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Figura 01 | Fotografia de <i>Petiveria alliaceae</i> – Tipi | 06 |
| Figura 02 | Cromatograma do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> coletada no Horto de Plantas Medicinais, no Campus do Pici | 18 |
| Figura 03 | Cromatograma do óleo essencial das raízes coletadas no Horto de Plantas Medicinais, Campus do Pici, 30 dias após a extração | 18 |
| Figura 04 | Cromatograma do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> coletada em Canafístula..... | 19 |
| Figura 05 | Espectro de massa do benzaldeído | 21 |
| Figura 06 | Espectro de massa do cinamaldeído | 21 |
| Figura 07 | Espectro de massa do trans-estilbeno | 21 |
| Figura 08 | Espectro de massa do dissulfeto dibenzila..... | 21 |
| Figura 09 | Espectro de absorção na região do infravermelho (filme) de PAR-01 | 26 |
| Figura 10 | Espectro de RMN ^{13}C -BB [125 MHz, CDCl_3] de PAR-01 | 26 |
| Figura 11 | Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° [125 MHz, CDCl_3] de PAR-01 | 26 |
| Figura 12 | Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CDCl_3] de PAR-01 | 27 |
| Figura 13 | Espectro RMN ^1H expandido na região de aromático [500 MHz, CDCl_3] de PAR-01 | 27 |
| Figura 14 | Espectro bidimensional de correlação homonuclear ^1H x ^1H -COSY [500 MHz, CDCl_3] de PAR-01..... | 28 |
| Figura 15 | Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC [500 e 125 MHz, CDCl_3] de PAR-01 | 29 |
| Figura 16 | Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC [500 e 125 MHz, CDCl_3] de PAR-01 | 30 |
| Figura 17 | Espectro de massa obtido por impacto eletrônico (70 eV) de PAR-01..... | 31 |
| Figura 18 | Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CDCl_3] de PAR-02 | 34 |
| Figura 19 | Espectro de expansão de RMN ^1H em 7,8 a 6,8 ppm, [500 MHz, (CDCl_3)] de PAR-02 | 34 |
| Figura 20 | Espectro de RMN ^{13}C - BB [125 MHz, CDCl_3] de PAR-02 | 35 |
| Figura 21 | Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° [125 MHz, CDCl_3] de PAR-02 | 35 |
| Figura 22 | Espectro de massa obtido por impacto eletrônico (70 eV) de PAR-02..... | 36 |
| Figura 23 | Espectro de absorção na região do infravermelho (filme) de PAR-03 | 40 |
| Figura 24 | Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CHCl_3] de PAR-03 | 41 |

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 25 | Espectro de RMN ^{13}C BB [500 MHz, CHCl_3] de PAR-03 | 42 |
| Figura 26 | Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° [500MHz, CHCl_3] de PAR-03..... | 43 |
| Figura 27 | Espectro de massa obtido por impacto eletrônico (70 eV) de PAR-03..... | 43 |
| Figura 28 | Espectro bidimensional COSY [500 MHz, CHCl_3] de PAR-03..... | 44 |
| Figura 29 | Espectro bidimensional de HMQC na região de aromático [500 MHz, CHCl_3], de PAR-03..... | 45 |
| Figura 30 | Espectro bidimensional HMBC [500 e 125, MHz, D_2O] de PAR-04..... | 46 |
| Figura 31 | Espectro de absorção na região de infravermelho (Pastilha de KBr) de PAR-04..... | 50 |
| Figura 32 | Espectro de RMN ^1H [500 MHz, DMSO) de PAR-04 | 51 |
| Figura 33 | Espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, DMSO) de PAR-04 | 52 |
| Figura 34 | Espectro RMN ^{13}C DEPT 135° [125 MHz, DMSO) de PAR-04 | 53 |
| Figura 35 | Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY [500MHz, DMSO) de PAR-04 | 54 |
| Figura 36 | Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC [500, 125 MHz, DMSO] de PAR-04 | 55 |
| Figura 37 | Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC [500 e 125 MHz, DMSO] de PAR-04..... | 56 |
| Figura 38 | Espectro de RMN ^1H [500 MHz, D_2O] de PAR-05 | 60 |
| Figura 39 | Espectro de expansão de RMN ^1H [500 MHz, D_2O] de PAR-05..... | 61 |
| Figura 40 | Espectro de RMN ^{13}C BB [MHz, D_2O] de PAR-05 | 62 |
| Figura 41 | Espectro de COSY [500 MHz, D_2O] de PAR-05..... | 63 |
| Figura 42 | Espectro de correlação heteronuclear de HMQC [500, 125 MHz, D_2O] de PAR-05 | 64 |
| Figura 43 | Espectro de HMBC [500, 125 MHz, D_2O] de PAR-05 | 65 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabela 1 | Estudo químico e biológico dos compostos isolados de <i>P. alliaceae</i> | 09 |
| Tabela 2 | Composição química do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 20 |
| Tabela 3 | Dados comparativos de RMN ¹³ C e ¹ H (125 e 500MHz, CDCl ₃). de PAR-01 com os dados literatura..... | 23 |
| Tabela 4 | Dados de RMN bidimensional (HMQC e HMBC) de PAR-01, | 24 |
| Tabela 5 | Dados comparativos de RMN ¹³ C de PAR-02 com os dados da literatura. | 33 |
| Tabela 6 | Dados referentes aos deslocamentos químicos de carbono de PAR-03 comparados com os da literatura | 39 |
| Tabela 7 | Dados comparados de RMN ¹³ C e ¹ H de PAR-04 com os dados encontrados na literatura | 48 |
| Tabela 8 | Dados de RMN bidimensional (HMQC e HMBC) de PAR-04 | 49 |
| Tabela 9 | Dados de RMN bidimensional (HMQC e HMBC) de PAR-05 | 58 |
| Tabela 10 | Dados comparados de RMN ¹³ C de PAR-04 com os dados encontrados na literatura..... | 59 |
| Tabela 11 | Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> sobre adultos de <i>Bemisia tabaci</i> , | 68 |
| Tabela 12 | Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> sobre o número de ovos postos de <i>Bemisia tabaci</i> , | 69 |
| Tabela 13 | Avaliação da atividade inseticida do benzaldeído sobre adultos de <i>Bemisia tabaci</i> , biótipo B..... | 69 |
| Tabela 14 | Avaliação da atividade inseticida do benzaldeído sobre o número de ovos postos de <i>B. tabaci</i> , biótipo B..... | 60 |
| Tabela 15 | Número de insetos mortos 24h após aplicação do óleo essencial das raízes da <i>P. alliaceae</i> | 72 |
| Tabela 16 | Avaliação da atividade nematicida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> coletado no Horto de Plantas Medicinai..... | 74 |
| Tabela 17 | Teste de atividade nematicida do óleo essencial das raízes de <i>P. alliaceae</i> , 30 dias após a extração. | 74 |
| Tabela 18 | Atividade nematicida dos constituintes isolados do óleo essencial do tipo na concentração de 0,5 g/L..... | 75 |
| Tabela 19 | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de PARE/H..... | 79 |

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabela 20 | Junção das frações da coluna de PARE/H que apresentaram Rfs semelhantes | 80 |
| Tabela 21 | Dados referente ao tratamento cromatográfico da fração PARE/HF2 | 80 |
| Tabela 22 | Junção das frações segundo a semelhança dos seus Rfs..... | 81 |
| Tabela 23 | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de PAR-OE..... | 86 |
| Tabela 24 | Junção das frações da coluna de PAR-OE que apresentaram Rfs semelhantes | 86 |
| Tabela 25 | Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de PARE/EtOAc | 87 |
| Tabela 26 | Dados referentes a junção das frações de PARE/ EtOAc | 88 |
| Tabela 27 | Tratamento cromatográfico de 3,2g do extrato etanólico (PARE/EtOH)... | 89 |
| Tabela 28 | Dados referente a junção das frações do (PARE/EtOH) | 90 |

LISTA DE FLUXOGRAMA

| | | |
|----------------------|---|----|
| FLUXOGRAMA 01 | - Obtenção dos constituintes voláteis das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 80 |
| FLUXOGRAMA 02 | - Obtenção dos extratos das raízes de <i>P. alliaceae</i> | 82 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|---------------------|--|
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| COSY | ^1H , ^1H Correlation Spectroscopy |
| DEPT | Distortionless Enhancement by Polarization Transfer |
| EM | Espectro de Massa |
| IE | Impacto Eletrônico |
| HMBC | Heteronuclear Multiple Bond Correlation |
| HMQC | Heteronuclear Multiple Quantun Correlation |
| P. F. | Ponto de Fusão |
| RMN ^1H | Ressonância Magnética Nuclear de prótio |
| RMN ^{13}C | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 |
| IV | Infravermelho |
| δ | Deslocamento Químico |
| BOD | Demanda Bioquímica de Oxigênio |
| CCDP | Cromatografia em Camada Delgada Preparativa |

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo dos componentes voláteis e não voláteis das raízes de *Petiveria alliaceae*, incluindo as atividades nematicida e inseticida do óleo essencial.

Para o estudo químico, fitonematicida e inseticida utilizou-se as raízes da planta, das quais foram obtidos o óleo essencial e os constituintes não-voláteis.

Do óleo essencial das raízes foram identificados os seguintes componentes: benzaldeído (61,5%) (constituente majoritário) dissulfeto de dibenzila (18,1%), *trans*-estilbeno (14,1%) e cinamaldeído (6,3%), sendo que esses dois últimos compostos também foram isolados através de cromatografia em camada delgada preparativa e identificados por RMN ^1H e ^{13}C .

O tratamento cromatográfico dos extratos etanólico, acetato de etila e hexânico permitiu o isolamento de uma mistura de duas mercaptanas, dissulfeto de dibenzila e o trissulfeto de dibenzila, dissulfeto de dibenzila, uma alantoina e a sacarose, que pela primeira vez foram isoladas das raízes de *Petiveria alliaceae*. As mercaptanas isoladas são conhecidas na literatura por suas atividades fungicidas e nematicida.

O óleo essencial extraído das raízes de *P. alliaceae* e seus constituintes foram submetidos aos ensaios de atividades nematicida contra larvas de *Meloidogyne incognita* (nematóide de galhas) e inseticida contra a Mosca branca (*Bemisia tabaci*) inseto do feijão (*Callosobruchus maculatus*). Os óleos essenciais obtidos de *P. alliaceae* coletadas nas duas localidades diferentes apresentaram significantes atividades inseticida e nematicida.

Os constituintes isolados tiveram suas estruturas elucidadas através de métodos espectrométricos de IV, EM, RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (COSY, HMQC e HMBC).

ABSTRACT

This work describes the study of the volatile and the non-volatile components from the roots of *Petiveria alliaceae*, including the nematicidal and insecticidal activities of the essential oil.

The following components were identified in the essential oil: benzaldehyde as the major constituent (61, 5 %), cinnamaldehyde (6, 3%), dibenzyl disulphide (18, 1%), trans-stilbene (14, 1%). The two last compounds were also isolated through a chromatography in a preparative thin layer identified by RMN ^1H and ^{13}C .

The isolation of a mixture of two mercaptans, benzyl disulphide and dibenzyl trisulphide, saccharose and allantoin, which were isolated for the first time from the *Petiveria alliaceae*, was permitted by the chromatographic treatment of the ethyl acetate, hexane, and ethanolic extracts. The isolated mercaptans are known in literature for their fungicide and insecticide activities.

The constituents of the essential oil, extracted from the roots of *Petiveria alliaceae*, were submitted to the nematicidal activities against *Meloidogyne incognita* larva, insecticide against white fly (*Bemisa tabaci*) and insect of the beans (*Callosobruchus maculatos*). Significant insecticidal and nematicidal activities were present in the essential oil from the *P. alliaceae*, collected in two different localities.

The isolated constituents had their structure elucidated through spectrometric methods of IV, EM, RMN ^1H and ^{13}C uni and bi-dimensional (COSY, HMQC and HMBC)

Introdução



INTRODUÇÃO

Petiveria alliacea (Fitolacaceae), conhecida popularmente por: tipi, erva de guiné, pipi, dentre outros, é originária da África e foi trazida para o Brasil pelos escravos. É bastante utilizada na medicina popular, essa planta habita locais úmidos e sombrios e apresenta odor característico de alho. Esta espécie tem sido amplamente utilizada nas práticas medicinais caseiras, sendo recomendado o uso externo contra afecções bucais e infecções da garganta na forma de chá por infusão. É também utilizada em aplicação tópica localizada no combate a contusões, traumatismo, dores lombares, reumáticas e de cabeça [LORENZI, 2002].

Este trabalho relata o estudo da composição química do óleo essencial e dos extratos: etanólico, acetato de etila e hexânico das raízes de *Petiveria alliacea*. Relata também a atividade inseticida do óleo essencial e de alguns constituintes isolados contra *Bemisia tabaci* e *Callosobruchus maculatus*, além da atividade nematicida contra larvas de *Meloidogyne incognita*. Os espécimes estudados foram coletados no Horto de Plantas Medicinais Francisco José de Abreu Matos no Campus do Pici, na localidade de Canafístula, distrito de Apuiarés-CE e na Serra de Maranguape-CE.

A planta foi coletada em localidades diferentes, Maranguape (Serra), Canafístula (sertão) e no Horto de Plantas Medicinais Dr. Francisco José de Abreu Matos no Campus do Pici (planta cultivada).

Para a obtenção do óleo essencial das raízes de *P. alliacea* foi utilizada a técnica de hidrodestilação. Foi realizado o estudo comparativo dos óleos essenciais das raízes coletadas na localidade de Canafístula e no Horto de Plantas Medicinais, do tipi coletado em Maranguape não foi possível obter os constituintes voláteis, pois, a quantidade de raízes foi pequena, foi realizado apenas o estudo dos constituintes fixos.

O extrato volátil obtido das plantas coletadas no Horto de Plantas Medicinais foi detectado quatro compostos, no óleo essencial dos espécimens coletados na comunidade de Canafístula apresentaram sete compostos.

A investigação dos constituintes não-voláteis foi feita a partir dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólicos.

O tratamento cromatográfico do extrato hexânico resultou no isolamento de uma substância, a qual havia sido isolada no óleo essencial das raízes do tipi, que foi denominada PAR-01. Esta foi identificada, através de análise espectroscópica e consulta à literatura (BENEVIDES et al, 2001), como dissulfeto de dibenzila [4].

Com o tratamento cromatográfico do extrato acetato de etila foi possível isolar uma substância que, após análises espectrométricas e consulta à literatura [BENEVIDES et al, 2001], foi identificada como uma mistura de duas mercaptanas, o dissulfeto de dibenzila e trissulfeto de dibenzila [5].

Através do tratamento cromatográfico do extrato etanólico, inclusive por exclusão molecular LH-20, foram obtidas duas substâncias: um sólido solúvel em dimetil sulfoxido (DMSO) denominado PAR-04 que foi identificado por espectrometrias de RMN ^1H , ^{13}C e I.V. e por consulta à literatura [FERREIRA et al., 2000] e um composto denominado PAR-05, que foi identificado como sacarose (BEHNKE, 1993). Os compostos isolados e identificados são mostrados no quadro 01, pag. 4.

O óleo essencial foi submetido a ensaios de atividades, nematocida contra larvas de “*Meloidogyne incognita*” microrganismo que ataca as raízes das plantas e inseticida contra *Bemisia tabaci*, mosca branca, inseto que ataca várias culturas inclusive a folha do meloeiro, *Callosobruchus maculatus*, gorgulho do feijão-de-corda, inseto que danifica a semente do feijão, mostrando-se significativamente ativo em ambos os ensaios.

A composição química do óleo essencial apresentou quatro constituintes, dois dos quais foram identificados com auxílio da literatura como sendo o benzaldeído e o cinamalaldeído. A determinação dos outros dois compostos foi realizada através do isolamento por cromatografia e identificados por RMN e comparação à literatura. Todos os compostos identificados foram submetidos a ensaios de atividade nematocida.

Para o gorgulho do feijão-de-corda analisou-se a atividade inseticida do óleo em insetos adultos de no máximo 24 horas de idade, apresentando atividade bastante promissora.

Este trabalho encontra-se dividido em cinco capítulos como mostrado a seguir:

O capítulo 01 está constituído de levantamento bibliográfico dos estudos químicos e biológicos e uma breve consideração botânica;

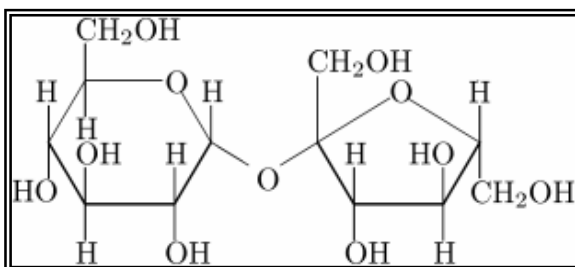
O capítulo 02 apresenta o estudo da composição química e identificação dos constituintes voláteis das raízes de *P. alliaceae*;

O capítulo 03 discorre sobre a determinação estrutural dos compostos isolados dos extratos acetato de etila e etanólico das raízes de *P. alliaceae*;

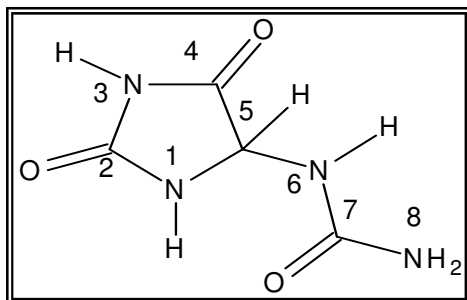
O capítulo 04 reúne todos os resultados obtidos sobre atividade inseticida e nematocida do óleo essencial e de seus constituintes;

O capítulo 05 descreve o procedimento experimental e as técnicas utilizadas para isolamento, identificação, realização dos testes de atividades inseticida e nematocida;

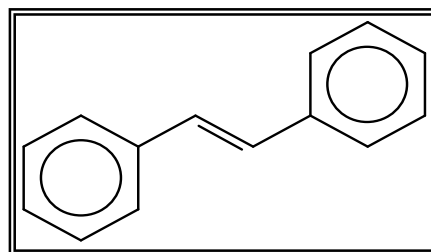
Quadro 01 - Substâncias isoladas das raízes de *Petiveria alliacea* neste trabalho.



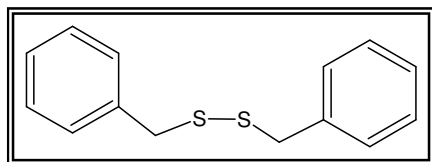
β -D-Frutofuranosil α -D-glucopiranosideo [β -D-Fruf-(2 \leftrightarrow 1)- α -D-Glcp] – [01]



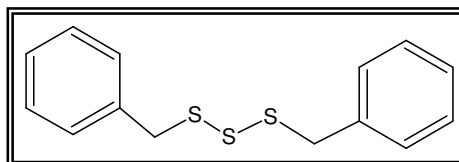
2,5-dioxo-4-(imidazolidinil)-urée [02]



Trans-1,2-difenileno [03]



Dissulfeto de dibenzila [04]



Trissulfeto de dibenzila [05]



Capítulo 01

Levantamento Bibliográfico

1.1 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

A família Fitolacaceae consta de 17 gêneros e 80 espécies distribuídas predominantemente pela América do Sul, com algumas espécies distribuídas pela Austrália, África e Havaí. No Brasil ocorrem 9 gêneros, 5 dos quais estão representados na região Amazônica. [READER, 1961]. *Petiveria alliacea* é conhecida popularmente por: guiné, erva-de-guiné, tipi, erva-de-tipi, erva-de-pipi, pipi, tipi-verdadeiro, amansa-senhor, raiz de congonha, raiz-do-congo e mucuracaá.



Figura 01: fotografia do Tipi
Fonte: internet

De acordo com LORENZI [2002],

Petiveria alliacea é uma herbácea ereta, perene, rizomatosa, toda a planta especialmente a raiz cheira a alho, com aproximadamente 70cm de altura. Ramos delgados, compridos, quase eretos ou ascendentes. Folhas curtamente pecioladas, alternas, membranosas, inteiras elípticas, oblongas ou obovais, agudas ou compridas no ápice, estritamente na base, escassamente pubescentes ou glabras, de 3-12 cm de comprimento por 2,5-5 cm. de largura, atenuada na extremidade livre, lisa e flores discretas, dispostas em longas inflorescências racemosas. Possui hábito persistente em algumas regiões, se tornado difícil de ser erradicada. O fruto é uma cápsula pequena cuneiforme e dotada de espinhos que lhe servem de meio de disseminação por se prenderem em animais e roupas de transeuntes.

1.2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO SOBRE O ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *P. ALLIACEAE*.

Através do levantamento bibliográfico a respeito da espécie *Petiveria alliacea*, verificou-se que têm sido isolados vários compostos pertencentes a diversas classes; a parte aérea mostrou-se rica em flavonóides [MONACHE et al., 1992] e as raízes demonstram ter grandes quantidades de mercaptanas [BENVIDES et al., 2001]. Com base nos relatos da literatura, observou-se que a parte da planta que apresenta maior atividade biológica são as raízes.

Dentre as várias espécies de *Petiveria*, a *P. alliacea*, conhecida popularmente por tipi, é a que tem despertado maior interesse fitoquímico por seu uso na medicina popular como anti-reumática, anti-espasmódica, sudorífera e diurética [LORENZI, 2002]. O extrato alcoólico das raízes (frações metanólica e butanólica) e o extrato hidroetanólico apresentaram atividade anticâncer quando testados em ratos. Vale ressaltar que o extrato hidroetanólico apresentou-se duas vezes mais potente, nesse tipo de doença, do que as outras duas frações [MALPEZZI et al., 1994]. O extrato das raízes do tipi mostrou decréscimo da ação do sistema nervoso central e o extrato das folhas apresentou hiperexcitabilidade [CIFUENTES et al., 2001]. O extrato metanólico apresentou atividade citotóxica em células cancerígenas hepatocelular [RUFFA et al., 2002].

Dentre as plantas utilizadas na medicina popular da Guatemala no tratamento de infecção causada por protozoário, *Petiveria alliacea* é bastante empregada na forma de extrato, sendo que o extrato hexânico das raízes apresenta atividade contra *Trypanosoma cruzi* [BERGER et al., 1998]. O extrato metanólico das sementes desta planta causa aumento da frequência e amplitude das contrações uterinas [OLUWOLE et al., 2000]. De acordo com Oliveira et al., [2004] os extratos hidroalcoólico, acetato de etila e hexânico das raízes do tipi revelaram atividade analgésica quando testado em camundongo. Suas raízes demonstraram ação analgésica e antiinflamatória na forma de extrato, testado em camundongo [LOPES-MARTINS et al., 2002].

Os extratos acetato de etila e diclorometano apresentaram-se ativos contra o vírus que causa doença no gado [RUFFA et al., 2002]. O trissulfeto de dibenzila, composto isolado das raízes do tipi, apresentou atividade inseticida contra *Cylas formicarius elegantulus*, inseto que ataca a batata doce; *Cylas formicarius* e *Hipotenemus hampei*, insetos conhecidos como broca do café e *Boophilus micropulus*, acaro que ataca o gado [JOHNSON et al., 1997].

Segundo PONTE et al., [1996] as raízes do tipi na forma de chá apresentaram acentuado potencial nematicida contra *Meloidigyne incognita*. O anidrido sulfônico, composto sintético derivado do trissulfeto de dibenzila que foi isolado das raízes do tipi, apresentou atividade anti-microbiana em *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*. O anidrido mostrou-se mais potente do que os agentes antimicrobianos comerciais e o seu precursor, trissulfeto de dibenzila [WILLIAMS et al., 2003].

Estudos dos constituintes voláteis das raízes da *P. alliaceae* descritos na literatura revelam que 13 compostos foram identificados, correspondendo a 97% dos constituintes presentes, tendo o benzaldeído aparecido como composto majoritário (48,3%) [AYEDUON et al., 1998]. Nos constituintes voláteis das inflorescências da mesma espécie foram identificados apenas 3 compostos, correspondendo a 93,1% dos constituintes presentes no óleo; novamente, o benzaldeído foi o constituinte majoritário (54,8%) [ZOGHBI et al., 2002].

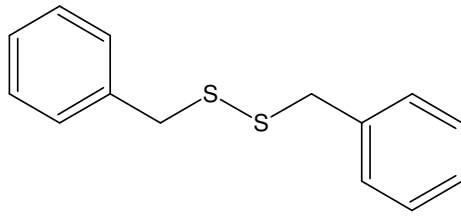
Os estudos dos constituintes isolados descritos na literatura destacam-se as mercaptanas e os tioaminiácidos (Tabela 01, pag. 9). O estudo fitoquímico das raízes de *P. alliaceae* descrito na literatura relata o isolamento de sete mercaptanas com atividade fungicida e o trissulfeto de dibenzila apresentou atividades inseticida, acaricida, neurotóxica e citostática [JOHNSON et al., 1997, DE SOUSA et al., 1990 e BENEVIDES et al., 2001].

Tabela 01 – Estudo químico e biológico dos compostos isolados de *P. alliaceae*

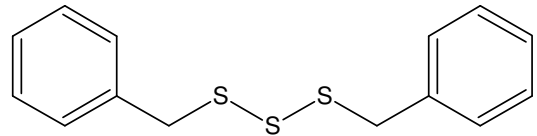
| Nº | SUBSTÂNCIA | ATIVIDADE | PARTE DA PLANTA | REFERENCIAS |
|-----------|---|---|------------------------|------------------------|
| 03 | Dissulfeto de dibenzila | Fungicida | Raiz | BENVIDES et al 2001 |
| 04 | Trissulfeto de dibenzila | Fungicida, Acaricida Inseticida, Citotóxica Neurotoxica, imunomodulatória | Raiz | BENVIDES et al 2001 |
| 05 | Dissulfeto de dipropila | Fungicida | Raiz | BENVIDES et al 2001 |
| 06 | Sulfeto de dibenzila | Fungicida | Raiz | BENVIDES et al 2001 |
| 07 | Tetrassulfeto de dibenzila | Fungicida | “ | “ |
| 08 | Sulfeto de benzilhidroximetila | Fungicida | “ | “ |
| 09 | Di (benziltrítio] metano | Fungicida | “ | “ |
| 10 | (RcRs)- <i>S</i> -sulfoxido- <i>S</i> -benzil - <i>L</i> -cisteina | - | “ | KUBEC et al, 2001 |
| 11 | (RcSs)- <i>S</i> -sulfoxido- <i>S</i> -benzil - <i>L</i> -cisteina | - | “ | KUBEC et al, 2001 |

| | | | | |
|-----------|---|---|-------|----------------------|
| 12 | <i>N</i> -metil-metoxi-prolina | - | Raiz | DE SOUSA et al, 1990 |
| 13 | 6-formil-8-metil-7-O-metilpinocembrin | | Folha | BENVIDES et al, 2001 |
| 14 | 6-hidroximetil-8-metil-O-7-metilpinocembrin | - | Folha | “ |
| 15 | 6-hidroximetil-8-metil-O-5,7-metilpinocebrin | | Folha | MONACHE et al, 1990 |
| 16 | 7-dimetileridal | | “ | “ |
| 17 | Chalcona-leridal | | “ | “ |
| 18 | 4-etilpetiveral | | “ | “ |
| 19 | Petiveral | - | Raiz | “ |
| 20 | Acido Barbinevic | | Folha | MONACHE et al, 1990 |
| 21 | 3-epiilexgenina A | | Folha | MONACHE et al, 1992 |
| 22 | Cis-3,5-difenil-1,2,4-tritriolan | | “ | “ |
| 23 | (Sc ₂ Rc ₇ Rs)- γ -glutamil-S-benzilcisteina sulfòxido | | Raiz | KUBEC et al, 2005 |

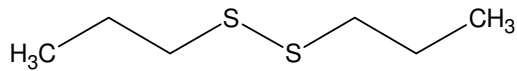
| | | | | |
|-----------|---|-----------|--------------------------------------|----------------------|
| 24 | (Sc ₂ Rc ₇ Ss)- γ -glutamil-S-benzilcisteina sulfóxido | | Raiz | KUBEC et al, 2005 |
| 25 | (RsRc)-S-(2-hidroxietyl)cisteina sulfoxido | | Raiz | “ |
| 26 | (R)-S-(2-hidroxietyl)cisteina | | Raiz | “ |
| 27 | (SsRc)-S-(2-hidroxietyl)cisteina sulfoxido | | Raiz | “ |
| 28 | Benziltritiohidroxietano | | | “ |
| 29 | (Sc ₂ Rc ₇)- γ -glutamil-S-benzilcisteina | | Raiz | “ |
| 30 | anidrido sulfônico | fungicida | Derivado do trissulfeto de dibenzila | William, et al. 2003 |



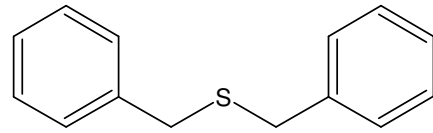
(03)



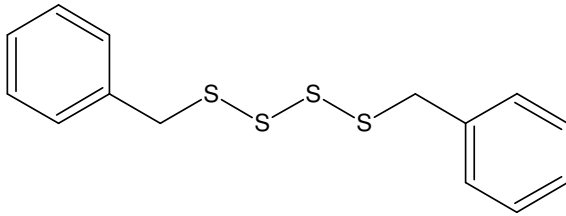
(04)



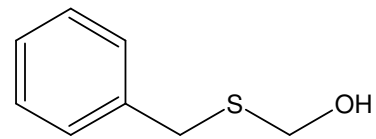
(05)



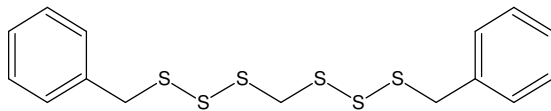
(06)



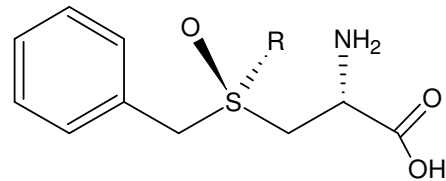
(07)



(08)

