

# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 29/09/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**CÂMPUS DE ARARAQUARA**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas**

**ESTUDO DE VARIABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Casearia***  
***sylvestris* SWARTZ**

**FLÁVIO ALEXANDRE CARVALHO**

**ORIENTADOR: Dr. ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS**

**COORIENTADOR: Dr. EDUARDO JOSÉ CREVELIN**

**ARARAQUARA – SP**

**2019**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**CÂMPUS DE ARARAQUARA**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas**

**ESTUDO DE VARIABILIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Casearia***  
***sylvestris* SWARTZ**

**FLÁVIO ALEXANDRE CARVALHO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

**ORIENTADOR: Dr. ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS**  
**COORIENTADOR: Dr. EDUARDO JOSÉ CREVELIN**

**ARARAQUARA – SP**

**2019**

---

**C788e** Carvalho, Flávio Alexandre.  
Estudo de variabilidade do óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* Swartz / Flávio Alexandre Carvalho. – Araraquara: [s.n.], 2019.  
223 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientador: André Gonzaga dos Santos.  
Coorientador: Eduardo José Crevelin.

1. *Casearia sylvestris* var. *sylvestris*. 2. *Casearia sylvestris* var. *lingua*.  
3. Variabilidade química. 4. Óleo essencial e análise de componente principal. I. Santos, André Gonzaga dos, orient. II. Crevelin, Eduardo José, coorient. III. Título.

---

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP - Campus de Araraquara

**CAPES: 33004030078P6**  
**Esta ficha não pode ser modificada**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara




CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTUDO DE VARIABILIDADE E AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE CASEARIA SYLVESTRIS SWARTZ

AUTOR: FLAVIO ALEXANDRE CARVALHO  
ORIENTADOR: ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS  
COORIENTADOR: EDUARDO JOSÉ CREVELIN

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. ANDRÉ GONZAGA DOS SANTOS  
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

  
Prof. Dr. ARISTEU GOMES TININIS  
Campus de Matão / Instituto Federal de São Paulo - IFSP - Matão

  
Prof. Dr. ALBERTO JOSÉ CAVALHEIRO  
Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química de Araraquara - UNESP

  
Prof. Dr. ANTÔNIO EDUARDO MILLER CROTTI  
Departamento de Química / Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP

  
Prof. Dr. CRISTIANO SOLEO DE FUNARI  
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Araraquara, 27 de setembro de 2019

**Epígrafe**

**A dúvida é o princípio da sabedoria.**

**Aristóteles**

## Dedicatória

Dedico este trabalho aqueles que sempre se dedicaram para que eu conseguisse realizar meus objetivos, meus queridos pais, que sempre me apoiaram e a minha namorada Karla, por todo apoio, carinho e confiança.

## **Agradecimentos**

A Deus por todas as conquistas e aos meus pais pela dedicação, apoio e esforços, sempre me apoiando e confiando em meus objetivos.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Cleópatra da Silva Planeta pela orientação no início deste trabalho, meus sinceros agradecimentos e minha eterna gratidão.

À COTEC – Comissão Técnico Científica, pela aprovação do projeto e consequente execução junto ao Parque Estadual Carlos Botelho e Estação Experimental de Araraquara.

Ao Prof. Dr. Luís Vitor Silva do Sacramento pela colaboração, ao Laboratório de Botânica e à Angélica pela grande contribuição nas análises botânicas.

Ao Laboratório de Produtos Naturais HPLC – PN 2, à Prof.<sup>a</sup> Dra. Isabele R. Nascimento e a doutoranda Camila L. Cunha, pela colaboração nos experimentos de rotação óptica específica.

Ao Laboratório de Produção e Purificação de Bioprodutos e a doutoranda Agnes Magri pela colaboração nos experimentos de infravermelho.

Ao Laboratório de Farmacologia e ao doutorando Ricardo Benini, por auxiliar na análise microscópica.

Ao Laboratório Didático de Físico-Química e ao Robson L. Mascarelli, pela colaboração nos experimentos de índice de refração.

Ao doutorando Fernando Bombarda Oda por toda colaboração, parceria e apoio durante a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Ao Laboratório de Solos do CTA pela colaboração nas análises de solos.

Ao Dr. Alberto Camilo Alécio, pela disposição em colaborar.

Ao Laboratório de Espectrometria de Massas Aplicada a Química de Produtos Naturais, pela colaboração nas análises de CG-EM.

Ao Laboratório de Farmacognosia, ao Caio pela colaboração em diversas etapas do trabalho e aos alunos que de alguma forma colaboraram Ana Carolina, Luíza, Bruna, Rafael, Eláise, Helena, Chiba, Marcelo Amorim, Natália Noronha pelos conhecimentos compartilhados e doações de materiais e ao Sr. Eduardo Dini pelas grandes colaborações.

Ao Conselho de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de ser membro discente e a Seção Técnica de Pós-Graduação pelas colaborações.



Ao Prof. Dr. Rafael Mara de Paula Dias, agradeço pelas orientações e ensinamentos durante o estágio docência.