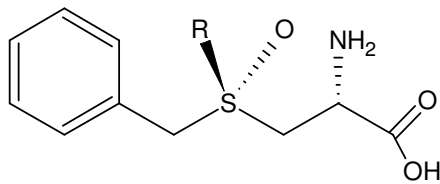


(09)



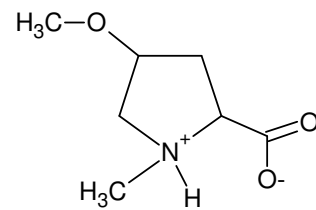
(10)

R=:

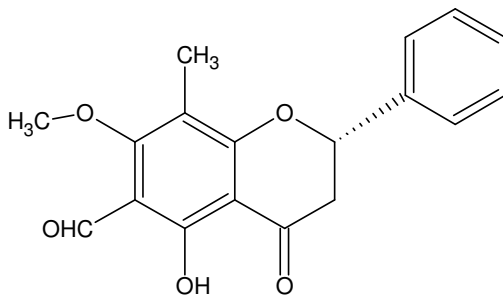


R=:

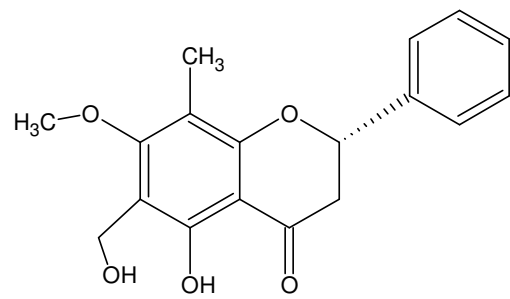
(11)



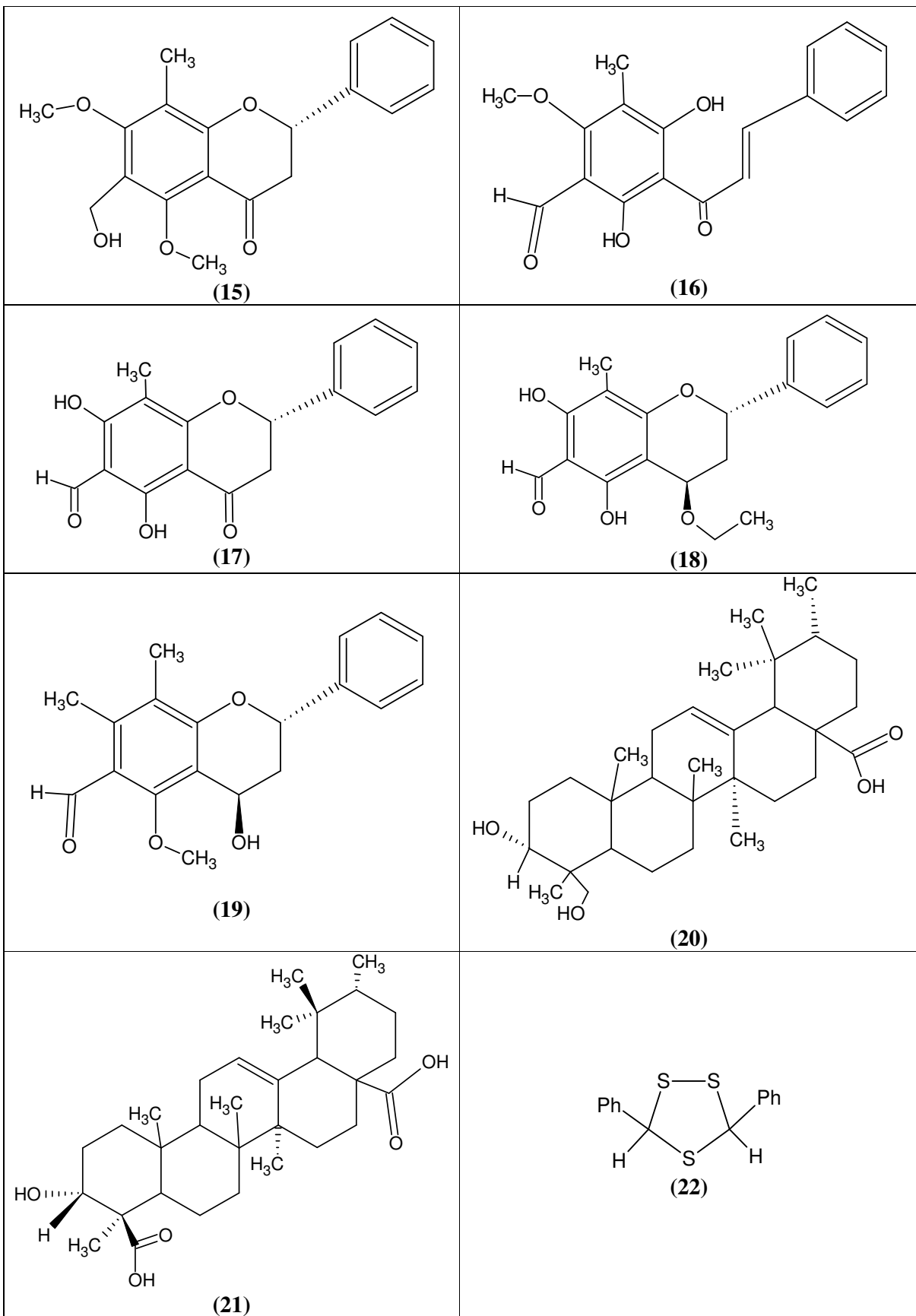
(12)

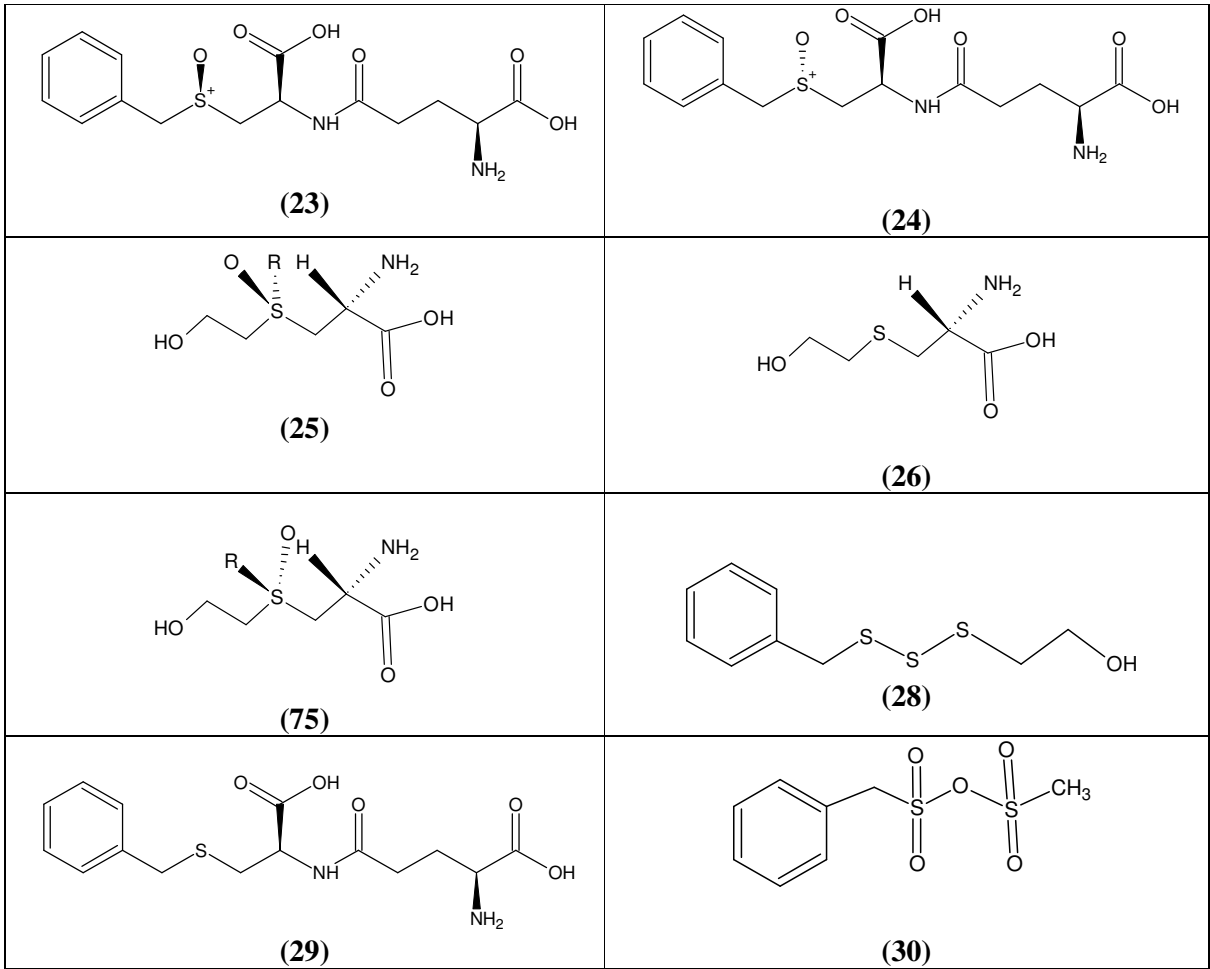


(13)



(14)







Capítulo 02

Estudo dos Constituintes Voláteis

2.1 ESTUDO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS RAÍZES DE *P. alliaceae*

Os óleos essenciais são produtos vegetais armazenados em órgãos especiais de excreção; estes são responsáveis pelo aroma de diversas plantas. São formados por misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e geralmente, líquidas. [SIMÕES, 1999]

Os constituintes voláteis são de grande importância na função biológica da planta, podendo atuar como proteção contra predadores, proteger contra perda de água, atuar como inibidores de germinação e atração de polinizadores. Os constituintes voláteis têm sido de grande importância nas indústrias, utilizados como flavorizantes, repelentes, conservantes e antioxidantes [SIMÕES, 1999].

Os constituintes de óleos essenciais estão envolvidos em todos os aspectos da interação planta-micróbio, planta-planta, planta-animal. Em se tratando da relação planta-micróbio, quando infestada por microorganismos, ou seja, induzida pelo estímulo de um fluxo de um arsenal químico estranho, a planta tóxica produz fitoalexinas, numa tentativa de conter o patógeno. Os óleos essenciais contêm um enorme número de substâncias cuja bioatividade apenas recentemente começou a ser descrita. A intensificação do estudo biológico dos constituintes dos óleos resultará na descoberta de produtos que poderão ser usados no controle de pragas e doenças, substituindo defensivos agrícolas convencionais que têm causado grandes problemas ao homem e a natureza, dos quais o Brasil é o 3º consumidor mundial [GONÇALVES, 2003].

O óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* foi extraído por hidrodestilação (Item 5.4, pag. 76), as quais foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais no campus do Pici e na comunidade de Canafístula-Apuiarés-CE; obteve-se rendimento de 0,04%.

A análise da composição química do óleo foi realizada através de cromatografia gás-líquido acoplada à espectrometria de massa (CGL/EM). No óleo, foram identificados quatro compostos através de comparação visual dos respectivos espectros de massa com os da literatura [ADAMS, 2001], comparação em espectroteca e análise do tempo de retenção. O dissulfeto de dibenzila e o *trans*-estilbeno só foram identificados após o isolamento por cromatografia e determinação estrutural realizada por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 e Carbono-13 (RMN ¹H e ¹³C). Dentre os compostos identificados do óleo, o benzaldeído apresentou-se como constituinte majoritário (61,5%) [Fig. 05, pag. 18]. Os demais compostos foram: *trans*-estilbeno (18,1%) [Fig. 07, pag. 18], dissulfeto de dibenzila (14,1%),

[Fig. 08, pag. 18] e o cinamaldeído (6,3%) [Fig. 06, pag. 18], totalizando 100% dos picos apresentados no cromatograma do óleo analisado [Fig. 02, pag. 15].

Após análise, o óleo foi armazenado a baixa temperatura e submetido à nova análise por CG/EM após 30 dias. Através do cromatograma do óleo analisado obtiveram-se apenas dois picos [Fig. 03, pag. 15], concluindo-se que sua composição química havia sido alterada, pois estavam presentes apenas dissulfeto de dibenzila (73,7%) e o *trans*-estilbeno (26,3%), estando ausentes o benzaldeído e cinamaldeído.

Foi também realizada a extração do óleo essencial das raízes da planta coletada em Canafístula. Utilizando o mesmo processo, o óleo foi analisado e armazenado. Neste óleo foram observados sete compostos em sua composição química [Fig. 04, pag.16], dos quais três foram identificados como: benzaldeído (53,8%), dissulfeto de dibenzila (29,7%) e *trans*-estilbeno (13,3%), correspondendo a 96,8% dos constituintes presentes no óleo.

Dados da literatura revelaram que o óleo essencial das raízes do tipi coletada no Canadá apresentou 13 compostos, sendo o benzaldeído o constituinte majoritário (48,3%) [AYDEDOUN et al., 1998]. Na parte aérea foram identificados 3 compostos (93,1%), sendo que o mais abundante foi o mesmo das raízes [ZOGHBI et al., 2002]. O estudo da composição química dos constituintes voláteis das raízes do tipi, coletadas em locais diferentes, e de todas as partes da planta, mostrou que o benzaldeído é o composto majoritário. Dentre os constituintes voláteis das raízes, verificou-se que a composição química apresenta variação no número de compostos e na quantidade do constituinte majoritário (Tabela 02, pag.17).

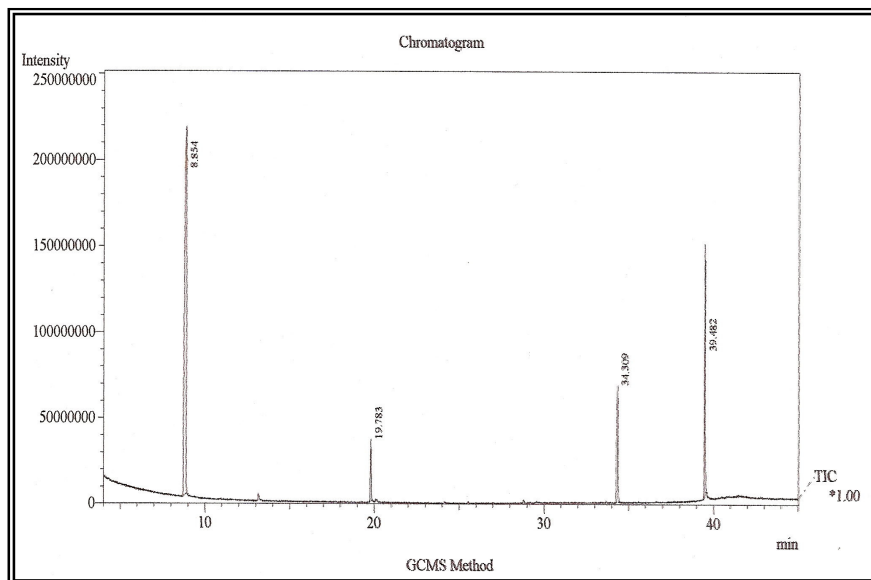


Figura 02: Cromatograma do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* coletada no Horto de Plantas Medicinais no Campus do Pici

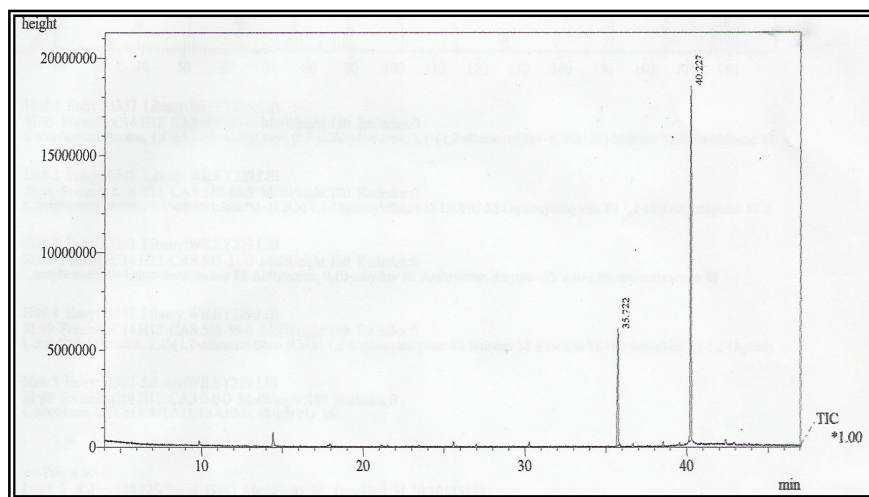


Figura 03: Cromatograma do óleo essencial das raízes coletada no Horto de Plantas Medicinais Campus do Pici 30 dias após a extração.

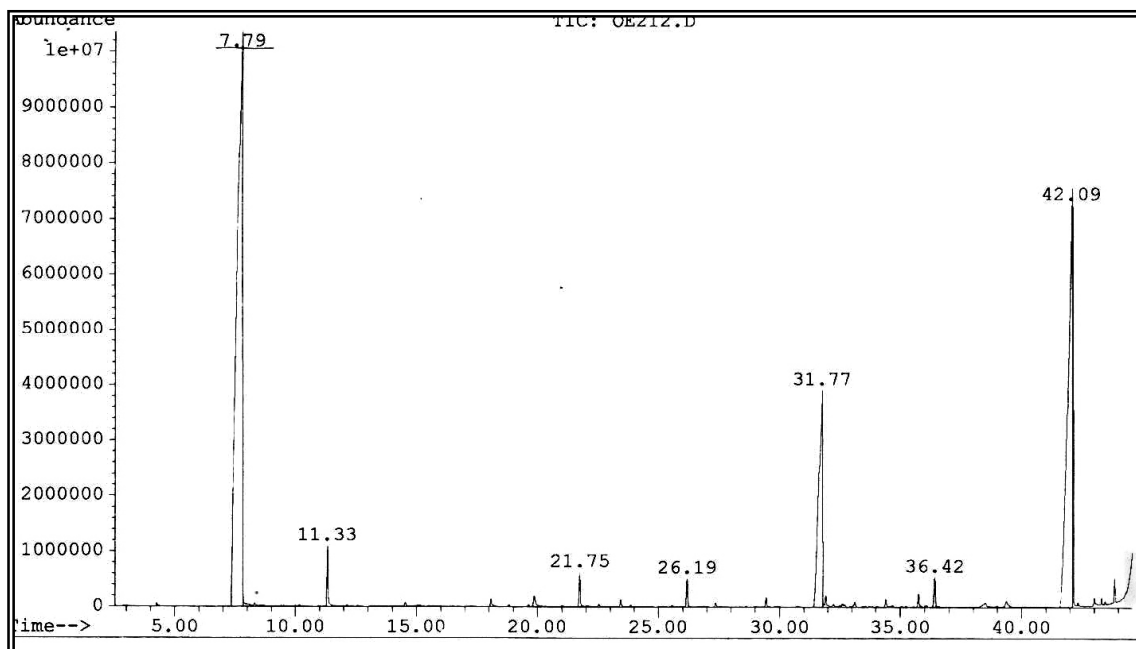


Figura 04: Cromatograma do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* coletada em Canafístula.

Tabela 02 – Composição química do óleo essencial de *Petiveria alliacea*

| Nº | SUBSTÂNCIAS | %PAR-OE CANAFÍSTULA | I.K | %PAR-OE HORTO | T. R. | %PAR-OE [AYDEDON <i>et al</i> , 1998] | %PAINF-OE [ZOGHBI <i>et al</i> 2002]. |
|----|--------------------------------|------------------------|------|------------------|-------|---|---|
| 01 | benzaldeido | 53,8 | 969 | 61,4 | 8.85 | 48,3 | 54,8 |
| 02 | cinamaldeido | | | 6,3 | 19.78 | - | - |
| 03 | <i>trans</i> -estilbeno | 13,3 | 1677 | 14,0 | 34.31 | 6,8 | - |
| 04 | dissulfeto de dibenzila | 29,7 | 1981 | 18,3 | 39.48 | 23,3 | - |
| 05 | álcool benzílico | | | | | 2,5 | - |
| 06 | <i>p</i> -cresol | | | | | 0,4 | - |
| 07 | borneol | | | | | 0,4 | - |
| 08 | geraniol | | | | | 0,3 | - |
| 09 | acetate de geranila | | | | | 0,2 | |
| 10 | 2,5-dimetoxi- <i>p</i> -cimeno | | | | | 2,0 | |
| 11 | <i>cis</i> -estilbeno | | | | | 1,3 | |
| 12 | benzoate de dibenzoíla | | | | | 0,6 | |
| 13 | trissulfeto de dibenzila | | | | | 9,4 | 18,0 |
| 14 | feniltiol | | | | | - | 20,3 |
| 15 | fitol | | | | | 1,5 | |
| | TOTAL | 96,8 | | 100 | | 97,4 | 93,1 |

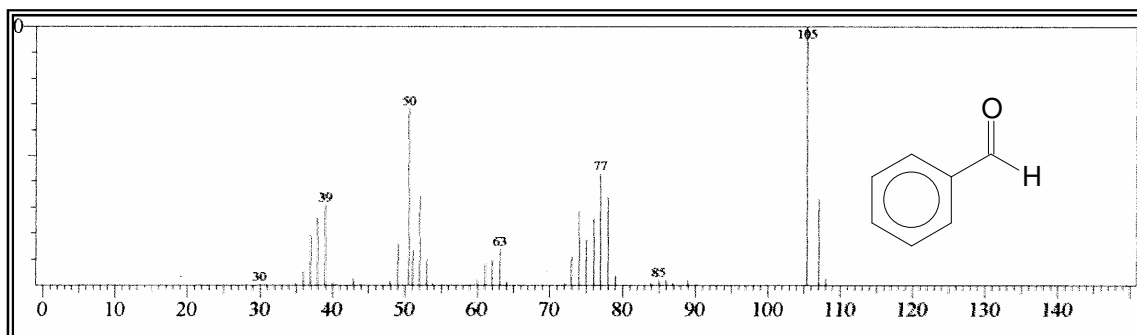


Figura 05: Espectro de massa do benzaldeido.

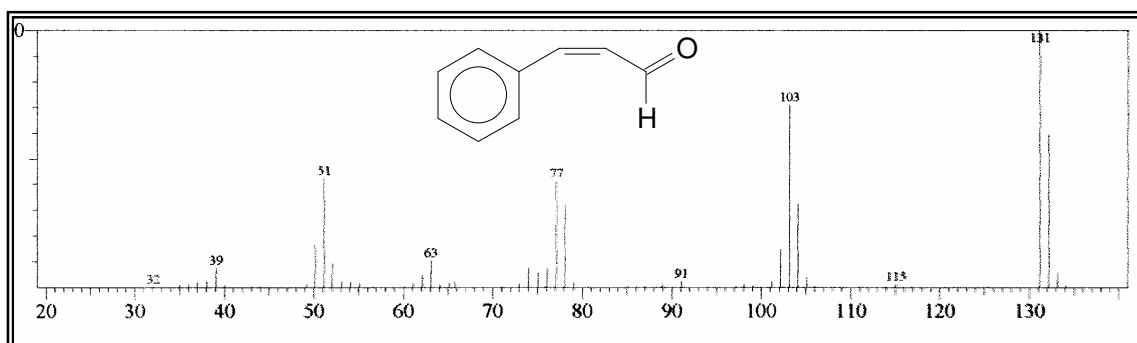


Figura 06: Espectro de massa do cinamaldeido

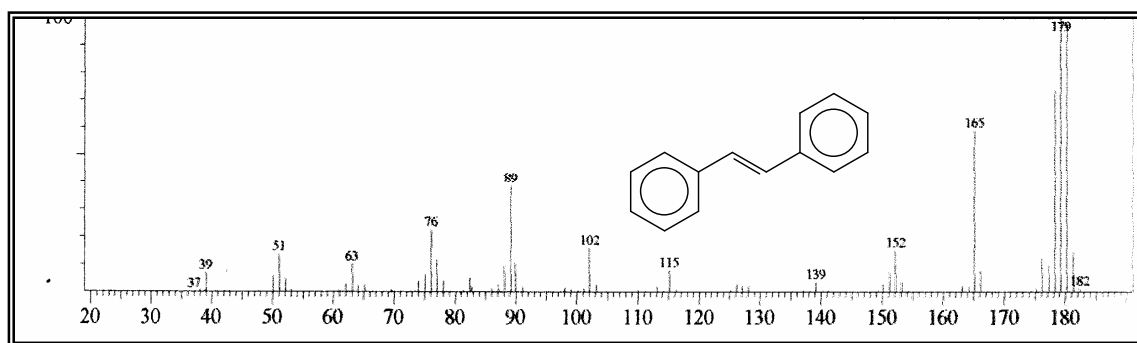


Figura 07: Espectro de massa do *trans*-estilbeno

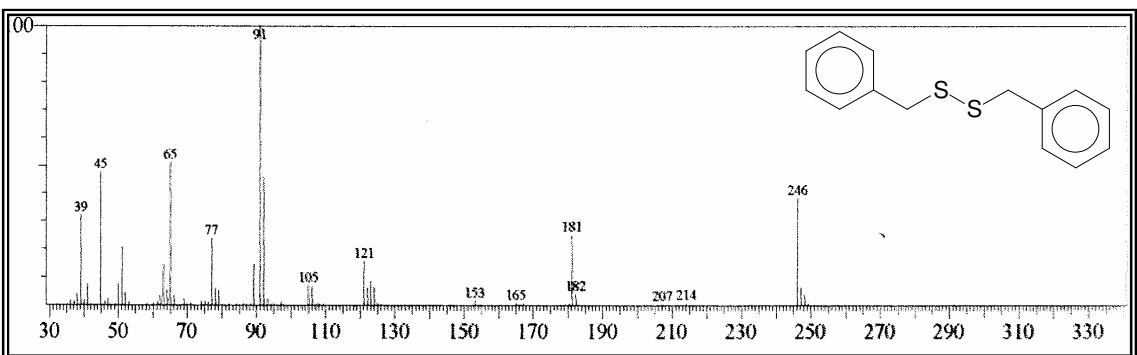


Figura 08: Espectro de massa do dissulfeto de dibenzila

2.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS RAÍZES DE *P. ALLIACEAE*

2.2.1 Determinação estrutural de PAR-01

Através do tratamento cromatográfico do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* foi possível isolar uma substância líquida de cor amarelo claro, solúvel em clorofórmio e homogênea em CCD, sendo denominada de PAR-01.

O espectro de absorção na região do infravermelho [Fig. 9, pag. 25] exibiu banda centrada em 3061 cm^{-1} de deformação axial de C-H aromático. Mostrou banda em 2921 cm^{-1} de deformação axial de C - H alifático; deformação axial de C = C aromático em 1494 e 1453 cm^{-1} ; exibiu uma banda de deformação axial fraca em 468 cm^{-1} , caracterizando a presença da ligação S-S (SILVERSTEIN,2000).

O espectro de RMN ^{13}C -BB [Fig. 10, pag. 26] de PAR-01 exibiu cinco linhas espectrais, quatro na região de carbonos sp^2 e com deslocamentos químicos entre 137,64 – 127,45 ppm. A análise comparativa do padrão de hidrogenação DEPT 135° [Fig. 11, pag. 26] com o espectro de carbono RMN ^{13}C – BB revelou a presença de um carbono não-hidrogenado δ_{C} 137,64 ppm, três sinais para carbonos sp^2 (CH) e um sinal de carbono metilênico (CH_2) em 43,95 ppm.

O espectro de RMN ^1H [Fig. 12, pag. 27] revelou dois sinais: δ_{H} 3,68 ppm (s, 2H) relativos a “H” ligados a carbonos sp^3 , um sinal na faixa de δ_{H} 7,42 – 7,30 ppm (m, 5H) característico de hidrogênios (Hs) aromáticos monossubstituídos. O espectro de RMN ^1H [Fig. 13. pag. 27], expansão na região de aromático revela sinais sobrepostos, podendo assim caracterizar como um multipeto.

As correlações heteronuclear $\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC [Fig 15, pag. 29] e homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY [Fig. 14, pag. 28] confirmaram a presença do CH_2 e, também através da correlação HMBC [Fig 16, pag. 30], garantiu a posição do CH_2 vizinha ao anel aromático.

O espectro de massa [Fig. 17, pag. 31] revelou o pico do íon molecular M^+ 246 e um fragmento correspondente ao pico base de m/z 91, característico do cátion benzila, o que novamente garante a presença do “ CH_2 ” ligado ao anel aromático.

Baseado no conjunto de informações discutidas anteriormente, foi possível propor uma estrutura de uma substância aromática e simétrica e a comparação com os dados da literatura nos levou à confirmação da estrutura do dissulfeto de dibenzila, mercaptana já isolada do tipo [BENEVIDES et al., 2001].

Tabela 03 - Dados comparativos de RMN ^{13}C e ^1H (125 e 500MHz, CDCl_3) de PAR-01 com os dados encontrados na literatura (BENEVIDES et al., 2001).

| # C | * δ_{C} PAR-01 | ** δ_{C} dissulfeto de dibenzila | δ_{H} PAR-01 | ** δ_{H} . dissulfeto de dibenzila |
|--------------|------------------------------|--|----------------------------|--|
| 01 | 137,63 | 136,71 | - | - |
| 02/06 | 127,81 | 127,80 | 7,42 - 7,30 | 7,32 m |
| 03/05 | 128,73 | 128,73 | 7,42 - 7,30 | 7,32 m |
| 04 | 129,66 | 129,56 | 7,42 - 7,30 | 7,32 m |
| 07 | 43,44 | 43,15 | 3,68 s | 4,05 s |

* CDCl_3 125 e 500MHz

** CDCl_3 75 e 300MHz

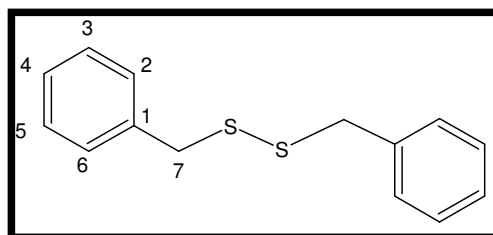
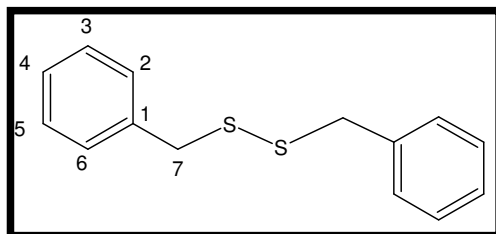


Tabela 04 - Dados de RMN bidimensional (HMQC e HMBC) de PAR-01, com deslocamento para hidrogênios do multipeto aromático.

| $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}\text{-HMQC} - ^1\text{J}_{\text{CH}}$ | | | $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}\text{-HMBC} - ^n\text{J}_{\text{CH}}$ | |
|--|---------------------|---------------------|--|--------------------------|
| # C | δ_{C} | δ_{H} | $^2\text{J}_{\text{CH}}$ | $^3\text{J}_{\text{CH}}$ |
| 01 | 137,63 | - | H-2, H-6, H-7 | H-3, H-5 |
| 02 | 129,73 | 7,42 - 7,30 | H-3 | H-4, H-6, H-7, |
| 03 | 128,91 | 7,42 - 7,30 | H-2, H-4 | H-5 |
| 04 | 127,81 | 7,42 - 7,30 | H-3, H-5 | H-2, H-6 |
| 07 | 43,57 | 3,68 (s, 2H) | - | H-2, H-6 |



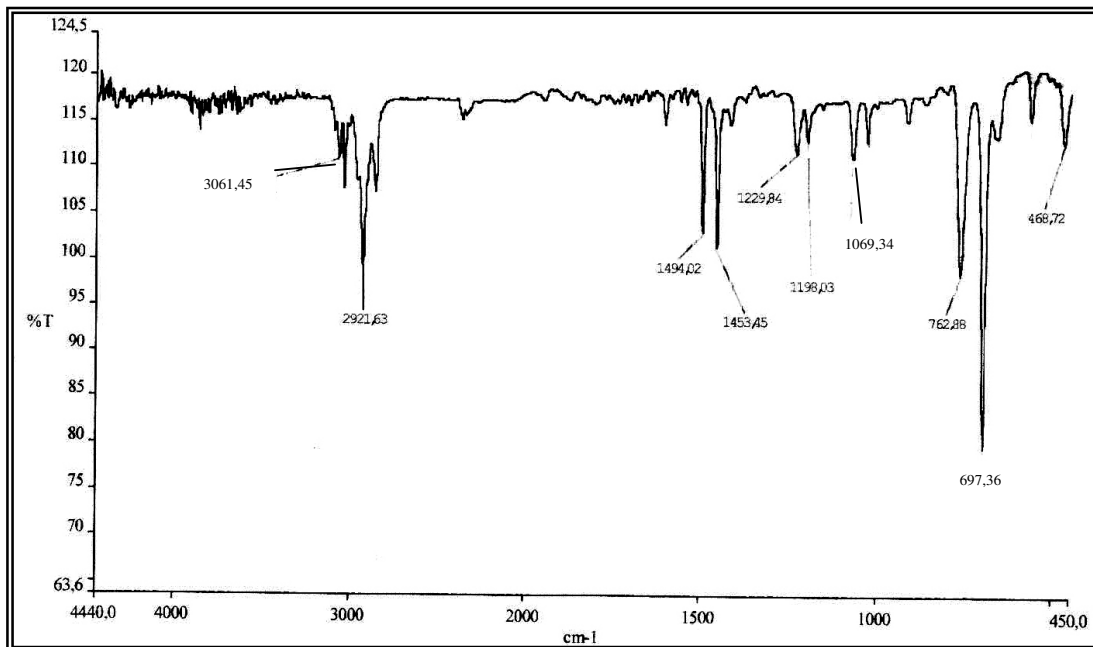
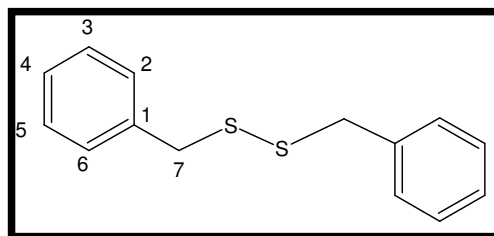


Figura 09: Espectro de absorção na região do infravermelho (filme) de PAR-01



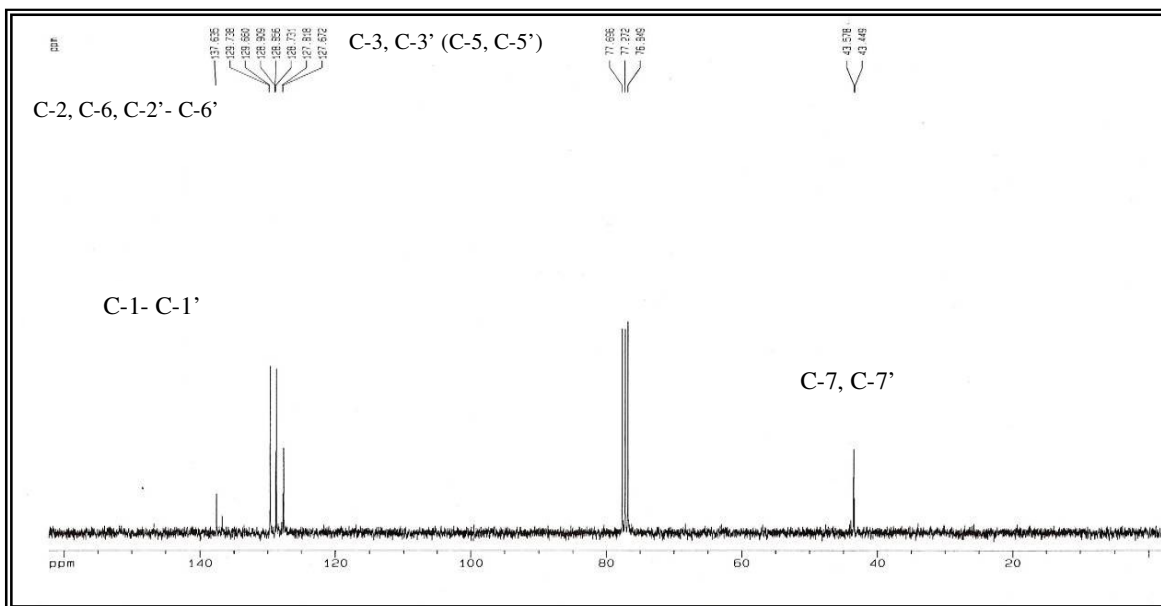


Figura 10: Espectro de RMN ^{13}C -BB [125 MHz, CDCl_3] de PAR-03

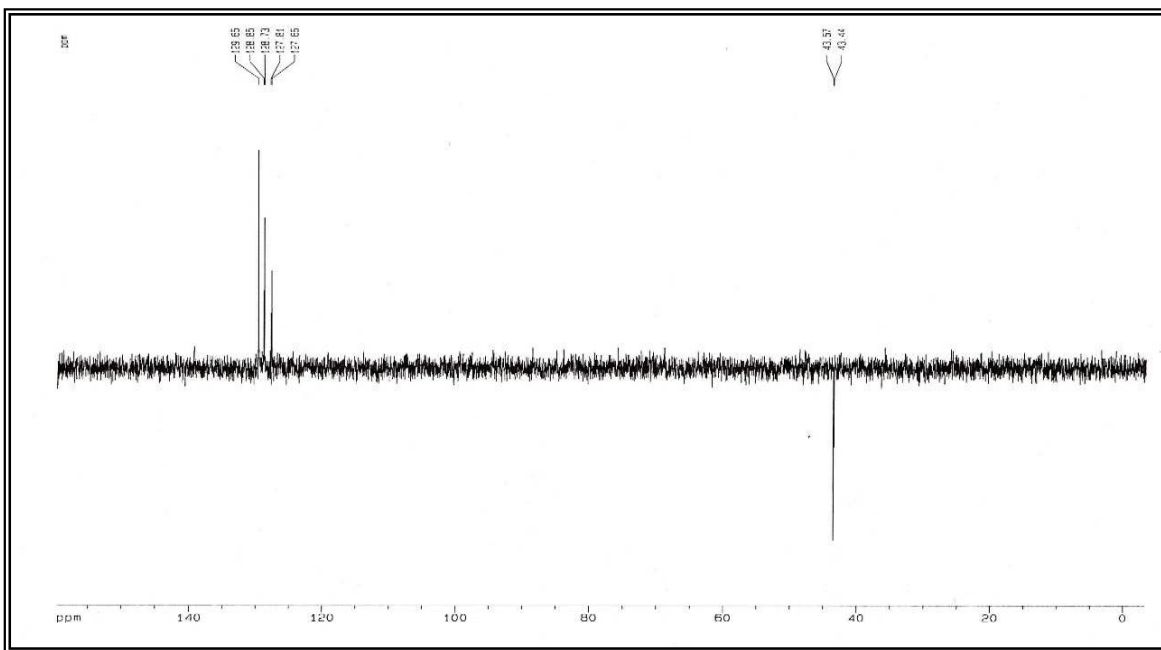
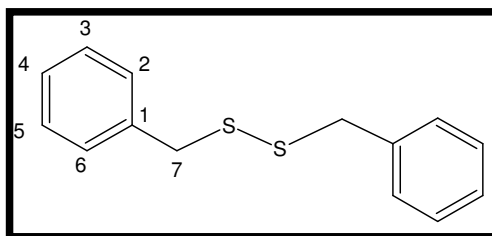


Figura 11: Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° [125 MHz, CDCl_3] de PAR-01



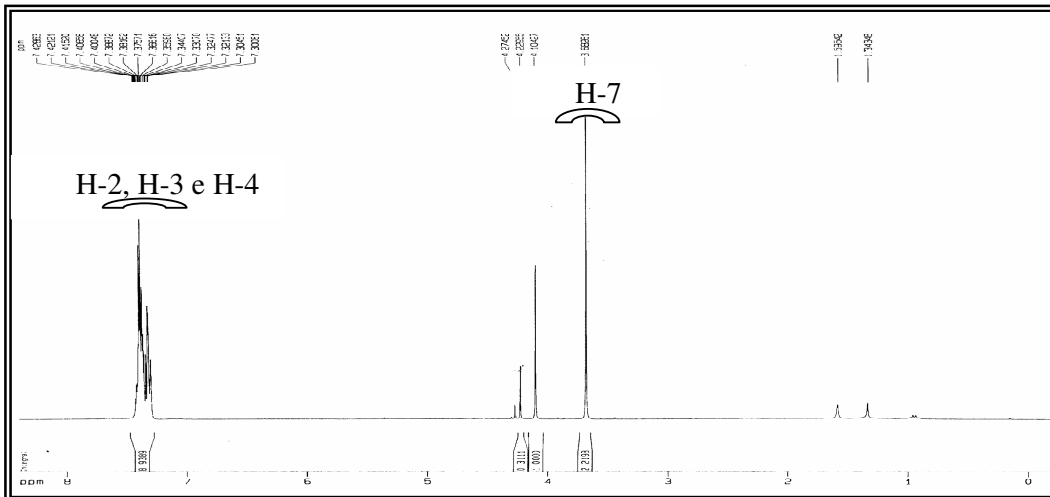


Figura 12: Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CDCl_3] de PAR-01

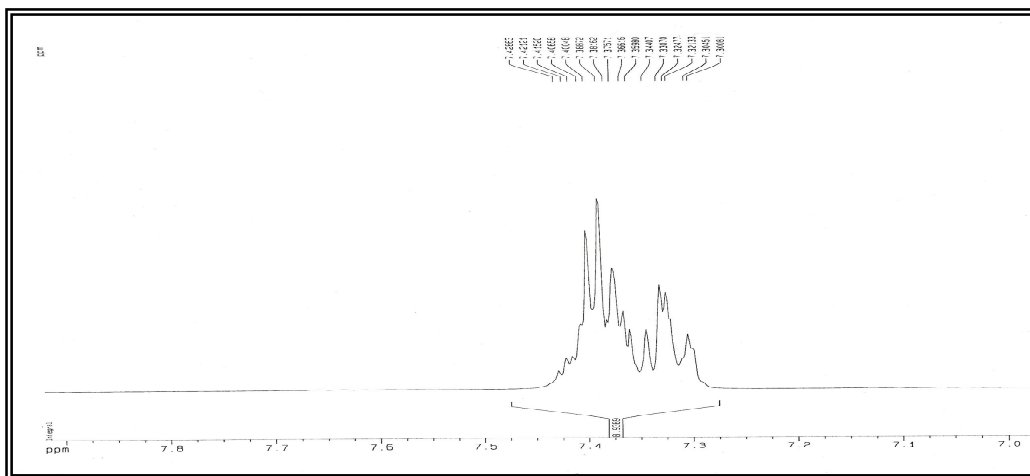
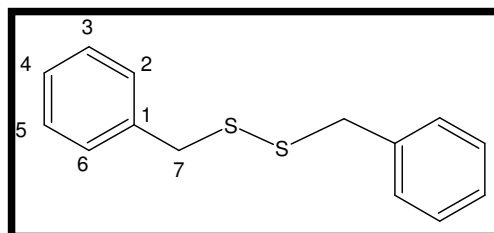


Figura 13: Espectro RMN ^1H expandido na região de aromático [500 MHz, CDCl_3] de PAR-01



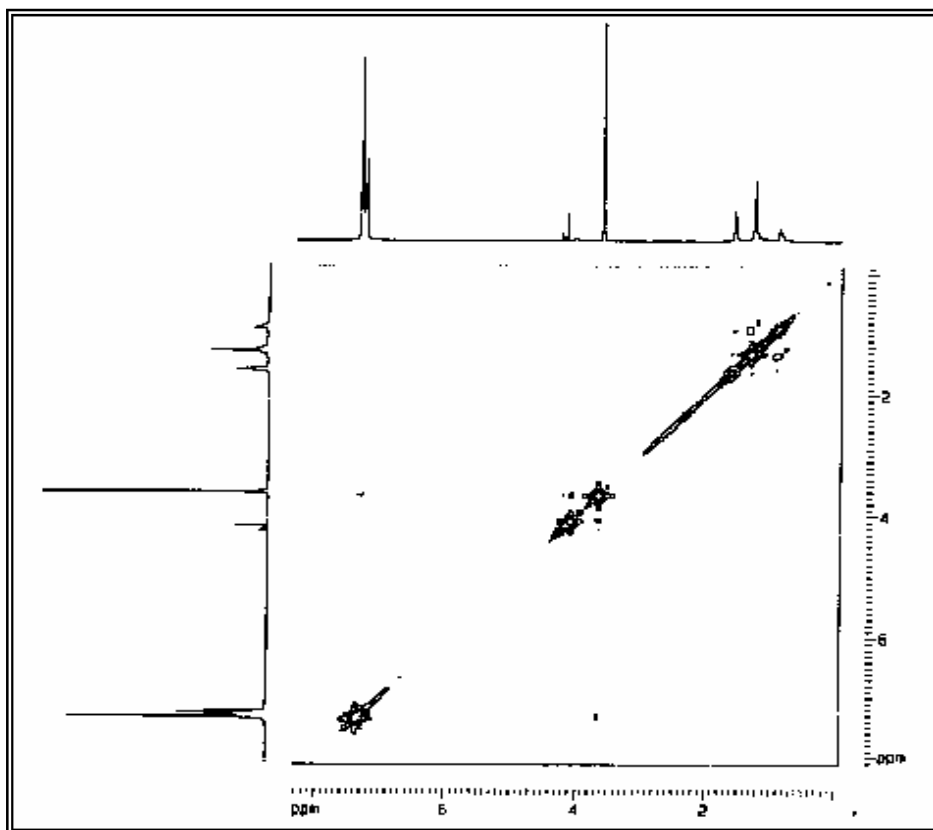
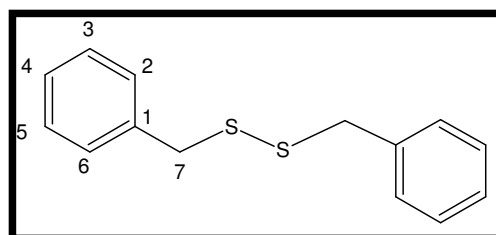


Figura 14: Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY [500 MHz, CDCl_3] de PAR-01



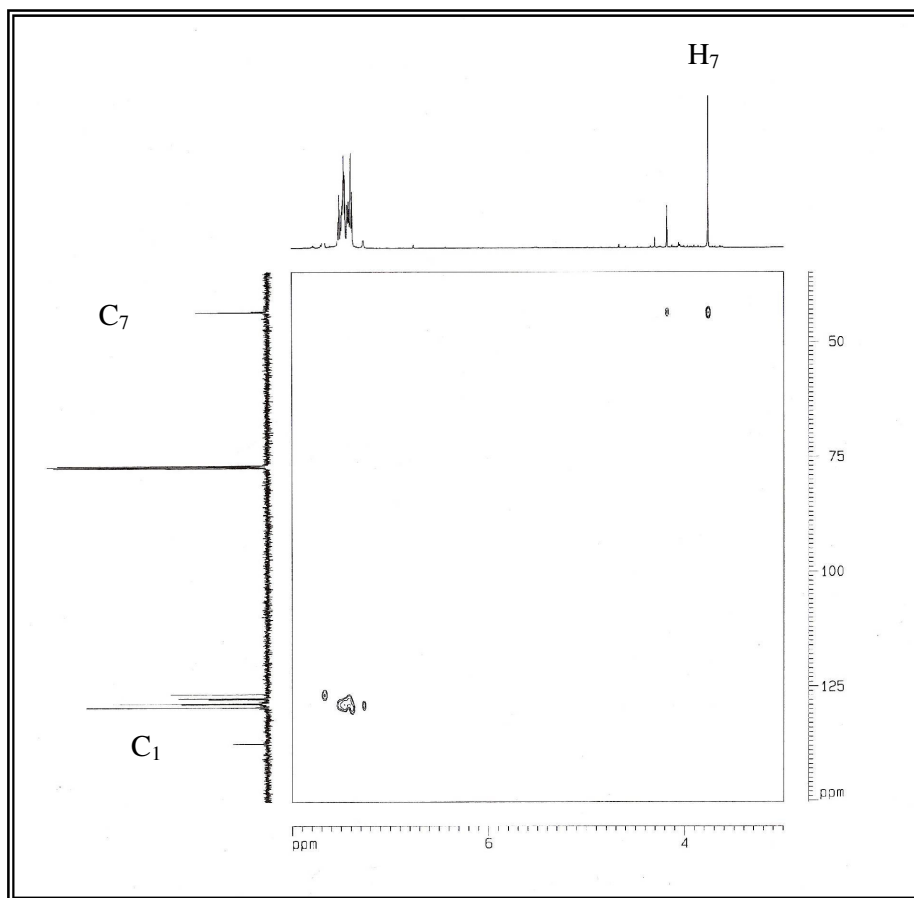
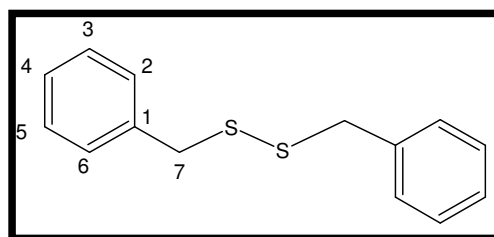


Figura 15: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC [500 e 125 MHz, CDCl_3] de PAR-01



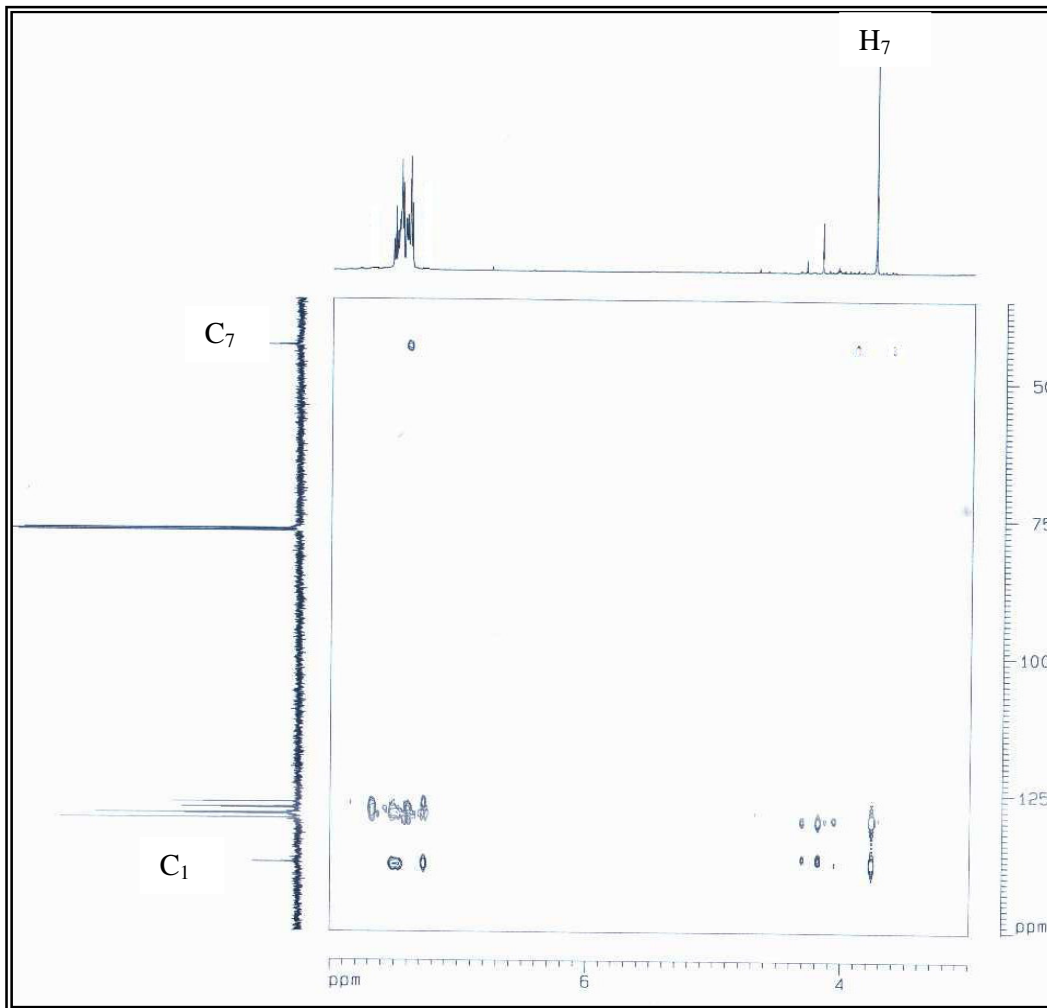
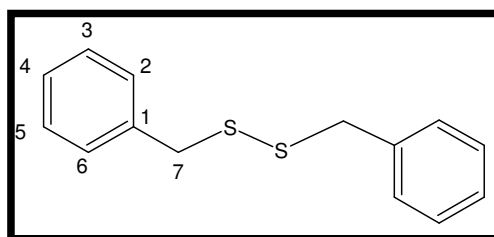


Figura 16: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC [500 e 125 MHz, CDCl_3] de PAR-01



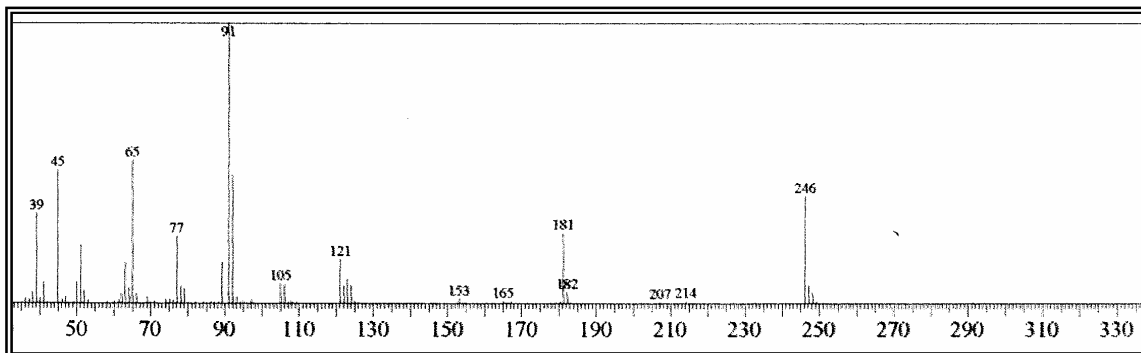
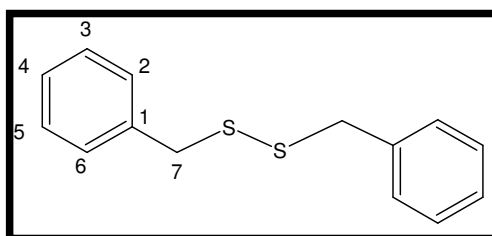


Figura 17: Espectro de massa obtido por impacto eletrônico (70 eV) de PAR-01



2.2.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PAR-02.

Através do tratamento cromatográfico do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* foi isolado um sólido branco, solúvel em clorofórmio, que se apresentou homogêneo em CCD, com faixa de variação do ponto de fusão entre 121,1 – 121,5 °C, denominado de PAR-02.

O espectro de RMN ¹H [Fig.18, pag. 34] exibiu dois sinais, um singlete [1H] com deslocamento químico de 7,18 ppm, característico de hidrogênio ligado a carbono sp², e um multiplete [5H] com deslocamento entre 7,60-7,30 ppm, caracterizando a presença de composto aromático. O espectro RMN ¹H [Fig.19, pag. 34], revela sinais como tripletes e dubletos deformados, não permitindo a identificação das constantes de acoplamentos dos hidrogênios correspondentes de cada sinal.

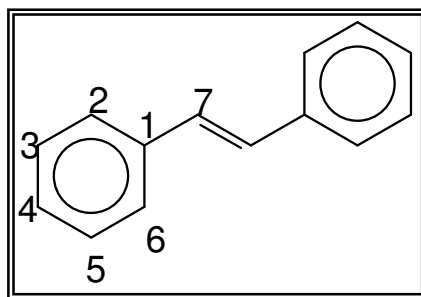
O espectro de RNM ¹³C – BB de PAR-02 [Fig. 20, pag 35] exibiu cinco linhas espectrais na região de carbono sp² com deslocamento químico entre 137,54 – 126,75 ppm. O carbono com deslocamento químico 137,54 ppm, característico de carbono aromático, foi comparado com o espectro RMN ¹³C - DEPT 135° [Fig. 21, pag. 35], conferindo a existência do carbono não-hidrogenado e aromático. Os demais sinais são caracterizados como três carbonos metínicos aromáticos e um olefínico.

O espectro de massa [Fig. 22, pag. 36], obtido por impacto eletrônico, revelou vários fragmentos, sendo o de razão massa carga m/z 180 o mais importante, que foi caracterizado como o pico do íon molecular.

Os dados espectrais acima mencionados e comparados com os dados de deslocamento químico de carbono da literatura [BEHNKE, 1993] nos levaram a concluir que o composto PAR-02 se tratava de uma substância aromática e simétrica, o *trans*-estilbeno.

Tabela 05 - Dados comparativos de RMN ^{13}C [125 MHz, CDCl_3] de PAR-02 com os dados da literatura [BEHNKE, 1993].

| N ^o | δ_{C} | PAR-02 | δ_{C} - <i>trans</i> -estilbeno |
|----------------|---------------------|--------|---|
| 01 | | 137,64 | 137,26 |
| 02 | | 129,00 | 129,63 |
| 03 | | 128,90 | 128,58 |
| 04 | | 127,83 | 127,52 |
| 05 | | 126,75 | 126,44 |



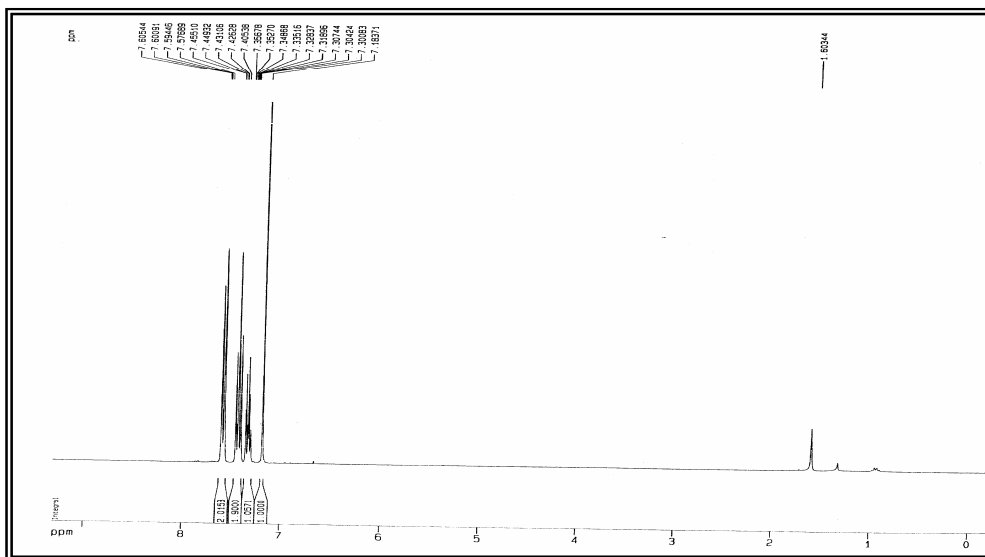


Figura 18: Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CDCl_3] de PAR-02

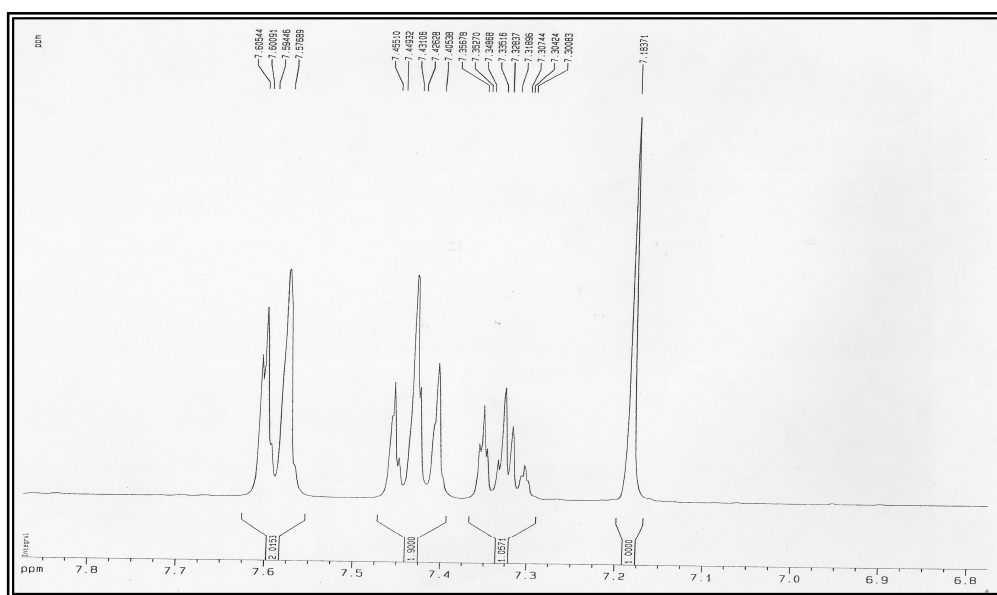
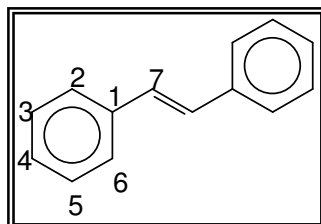


Figura 19: Espectro de expansão de RMN ^1H em 7,8 a 6,8 ppm, [500 MHz, (CDCl_3)] de PAR-02.