Ao Prof. Dr. Rondinelli Donizetti Herculano, pelos ensinamentos, parceria e apoio.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Fabíola Manhas Verbi Pereira, pela grande contribuição e dedicação nos ensinamentos de fundamental importância.

À Prof. Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi e ao Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro pelas colaborações no Exame Geral de Qualificação que foram fundamentais e importantes na conclusão do trabalho.

Aos Professores Dr. Antônio Eduardo Miller Crotti, Cristiano Soleo de Funari, Aristeu Gomes Tininis, Alberto José Cavalheiro pelas grandes considerações na Defesa da Tese.

Ao Prof. Dr. pela enorme contribuição e parceria de fundamental importância durante a realização deste trabalho, meus leais agradecimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Dr. Eduardo José Crevelin, coorientador, colaborador e parceiro, meus francos agradecimentos por todo empenho e dedicação na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos, orientador, colaborador e grande parceiro na realização deste trabalho, com grande contribuição, experiência compartilhada, ensinamentos transmitidos e amizade, meus sinceros agradecimentos.

## **Agradecimento Especial**

Agradeço com todo carinho a mulher que me apoiou, incentivou, confiou e esteve ao meu lado em todos os momentos, fazendo a diferença nas horas mais difíceis. Karla, você foi ponto de equilíbrio, seu carinho, caráter, dedicação, companheirismo e compreensão foram fundamentais, sempre disposta a ajudar você me faz acreditar que é possível sempre. Sou muito feliz por ter você ao meu lado, isto é o melhor que me aconteceu. Me faltam palavras para expressar meus sentimentos de amor e gratidão por você.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** *Casearia sylvestris* var. *sylvestris* (São Miguel Arcanjo-SP), altura aproximada 12 m. Fonte: O Autor. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 2.** *Casearia sylvestris* var. *lingua* (Estação Experimental de Araraquara, Araraquara-SP), altura aproximada de 2,5 m. Fonte: O Autor. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 3.** Folhas de *C. sylvestris*. A: var. *sylvestris* (FCF 103) e B: var. *lingua* (EEA 207). Fonte: O Autor. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 4.** A) Estrutura geral das casearinas, componentes majoritários (diterpenos clerodânicos) de *C. sylvestris* var *sylvestris*, B) narcisina (flavonoide) identificada em *C. sylvestris* var. *lingua*, C) casearialignana e D) ácido gálico. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 5.** Rota biosintética do DMAPP através do intermediário ácido mevalônico (Dewick, 2009). .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6.** Rota biosintética do IPP através do intermediário ácido pirúvico (Dewick, 2009). .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7.** Esquema da rota biosintética dos terpenos (Lobo e Lourenço, 2007; Dewick, 2009). .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 8.** Estruturas químicas dos componentes majoritários do OE de folhas de *C. sylvestris*. Sesquiterpenos, A: biciclogermacreno, B: germacreno D, C: espatulenol, D:  $\delta$ -cadineno, E:  $\alpha$ -zingibereno e F: *E*-cariofileno. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 9.** Estruturas químicas dos monoterpenos, A:  $\alpha$ -pineno, B: pulegona, C: linalol e do fenilpropanoide, D: eugenol, encontrados no OE de folhas de *C. sylvestris*. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 10.** Esquema referente ao Planejamento Geral Experimental. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 11.** Perda de massa (%) na secagem em estufa de folhas de *C. sylvestris*. <sup>1</sup>FCF e EEA são estatisticamente diferentes,  $p < 0,05$ ; <sup>2</sup>FCF e CB são estatisticamente iguais,  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 12.** Perda por dessecação (%) da DV em balança por infravermelho de folhas de *C. sylvestris*. \*EEA e FCA são estatisticamente diferentes,  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 13.** Amostras de folhas de *C. sylvestris* var. *sylvestris* (A: FCF 103 e B: CB 401) e *C. sylvestris* var. *lingua* (C: EEA 201 e D: FCA 304). Fonte: O Autor. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 14.** Exsiccatas de *C. sylvestris* var. *sylvestris* (A: FCF 105 e B: CB 407) e *C. sylvestris* var. *lingua* (C: EEA 207 e D: FCA 310). Fonte: O Autor. **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 15.** Troncos dos espécimens de *C. sylvestris* var. *lingua* (A: EEA 202 e B: EEA 209) com cascas profundamente sulcadas e *C. sylvestris* var. *sylvestris* com troncos lisos (C: FCF 105 e D: FCF 107). Fonte: O Autor. **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 16.** Superfície abaxial das folhas de *C. sylvestris*. São destacados nos círculos os estômatos do tipo paracítico dos espécimens das populações; A) FCF, B) EEA, C) CB e D) FCA. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 17.** Superfície adaxial das folhas de *C. sylvestris*. São destacados nos círculos os estômatos e nos retângulos as células epidérmicas e paliçádicas dos espécimens das populações; A) FCF, B) EEA, C) CB e D) FCA. **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 18.** Folhas dos espécimens de *C. sylvestris* var. *lingua*, da população EEA (A: EEA 201, B: EEA 205, C: EEA 209 e D: EEA 207). As folhas apresentaram curvatura para cima. Fonte: O Autor. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 19.** Teor médio de OE % (v/m) de 10 espécimens de cada coleta populacional de *C. sylvestris*. <sup>a</sup>População FCF estatisticamente diferente entre Jul/Dez  $p < 0,05$ ; <sup>b</sup>População CB apresentou valor médio estatisticamente diferente das populações EEA e FCA,  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 20.** Teor médio de OE % (v/m) de 24 coletas das folhas dos espécimens de *C. sylvestris* da população FCF. <sup>a</sup>Espécimens estatisticamente diferentes da média  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 21.** Teor médio de OE % (v/m) de 24 coletas das folhas dos espécimens de *C. sylvestris* da população EEA. <sup>a</sup>Espécimens estatisticamente diferentes da média  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 22.** Teor médio de OE % (v/m) de 24 coletas das folhas dos espécimens de *C. sylvestris* da população FCF. <sup>a</sup>Períodos que apresentaram diferença estatística Jul/16 e Jan/18  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**