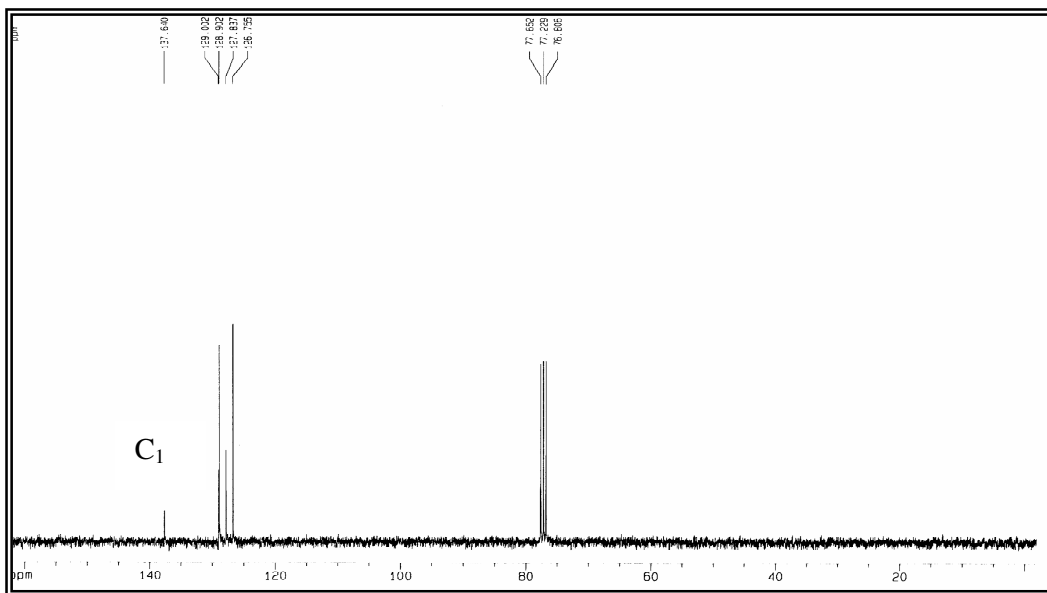


Figura 20: Espectro de RMN ^{13}C - BB [125 MHz, CDCl_3] de PAR-02

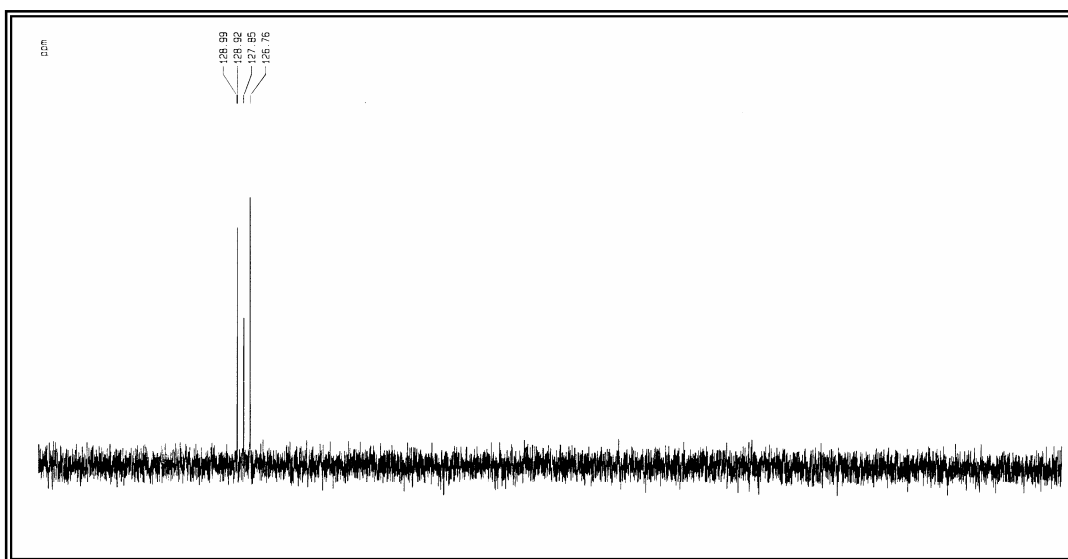
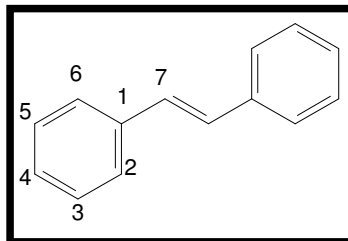


Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° [125 MHz, CDCl_3] de PAR-02



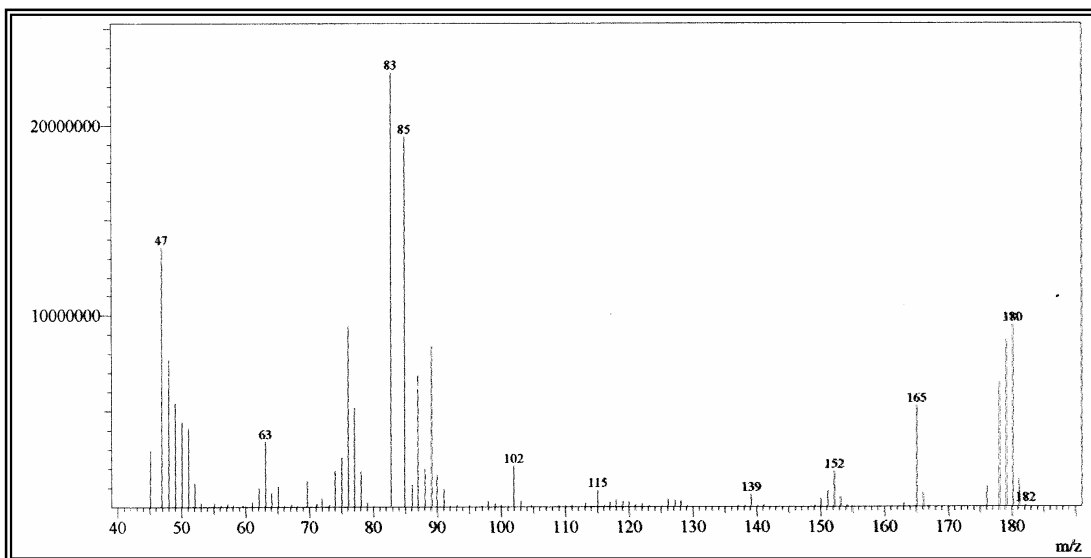
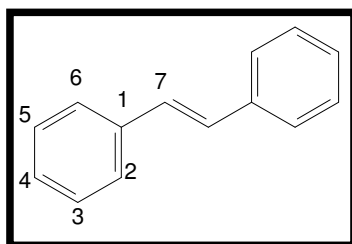


Figura 22: Espectro de massa obtido por impacto eletrônico (70 eV) de PAR-02





Capítulo 03

Determinação Estrutural dos Constituintes Fixos

3.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS NÃO-VOLÁTEIS DAS RAÍZES DE *P. alliaceae*

3.1.1 Determinação Estrutural de PAR-03

Por meio de tratamento cromatográfico do extrato acetato de etila [Item 5.6.6, pag. 86] foi obtido 9,4 mg de um óleo amarelo, solúvel em clorofórmio e homogênea em CCD, denominada de PAR-03.

O espectro de absorção na região do infravermelho [Fig. 23, pag. 40] exibiu banda centrada em 3061cm^{-1} , 3028cm^{-1} de deformação axial de C-H aromático; mostrou banda em 2921cm^{-1} de deformação axial de C - H alifático, deformação angular fora do plano da ligação C-H de aromático em 762cm^{-1} ; forneceu bandas de deformação axial em 697cm^{-1} , que foi atribuída a ligação S-C; exibiu também deformação axial em 468cm^{-1} , caracterizando a ligação S-S (SILVERSTEIN, 2000).

O espectro de RMN ^{13}C [Fig. 25, pag. 42] exibiu dez linhas espectrais, oito delas na região de aromático com deslocamento químico entre $137,62 - 127,83\text{ ppm}$. Pela análise comparativa do padrão de hidrogenação DEPT 135° [Fig. 26, pag. 43] com o espectro de carbono RMN $^{13}\text{C} - \text{BB}$ foi revelada a presença de dois carbonos não-hidrogenados com deslocamento químico em $137,62\text{ ppm}$, seis sinais para carbonos metínicos (CH) sp^2 ($129,69$; $129,67$; $128,86$; $128,74$; $127,83$ e $127,68\text{ ppm}$) e dois sinais para carbono metilênico (CH_2) em $43,55$ e $43,41\text{ ppm}$.

Em relação ao espectro de RMN ^1H [Fig. 24, pag. 41], ele revelou os sinais δ_{H} $4,04\text{ ppm}$ e $3,61\text{ ppm}$ (2s, 4H) relativo a “H” ligados a carbonos sp^3 ; e um sinal δ_{H} $7,6 - 7,3\text{ ppm}$ (m, 10H), característico de hidrogênios (Hs) aromáticos.

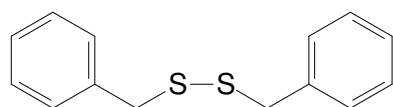
O espectro de massa [Fig. 27, pag. 43] revelou os fragmentos de razão massa carga, dentre eles o de m/z 91 como pico base, característico do cátion benzila, 246 e 278, sendo o último o íon molecular.

Os espectros bidimensionais de PAR-03 Figuras 28, 29, 30; Páginas 44, 45, 46, vieram para confirmar a estrutura do trissulfeto de dibenzila, vista que os demais dados dos espectros bidimensionais estão relacionados com o dissulfeto de dibenzila.

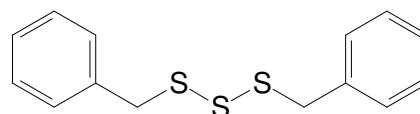
Comparando o conjunto de informações fornecidas pelos dados espectrais acima citados com os dados de deslocamentos químico de carbono e hidrogênios da literatura, concluiu-se que o composto PAR-03 se tratava de uma mistura de duas mercaptanas, as quais se diferenciam por um átomo de enxofre, dissulfeto de dibenzila (44,5%) e trissulfeto de dibenzila (55,5%); as proporções foram determinadas pela integração dos hidrogênios no espectro de RMN ¹H. Ambos os compostos haviam sido isolados por BENEVIDES et al [2001]. As mercaptanas acima mencionadas são compostos que apresentam atividades biológicas [Tabela 01, pag. 07].

Tabela 6 - Dados referentes aos deslocamentos químicos de carbonos de PAR-03 comparados com os da literatura [BEHNKE, 1993].

| Nº | δ_C PAR-03 | δ_C -dissulfeto de dibenzila [ALDRICH, 1993] |
|------------|-------------------|---|
| 01 | 137,62 | 137,24 |
| 02 | 129,69 | 129,31 |
| 03 | 128,86 | 128,37 |
| 04 | 127,83 | 127,31 |
| 07 | 43,55 | 43,18 |
| | δ_C PAR-03 | δ_C trissulfeto de dibenzila [ALDRICH, 1993] |
| 01' | 136,76 | 136,42 |
| 02' | 129,67 | 129,34 |
| 03' | 128,74 | 128,50 |
| 04' | 127,68 | 127,46 |
| 07' | 43,41 | 43,10 |



Dissulfeto de dibenzila



Trissulfeto de dibenzila

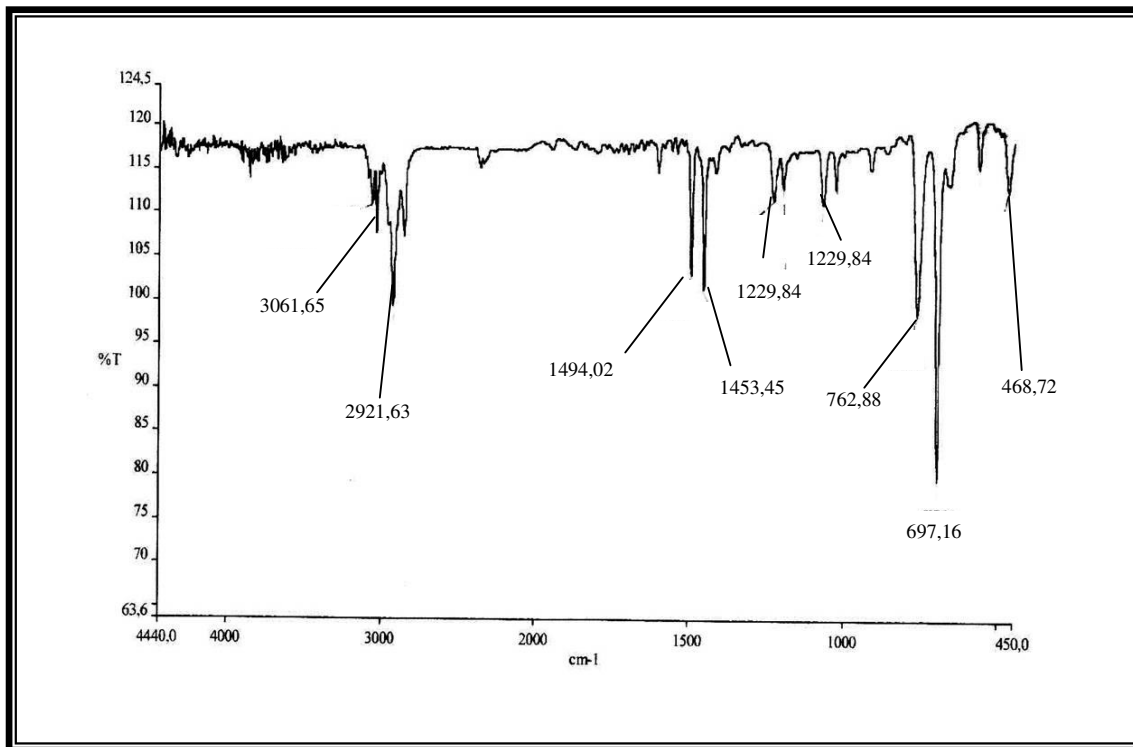


Figura 23: Espectro de absorção na região do infravermelho (filme) de PAR-03

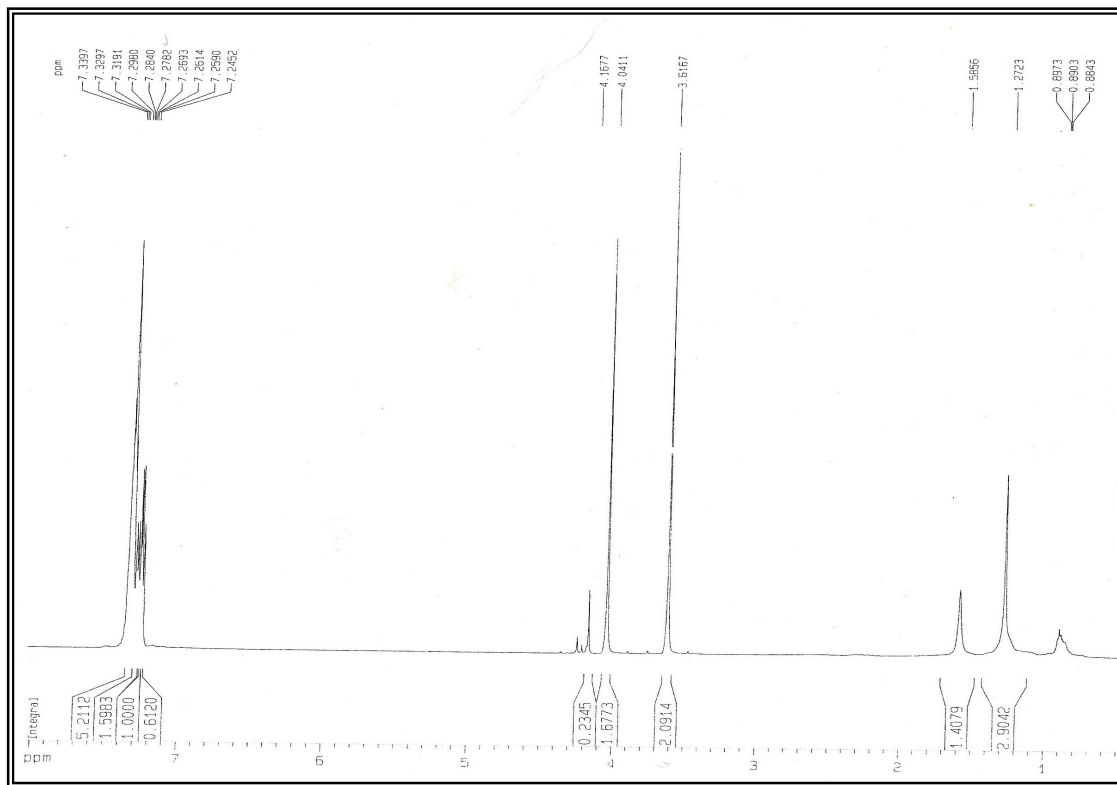


Figura 24: Espectro de RMN ^1H [500 MHz, CHCl_3] de PAR - 03

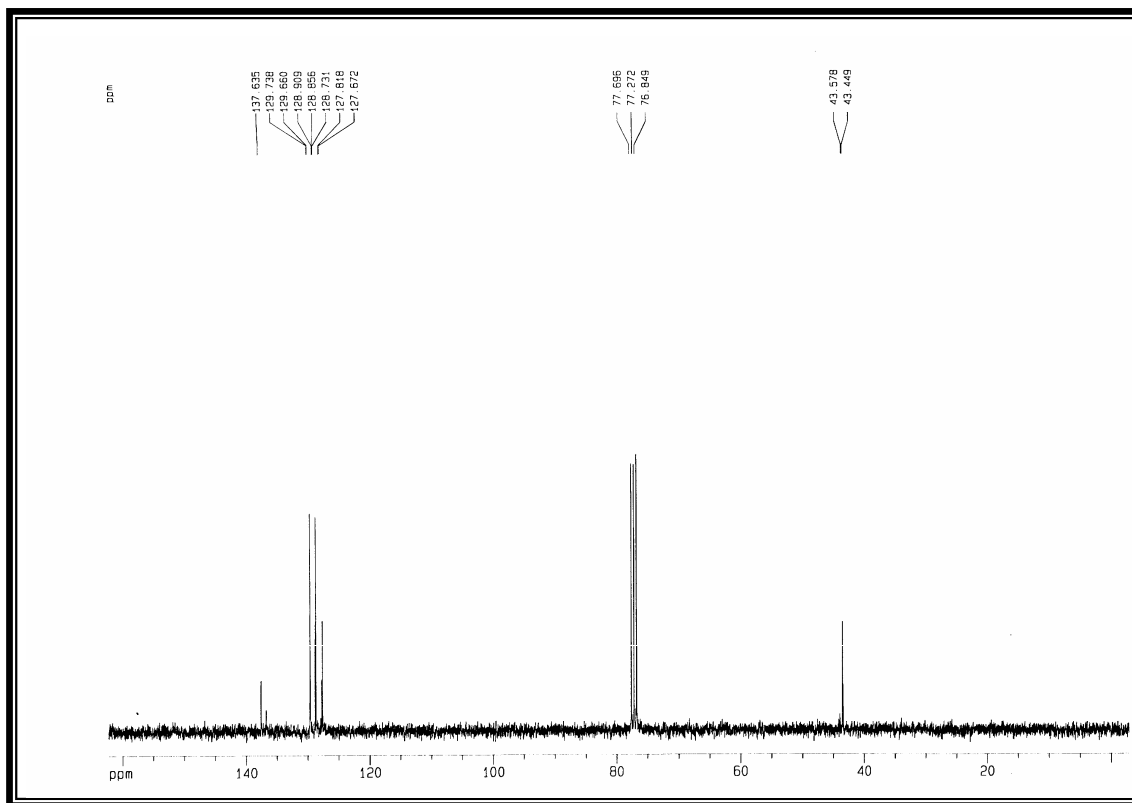


Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C BB [125 MHz, CHCl_3] de PAR-03

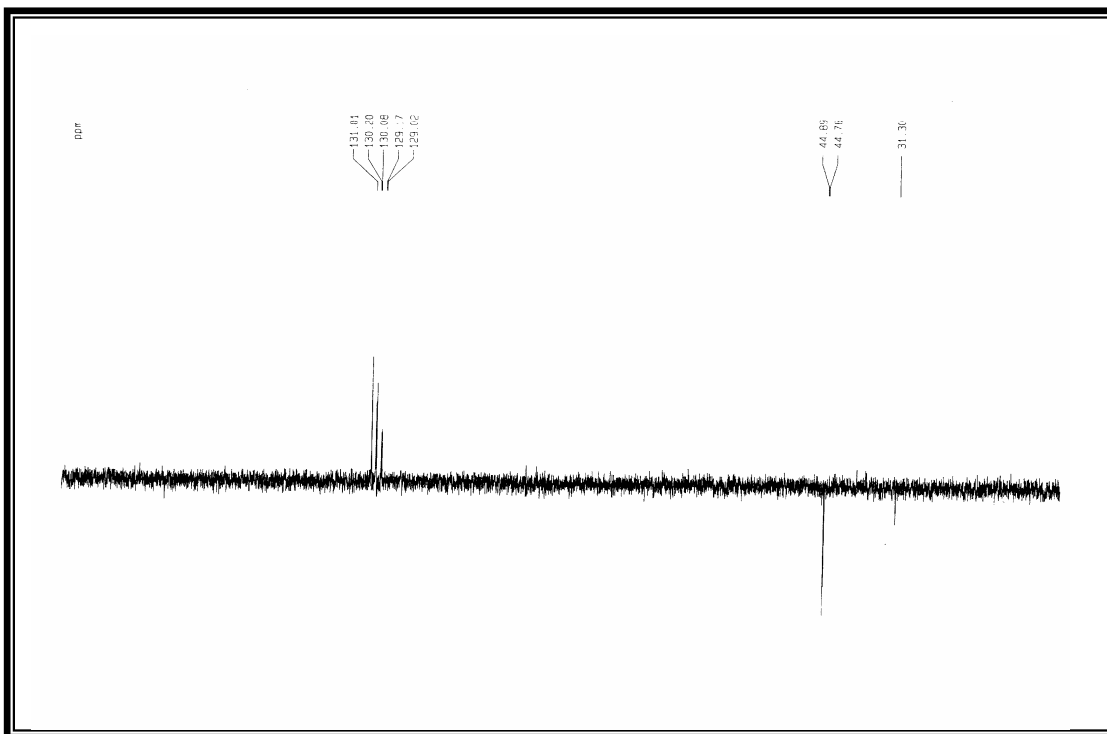


Figura 26: Espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° [125 MHz, CHCl_3] de PAR-03

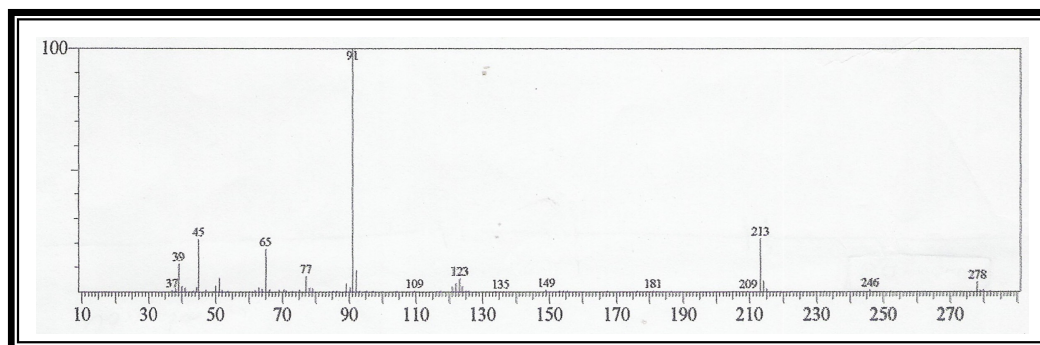


Figura 27: Espectro de massa obtido por impacto eletrônico (70 eV) de PAR-03

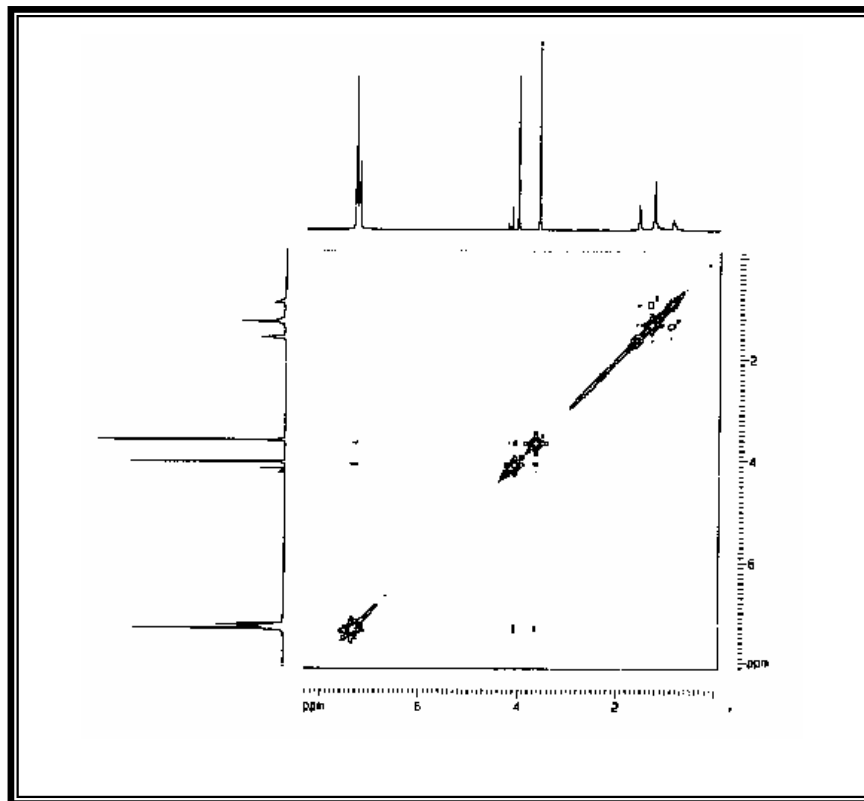


Figura 28: Espectro bidimensional homonuclear COSY [500 MHz, CHCl₃] de PAR-03

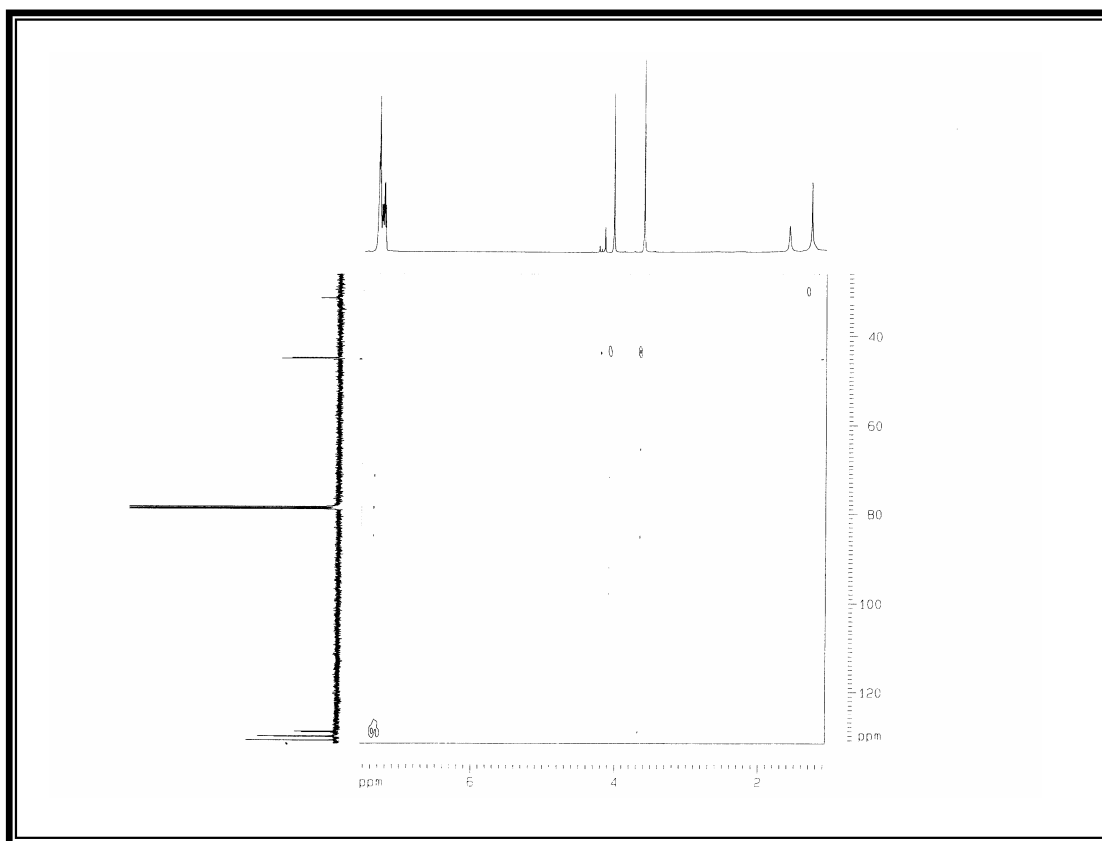


Figura 29: Espectro bidimensional heteronuclear de HMQC na região de aromático [500 MHz, CHCl₃], de PAR-03

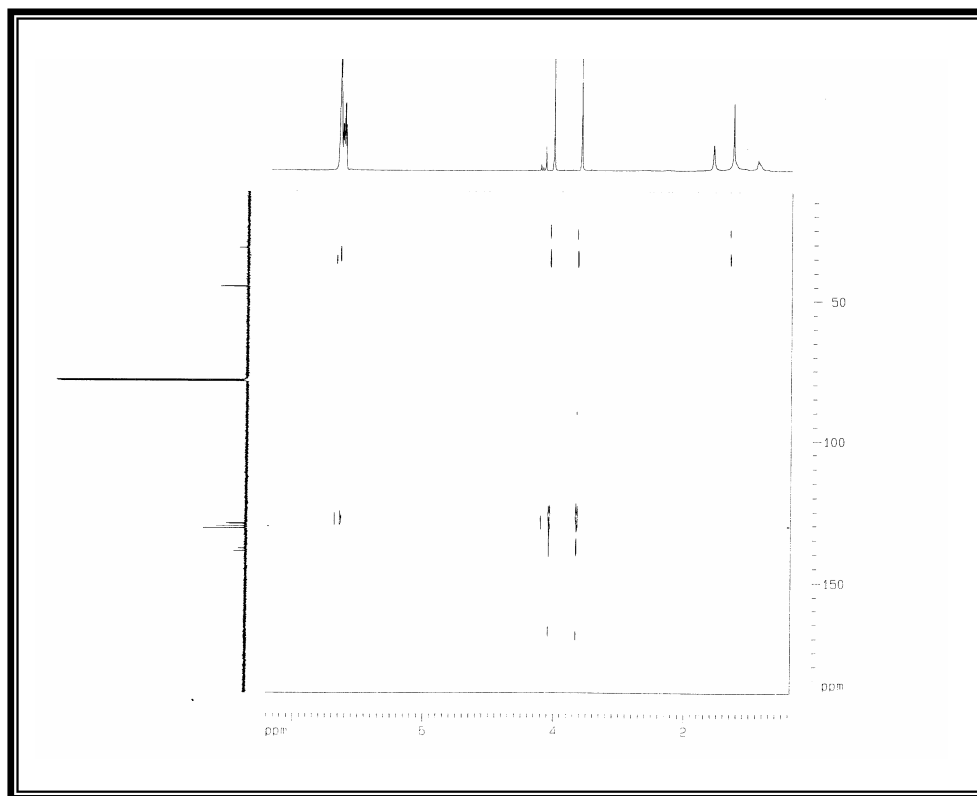


Figura 30: Espectro bidimensional HMBC [500 e 125, MHz, CDCl₃] de PAR-03

3.1.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PAR-04.

O tratamento cromatográfico do extrato etanólico, inclusive por exclusão molecular em Sephadex LH-2 das raízes de *P. alliaceae*, levou ao isolamento da substância denominada PAR-04, que apresentou-se na forma sólida, com, p.f. 297,4-301,3 °C e solúveis em dimetil sulfoxido [DMSO].

O espectro de absorção na região do infravermelho de PAR-04 [Fig. 31, pag. 50] revelou bandas agudas centrada em 3.439 e 3.345 cm^{-1} , característicos de deformação axial da ligação de N – H, banda múltipla em 3194 cm^{-1} . Foram detectadas três bandas de vibrações de deformação axial entre 1781 1712 e 1660 cm^{-1} , características de carbonilas de anel de cinco membros. Apresentou banda de deformação axial característica da ligação C – N em 1432 cm^{-1} ; apresentou bandas de deformação angular fora do plano de N – H em 779, 776 e 708 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2000).

O espectro de RMN ^1H [Fig. 32, pag. 51] revelou cinco sinais, três singletos com deslocamento químico (δ_{H} 10,5, 1H), (δ_{H} 8,05,1H) e (δ_{H} 5,82, 2H) e dois dubletos, com constante de acoplamento $J = 8,0$ e deslocamento químico em 6,97 e 5,24 ppm.

O espectro de RMN ^{13}C [Fig.33, pag. 52] exibiu 4 linhas espectrais, as quais foram realizadas análises comparativas com o padrão de hidrogenação DEPT 135° [Fig. 34, pag. 53], que indicaram a existência de três carbonos não-hidrogenados com deslocamentos químicos 173,4, 157,5 e 156,8 ppm e um carbono metínico (CH) com deslocamento em 62,5 ppm.

O espectro bidimensional de correlação homonuclear COSY [Fig. 35, pag. 54] apresentou a conectividade dos hidrogênios dos dubletos 5,2 e 6,8 ppm e, através do espectro de correlação heteronuclear a uma ligação HMQC [Fig. 36, pag. 55], foi confirmada a presença do carbono com deslocamento 62,2 ppm hidrogenado correlacionando com o hidrogênio com deslocamento em 5,2 ppm.

Baseado nas informações obtidas e comparadas com os dados de deslocamentos de carbono e hidrogênio da literatura [FERREIRA et al., 2000], foi possível identificar a substância PAR-04 como sendo uma alantoina, composto com ação cicatrizante. Foi o primeiro registro deste composto a ser isolado das raízes do tipo.

Tabela 7 - Dados comparados de RMN ^{13}C e ^1H de PAR-04 com os dados encontrados na literatura [FERREIRA et al., 2000].

| # C | δ_{C} PAR-04 | δ_{C} - Alantoina | δ_{H} PAR-04 | δ_{H} - Alantoina |
|-----|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 01 | - | - | 10,54 (s) | 10,54 (s) |
| 02 | 157,5 | 157,7 | | - |
| 03 | - | - | 8,05 (s) | 8,05 (s) |
| 04 | 173,6 | 173,4 | | - |
| 05 | 62,5 | 62,65 | 5,25(d, J = 8,0 Hz) | 5,21(d, J = 8, H) |
| 06 | - | - | 6,97(d, J = 8,0 Hz) | 6,91(d, J = 8, H) |
| 07 | 156,8 | 156,7 | - | - |
| 08 | - | - | 5,81 (s) | 5,82 (s) |

Dados de RMN 125 MHz, DMSO d_6 , 50 MHz DMSO d_6

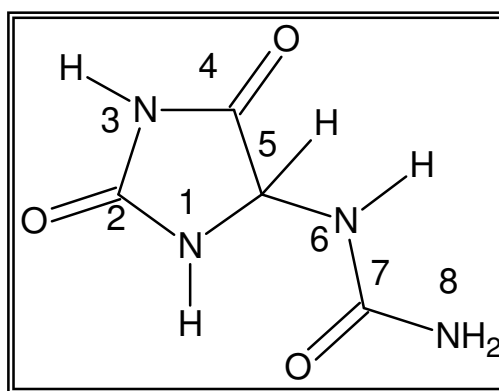
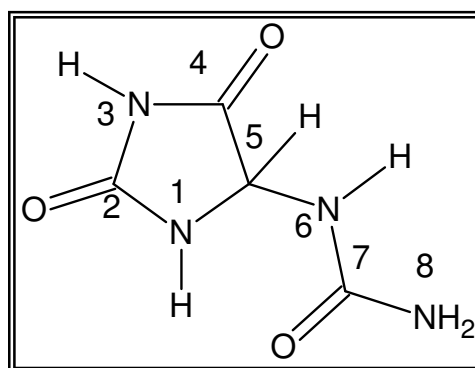


Tabela 8 - Dados de RMN bidimensional heteronuclear (HMQC e HMBC) [500, 125 MHz, DMSO] de PAR-04.

| # C | $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMQC - $^1\text{J}_{\text{CH}}$ | | $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC - $^n\text{J}_{\text{CH}}$ | |
|-----|--|---------------------|--|--------------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | $^2\text{J}_{\text{CH}}$ | $^3\text{J}_{\text{CH}}$ |
| 01 | - | - | - | - |
| 02 | 156,8 | - | H -3 | H-5 |
| 03 | - | - | - | - |
| 04 | 173,6 | - | H-3, H-5 | H-6 |
| 05 | 62,5 | 5,81(s) | H-6 | H-3 |
| 06 | - | - | - | - |
| 07 | 157,5 | - | H-6, H-8 | H-5 |
| 08 | - | - | - | - |



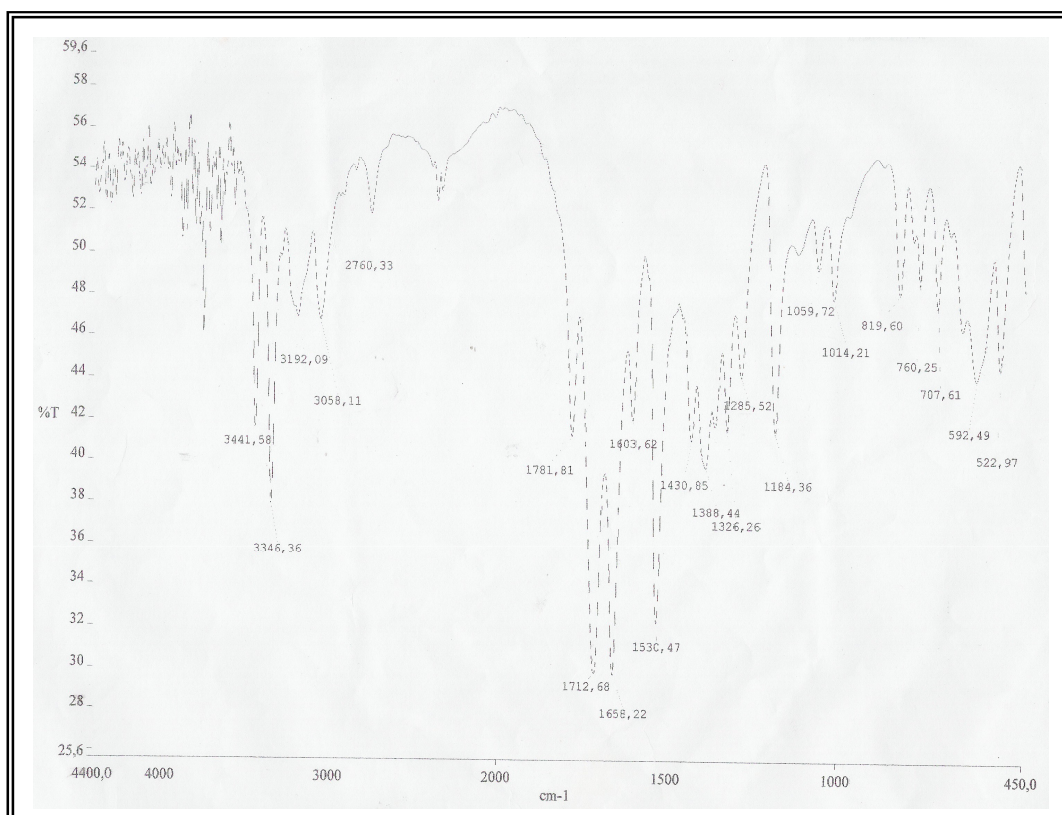
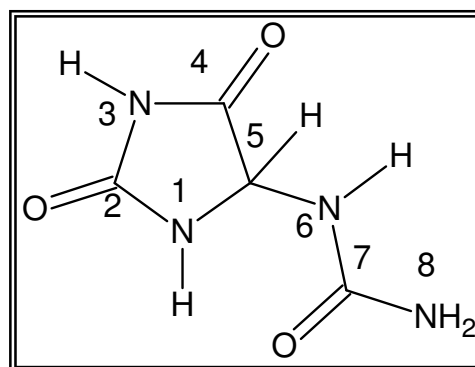


Figura 31: Espectro de absorção na região de infravermelho (partilha de KBr) de PAR-04



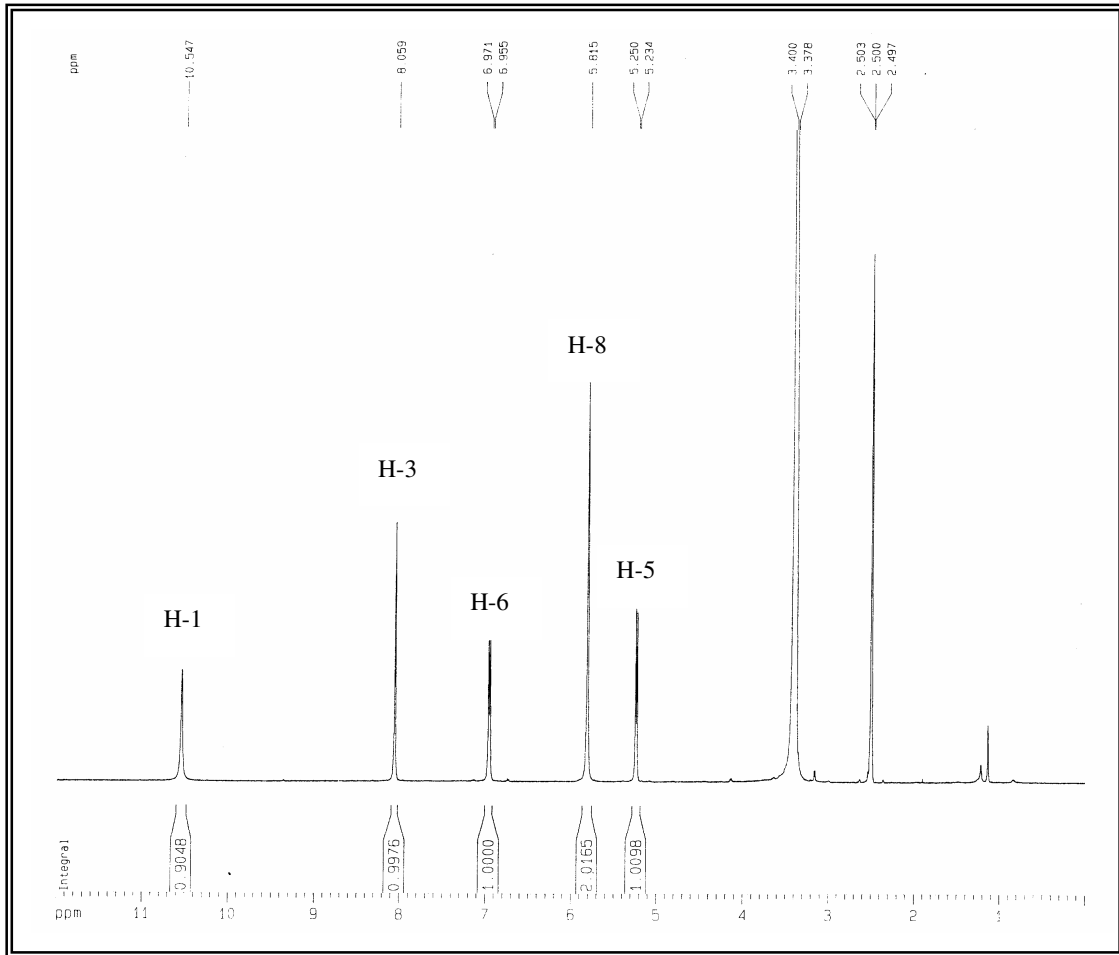
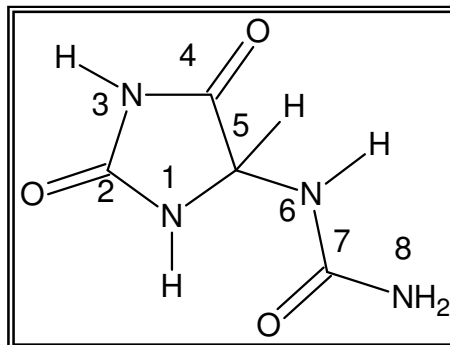


Figura 32: Espectro de RMN ^1H [500 MHz, DMSO] de PAR-04



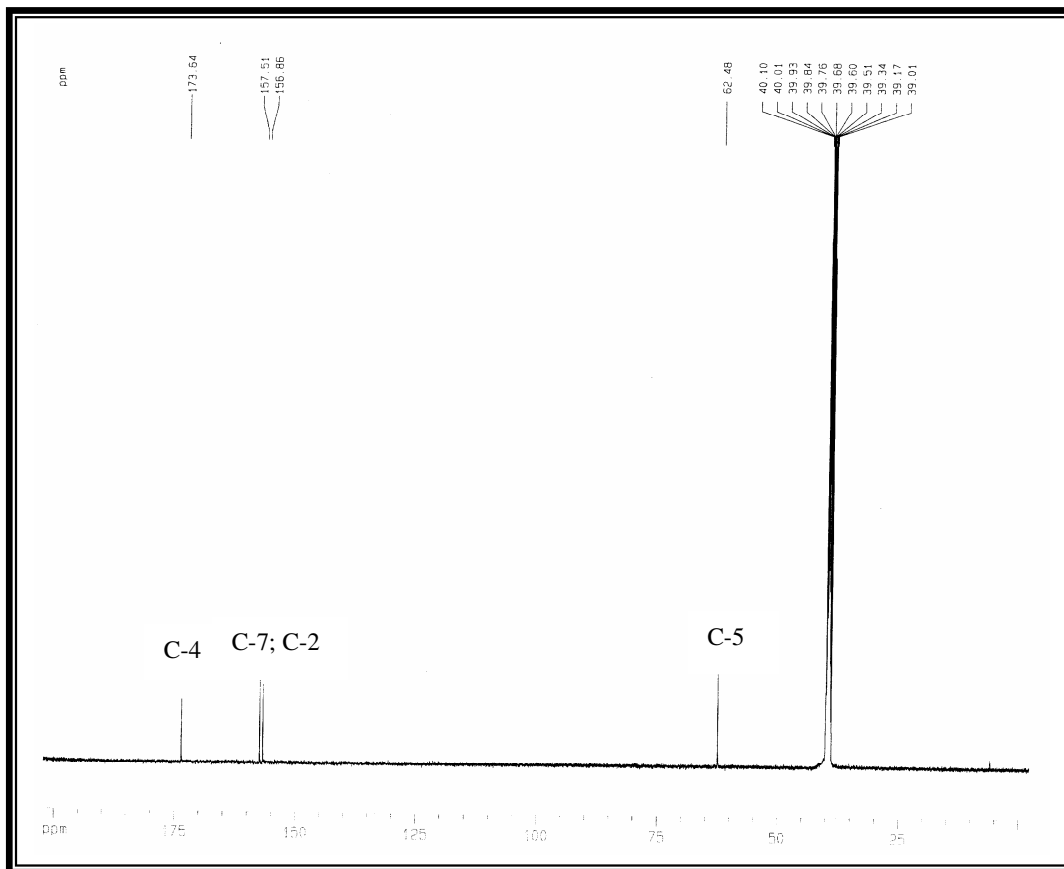
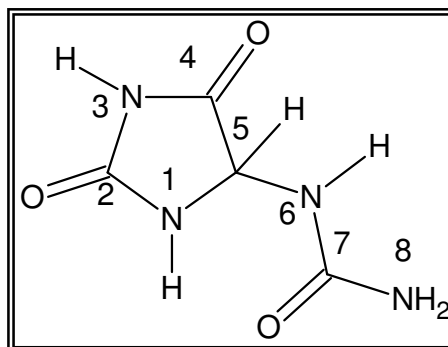


Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, DMSO] de PAR-04



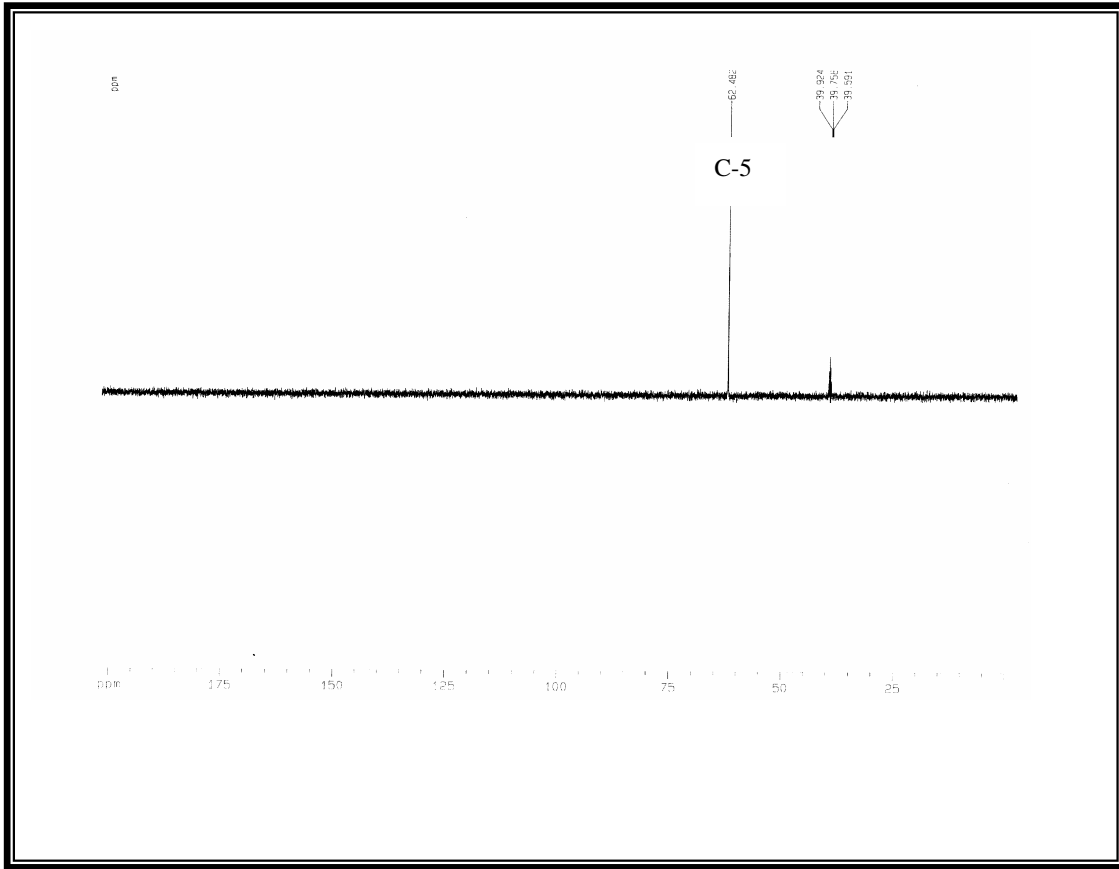
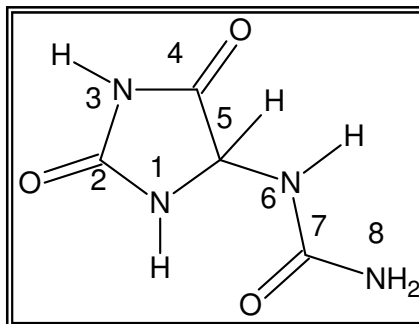


Figura 34: Espectro RMN ^{13}C DEPT 135° [125 MHz, DMSO] de PAR-04



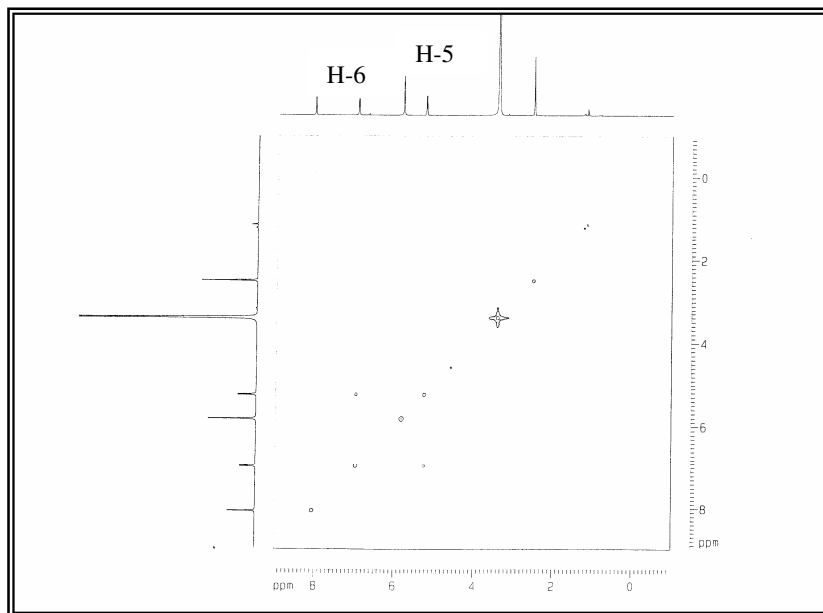
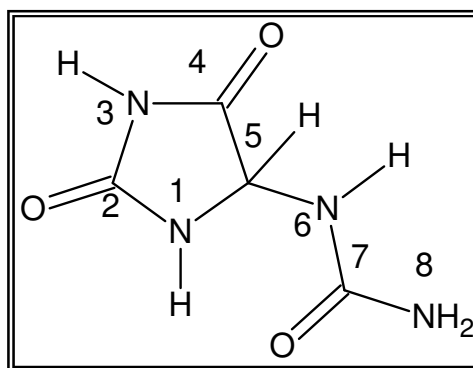


Figura 35: Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY [500 MHz, DMSO] de PAR-04.



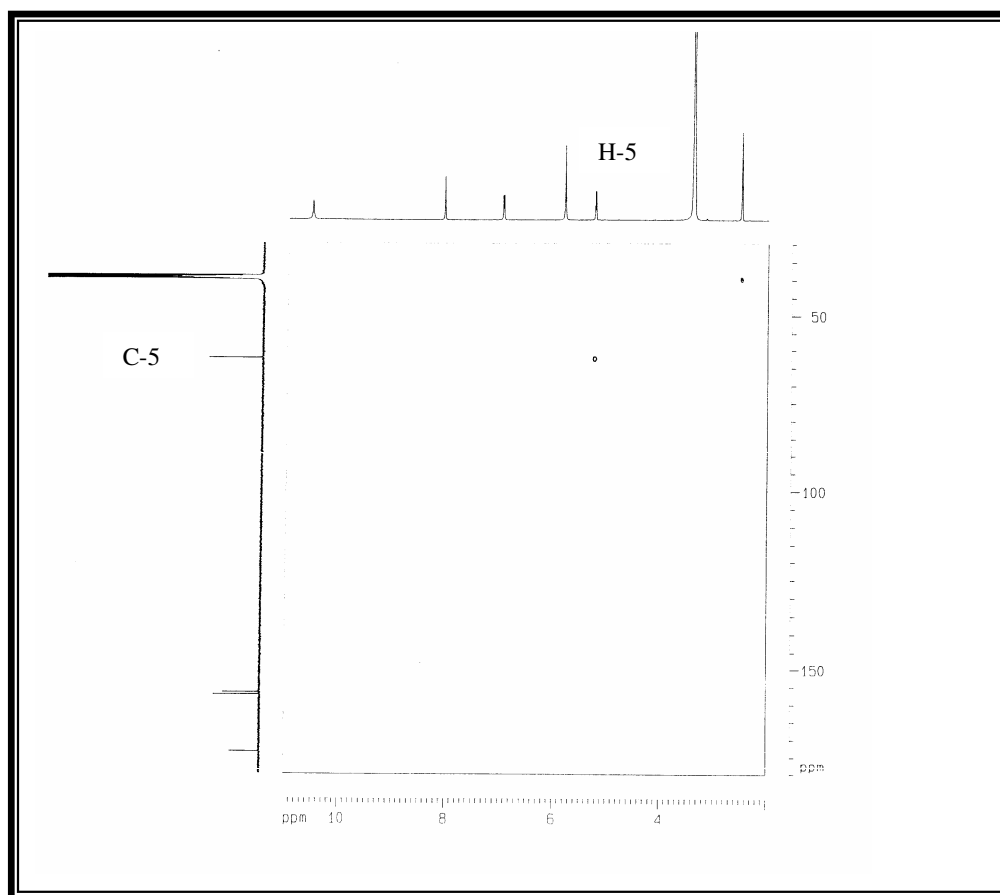
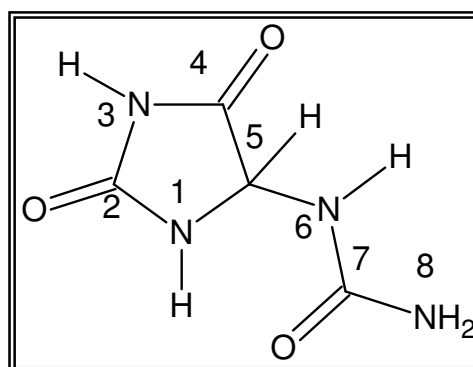


Figura 36: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMQC [500, 125 MHz, DMSO] de PAR-04.