- Figura 23.** Teor médio de OE % (v/m) de 24 coletas das folhas dos espécimens de *C. sylvestris* da população EEA. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 24.** Teor médio de OE % (v/m) de 24 coletas das folhas dos espécimens de *C. sylvestris*, das populações FCF e EEA. <sup>a</sup>Valores são estatisticamente diferentes de FCF Jan/18  $p < 0,05$ , <sup>b</sup>Valores estatisticamente diferentes de EEA Jul/16  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 25.** Correlação entre teor de OE da população FCF com os fatores climáticos temperatura e pluviometria (média mensal), UR e IUUV. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 26.** Correlação entre teor de OE da população EEA com os fatores climáticos temperatura e pluviometria (média mensal), UR e IUUV. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 27.** Teor médio de OE % (v/m) dos 10 espécimens de folhas de *C. sylvestris*, das populações FCF e EEA. Valores são estatisticamente semelhantes;  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 28.** Teor médio de OE % (v/m) dos 10 espécimens das folhas frescas e folhas secas de *C. sylvestris*. <sup>a,b</sup>Valores das folhas secas e frescas entre as populações FCF e EEA são estatisticamente diferentes  $p < 0,05$ ; <sup>c</sup>Valores das folhas secas entre populações FCF e EEA são estatisticamente diferentes  $p < 0,05$ ; <sup>d</sup>Valores das folhas frescas entre populações FCF e EEA são estatisticamente semelhantes  $p < 0,05$ . .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 29.** Rotação óptica específica dos OE das folhas de *C. sylvestris*. \*Valores estatisticamente diferentes na respectiva população,  $p < 0,05$ . **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 30.** Cromatoplasmas do OE das populações FCF, EEA, CB e EEA coletados em Jul/Dez (40  $\mu$ L/mL, hexano) e os padrões *E*-cariofileno, óxido de cariofileno e  $\alpha$ -humuleno (6  $\mu$ L/mL, hexano), utilizando a FM 1 hex: AcOEt 85:15 (v/v). Revelador, ácido sulfúrico 10 %, 110 °C, 10 min. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 31.** Cromatoplasmas do OE das populações FCF, EEA, CB e EEA coletados em Jul/Dez (40  $\mu$ L/mL, hexano) e os padrões *E*-cariofileno, óxido de cariofileno e  $\alpha$ -humuleno (6  $\mu$ L/mL, hexano), utilizando a FM 2 hex. Revelador, ácido sulfúrico 10 %, 110 °C, 10 min. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 32.** Estruturas químicas dos componentes majoritários do OE de folhas de *C. sylvestris*. A: espatulenol, B: óxido de cariofileno, C: biciclogermacreno, D: epóxido de humuleno II, E:  $\beta$ -elemeno e F:  $\alpha$ -humuleno. .... **Erro! Indicador não definido.**

- Figura 33.** Estruturas químicas: A) monoterpeneo limoneno e B) sesquiterpeneo aromático curcumeno..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 34.** Componentes do OE específicos da var. *sylvestris*, A: bulnesol, B:  $\gamma$ -gurjuneno, C: 10-*epi*- $\beta$ -acoradieno, conforme as análises populacionais e de folhas secas e folhas frescas..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 35.** CG-EM expandidos do OE de folhas de *C. sylvestris* das populações FCF e EEA (10 espécimens de cada população, respectivamente) das coletas de Jul e Dez/2016. Condições de análise: 60 a 310 °C - 3° C/ min, por 80 min; temperatura do injetor: 250 °C; split: 1/20; coluna Rtx5-MS (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25  $\mu$ m filme interno)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 36.** CG-EM expandidos do OE de folhas de *C. sylvestris* das populações CB e FCA (10 espécimens de cada população, respectivamente) das coletas de Jul e Dez/2016. Condições de análise: 60 a 310 °C - 3° C/ min, por 80 min; temperatura do injetor: 250 °C; split: 1/20; coluna Rtx5-MS (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25  $\mu$ m filme interno)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 37.** Perfil cromatográfico populacional do OE das folhas de *C. sylvestris* das populações FCF, EEA, CB e FCA..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 38.** Perfil cromatográfico do OE das folhas de *C. sylvestris* var. *sylvestris* (população FCF) e *C. sylvestris* var. *lingua* (população EEA). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 39.** Perfil cromatográfico circadiano do OE das folhas de *C. sylvestris* var. *sylvestris* (população FCF)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 40.** Perfil cromatográfico circadiano do OE das folhas de *C. sylvestris* var. *lingua* (população EEA)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 41.** Espectro de massas do  $\beta$ -elemeno, *E*-cariofileno,  $\alpha$ -humuleno e germacreno D (componentes majoritários) do OE das folhas de *C. sylvestris*..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 42.** Espectro de massas do biciclogermacreno, espatulenol, óxido de cariofileno e epóxido de humuleno II (componentes majoritários) do OE das folhas de *C. sylvestris*..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 43.** Componentes do OE identificado apenas folhas *in natura* da *C. sylvestris*..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 44.** CG-EM expandidos dos componentes voláteis das folhas *in natura*, do OE de folhas secas e folhas frescas de *C. sylvestris* da população FCF. Condições

de análise: 60 a 310 °C - 3° C/ min, por 80 min; temperatura do injetor: 250 °C; split: 1/20; coluna Rtx5-MS (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25 µm filme interno). A coluna cromatográfica foi cortada em 10 cm em ambas as extremidades antes das análises das folhas *in natura*. ..... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 45.** CG-EM expandidos dos componentes voláteis das folhas *in natura*, do OE de folhas secas e folhas frescas de *C. sylvestris* da população EEA. Condições de análise: 60 a 310 °C - 3° C/ min, por 80 min; temperatura do injetor: 250 °C; split: 1/20; coluna Rtx5-MS (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25 µm filme interno). A coluna cromatográfica foi cortada em 10 cm em ambas as extremidades antes das análises das folhas *in natura*. ..... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 46.** Proposta de mecanismo da conversão do biciclogermacreno em espatulenol, adaptado de Toyota *et al.* (1996). ..... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 47.** Proposta de mecanismo da oxidação do *E*-cariofileno em óxido de cariofileno, adaptado de Sköld *et al.* (2006). ..... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 48.** Proposta de mecanismo da oxidação do  $\alpha$ -humuleno em epóxido de humuleno II. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 49.** Proposta de mecanismo da oxidação *E*- $\beta$ -farneseno em *E*-nerolidol. **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 50.** Esquema geral da biossíntese dos componentes majoritários presentes em *C. sylvestris*. ..... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 51.** Espectros na região do IV-FT do OE de folhas de *C. sylvestris* populações FCF, EEA, CB e FCA coletadas em Jul e Dez/2016. Cada população é formada pelo OE da mistura de 10 espécimens. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 52.** Representação ampliada dos cromatogramas antes (esquerda) e depois (direita) do alinhamento: A)  $t_R$  35,000 min, B)  $t_R$  3,000 min, C)  $t_R$  40,000 min, d)  $t_R$  43,000 min. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 53.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* das populações FCF, EEA, CB e FCA, mostrando os agrupamentos de acordo com as populações. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 54.** Gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* das populações FCF, EEA, CB e FCA. .... **Erro! Indicador não definido.**

**Figura 55.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* das populações FCF e EEA mostrando os agrupamentos de acordo com as populações. .... **Erro! Indicador não definido.**

- Figura 56.** Gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* das populações FCF e EEA. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 57.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população FCF mostrando o agrupamento de acordo com as estações do ano. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 58.** Gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população FCF. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 59.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população EEA mostrando os agrupamentos de acordo com as estações do ano. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 60.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população EEA mostrando os agrupamentos de acordo com as estações do ano. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 61.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população FCF mostrando o agrupamento de acordo com os horários (à esquerda fevereiro e à direita Agosto). .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 62.** Gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população FCF (à esquerda fevereiro e à direita Agosto). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 63.** Gráfico de *scores* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população EEA mostrando os agrupamentos de acordo com os horários (à esquerda fevereiro e à direita Agosto). .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 64.** Gráfico de *loadings* (PC1 x PC2) dos espécimens de *C. sylvestris* da população EEA (à esquerda fevereiro e à direita Agosto). **Erro! Indicador não definido.**



## ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Uso popular das várias partes de *C. sylvestris*, adaptado de Castro (2016)  
..... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 2.** Teor de OE das folhas de *C. sylvestris*, descrito na literatura..... **Erro!  
Indicador não definido.**
- Tabela 3.** Composição do OE (%) das folhas de *C. sylvestris*, descrito na literatura.  
..... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 4.** Códigos de registros das exsicatas FCF 101 – 110, depositadas no  
Herbário do Instituto Botânico do Estado de São Paulo. **Erro! Indicador não  
definido.**
- Tabela 5.** Códigos de registros das exsicatas EEA 201 – 210, depositadas no  
Herbário Dom Bento Pickel. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 6.** Códigos de registros das exsicatas FCA 301 – 310, depositadas no  
Herbário do Instituto Botânico do Estado de São Paulo. **Erro! Indicador não  
definido.**
- Tabela 7.** Códigos de registros das exsicatas CB 401 – 410, depositadas no  
Herbário Dom Bento Pickel. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 8.** Índice de paliçada de *C. sylvestris* das populações FCF, EEA, CB e FCA.  
\*EEA apresentou diferença estatística para as demais populações  $p < 0,05$ . .... **Erro!  
Indicador não definido.**
- Tabela 9.** Caracterizações química e granulométrica dos solos das populações FCF,  
EEA, CB e FCA. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 10.** Composição química e teor (%) dos componentes do OE de folhas de *C.*  
*sylvestris* das populações FCF, EEA, CB e FCA (10 espécimens de cada população,  
respectivamente), coletadas em julho e dezembro de 2016, identificados por CG-EM.  
..... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 11.** Composição química e teor (%) dos componentes voláteis das folhas *in*  
*natura*, folhas secas e frescas de *C. sylvestris* das populações FCF e EEA (10  
espécimens de cada população, respectivamente) analisados por CG-EM. .... **Erro!  
Indicador não definido.**
- Tabela 12.** Bandas de absorção relativas as deformações vibracionais dos OE das  
folhas de *C. sylvestris*. Cada população está representa pelas coletas de Jul e  
Dez/2016. .... **Erro! Indicador não definido.**



**ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

AcOEt: acetato de etila

AINEs: anti-inflamatórios não-esteroides

ATR: *attenuated total reflectance* (modo de reflexão atenuada)

Cas B: casearina B

Cas S: casearina S

Cas T: casearina T

Cas U: casearina U

Cas X: casearina X

Casg F: caseargrewiina F

CB: Parque Estadual Carlos Botelho

CCD: cromatografia em camada delgada

CC: cromatografia em coluna

CC<sub>50</sub>: concentração citotóxica para 50 % das células

CE<sub>50</sub>: concentração mínima efetiva 50 %

CIM: concentração inibitória mínima

Cfa: clima – mesotérmico úmido com verão quente

CG-EM: cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

CG-DIC: cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização em chamas

COX: cicloxigenase

COX 1: cicloxigenase tipo 1

COX 2: cicloxigenase tipo 2

COW: *correlation optimized warping* (correção de deslocamentos da linha de base)

CTC: capacidade de troca de cátions

Cwa: clima – mesotérmico de inverno seco

DAP: diâmetro do caule na altura do peito

DE<sub>50</sub>: dose mínima efetiva 50 %

DE<sub>100</sub>: dose mínima efetiva 100 %

DL<sub>50</sub>: dose mínima letal 50 %

DMAPP: *dimethylallyl diphosphate* (dimetilalil difosfato)

DNA: *deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)

DT-CG-EM: dessorção térmica acoplada a cromatografia gasosa e a espectrometria de massas

DV: droga vegetal

DXP: 1-deoxi-*D*-xilulose-5-fosfato

EEA: Estação Experimental de Araraquara

EM: espectro de massas

FCA: Faculdade de Ciências Agrônômicas

FCF: Faculdade de Ciências Farmacêuticas

FE: fase estacionária

FM: fase móvel

FPP: farnesil difosfato

GFPP: geranilfarnesil difosfato

GGPP: geranilgeranil difosfato

GPP: geranil difosfato

GPS: *global positioning system* (sistema de posicionamento global)

H + Al: acidez potencial

hex: hexano

HPLC: *high performance liquid chromatography* (cromatografia líquida de alta eficiência)

HSV-1: herpes simples tipo I

IC<sub>50</sub>: concentração mínima inibitória 50 %

IL-1 $\beta$ : interleucina IL-1 $\beta$

iNOS: *inducible nitric oxide synthase* (óxido nítrico-sintase induzível)

IR: índice de retenção

IPP: *isopentenyl diphosphate* (isopentenil difosfato)

IV-FT: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

IUV: índice ultravioleta

MEP: *methylerythritol phosphate* (metileritritol fosfato)

MVA: *mevalonic acid* (ácido mevalônico)

MO: matéria orgânica

NO: *nitric oxide* (óxido nítrico)

OE: óleo essencial

PCA: *principal component analysis* (análise de componentes principais)

PGE<sub>2</sub>: prostaglandina E<sub>2</sub>

RENISUS: Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS

R<sub>f</sub>: fator de retenção

RMN: ressonância magnética nuclear

SB: soma das bases

SNC: sistema nervoso central

TNF- $\alpha$ : *tumor necrosis factor  $\alpha$*  (fator de necrose tumoral  $\alpha$ )