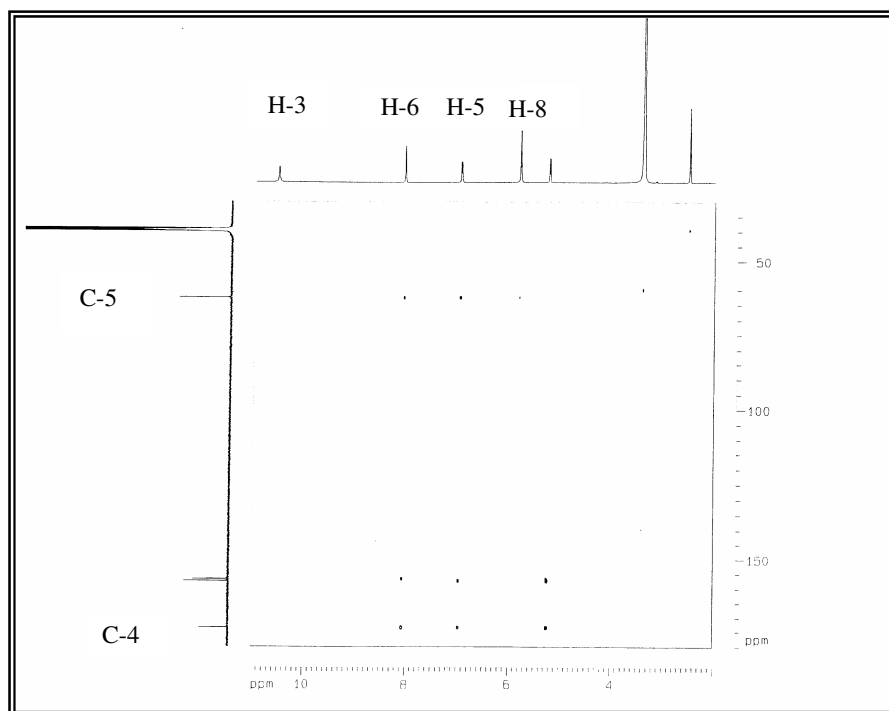
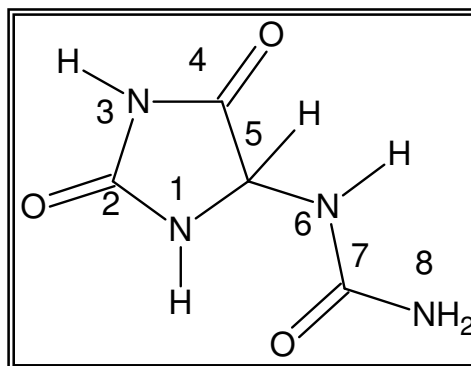


Figura 37: Espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC [500 e 125 MHz, DMSO] de PAR-04



3.1.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PAR-05

Após a obtenção do extrato etanólico das raízes de *P. alliaceae* [Item 5.4, pag. 76], o mesmo forneceu um precipitado que, após sucessivas lavagens com metanol, resultou num sólido solúvel em água e/ou dimetil sulfoxido [DMSO] e com p.f. 171,8-174,2 °C .

O espectro de RMN ¹H [Fig 38, pag. 60] revelou 9 sinais, sendo melhor visualizado suas multiplicidades pelo espectro expandido [Fig. 39 pag. 62], mostra dois dubletos, 5,3 (1H, d, J=3,6) e 4,1 (1H, d, J= 8,45), constantes relativas a acoplamentos de hidrogênio axial-equatorial e axial-axial, respectivamente; três tripletos, 3,93, 3,64 e 3,35 ppm (1H, J, 8,45 para ambos), relativos a hidrogênios de acoplamentos axial-axial, um duplo-dublete (dd) em 3,44 ppm (1H, J=3,7 e 9,9) constantes relativas de acoplamentos axial-equatorial e axial-axial respectivamente; os demais sinais são: dois multipletos em 3,70 e 3,78 ppm e um singlete em 3,55 ppm, referentes a carbonos sp³ oxigenado.

O espectro de RMN ¹³C-BB [Fig. 40, pag. 62] exibiu 12 linhas espectrais, 3 carbonos com deslocamentos químicos (61,70; 62,93 e 63,92 ppm), característicos de carbonos metilênicos oxigenados. Também exibiu 7 linhas espectrais na região de carbonos metínicos (CH) oxigenados entre 89,92-70,78 e dois sinais em 105,23 e 93,72 ppm, relativos a carbonos anoméricos.

O espectro de correlação homonuclear COSY [Fig. 41, pag. 63] revelam as correlação dos hidrogênios dos sinais [5,3 ppm (d) e 3,44 ppm (dd)], [3,64 ppm (t) com 3,44 ppm (dd) e 3,35 ppm (t)] e a correlação do tripleto [3,93 ppm com o duplete 4,1 ppm] e o multiplete em 3,38 ppm. Com o auxílio dos espectros de correlações heteronuclear HMQC [Fig. 42, pag 64] e de HMBC [Fig. 43 pag. 65], pôde-se relacionar a ligação dos hidrogênios com deslocamento em (δ) 5,2; 3,9; 3,7; 3,6; 3,4; 3,3 ppm com os carbonos com deslocamento (δ) em 92, 79, 75, 74, 72 e 70 ppm respectivamente.

Comparando o conjunto de dados fornecidos pelos dados espectrais acima citados com os dados da literatura, viu-se que se o composto PAR-05 se tratava da sacarose [BEHNKE 1993]. Este composto foi isolado desta espécie pela primeira vez, neste trabalho.

Tabela 9 - Dados de RMN bidimensional (HMQC e HMBC) de PAR-05

| H x ¹³ C-HMQC | | | H x ¹³ C - HMBC δ _{CH} ⁿ J | |
|--------------------------|----------------|--|---|------------------------------|
| # C | δ _C | δ _H | ² J _{CH} | ³ J _{CH} |
| 1 | 93,72 | 5,3 (d, J _{ax-eq} = 3,7) | H-2 | H-3 |
| 2 | 72,62 | 3,49(dd, J _{ax-ax} = 9,9; J _{ax-eq} = 3,7) | H-1, H-3 | H-4 |
| 3 | 74,13 | 3,64(t, J _{ax-ax} = 9,7) | H-2, H-4 | H-2, H-6 |
| 4 | 70,78 | 3,35(t, J _{ax-ax} = 9,45) | H-5, H-3 | H-6 |
| 5 | 73,95 | 3,77 (m) | H-4, H-6 | H-3 |
| 6 | 61,70 | 3,77 (m) | H-5 | H-4 |
| 1' | 62,93 | 3,55 (s) | - | H-3' |
| 2' | 105,23 | - | H-1', H-3' | H-4' |
| 3' | 82,92 | 4,09 (d, J _{ax-ax} = 8,75) | H-4' | H-1', H-5' |
| 4' | 75,57 | 3,93 (t, J _{ax-ax} = 8,55) | H-3', H-4' | H-6' |
| 5' | 78,92 | 3,76 (m) | H-4', H-6' | H-3' |
| 6' | 63,92 | 3,76 (m) | H-5' | H-4' |

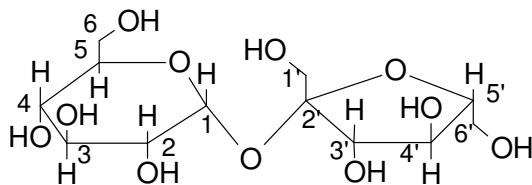
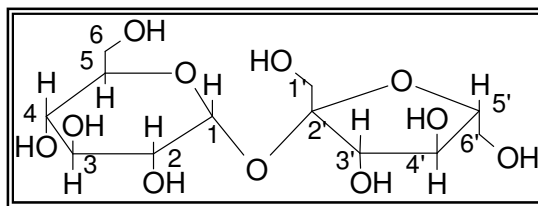


Tabela 10 - Dados comparados de RMN ¹³C de PAR-04 com os dados encontrados na literatura [BEHNKE,1993], para a sacarose.

| N° | #C | LITERATURA |
|----|--------|------------|
| 01 | 93,72 | 94,91 |
| 02 | 72,62 | 73,81 |
| 03 | 74,13 | 75,31 |
| 04 | 70,78 | 71,96 |
| 05 | 73,95 | 75,14 |
| 06 | 61,70 | 62, 88 |
| 1' | 62,93 | 64,10 |
| 2' | 105,23 | 106,41 |
| 3' | 82,92 | 84,11 |
| 4' | 75,57 | 76,73 |
| 5' | 78,92 | 79,15 |
| 6' | 63,92 | 65,12 |



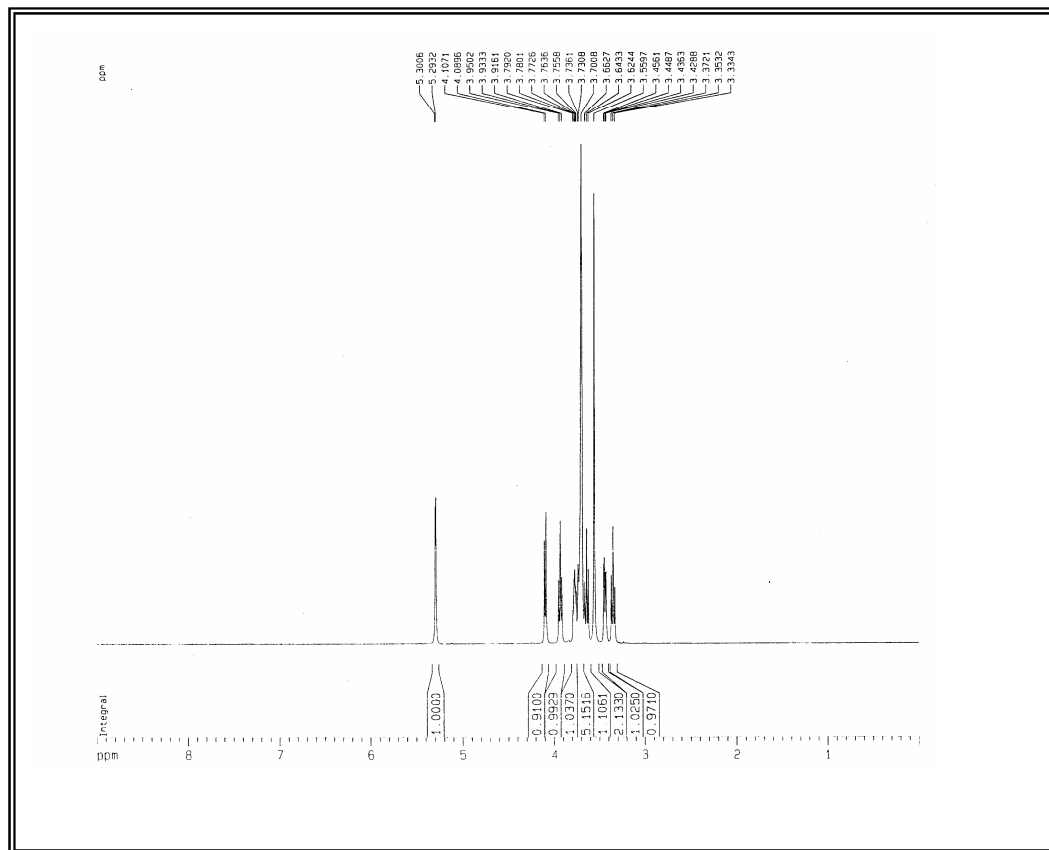
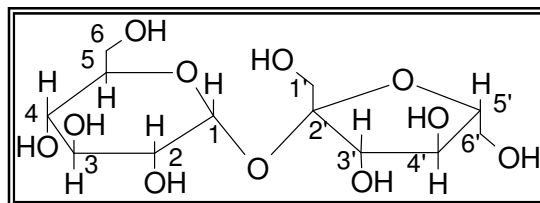


Figura 38: Espectro de RMN ^1H [500 MHz, D_2O] de PAR-05



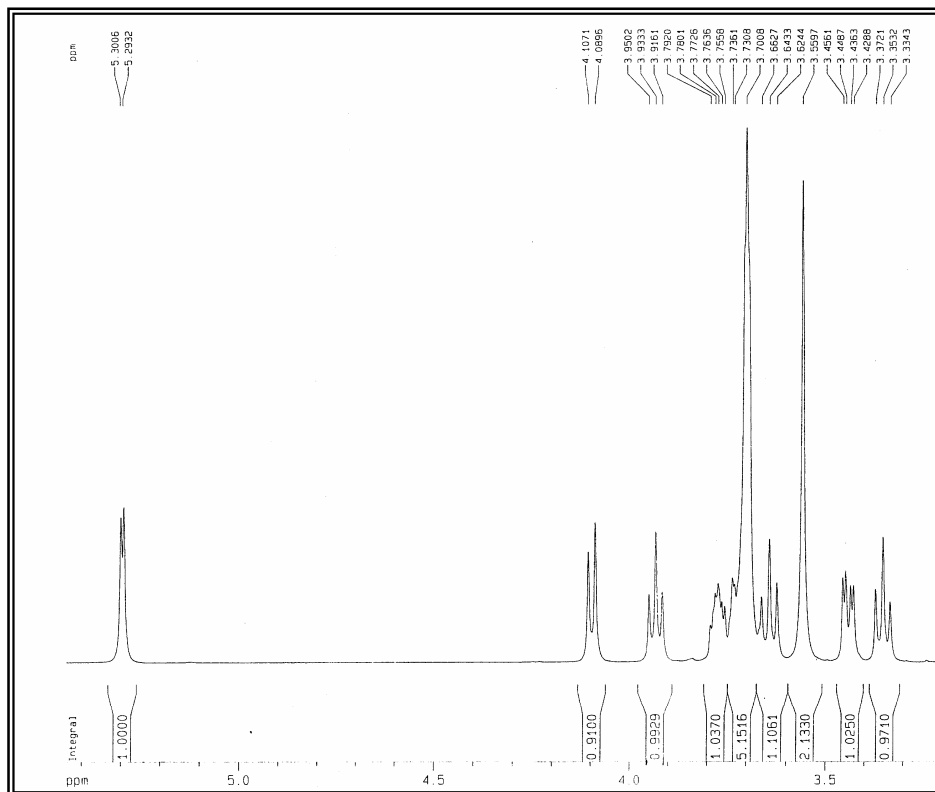
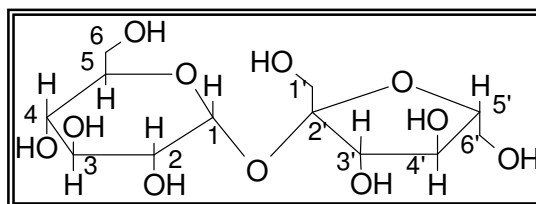


Figura 39: Espectro de expansão de RMN ^1H [500MHz, D_2O] de PAR-05



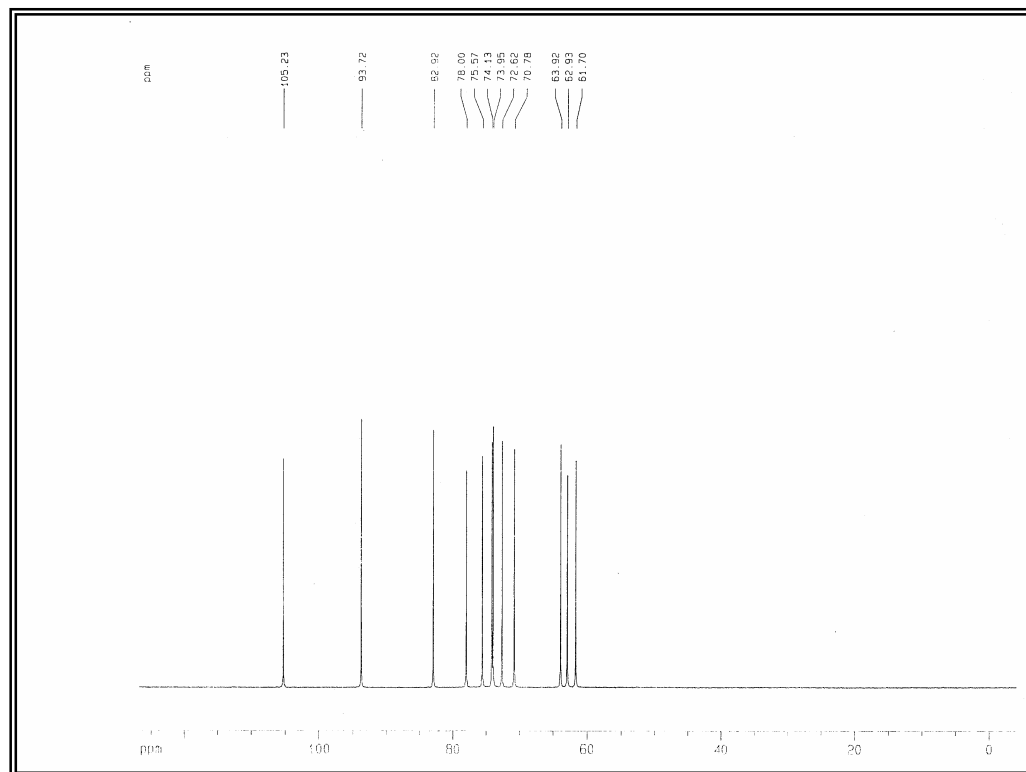
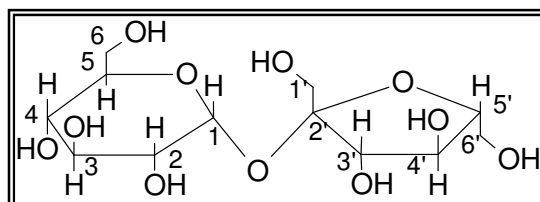


Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C BB [125 MHz, (D_2O)] de PAR-05



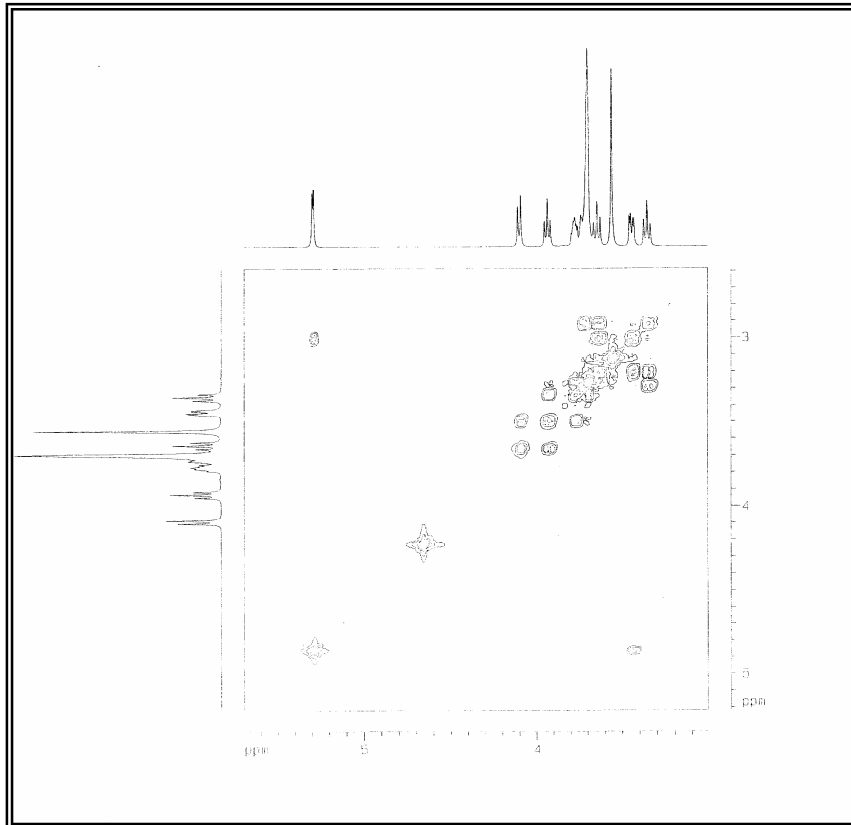
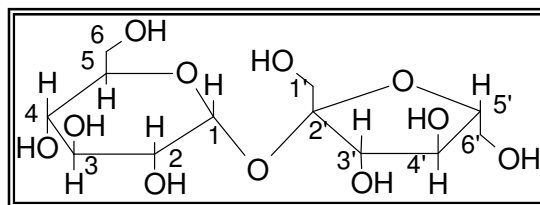


Figura 41: Espectro de correlação homonuclear COSY [500MHz, D₂O] de PAR-05



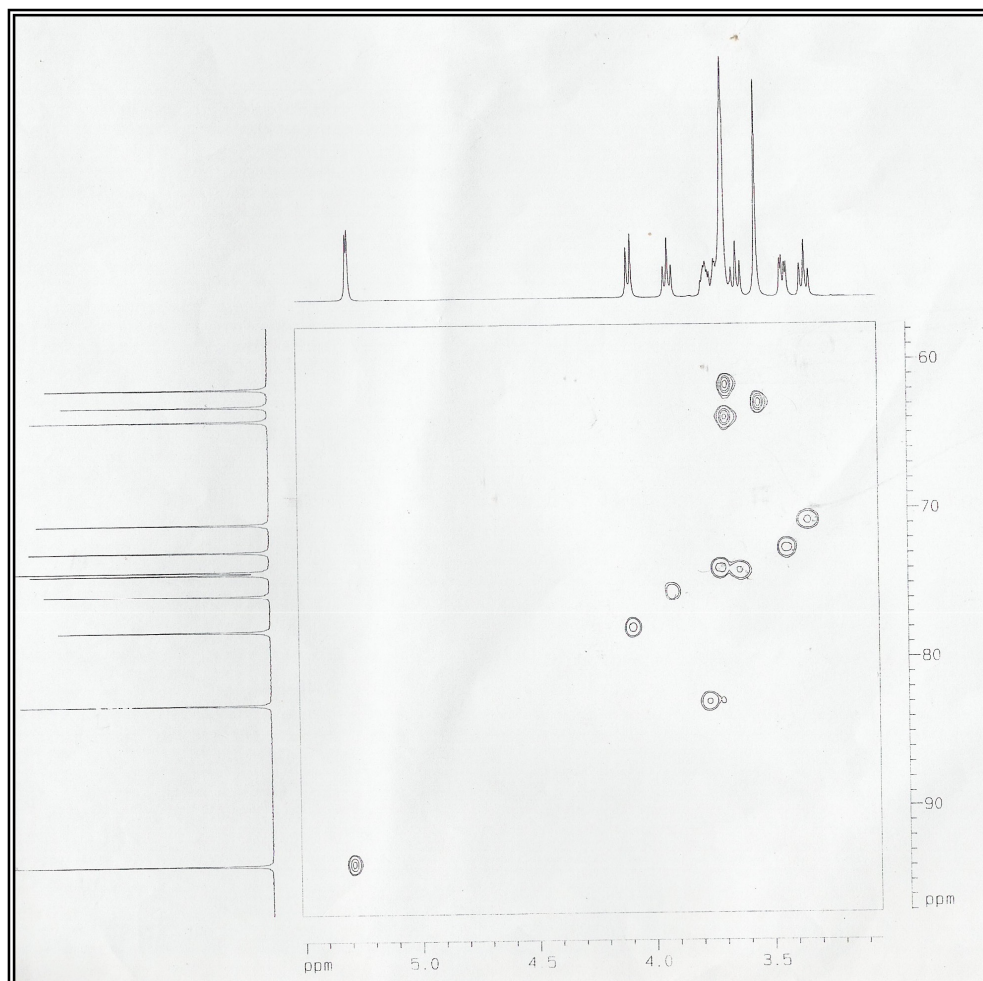
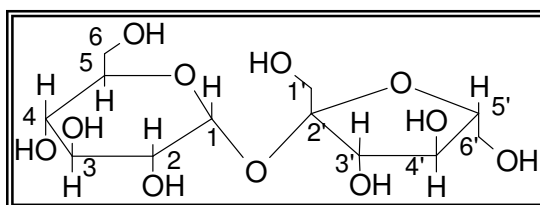


Figura 42: Espectro de correlação heteronuclear de HMQC [500, 125 MHz, D₂O] de PAR-05



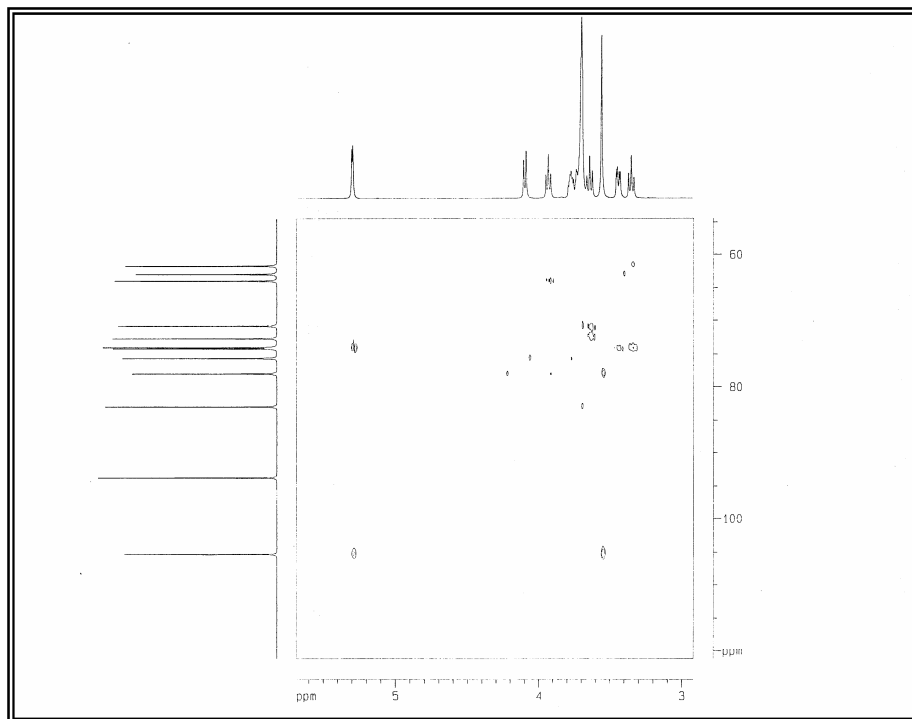
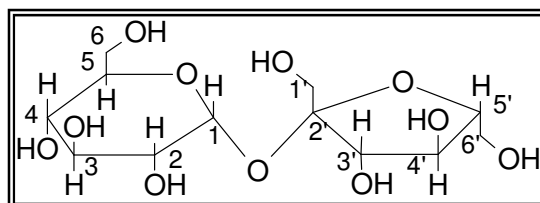


Figura 43: Espectro de correlação heteronuclear HMBC [500MHz, D₂O] de PAR-05





Capítulo 04

Atividade Biológica

4.1 ATIVIDADE BIOLÓGICA DAS RAÍZES DE *P. ALLIACEAE*

Neste capítulo relatam-se os resultados dos ensaios de atividade biológica do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* contra mosca branca (*Bemisia tabaci*, biótipo B), gorgulho (*Callosobruchus maculatus*) e de atividade contra larvas de *Meloidogyne incognita*. Os testes de atividade inseticida foram realizados sobre cultura de meloeiro e na semente do feijão-de-corda.

4.1.1 Mosca branca (*Bemisia tabaci*) biótipo B.

Os insetos conhecidos como mosca-branca pertencem à Ordem Hemiptera, a qual inclui, aproximadamente, 126 gêneros e 1156 espécies. Dentre os gêneros mais importantes, destacam-se: *Bemisia*, *Aleurothrixus*, *Trialeurodes*, *Dialeurodes* e *Aleurodicus*. Atualmente, o gênero *Bemisia* é o que apresenta maiores problemas para a agricultura, com 37 espécies conhecidas. A espécie *Bemisia tabaci* é cosmopolita, originária do sul da Ásia, provavelmente da Índia ou Paquistão [SOUSA, 2000].

Estes insetos são considerados pragas de importância econômica por atuarem como vetores de viroses. Segundo COSTA et al.,[1973], em 1963, vinte e cinco viroses tinham como vetor a mosca *B. tabaci*. Já são conhecidas 70 diferentes viroses transmitidas pela mosca branca em todo o mundo. Para alguns pesquisadores, *B. tabaci* desenvolve-se em altas temperaturas, tem uma alta capacidade de adaptação em relação às mudanças climáticas e se multiplicam num grande número de hospedeiros. Em 1977, a ocorrência desta espécie foi registrada nos estados de: São Paulo, M. Gerais, Goiás, Paraná, Bahia, Pernambuco, Ceará, Mato Grosso, Rio G. do Norte, Tocantins, Rio de Janeiro e no Distrito Federal, tendo como principais hospedeiros: melão, tomate, abóbora, berinjela, brócolis, mandioca [SOUSA, 2000].

Com o objetivo de encontrar uma forma alternativa de controlar essa praga, a literatura revela que o óleo essencial de *Vanillosmopsis pohlii* foi testado, *in vivo*, em insetos adultos sobre folhas de meloeiros cultivados em casa de vegetação e mostrou que o óleo testado apresentou excelente ação inseticida nas concentrações de 2; 1; 0,5; 0,25 g/L [De ANDRADE, et al., 2004].

4.1.2 Resultados obtidos dos testes de atividade inseticida do óleo essencial das raízes contra a mosca branca (*Bemisia tabaci*)

Foi avaliada a atividade inseticida do óleo essencial das raízes do Tipi, coletadas no Horto de Plantas Medicinais, contra a mosca branca. O teste foi realizado com o óleo diluído em diferentes concentrações. Cada concentração (tratamento) foi submetida à avaliação em quatro repetições (R). Para cada teste, foram avaliados os resultados (mortalidades) em intervalos de 24h durante 72 horas e comparado com os resultados da testemunhas (água), medindo-se o percentual médio de moscas mortas neste intervalo de tempo. Ver tabelas abaixo.

Tabela 11 – Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* sobre adultos de *Bemisia tabaci*.

| Tratamento | Concentração | Número de moscas mortas após 72h | | | | |
|------------|--------------|----------------------------------|----|----|----|---------|
| | | R1 | R2 | R3 | R4 | % MÉDIO |
| OETipi | 2,00g/L | 10 | 9 | 10 | 10 | 97,5 |
| OETipi | 1.00g/L | 10 | 10 | 10 | 9 | 97,5 |
| OETipi | 0,50g/L | 10 | 7 | 10 | 9 | 90,0 |
| OETipi | 0,25g/L | 10 | 10 | 10 | 10 | 100,0 |
| DMSO 2% | | 2 | 5 | 3 | 6 | 40,0 |
| Testemunha | | 6 | 10 | 2 | 1 | 47,5 |

R1, R2, R3, R4 =Número de repetições.