$t_R$ : tempo de retenção

TTP: tiamina difosfato

UR: umidade relativa

V: saturação por bases

## RESUMO

A *Casearia sylvestris* Swartz apresenta duas variedades: var. *sylvestris* (típica de Mata Atlântica) e var. *língua* (típica do Cerrado). As ações anti-inflamatória, antiulcerogênica, antitumoral e antimicrobiana do óleo essencial (OE) das folhas foram comprovadas. A variabilidade química nas plantas é associada a fatores genéticos e ambientais, entretanto, como existem poucos estudos de variabilidade do OE da *C. sylvestris*, o objetivo foi avaliar o teor e composição química de ambas variedades em locais, períodos e horários diferentes, estabelecendo parâmetros botânicos, físicos e químicos do OE. Neste estudo foram realizadas análises morfoanatômicas e da composição dos solos dos espécimes coletados. O OE foi extraído por hidrodestilação das folhas frescas e folhas secas, para determinação do teor e composição (CG-EM) correlacionando com fatores edáfico-climáticos. Foram realizadas análises físicas e quimiométricas do OE. A morfologia dos troncos e folhas, estômatos e índice de paliçada diferenciaram as variedades. Os resultados da densidade, índice de refração, infravermelho e CCD foram semelhantes entre as variedades e a rotação óptica diferenciou as variedades. As folhas secas e a var. *sylvestris* possuem maior teor de OE, já o teor de sesquiterpenos oxigenados no OE aumentou com a secagem e extração. Foi verificada variabilidade populacional, intrapopulacional e sazonal no teor de OE. O  $\beta$ -elemeno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, espatulenol, óxido de cariofileno e epóxido de humuleno II foram os componentes majoritários do OE. O teor de germacreno D,  $\alpha$ -muurolol e  $\alpha$ -cadinol foi maior na var. *língua*. A composição do OE apresentou variabilidade química populacional, sazonal e circadiana, sendo influenciada pela temperatura, pluviometria e ventos. Os parâmetros botânicos, físicos e químicos diferenciaram as variedades de *C. sylvestris* e foi verificada variabilidade populacional, sazonal e circadiana, com influência dos fatores edáfico-climáticos na morfologia das folhas, teor e composição do OE.

**Palavras-chave:** *Casearia sylvestris* var. *sylvestris*, *Casearia sylvestris* var. *língua*, variabilidade química, óleo essencial e análise de componente principal.

**ABSTRACT**

*Casearia sylvestris* Swartz exhibits two varieties: var. *sylvestris* (typical from Atlantic Fores) and var. *língua* (typical from Cerrado). The anti-inflammatory, antiulcerogenic, antitumor and antimicrobial activities of essential oil (EO) from leaves were proven. Chemical variability in plants is associated with genetic and environmental factors, however, as there are few studies of *C. sylvestris* from EO variability, the aim was to evaluate chemical content and composition of both varieties in different places, periods and times, establishing botanical, physical and chemical parameters from EO. In this study, morpho-anatomical and soil analysis from collected specimens were performed. EO was extracted by hydrodistillation from fresh leaves and dry leaves to determine the content and composition (GC-MS) correlating with edaphic-climatic factors. Physical and chemometrics analysis of EO were performed. Morphology of trunk and leaves, stomata and palisade index differentiated varieties. Density, refractive index, infrared and TLC results were similar between varieties and optical rotation differentiated varieties. Dried leaves and var. *sylvestris* have higher EO content, whereas oxygenated sesquiterpenes content in EO increased with drying and extraction. Population, intrapopulation and seasonal variability in the EO content were verified.  $\beta$ -elemene,  $\alpha$ -humulene, germacrene D, bicyclogermacrene, spathulenol, caryophyllene oxide and humulene epoxide II were the major components in EO. Germacrene D,  $\alpha$ -muurolol e  $\alpha$ -cadinol contents were higher in var. *língua*. Composition of EO showed chemical population, seasonal and circadian variability, being influenced by temperature, rainfall and winds. Botanical, physical and chemical parameters differentiated *C. sylvestris* varieties and it was verified population, seasonal and circadian variability, with the influence of edaphic-climatic factors on leaves morphology, EO content and composition.

**Keywords:** *Casearia sylvestris* var. *sylvestris*, *Casearia sylvestris*, var. *língua*, chemical variability, essential oil and principal component analysis.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	26
2	OBJETIVOS.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
2.1	Objetivo Geral.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
2.2	Objetivos Específicos.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.1	Descrição Botânica.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.2	Etnobotânica e etnofarmacologia.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.3	Metabólitos secundários (ou metabólitos especiais) em <i>C. sylvestris</i> .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.3.1	Óleos essenciais (ou voláteis).....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.4	Farmacologia.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.5	Toxicologia.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.5.1	Óleo essencial.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.6	Variabilidade química do metabolismo secundário vegetal.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.1	Planejamento Experimental Geral.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.2	Materiais e equipamentos.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3	Material vegetal.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3.1	Coletas do material vegetal.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3.2	Secagem.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3.2.1	Determinação do tempo de secagem do material vegetal.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3.2.2	Perda por secagem do material vegetal....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.3.2.3	Perda por dessecação em balança por infravermelho (INFRATEST) da droga vegetal.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.4	Análises botânicas.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.4.1	Preparo das exsiccatas.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.4.2	Análise macroscópica.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.4.3	Análises anatômicas das folhas.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.4.3.1	Análise anatômica dos cortes paradérmicos.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
a)	Índice de paliçada.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>



b) Análise de estômatos.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.5 Análises de solos .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.6 Extração e determinação do teor de óleo essencial	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.7 Determinação dos parâmetros físicos do óleo essencial	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.7.1 Índice de refração .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.7.2 Rotação óptica específica.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.7.3 Densidade relativa .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.8 Análises cromatográficas e espectroscópicas do óleo essencial .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.8.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.8.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM)	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.8.3 Dessorção térmica acoplada a cromatografia gasosa e espectrômetro de massas (DT-CG-EM) .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.8.4 Espectroscopia no IV-FT .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.9 Análises quimiométricas.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.9.1 Alinhamento cromatográfico .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.9.2 Análise quimiométrica populacional.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.9.3 Análise quimiométrica sazonal .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.9.4 Análise quimiométrica circadiana .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.1 Coletas e secagem do material vegetal .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.1.1 Dados das coletas .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.1.2 Determinação do tempo de secagem do material vegetal	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.1.3 Perda por secagem do material vegetal ...	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.1.4 Perda por dessecação em balança por infravermelho (INFRATEST) da droga vegetal .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.2 Análises Botânicas .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.2.1 Preparo das exsiccatas .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
5.2.2 Análise macroscópica.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

- 
- 5.2.3 Análises anatômicas das folhas.....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.2.3.1 Índice de paliçada e Análise de estômatos**Erro! Indicador não definido.**
- 5.3 Análises de solos .....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.4 Determinação do teor de óleo essencial .....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.4.1 Determinação do teor de OE populacional (FCF, EEA, CB e FCA).. **Erro! Indicador não definido.**
- 5.4.1.1 Determinação do teor de OE por espécimens (FCF e EEA) ..... **Erro! Indicador não definido.**
- 5.4.2 Determinação do teor de OE sazonal (FCF e EEA)**Erro! Indicador não definido.**
- 5.4.3 Determinação do teor circadiano (FCF e EEA)**Erro! Indicador não definido.**
- 5.4.4 Determinação do OE em folhas frescas e folhas secas (FCF e EEA)  
**Erro! Indicador não definido.**
- 5.5 Determinação dos parâmetros físicos do óleo essencial**Erro! Indicador não definido.**
- 5.5.1 Índice de refração .....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.5.2 Rotação óptica específica.....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.5.3 Densidade relativa .....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.6 Análises cromatográficas e espectrométricas do óleo essencial ..... **Erro! Indicador não definido.**
- 5.6.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)**Erro! Indicador não definido.**
- 5.6.2 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)  
**Erro! Indicador não definido.**
- 5.6.2.1 Análise populacional da composição do OE (FCF, EEA, CB e FCA) **Erro! Indicador não definido.**
- 5.6.2.2 Perfil cromatográfico (*Fingerprint*) do OE de folhas de *C. sylvestris*. **Erro! Indicador não definido.**
- 5.6.2.3 Análise comparativa dos componentes voláteis *in natura*, do OE das folhas frescas e das folhas secas (FCF e EEA).....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.6.3 Espectroscopia no IV-FT .....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.7 Análises quimiométricas.....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.7.1 Alinhamento cromatográfico .....**Erro! Indicador não definido.**
- 5.7.2 Análises quimiométricas .....**Erro! Indicador não definido.**
-

6	CONCLUSÕES.....	164
7	REFERÊNCIAS .....	166
8	APÊNDICES .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>



*C. sylvestris* var. *lingua*, Cerrado – Botucatu-SP. Fonte: O Autor

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais na medicina tradicional é relatado há milênios, sendo às vezes considerado como a única forma de tratamento acessível (Borchardt, 2002). Devido à grande variabilidade de espécies e composição química, as plantas são fonte de novos medicamentos. Cerca de 50 % dos medicamentos utilizados pela população mundial são originários de plantas medicinais ou obtidos diretamente de plantas e alterados através de semissíntese (Li e Vederas, 2009). Newman e Cragg (2016), demonstraram que dos 1.211 agentes terapêuticos lançados no mercado entre 1981 – 2014 (extratos vegetais, fármacos, macromoléculas biológicas e vacinas), 55 % estão associados aos produtos naturais (6 % fármacos naturais, 1 % extratos vegetais, 21 % fármacos derivados de produtos naturais e 27 % fármacos sintéticos análogos a produtos naturais) e entre os fármacos naturais a maioria são metabólitos secundários extraídos de plantas medicinais.

As formas de uso terapêutico das plantas são variáveis, sendo frequentemente utilizadas como preparações simples de uso tradicional ou popular (chás, garrafadas, decocto, maceração, banhos, compressas, inalações e unguentos), bem como por formulações farmacêuticas mais elaboradas desenvolvidas a partir de seus derivados, como os fitoterápicos (produtos tradicionais fitoterápicos e medicamentos fitoterápicos), que são produtos provenientes de matérias-primas vegetais (geralmente extratos ou óleos essenciais) com objetivo curativo, paliativo ou profilático (Brasil, 2014). A fitoterapia (*phyton* – plantas; *therapia* - tratamento) é uma prática muito antiga e é bastante utilizada como complemento ao tratamento usualmente empregado, principalmente pelas populações de baixa renda.