OE Tipi = Óleo Essencial do Tipi

% MÉDIO = Percentagem média de mortalidade

Testemunha = Água destilada

Tabela 12 – Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* em função do número de ovos postos de *B. tabaci*

| Tratamento | Concentração | Número de ovos postos após 72h | | | | |
|------------|--------------|--------------------------------|----|----|----|-------------|
| | | R1 | R2 | R3 | R4 | MÉDIA |
| OETipi | 2,00 g/L | 3 | 3 | 1 | 7 | 3,5 |
| OETipi | 1,00 g/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,0 |
| OETipi | 0,50 g/L | 0 | 12 | 0 | 2 | 3,5 |
| OETipi | 0,25 g/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,0 |
| DMSO 2% | | 109 | 23 | 16 | 63 | 52,7 |
| Testemunha | | 59 | 0 | 78 | 35 | 43 |

R1, R2, R3, R4 = Número de repetições

OETipi = Óleo Essencial do Tipi

MÉDIA = média de ovos postos.

Testemunha = Água destilada

O óleo essencial das raízes do tipi foi diluído em diferentes concentrações para avaliação de sua atividade inseticida contra a mosca branca. O óleo apresentou excelente atividade inseticida em todas as concentrações. O mesmo aconteceu para avaliação da oviposição. Diante dos resultados, foram realizados novos testes utilizando o composto majoritário do óleo, benzaldeído.

Tabela 13 – Avaliação da atividade inseticida do benzaldeído sobre adulto de *Bemisia tabaci*

| Tratamento | Concentração | Número de moscas mortas após 72h | | | | | | | | |
|-------------|--------------|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|--------------|
| | | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | % MÉDIO |
| Benzaldeído | 1g/L | 7 | 9 | 10 | 8 | 9 | 8 | 9 | 9 | 86,25 |
| DMSO 2% | | 7 | 7 | 2 | 3 | 7 | 8 | 4 | 7 | 56,25 |
| Testemunha | | 0 | 5 | 0 | 0 | 4 | 4 | 8 | 9 | 37,50 |

R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 = Número de repetições

OETipi = Óleo Essencial do Tipi

% MÉDIO = Percentagem média de mortalidade.

Testemunha = Água destilada

Tabela 14 – Avaliação da atividade inseticida do benzaldeído sobre o número de ovos postos de *B. tabaci*

| Tratamento | Concentração | Número de ovos postos após 72h | | | | | | | | |
|-------------|--------------|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| | | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | MÉDIA |
| Benzaldeído | 1g/L | 26 | 5 | 0 | 20 | 57 | 52 | 17 | 2 | 22,38 |
| DMSO 2% | | 63 | 5 | 29 | 41 | 50 | 6 | 5 | 8 | 25,88 |
| Testemunha | | 116 | 50 | 100 | 152 | 113 | 51 | 52 | 21 | 81,88 |

R1, R2, R3, R4 = Número de repetições

OETipi = Óleo Essencial do Tipi

MÉDIA = média de ovos postos

Testemunha = Água destilada

Diante dos resultados mostrados nas tabelas 11 e 12 que revelaram consideráveis índices de mortalidade dos insetos “mosca branca”, e como os estudos dos constituintes voláteis “capítulo 02” que mostrou o benzaldeído como “constituente majoritário” do óleo essencial. Quando foi testado nas mesmas condições e concentrações que o óleo essencial, tabela 13 e 14, observou-se que o benzaldeído também apresenta semelhança no índice de mortalidade dos inseticidas. Conclui-se, então, que tanto o benzaldeído quanto o óleo essencial encerram atividade inseticida contra a mosca branca, insetos que tem causado grandes prejuízos aos agricultores.

4.2 Gorgulho-do-feijão de corda (*Callosobruchus maculatus*).

Callosobruchus maculatus, o gorgulho do feijão-de-corda, vem causando perdas quantitativa e qualitativa, manifestada por meio de perfuração da semente e causando redução do peso e diminuindo a capacidade de germinação da mesma. É um outro tipo de inseto que vem ocasionando grandes prejuízos aos produtores de feijão. Tem aproximadamente 3 mm de comprimento, apresentando nos élitros manchas amarronzadas que, em repouso, formam um "X"; vivem cerca de 5 a 8 dias. As fêmeas põem em média 80 ovos nas superfícies dos grãos. Ao eclodirem, as larvas penetram na semente, alimentando-se do conteúdo interno. Dentro dos grãos transforma-se em pupa e, após a emergência, o adulto perfura um orifício de saída; fora dos grãos, reiniciam o ciclo biológico.

De acordo com PASCUAL-VILLALOBOS [2003], que realizou testes com o óleo essencial *Ocimum basilicum*, coletados em dezoito locais diferentes, apenas 10 apresentaram atividades contra o *Callosobruchus maculatus*. Através da análise dos constituintes voláteis, verificou-se que esses óleos que apresentaram atividades continham metil chavicol ou eugenol.

4.2.1 Atividade inseticida do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* sobre *Callosobruchus maculatus*.

A avaliação da atividade inseticida contra o gorgulho foi realizada com insetos adultos de 24h de idade; utilizaram-se seis insetos para cada tratamento. Os testes foram realizados em quatro repetições (R). O óleo foi aplicado em 100, 50 e 10 µL e os testes foram avaliados após 24 horas da aplicação. O resultado foi obtido através da contagem dos insetos mortos e expresso em percentagem.

Tabela 15 - Número de insetos mortos 24h após aplicação do óleo essencial das raízes da *P. alliaceae*.

| Tratamento | Número de insetos mortos 24h após aplicação | | | | | |
|------------|---|----|----|----|----|---------|
| | Volume (µL) | R1 | R2 | R3 | R4 | %M. I M |
| OETipi | 100 | 6 | 6 | 6 | 6 | 100 |
| OETipi | 50 | 6 | 6 | 6 | 6 | 100 |
| OETipi | 10 | 1 | 1 | 1 | 1 | 16,6 |
| CONTROLE | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

R1, R2, R3, R4 = Número de repetições;

%M.I.M.= Percentual médio de insetos mortos

%MEDIO= Percentual médio de insetos mortos

OETipi = Óleo Essencial do Tipi.

CONTROLE = Sementes selecionadas (ausência de insetos)

Como pôde ser observado, nos volumes de 50 e 100 µl do óleo essencial das raízes de tipi quando aplicadas sobre o gorgulho, causaram 100% de mortalidades dos insetos. O volume de 10 µl, no entanto, não foi suficientemente letal, haja vista que matou apenas 16,6% dos insetos após 24 h. Portanto, o óleo no volume de 50 microlitros apresentou-se como potente agente inseticida, contra gorgulho do feijão de corda.

4.3 Nematóides (*Meloidogyne incognita*)

Os nematóides são organismos alongados e afilados em ambos as extremidades, representando um dos grupos de animais mais numerosos da terra. Acredita-se que existem cerca de 500.000 espécies de nematóides, podendo ser encontrados desde regiões extremamente frias até regiões de deserto. Os nematóides causam enormes danos a diversas culturas, ocasionando grandes perdas na produção agrícola. Conseqüentemente, o controle desses patógenos é vital para a exploração agrícola comercial, o qual pode ser feito com o uso de nematicidas sintéticos, resultantes da indústria petroquímica. Essas substâncias podem contaminar águas subterrâneas, intoxicar agricultores ou deixar resíduos em alimentos, o que tem ensejado a pesquisa sobre o uso de moléculas menos nocivas ao homem e ao ambiente [GONÇALVES, 2003].

O *Meloidogyne incognita* está sendo considerado como o nematóide que causa maiores prejuízos à cafeicultura; além disso foi também constatado que este nematóide é problema em inúmeras outras culturas como: tomate, abóbora, algodão, feijão, trigo, etc. Foram descobertas entre 4 - 5 espécies deste nematóide. Plantas atacadas por nematóides são

caracterizadas pelo baixo vigor e pouco desenvolvimento da parte aérea. Estes sintomas são reflexos típicos da presença de galhas e de massas de ovos nas raízes.

As raízes infectadas por nematóides apresentam-se engrossadas, com rachaduras e aspecto de cortiça. Esse sintoma aparece ao longo das raízes, intercalado com partes sadias. Os nematóides sobrevivem melhor em regiões com temperatura de solo acima de 28°C. *M. arenaria* é muito comum em locais com solos arenosos; *M. hapla* é mais encontrado em clima ameno e tolera temperatura de solo abaixo de 12°C; *M. incognita* e *M. javanica* são mais cosmopolitas e são bem adaptados às diferentes condições climáticas brasileiras. A espécie de maior importância é *M. incognita* que, pela agressividade dos ataques, ocasiona redução na produção e muitas vezes a morte das plantas.

PONTE [1997] realizou testes preliminares contra *M. incognita* utilizando o chá das raízes de *P. alliaceae* no tomateiro infestado em casa de vegetação, mostrando excelente atividade nematotóxica.

Outros ensaios foram realizados contra o nematóide *M. incognita*, sendo que, foi utilizado o óleo essencial das folhas de *Lippia Alba* em juvenis de 2º instar, *in vitro*, encerrando atividade nematicida do mesmo [GONÇALVES, 2003].

4.3.1 Testes de atividade nematicida do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* contra *M. incognita*.

Para ensaios nematicidas preliminares utilizou-se o óleo essencial das raízes de *P. alliaceae*, coletada na comunidade de Canafístula-CE e no Horto de Plantas Medicinais do Pici. Foram diluídos em solução de H₂O/DMSO 2% nas concentrações de 0,25 0,1 e 0,05 g/L e avaliados durante 72h. Para cada tratamento (concentração) fizeram-se quatro repetições (R). A cada 24h avaliou-se o número de larvas mortas em cada tratamento. Foram realizados os ensaios com os óleos separadamente, oriundo da Canafístula e do Horto, e nas mesmas concentrações, observou-se o mesmo número de mortalidade em cada óleo. Por isso, foram descritos neste trabalho apenas os resultados do óleo obtido do Horto de Plantas Medicinais, por apresentar apenas quatro compostos em sua composição química.

Tabela 16 – Avaliação da atividade nematicida do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* coletado no Horto de Plantas Medicinais.

| Concentração g/L | % Juvenis Mortos de <i>Meloidogyne incognita</i> | | | | |
|------------------|--|-----------|-----------|-----------|---------------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | %MÉDIO |
| 0,25 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 0,1 | 99 | 99 | 97 | 97 | 98 |
| 0,05 | 30 | 28 | 27 | 29 | 28 |
| DMSO 2% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

R1, R2, R3, R4 = Número de repetições;
%MÉDIO: Percentual médio de larvas mortas

Diante dos resultados expostos na tabela 16, concluímos que o óleo essencial de *P. alliaceae* é um nematicida promissor para o combate desta espécie de nematóides, pois apresentou-se bastante ativo contra as larvas de *M. incognita* na concentração de 0,1g/L. Os resultados obtidos possibilitaram a realização de novos ensaios. Através da análise do óleo por CG/EM após 30 dias da extração, constatou-se que apenas dois compostos estavam presentes no óleo, o dissulfeto de dibenzila e *trans*-estilbeno. Foram realizados novos testes nematicida nas mesmas concentrações do teste anterior, mas desta vez o óleo mostrou-se inativo diante das larvas de *M. incognita*.

Tabela 17 - Teste de atividade nematicida do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* 30 dias após a extração.

| Concentração g/L | % Juvenis Mortos de <i>Meloidigyne incognita</i> | | | | |
|------------------|--|-----------|-----------|-----------|---------------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | %MÉDIO |
| 0,25 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1,25 |
| 0,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Água destilada | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| DMSO 2% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

R1, R2, R3, R4 = Número de repetições;
%MÉDIO: Percentual médio de larvas mortas

R = Número de repetições

Observa-se que resultado do teste com o óleo após 30 dias, não confere seu alto índice de mortalidade apresentada no teste anterior. Revelando assim que a atividade nematicida do óleo está relacionada a constituintes benzaldeído e/ou cinamaldeído. Constituintes que volatilizaram com o tempo.

Tabela 18 - Atividade nematocida dos constituintes isolados do óleo essencial do tipi na concentração de 0,5 g/L

| Substâncias | % Junenis mortas de <i>Meloidogyne incognita</i> | | | | |
|-------------------------|--|-------|-------|-------|--------|
| | R1 | R2 | R3 | R4 | %MÉDIO |
| Benzaldeído | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| Cinamaldeído | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| <i>Trans</i> -estilbeno | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 0,25 |
| Dissulfeto de dibenzila | 0,0 | 1,0 | 2,0 | 0,0 | 0,75 |
| DMSO % | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |

%MÉDIO: Percentual médio de larvas mortas

R = Número de repetições

Os testes realizados com os constituintes químicos do óleo mostraram que o benzaldeído e cinamaldeído causaram mortalidades de 100% na concentração de 0,5 g/L, confirmando a inatividade dos outros dois.

O óleo da planta coletada na localidade de Canafístula apresentou atividade semelhante à atividade do óleo das raízes coletada no Horto de Plantas Medicinais. Baseado nos cromatograma dos óleos essenciais extraídos das raízes, constatou-se que o cinamaldeído esteve presente apenas no óleo obtido no Horto de Plantas Medicinais [Tabela 2, pag. 17]. Baseado nos ensaios de atividade nematocida do óleo essencial e das substâncias isoladas, obteve-se excelente índice de mortalidade provocada pelo óleo, benzaldeído e cinamaldeído. O óleo essencial das raízes do Tipi coletado na localidade de Canafístula (sem o cinamaldeído) apresentou atividade nematocida semelhante a do Horto e os testes foram realizados nas mesmas concentrações. Comparando os índices de mortalidade causada pelas substâncias isoladas e dos óleos essenciais foi possível à identificação do benzaldeído como princípio ativo do óleo essencial diante desta espécie de nematóides.



Capítulo 05

Parte Experimental

5.1 MATERIAL BOTÂNICO

5.1.1 RAÍZES

Raízes de *P. alliaceae* foram coletadas na Serra de Maranguape, Horto de Plantas Medicinais Professor Francisco Jose de Abreu Matos no Campus do Pici, Universidade Federal do Ceará e na localidade de Canafístula município de Apuiarés-Ceará. A identificação botânica foi feita por Manoel Andrade Neto, professor de química da Universidade Federal do Ceará e a exsiccata sob o número 35577 encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da mesma .

5.2 METODO DE ANÁLISE

Na cromatografia de adsorção em coluna, foi empregado como fase estacionária gel de sílica 60 (Φ 0,063 – 0,200/ Merck) e na cromatografia em camada delgada (CCD), utilizou-se como fase estacionária gel de sílica 60 F₂₅₄ (Merck). No auxílio a purificação das substâncias isoladas foi utilizado a técnica cromatográfica de peneiramento por exclusão molecular utilizando como suporte o gel de dextrano sephadex LH – 20. Como fase móvel foram utilizados os seguintes eluentes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puro ou como mistura binária de eluição por gradiente. O diâmetro e o comprimento das colunas utilizadas variaram de acordo com a quantidade de sílica-gel empregada e do material a ser cromatografado. Na cromatografia líquido-líquido, partição, foram utilizados os seguintes solventes: hexano, acetato de etila e etanol.

As substâncias analisadas em cromatoplasmas foram reveladas em exposição à luz UV (radiação ultravioleta) em 254, 312 e 365 nm, obtidos por lâmpada modelo UVSL-25 da Mineral Light, e por borrifação da solução vanilina (C₈H₈O₃) / ácido perclórico (HClO₄)/ etanol (C₂H₆O), seguido de aquecimento em estufa a 100°C por 5 a 10 minutos.

5.3 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

5.3.1 Espectroscopia na região de Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, em espectrômetro PERKIN-ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000. utilizou-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) para a análise das amostras sólidas e filme em pastilhas de cloreto de sódio (NaCl) para amostras líquidas.

5.3.2 Espectrometria de Massa (EM)

Os espectros de massa das substâncias isoladas do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* foram obtidos em espectrômetro de massa Hewlett-Packard, modelo Hp-5971 A, acoplado a cromatógrafo de gás-líquido, modelo Hp-5890 A série II (CG/EM), provido de coluna capilar DB-5 dimetilpolisiloxano (30m x 0,25mm id), utilizando um gradiente de aumento de temperatura de 4°C/min. De 180-200°C.

5.3.3 Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN¹H) e Carbono – 13 (RMN ¹³C).

Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C unidimensionais e bidimensionais foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 e DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica (DQOI) da Universidade Federal do Ceará, operando, nas frequências, de 300 e 500 MHz para hidrogênio-1 e 75MHz e 125 MHz para carbono – 13.

As amostras foram dissolvidas nos seguintes solventes deuterados: dimetil sulfóxido [(CD₃)₂SO], clorofórmio (CDCl₃) e água (D₂O). Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciado para RMN ¹H pelo pico de hidrogênio pertencente a fração não-deuterada do solvente: dimetilsulfoxido δ 2,5; clorofórmio δ 7,27. Para RMN ¹³C, o padrão foi sinal do carbono-13 em δ 39,78 para o dimetilssulfóxido, em δ 77,23 para o clorofórmio.

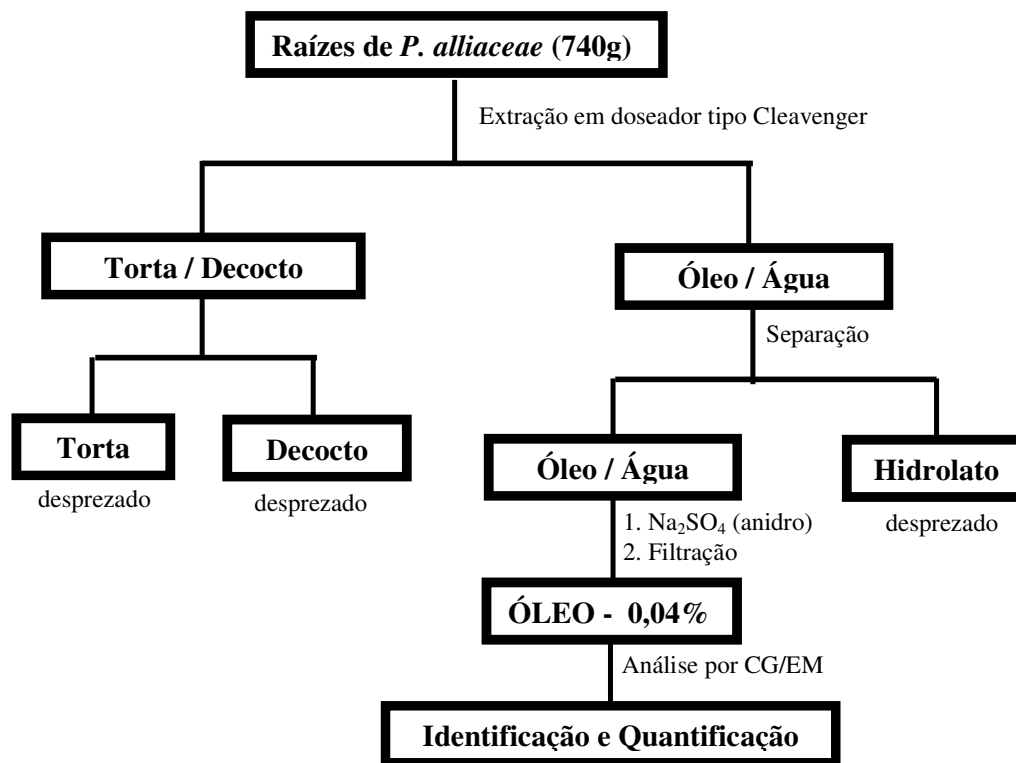
As multiplicidades dos sinais em RMN ¹H foram indicadas seguindo a convenção: s (singleto), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (triplete), m (multipeto). O padrão de

hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C foi determinado através da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulo de nutação de 135° , (CH e CH_3 com amplitudes em oposição aos CH_2) e foi discutido segundo a convenção: C (não-hidrogenado), CH (carbono metínico) CH_2 (carbono metilênico). Os carbonos não-hidrogenados foram caracterizados pela subtração do espectro DEPT 135° pelo HBBD (Hydrogen Broad Band Decoupled).

5.4 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES DE *PETIVERIA ALLIACEAE*.

O óleo essencial de *P. alliaceae* foi obtido empregando o processo de hidrodestilação em doseador tipo Cleavenger, utilizando 740g de raízes coletadas no Horto de plantas medicinais. As raízes de *P. alliaceae* recém coletadas foram colocadas num balão de vidro de 5L, juntamente com 2L de água e mantido por 3h três horas em ebulição. Após este período, a mistura água/óleo armazenada no doseador foi coletada num frasco limpo e, com o auxílio de uma pipeta, foi retirada a água; o óleo coletado, foi tratado com sulfato de sódio anidro e filtrado, fornecendo 0,8mL do óleo (0,04%). Os óleos essenciais obtidos foram analisados em CG/EM e o resultado da identificação dos constituintes químicos encontram-se na Tabela 02, p.17.

Fluxograma 01: Obtenção dos constituintes voláteis das raízes de *P. alliaceae*

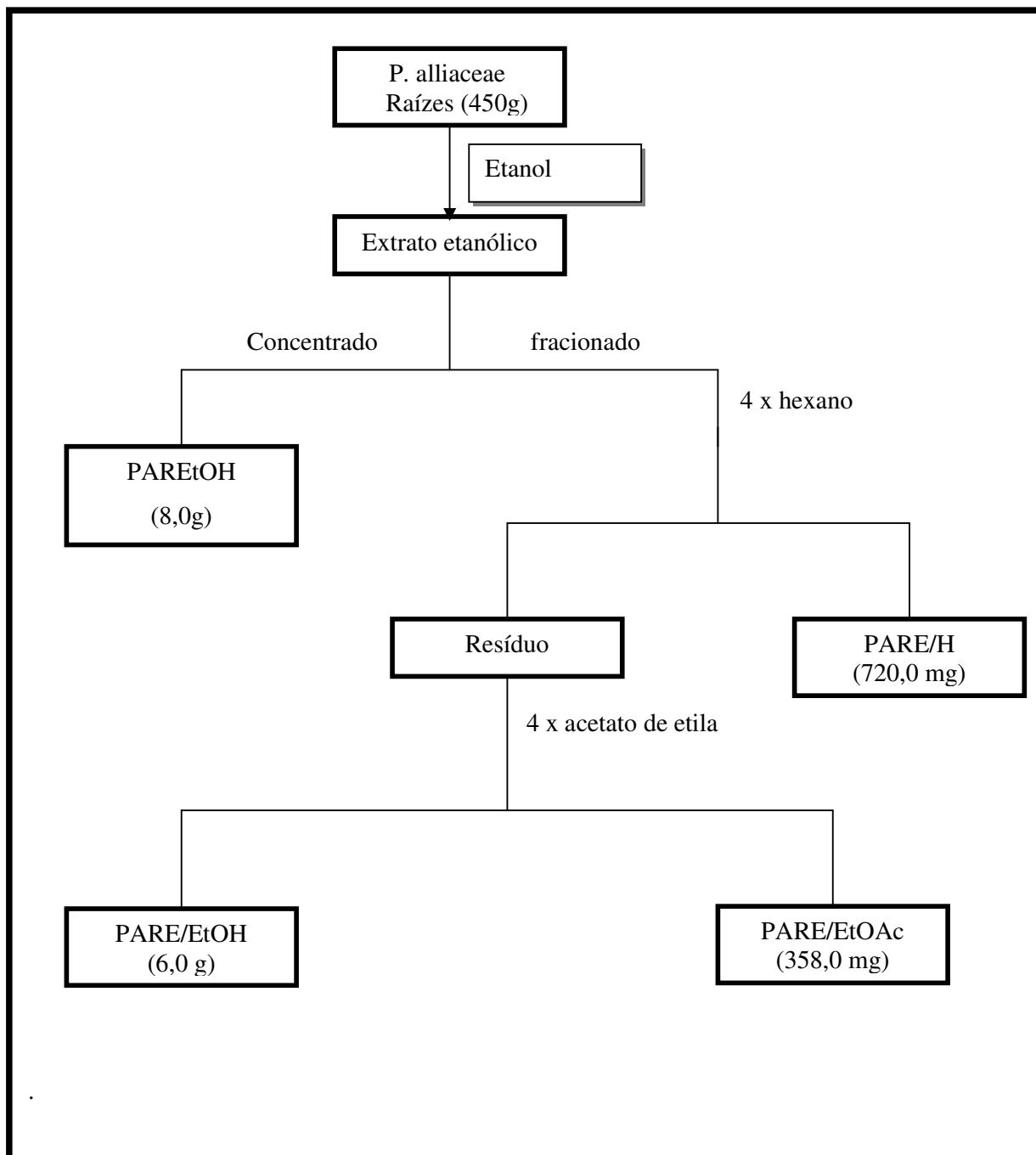


5.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DAS RAÍZES DA *P. ALLIACEAE*

5.5

450g das raízes da *P. alliaceae*, coletadas na Serra de Maranguape, foram secadas e trituradas, sendo em seguida submetidas a extração com etanol bruto à temperatura ambiente. O solvente foi trocado 4 vezes em um intervalo de 24h entre cada troca. Em seguida foram reunidos e destilados à aproximadamente dois terços do volume total sob pressão reduzida. A solução restante foi dividida em duas partes, uma foi submetida à partição com hexano, acetato de etila, sendo em seguida evaporada sob pressão reduzida, gerando assim as frações PARE/H 720 mg, PARE/EtOAc 358 mg e PARE/EtOH 6 g (Fluxograma 02, pag. 78). A outra metade foi evaporada sob pressão reduzida, fornecendo 8g do extrato etanólico bruto denominado PAREtOH.

Fluxograma 02: Obtenção dos extratos das raízes de *P. alliaceae*



5.6 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO.

5.6.1 Cromatografia de PARE/H

720mg de PARE/H foram misturados à gel de sílica, pulverizados em grau de porcelana e acondicionados sobre uma coluna de (Φ 1,5cm, h = 16cm), pré-empacotada com gel de sílica sucessivas eluições com hexano, acetato de etila e metanol, puros e em misturas binárias com escala crescente de polaridade, forneceu 71 frações de 10mL cada. As frações entre F1 e F71 foram coletadas com volume de 10 mL, F72 e F73 com 50mL.

Tabela 19 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de PARE/H

| FRAÇÕES | | ELUENTE | |
|---------|---------|------------|------|
| PARE/H | 1 – 3 | HEX. | 100% |
| PARE/H | 4 – 6 | HEX./EtOAc | 05% |
| PARE/H | 7 – 33 | HEX./EtOAc | 15% |
| PARE/H | 34 – 47 | HEX./EtOAc | 30% |
| PARE/H | 48 – 59 | HEX./EtOAc | 50% |
| PARE/H | 60 -71 | HEX./EtOAc | 80% |
| PARE/H | 72 | EtOAc | 100% |
| PARE/H | 73 | MeOH | 100% |

Tabela 20 - Junção das frações da coluna de PARE/H que apresentaram Rfs semelhantes

| FRAÇÃO | SIGLA | PESO (g) |
|---------------|--------------|-----------------|
| 1-4 | PARE/HF1 | 11,2 |
| 5-6 | PARE/HF2 | 205,2 |
| 7 | PARE/HF3 | 55,4 |
| 8-15 | PARE/HF4 | 3,5 |
| 16-22 | PARE/HF5 | 80,2 |
| 23-28 | PARE/HF6 | 22,2 |
| 29-42 | PARE/HF7 | 31,8 |
| 43-52 | PARE/HF8 | 11,4 |
| 53-57 | PARE/HF9 | 10,5 |
| 58-64 | PARE/HF11 | - |
| 65-67 | PARE/HF12 | 26,5 |
| 68-73 | PARE/HF13 | 22,0 |

A fração PARE/H, após sucessivas cromatografias, possibilitou o isolamento de uma substância PAR-01. As frações coletadas (10mL) foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com suas semelhanças, obtendo-se 12 grupos.

5.6.2 Fracionamento de PARE/HF2

A fração PARE/HF2, apresentou-se na forma de óleo de cor amarela. O mesmo foi submetido a uma nova cromatografia, utilizando os seguintes eluentes: hexano, clorofórmio e acetato de etila, puros ou como mistura binária em gradiente crescente de polaridade. Obteve-se 21 frações com volumes de 10 mL.

Tabela 21 - Dados referentes ao tratamento cromatográfico da fração PARE/HF2.

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|----------------|---------------------------|
| 1-2 | Hexano 100% |
| 3-13 | Hex/CHCl ₃ 50% |
| 14-19 | CHCl ₃ 100% |
| 20-21 | Acetato de etila |

Tabela 22 - Junção das frações segundo a semelhança dos seus Rfs .

| NUMERO | FRAÇÃO | SIGLA | PESO (mg) |
|--------|--------|------------|-----------|
| 1 | 1-2 | PARE/HF2.1 | 34,3 |
| 2 | 3 | PARE/HF2.2 | 21,5 |
| 3 | 4 | PARE/HF2.3 | 12,2 |
| 4 | 5 | PARE/HF2.4 | 2,1 |
| 5 | 6 | PARE/HF2.5 | - |
| 6 | 7 | PARE/HF2.6 | - |
| 7 | 8-12 | PARE/HF2.7 | 29,2 |
| 8 | 13-14 | PARE/HF2.8 | 15,3 |
| 9 | 15-20 | PARE/F2.9 | 4,8 |
| 10 | 21 | PARE/F2.10 | 4,7 |

A fração PARE/HF2, após serem analisadas por CC e reunidas as frações pela sua semelhança de rf, destacou-se a fração denominada PARE/HF2.1 que tornou possível a obtenção de PAR-02 por meio de análise cromatográfica em camada delgada preparativa (CCDP).

5.6.3 Purificação da fração PARE/HF2.1 para a obtenção de PAR-02

Após a análise em CCD das frações, foi possível reunir as que apresentavam Rf semelhantes e em seguida evaporá-las à pressão atmosférica. A fração PARE/HF2.1 rendeu 34 mg; quando analisada em CCD observou-se a presença de duas manchas com Rfs distintos. Esta fração foi submetida a uma cromatografia em "CCDP" levando a obtenção de 26 mg de um líquido amarelo solúvel em clorofórmio, após a análise por espectrometria foi identificado como sendo o mesmo composto PAR – 02, isolado do óleo.

5.6.4 Cromatografia de PAR-OE

276 mg de óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* (PAR-OE) foram acondicionados sobre uma coluna de (Φ 1,5cm, h = 11cm), pré-empacotada com gel de sílica, realizando sucessivas eluições com hexano, clorofórmio e acetato de etila puros e em misturas binárias, com escala crescente de polaridade. Foram coletadas 106 frações de 3 mL cada e reunidas em frasquinhos pequenos.

Tabela 23 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de PAR-OE

| FRAÇÕES | ELUENTES |
|-----------|------------------------------|
| 1 – 29 | HEXANO 100% |
| 30 – 49 | HEX./CHCl ₃ 10% |
| 50 – 65 | HEX./CHCl ₃ 30% |
| 66 – 77 | HEX./CHCl ₃ 50% |
| 78 – 94 | CHCl ₃ 100% |
| 95 – 100 | CHCl ₃ /EtOAc 50% |
| 101 – 106 | EtOAc 100% |

Tabela 24 - Junção das frações da coluna de PAR-OE que apresentaram Rfs semelhantes

| FRAÇÕES | SIGLAS | PESOS |
|---------|----------|-------|
| 1 | PAR-OEF1 | 13,0 |
| 4-6 | PAR-OEF2 | 21,8 |
| 7-11 | PAR-OEF3 | 5,6 |
| 12-21 | PAR-OEF4 | 1,6 |
| 22-50 | PAR-OEF5 | 5,2 |
| 51-55 | PAR-OEF6 | 4,4 |
| 56-106 | PAR-OEF7 | 6,5 |

Da fração PAR-OEF1 obteve-se 13 mg de um sólido branco e solúvel em clorofórmio que foi denominado PAR-02.

5.6.5 Tratamento cromatográfico de PARE/EtOAc

358mg de PARE/EtOAc foram misturados em gel de sílica, pulverizado num grau de porcelana e acondicionados sobre uma coluna de (Φ 1,5cm, h = 16cm), pré-empacotada com gel de sílica. Após sucessivas eluições com hexano, acetato de etila e metanol puros e em misturas binárias, com escala crescente de polaridade foram coletadas 186 frações de 10ml cada.

Tabela 25 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de PARE/EtOAc

| FRAÇÕES | ELUENTE |
|-----------|-----------------|
| 1 – 22 | HEX./ 100% |
| 23 – 41 | HEX./EtOAc 10% |
| 42 – 53 | HEX./EtOAc 20% |
| 54 – 65 | HEX./EtOAc 30% |
| 66 – 77 | HEX./EtOAc 40% |
| 78 – 88 | HEX./EtOAc 50% |
| 89 – 98 | HEX./EtOAc 60% |
| 99 – 109 | HEX./EtOAc 70% |
| 110 – 114 | HEX./EtOAc 80% |
| 115 – 134 | EtOAc 100% |
| 135 – 145 | EtOAc./MeOH 10% |
| 146 – 152 | EtOAc./MeOH 20% |
| 153 – 158 | EtOAc./MeOH 30% |
| 159 – 163 | EtOAc./MeOH 40% |
| 164 – 169 | EtOAc./MeOH 50% |
| 170 – 174 | EtOAc./MeOH 60% |
| 175 – 186 | MeOH 100% |

Tabela 26 - Dados referente a junção das frações de PARE/EtOAc

| FRAÇÃO | SIGLA | PESO |
|---------------|----------------|-------------|
| 1-3 | PARE/ EtOAcF1 | - |
| 4-5 | PARE/ EtOAcF2 | 9,4 |
| 6 | PARE/ EtOAcF3 | 2,1 |
| 7-32 | PARE/ EtOAcF4 | 14,1 |
| 33-61 | PARE/ EtOAcF5 | 35 |
| 62-68 | PARE/ EtOAcF6 | 15,1 |
| 69-84 | PARE/ EtOAcF7 | - |
| 85-93 | PARE/ EtOAcF8 | 7,4 |
| 94-121 | PARE/ EtOAcF9 | 81,5 |
| 122-150 | PARE/ EtOAcF10 | - |
| 151-186 | PARE/ EtOAcF11 | - |

As frações foram reunidas através de análise em CCD e o solvente evaporado numa capela à temperatura ambiente. Na fração PARE/EtOAcF2 foi obtido 9,4 mg de um óleo amarelo solúvel em CDCl_3 , denominado PAR – 03.

5.6.6 Cromatografia do extrato etanólico (PARA/ETOH) das raízes de *P. alliaceae*

3,2g do PARE/EtOH foram misturados em gel de sílica, pulverizado num grau de porcelana e acondicionados sobre uma coluna de (Φ 1,5 cm, h = 16cm), pré-empacotada com gel de sílica. Após sucessivas eluições com hexano, acetato de etila e metanol puros e em misturas binárias, com escala crescente de polaridade, foram coletadas 70 frações de 10ml cada.

Tabela 27 - Tratamento cromatográfico de 3,2g do extrato etanólico (PARE/EtOH).

| Frações | Eluente |
|---------|--------------------|
| 1 | Hexano 100% |
| 2 | Hex/acet.10% |
| 3-28 | Hex/acet.50% |
| 29-48 | Acetato 100% |
| 49-66 | Acetato/etanol 50% |
| 67 | Etanol |
| 68-70 | Metanol |

Após comparação através de cromatografia em camada delgada (CCD), foram reunidas as frações que apresentaram fator de retenção semelhante como mostra a tabela 28. abaixo.

Tabela 28 - Dados referente a junção das frações do (PARE/EtOH)

| NÚMERO | FRAÇÕES | SIGLAS | PESO |
|--------|---------|----------|-------|
| 01 | 01 | PARE/F1 | 1,5 |
| 02 | 02 | PARE/F2 | - |
| 03 | 03 | PARE/F3 | 64,4 |
| 04 | 4-10 | PARE/F4 | 36,9 |
| 05 | 11-16 | PARE/F5 | 9,1 |
| 06 | 17-20 | PARE/F6 | 10,1 |
| 07 | 21-35 | PARA/F7 | 61,0 |
| 08 | 36-46 | PARE/F8 | 28,8 |
| 09 | 47-48 | PARE/F9 | 12,3 |
| 10 | 49 | PARE/F10 | 9,5 |
| 11 | 50-51 | PARE/F11 | - |
| 12 | 52 | PARE/F12 | 30,1 |
| 13 | 53-55 | PARE/F13 | 86,3 |
| 14 | 56-57 | PARE/F14 | 49,5 |
| 15 | 58-64 | PARE/F15 | 185,3 |
| 16 | 65 | PARE/F16 | 96 |
| 17 | 66 | PARE/F17 | 154,4 |
| 18 | 67 | PARE/18 | 383,1 |
| 19 | 68 | PARE/19 | 405 |
| 20 | 69-70 | PARE/F20 | 741,3 |

A fração PARE/F18 foi submetida à cromatografia em sephadex LH – 20, tendo metanol como fase móvel. Ela forneceu 13 mg de um sólido com ponto de fusão entre 297,6 – 301 e solúvel em dimetil sulfóxido que foi denominado de PAR – 04.

5.7 OBTENÇÃO DE PAR-05

O extrato etanólico bruto foi fracionado por meio de uma partição com hexano e acetato de etila; após o fracionamento, as mesmas foram concentradas e colocadas em frascos, limpos, tarados, e armazenado numa geladeira (8 – 10°C). Um dia após o armazenamento, observou-se a presença de precipitado na fração etanólica. Após sucessivas lavagens com metanol, obteve-se 900 mg de um sólido solúvel em água ou dimetil sulfoxido (DMSO), o qual foi denominado PAR-05

5.8 ENSAIOS DE ATIVIDADES INSETICIDA E NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES DE *P. ALLIACEAE*

As raízes de *P. alliaceae* foram coletadas em Canafístula, Maranguape e Horto de Planta Medicinai Francisco José de Abreu Matos no Campus do Pici. Partes das raízes foram destinadas para obtenção dos extratos; hexânico, acetato de etila e etanólico, o restante das raízes foram utilizadas para extração do óleo essencial, dos quais foram realizadas análises em CG/EM e identificados os constituintes químicos presentes. Duas substâncias foram testadas suas atividades biológicas a partir de amostras comerciais, benzaldeído e cinamalaldeído, e as outras duas, dibenzil dissulfeto e *trans*-estilbeno, compostos presentes no óleo obtido no Horto, foram isoladas por métodos cromatográficos, possibilitando assim o teste de atividade nematocida do óleo e de todas as substâncias presentes. Além do teste de atividade nematocida, realizou-se teste de atividade inseticida, contra a mosca branca (*Bemisia tabaci*) biotipo B e gorgulho do feijão-de-corda (*Callosobruchus maculatus*).

5.8.1 ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES DE *P. ALLIACEAE* CONTRA *B. TABACI* BIÓTIPO B

5.8.1.1 Origem da população de *Bemisia tabaci* biótipo B (mosca branca).

Os insetos que originaram a criação foram obtidos de um plantio de melão localizado na estação experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Paraipaba, CE. A colônia é mantida em plantas de meloeiro em uma casa de vegetação da EMBRAPA, no Campus do Pici, UFC.

5.8.1.2 Criação massal da mosca branca

Os vasos contendo as plantas foram colocados em gaiola de plásticos com dimensões de 35 cm de altura, 45 cm de comprimento e 32 cm de profundidade. As paredes laterais e a parte superior da gaiola foram revestidas por um tecido de malha fina conhecida como filó. Numa mesma gaiola foram mantidos vários vasos com plantas de idades diferentes a fim de manter a colônia com insetos em diferentes estágios de desenvolvimento. Na mesma casa de vegetação, foram mantidas plantas isentas de insetos, cujas folhas foram utilizadas nos testes *in vitro*.

5.8.1.3 Preparação das soluções

O óleo essencial obtido das raízes da *Petiveria alliaceae* foi diluído em uma solução de dimetil-sulfóxido (DMSO) 2% em diferentes concentrações. Da mesma forma foi preparado uma solução com o benzaldeído, composto majoritário do óleo essencial da *P. alliaceae*.

5.8.1.4 Ensaio de atividade inseticida.

Destacaram-se folhas com aproximadamente uma semana de idade e isentas de insetos. Em seguida, as soluções foram aplicadas na face abaxial destas folhas com auxílio de um pequeno pulverizador portátil e imediatamente seus pecíolos foram introduzidos individualmente em pequenos frascos de vidro com água destilada. Cada frasco contendo uma folha, foi em seguida, colocado no interior de um copo de acrílico transparente de 9,5 cm de altura 5 e 7 cm de diâmetro inferior e superior, respectivamente. Estes copos foram parcialmente cobertos com uma película de polietileno, deixando uma abertura por onde foram introduzidos os insetos adultos (10 em cada folha) o qual foi fechado logo após. Em seguida, foram mantidos numa incubadora tipo BOD a 25°C de temperatura e fotoperíodo de 14 horas. Os resultados foram analisados após 72 horas, considerando-se o número de insetos mortos e o número de ovos postos por folha.

5.8.2 ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES DE *P. ALLIACEAE* SOBRE O *CALLOSOBRUCHUS MACULATUS*

5.8.2.1 Origem dos insetos, *Callosobruchus maculatus*

O gorgulho do feijão-de-corda, *Callosobruchus maculatus*, utilizados nos ensaios, foi obtido de uma criação de insetos do laboratório do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. Todos os insetos utilizados nos ensaios tinham de 0 – 24h de idade sendo selecionado insetos machos e fêmeas.

Os insetos foram retirados dos frascos (viveiros) um dia antes do teste, os frascos são limpos para garantir que os insetos presentes no dia seguinte terão no máximo 24 h de vida.

O frasco utilizado para a testemunha não pode ser contaminado, não pode haver nenhum ovo ou larva do inseto, de modo a ser avaliado corretamente, pois no mesmo será colocada semente selecionada e averiguado a eclosão de algum inseto durante o período do teste.

5.8.2.2 Ensaios de atividade inseticida

Para a realização dos ensaios utilizaram-se potes de polipropileno com capacidade de 50mL com pequenos orifícios nas tampas. Colocou-se papel de filtro no fundo do pote com o mesmo diâmetro da parte inferior interna do pote. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta, colocou-se o óleo essencial no papel de filtro, posteriormente foi colocado uma tela com o mesmo tamanho do papel de filtro para evitar o contato direto das sementes com o papel embebido com o óleo essencial. Posteriormente, foram colocadas 200 sementes de feijão de corda devidamente selecionadas em cada pote, logo após a adição das sementes adicionaram-se três casais de insetos com idade entre 0 - 24h, em seguida o frasco foi tampado.

Os ensaios foram realizados com quatro tratamentos e quatro repetições cada. Utilizaram-se quatro tratamentos, variando-se os volumes 100, 50 e 10µL e para o controle foram utilizadas sementes isentas de insetos.

5.8.3 ATIVIDADE NEMATICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES DE *P. ALLIACEAE* CONTRA *M. INCOGNITA*

5.8.3.1 Obtenção de Juvenis de *M. incognita*.

Foram coletadas raízes de tomateiro infestadas com nematóides, juvenis de *M. incognita*. Em seguida, as massas de ovos foram extraídas de forma manual e postas à temperatura de 25°C, durante 24h para que houvesse a eclosão dos juvenis. Após a eclosão, as larvas de juvenis de *M. incognita* foram submetidas aos testes com óleo essencial, benzaldeído, dibenzil dissulfeto, trans-estilbeno e cinamaldeído, em solução com dimetilsulfóxido (DMSO) 2%; os ensaios foram avaliados durante 24h, 48, 72 horas. Foram realizados 4 tratamentos com 4 repetições para cada teste. Utilizou-se como controle, solução de DMSO 2% e água destilada.



Capítulo 06

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Do estudo dos constituintes voláteis das raízes de *P. alliaceae* foi possível, identificar, isolar seus constituintes e realizar os testes de atividades inseticidas e nematicida. Nos testes de atividades inseticidas foram utilizados os insetos mosca branca e gorgulho do feijão de corda. E a atividade nematicida foi realizada sobre a larva da espécie de *Meloidogyne incognita*. Dos extratos etanólicos, acetato de etila e hexânico das raízes do tipi foi possível isolar três compostos, dois deles estão sendo descritos pela primeira vez, sendo isolados das raízes do tipi.

Foi possível realizar o estudo comparativo da composição química do óleo essencial. Baseado nos dados obtidos e comparados com os dados da literatura detectou-se a nítida diferença dos constituintes voláteis, levando a crer que a composição muda de acordo com a região de onde é coletada. No entanto, o benzaldeído apareceu como o constituinte majoritário do óleo essencial em todos os óleos e de todas as partes da planta.

Após a obtenção do óleo essencial e identificação de seus constituintes, os mesmos foram submetidos a ensaios de atividades biológicas, através dos quais foi possível determinar a atividade nematicida contra larvas de *Meloidogyne incognita* e inseticida contra mosca branca (*Bemisia tabaci*) e gorgulho do feijão (*Callosobruchus maculatus*). O teste nematicida foi realizado com o óleo e seus constituintes, separadamente. Este teste possibilitou a identificação o benzaldeído como o princípio ativo do óleo essencial das raízes de *P. alliaceae* contra as larvas de nematóides *M. incognita*. Diante dos resultados obtidos neste trabalho conclui-se que óleo essencial *P. alliaceae* apresentou atividades inseticidas e nematicida contra, *Bemisia tabaci*, *Callosobruchus maculatus* e *Meloidogyne incognita*, respectivamente.

Foi possível isolar cinco substâncias das raízes do tipi, as quais foram identificadas como: *trans*-estilbeno e dissulfeto de dibenzila, isoladas do óleo essencial, e trissulfeto de dibenzila [5], alantoina [2] e sacarose [1] dos extratos.



Capítulo 07

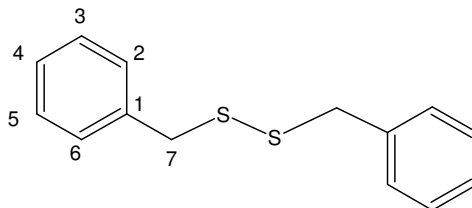
Constantes Físicas e Dados Espectrométricos

7.0 CONSTANTES FÍSICAS E DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS RAÍZES DE *P. alliaceae*.

PAR-01

F.M. – C₁₄H₁₄S₂

M.M.- (g/mol) – 246



Aspecto – líquido amarelo

dissulfeto de dibenzila

Espectroscopia na região de absorção infravermelho (filme, cm⁻¹) – 3061, 2921, 1494, 1453, 1229, 762, 697 e 468.

Espectroscopia de RMN ¹H [500 MHz, CDCl₃] – δ - (multiplicidade)

7,40 – 7,30 (m), 3,68 (s).

Espectroscopia de RMN ¹³C [125 MHz, CDCl₃] – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 137,79; 129,65; 128,85; 127,81; 43,57.

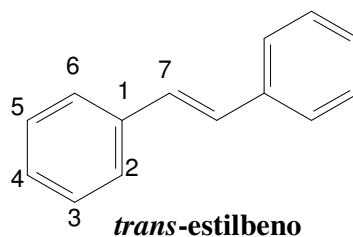
PAR-02

F.M. – C₁₄H₁₄

M.M. (g/mol) – 180

p.f. – 121,1-121,5 °C

Aspecto – sólido branco



Espectroscopia de RMN ¹H [500 MHz, CDCl₃] – δ - (multiplicidade)

7,60 – 7,30 (m), 7,18 (s).

Espectroscopia de RMN ¹³C [125 MHz, CDCl₃] – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 137,26; 129,00; 128,90; 127,83; 126,44.

PAR-03

F.M. – C₁₄H₁₄S₂

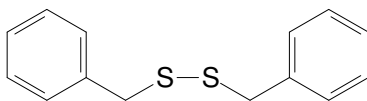
F.M. - C₁₄H₁₄S₃

M.M.- (g/mol) – 246

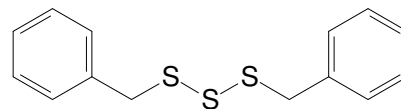
M.M.- (g/mol) – 278

Aspecto – líquido amarelo.

Solubilidade - clorofórmio



dissulfeto de dibenzila



trissulfeto de dibenzila

Espectroscopia na região de absorção do infravermelho (filme, cm⁻¹) – 3061, 2921, 1494, 1453, 1229, 762, 697 e 468.

Espectroscopia de RMN ¹H [500 MHz, CDCl₃] – δ - (multiplicidade)

7,40 – 7,30 (m), 3,61 (s); 4,01 (s)

Espectroscopia de RMN ¹³C [125 MHz, CDCl₃] – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 137,62; 136,76; 129,69; 129,67; 128,86; 128,74; 127,83; 127,68; 43,55; 43,41.

Obs. os valores de deslocamentos de carbono sublinhados referem-se aos carbonos do dissulfeto de dibenzila.

PAR-04

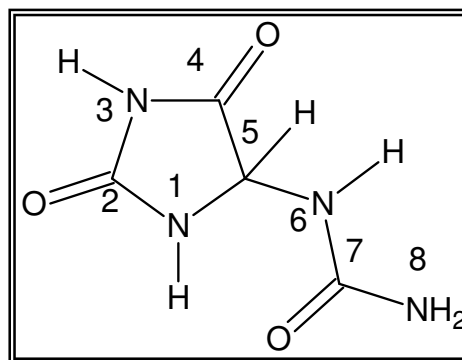
F.M. – C₄H₆N₄

M.M.- (g/mol) - 110

p.f. 297,4 – 301,3 °C

Aspecto – sólido

Solubilidade – dimetil sufóxido



Alantoina

Espectroscopia na região de absorção do infravermelho (filme, cm⁻¹) – 3441; 3346; 3192; 3058; 1781; 1712; 1658; 1530; 1430; 1184; 1059.

Espectroscopia de RMN ¹H [500 MHz, DMSO] – δ - (multiplicidade, constantes de acoplamentos) - 10,54 (s); 8,05 (s); 6,96 (d, J = 8,0); 5,81 (s); 5,24 (d, J = 8,0)

Espectroscopia de RMN ¹³C [125 MHz, CDCl₃] – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) –173,6 (C-4); 157,5 (C-2); 156,8(C-7); 62,5(C-5);

PAR-05

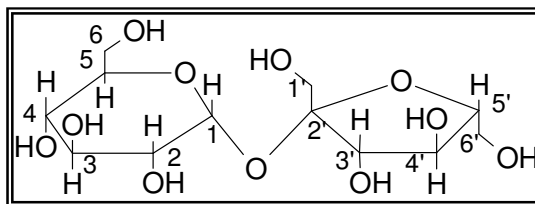
F.M. – C₁₂H₂₂O₁₁

M.M. (g/mol) – 342

p.f. –171,8 -174,2 °C

Aspecto – sólido branco

Solubilidade – água e/ou dimetil sulfoxido



Sacarose

Espectroscopia de RMN ¹H [500 MHz, CDCl₃] – δ - (multiplicidade e constantes de acoplamento) – 5,3 (d, J = 3,70); 4,10 (d, J = 8,75), 3,93 (t, J = 8,55); 3,78 (m); 3,75 (m); 3,64 (t, J = 9,70); 3,55 (s); 3,44 (dd, J = 3,70 e J = 9,90); 3,35 (t, J = 9,45).

Espectroscopia de RMN ¹³C [125 MHz, CDCl₃] – δ – (padrão de hidrogenação, correlação estrutural) – 105,23; 93,72; 82,92; 78,00; 75,57; 74,13; 73,95; 72,62; 70,78; 63,92; 62,93; 61,70.



Capítulo 08

Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil by Gas Chromatography/Quadruple Mass Spectroscopy. USA: Allured, 2001.

ANDRADE, I. L. de; BEZERRA, J. N. S.; LIMA, M. A. A. et al., Chemical Composition and Insecticidal Activity of Essential Oil from *Vanillosmopsis pohlii* Baker against *Bemisia argentifolii*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 5879-81, 2004.

AYEDOUN, M. A.; MOUDACHIROU, M.; SOSSOU, P. V. et al. Volatile Constituents of the Root Oil of *Petiveria alliaceae* L. from Benin. *Journal of Essential Oil Research*, (10) 645-646, 1998.

AYODELE, E. T.; HUDSON, H. R.; OJO, I. A. O.; PIANKA, M. Organosulfur Compounds as a Potential Fungicides: The Preparation and Properties of Some Substituted Benzyl 2-hydroxyethyl Oligosulfides. *Phosphorus Sulfur and Silicon and the Related Elements*, 159, 123-142, 2000.

BENEVIDES, P. J. C.; YOUNG, M. C. M.; GIESBRECHT, A. M. et al., Antifungal Polysulphides from *Petiveria alliaceae* L. *Phytochemistry*, 57 (5), 743-747, 2001.

BERGER, I.; BARRIENTOS, A. C.; CÁCERES, A. et al., Plants Used in Guatemala for the Treatment of Protozoal Infections. II. Activity of Extracts and Fractions of Five Guatemalan Plants Against *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Ethnopharmacology*, 62 (2), 107-115, 1998.

COSTA, A. S.; COSTA, C.L.; SAUER, H.F.G. Surto de mosca-branca em culturas do Paraná e São Paulo. *An. Soc. Entomol. Bras.*, xxx, v.2, n. 1, p. 20-30, 1973.

CÁCERES, A.; LÓPEZ, B.; GONZÁLEZ, S. et al., Plants Used in Guatemala for the Treatment of Protozoal Infections. I. Screening of Activity to Bacteria, fungi and American Trypanosomes of 13 Native Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 62 (3), 195-202, 1998.

DA PONTE, J.; FRANCO, A.; SILVEIRA-FILHO, J. Investigação Preliminar sobre a Potencialidade Nematicida do Tipi (*Petiveria alliaceae*). *Fitopatol. Venez.* 9 (1), 14-15, 1996.

DE LIMA, T. C.; MORATO, G. S.; TAKAHASHI, R. N. Evaluation of the Antinociceptive Effect of *Petiveria alliaceae* (Guiné) in Animals. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86 (2), 153-158, 1991.

DE SOUSA, J. R.; DEMUNER, A. J.; PINHEIRO, J. A. et al., Dibenzyl Trisulphide and Trans-N-methyl-4-methoxyproline from *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, 29 (11), 3653-3655, 1990.

FERREIRA, D. T.; ALVARES, P. S. M.; HOUGHTON, P. J.; BRAZ FILHO, R. Constituintes Químicos das Raízes de *Pyrostegia venusta* e Considerações sobre a sua Importância Medicinal. *Química Nova*, 23 (1), 42-46, 2000.

GOMES, P. B.; OLIVEIRA, M. M. S.; FONTELES, M. M. F. et al., Study of Antinociceptive Effect of Isolated Fractions from *Petiveria alliacea* (Tipi) in Mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28 (1), 2004.

GONÇALVES, F. J. T. “Atividade Antagonista de Óleos Essenciais sobre o Nematóide das Galhas *Meloidogyne incognita* (KOFOID & WHITE) CHITWOOD”, Centro de Ciências Agrárias: UFC, Monografia (Graduando em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2003.

HOYOS, L. S.; AU, W. W.; HEO, M. Y. et al. Evaluation of the Genotoxic Effects of a Folk Medicine, *Petiveria alliacea* (Anamu). *Mutation Research*, 280 (1), 29-34, 1992.

JOHNSON, L.; WILLIAMS, L. A. D.; ROBERTS, E. V. An Insecticidal and Acaricidal Polysulfide Metabolite from the Roots of *Petiveria alliacea*. *Pestic. Sci.* 50, 228-232, 1997.

KUBEC, R.; KIM S.; MUSAH, R. A. S-Substituted cysteine derivatives and thiosulfinate formation in *Petiveria alliacea*—part II. *Phytochemistry*. v. 61 (6), p. 675-680, 2002.

JOVICEVIC, L.; TROIANI, M. P.; DE JOANNON, A. C. et al. In Vitro Antiproliferative Activity of *Petiveria alliacea* L. on Several Tumor Cell Lines. *Pharmacological Research*, 27 (I), 105-106, 1993.

KUBEC, R.; MUSAH, R. A. Cysteine Sulfoxide Derivates in *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, 58 (6), 981-985, 2001.

KUBEC, R.; KIM S.; MUSAH, R. A. γ -Glutamyl dipeptides in *Petiveria alliacea*, *Phytochemistry*, v. 66 (20) p. 2494-2497, 2005.

LOPES-MARTINS, R. A.; PEGORARO, D. H.; WOISKY, R. et al. The Anti-inflammatory and Analgesic Effects of a Crude Extract of *Petiveria alliacea* L.

(Phytolaccaceae). *Phytomedicine: Internacional Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 9 (3), 245-248, 2002.

MALPEZZI, E. L. A.; DAVINO, S. C.; COSTA, L. V. et al. Antimitotic Action of Extracts of *Petiveria alliacea* on Sea-urchin EGG Development. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27 (3), 749-754, 1994.

MONACHE, F. D.; SUAREZ, L. E. C. 6-C-formyl and 6-C-hydroxymethyl Flavones from *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, 31 (7), 2481-2482, 1992.

MORALES CIFUENTES, C.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P.; IGLESIAS, I.; VILLAR DEL FRESNO, A. M. Neuropharmacological Profile of Ethnomedicinal Plants of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 76 (3), 223-228, 2001.

MORALES, C.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P.; IGLESIAS, I.; VILLAR, A. M.; CÁCERES, A. Preliminary Screening of Five Ethnomedicinal Plants of Guatemala. *II Farmaco*, 56 (5-7), 523-526, 2001.

OLUWOLE, F. S. BOLARINWA. A. F. The uterine contractile of *Petiveria alliacea* seeds. *Fitoterapia v.* 69 (1) 3-6, 1998.

PASCUAL-VILLALOBOS M. J. ; BALLESTA-ACOSTA M. C. ; Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus* v. 31, n° 7, p. 673-679, 2003.

RUFFA, M. J.; FERRARO, G.; WAGNER, M. L. et al. Cytotoxic Effect of Argentine Medicinal Plant Extracts on Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line. *Journal of Ethnopharmacology*, 79 (3), 335-339, 2002.

SOUSA, C. V. B. Óleos Essesnciais no Controle da Mosca Branca, *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, em Melão. Centro de Ciências Agrárias:UFC, Fortaleza-CE, Dissertação (Mestrando em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, 2000.

VON SZCZEPAN, C. V.; ZGORZELA.; P.; HOYER, G. A. Isolation, Structural Analysis and Synthesis of an Antimicrobial Substance from *Petiveria alliacea* L. *Arzneimittel-Forschung*, 22 (11), 1975-1976, 1972.

WILLIAMS, L. A. D.; VASQUEZ, E.; KLAIBER, I. et al. A Sulfonic Anhydride Derivate from Dibenzyl Trisulphide with Agro-chemical Activities. *Chemosphere*, 51, 701-706, 2003.

ZOGHBI, M. D. B.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Volatile Constituents from *Adenocalymma alliaceum* Miers and *Petiveria alliacea* L., two medicinal herbs of the Amazon. *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (2), 133-135, 2002.

COSTA, J.G.M.; MAGALHÃES, F. I. H.; LEMOS, T. L. G. et al. Estudo fitoquímico *Auxemma glazioviana*. *Reviasta Brasileira de Farmacognosia*, v.12, sulp., 68-69, 2002.

COXON, B.; FATIADI, A. J.; SNIEGOSKI, L. T. et al. A Novel Acylative Degradation of Uric Acid. Carbn-13 Nuclear Magnetic Resonance of Studies of Uric Acid and Its Degradatin Products. *J. Org. Chem.*, Vol. 42, N° 19, 1977.

FERREIRA, D.; T.; ALVARES, P. S. M. Constituintes Químicos das Raízes de *Purestegia venusta* e Considerações sobre a sua Importância Medicinal. *Química Nova*, v. 23 (1) 42-46, 2000.

RAEDER, K. Phytolacaceae. Flora of Panamá. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, v. 4 (48) 408-421, 1961.

ADESOGAN, K. E. B. Trihiolaniacin, a Novel Trithiolsn from *Petiveria alliacea*. *J. C. S. Chem. Comm.*, 1974.

SILVERSTEIN, N. R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

BEHNKE, J.; POUCHERT, C. J. The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT NMR Spectra. Aldrich Chemical Co: USA, 1993.