Devido ao amplo território, o Brasil concentra vários tipos de biomas, climas, solos e ampla biodiversidade vegetal (Nodari e Guerra, 2004), com cerca de 20 mil espécies de plantas endêmicas das mais de 30 mil espécies de plantas já catalogadas (Stehmann e Sobral, 2017), apresentando assim uma ampla diversidade biológica que representa 20 % das espécies conhecidas no mundo. No Brasil, o uso de plantas medicinais no tratamento de várias doenças é uma prática muito comum e aliado aos conhecimentos da medicina popular e medicina indígena, os quais tem grande potencial para o desenvolvimento de fármacos e

medicamentos sintéticos ou precursores de medicamentos semissintéticos originários de plantas (Lorenzi e Matos, 2002).

A *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae), popularmente conhecida como guaçatonga no Brasil, consta na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS) e está presente no Formulário Nacional de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, que regulamenta a padronização de fitoterápicos, garantindo a qualidade, eficácia e segurança de princípios ativos naturais. O uso indicado da *C. sylvestris* é por infusão (chá medicinal) das folhas (produto tradicional fitoterápico) para combater a dificuldade de digestão (dispepsia) (Brasil, 2011). Entretanto, a *C. sylvestris* não está relacionada na lista de medicamentos ou produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado ou sujeitos à notificação da RDC ANVISA n. 26/2014 e não consta nenhum tipo de medicamento proveniente ou derivado da *C. sylvestris* inscrito na ANVISA (Brasil, 2014; 2018), contudo os extratos são utilizados em farmácias e farmácias vivas como chás (antidispéptico) e pomadas (anti-inflamatório e analgésico), de acordo com Pereira *et al.* (2017).

As folhas da *C. sylvestris* são utilizadas na medicina popular (infuso ou decocto) como anti-inflamatório, cicatrizante, antiulceroso, gastroprotetor, anestésico tópico, contra picadas de cobras, abelhas e insetos, queimaduras, herpes, sífilis, aftas, halitose, sedativo, estimulante sexual, tônico, infecções microbianas, depurativo, antirreumático, antisséptico, febrífugo e antidiarreico (Ferreira *et al.*, 2011; Tomazi *et al.*, 2014). Contudo, apenas as atividades cicatrizante, anti-inflamatória, antiulcerosa, contra *Helicobacter pylori* e antiofídica dos extratos e óleo essencial das folhas de *C. sylvestris* foram comprovadas (Fapesp *et al.*, 2003; Esteves *et al.*, 2005; Lorenzi e Matos, 2008; Ferreira *et al.*, 2011; Pierri *et al.*, 2017; Spósito *et al.*, 2019).

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que derivados vegetais ou substâncias isoladas da *C. sylvestris* apresentaram baixa toxicidade (Basile *et al.*, 1990; Maistro *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2014; Ameni *et al.*, 2015; Bou *et al.*, 2015), indicando que podem ser utilizados na terapia com segurança.

Os anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs) apresentam várias restrições, pois são agentes causadores de distúrbios gastrointestinais e cardiopatias, e juntamente com a bactéria *Helicobacter pylori* são os principais agentes etiológicos

de lesões gastroduodenais (Grosser *et al.*, 2011). Como os derivados (extratos e óleo essencial) da *C. sylvestris* apresentaram atividades anti-inflamatória, gastroprotetora e anti-*H. pylori*, a espécie demonstra grande potencial terapêutico para distúrbios gástricos e inflamatórios (Spósito *et al.*, 2019).

A *C. sylvestris* apresenta plasticidade fenotípica, sendo conhecidas 2 variedades morfológicas, a *C. sylvestris* var. *sylvestris* e *C. sylvestris* var. *lingua*, podendo apresentar espécimens com características intermediárias (características botânicas intermediárias as 2 variedades), dificultando a sua distinção (Sleumer, 1980; Klein e Sleumer, 1984; Cavallari *et al.*, 2010; Claudino *et al.*, 2013). Entretanto, são poucos os dados na literatura sobre a variabilidade química do óleo essencial das folhas de *C. sylvestris* var. *sylvestris* e *C. sylvestris* var. *lingua*, que apontem diferenças químicas significantes intrapopulacional, interpopulacional, sazonal e circadiana, assim como se o perfil dos metabólitos presentes no óleo essencial pode ser utilizado ou não para diferenciar as variedades.

Visando o desenvolvimento e padronização de um medicamento fitoterápico a base do óleo essencial de folhas de *C. sylvestris* com atividade anti-inflamatória e cicatrizante, os estudos de variabilidade química do óleo essencial das folhas de *C. sylvestris* são necessários a fim de caracterizarem e determinarem a composição química das variedades var. *sylvestris* e var. *lingua*, de modo a apontar os seus respectivos marcadores químicos, variedade, época do ano e horário ideais para a coleta.



*C. sylvestris* var. *sylvestris*, Cerrado – Araraquara-SP. Fonte: O Autor



## 2 CONCLUSÕES

A morfologia dos troncos e a anatomia foliar classificaram a população EEA como var. *lingua* e as populações FCF, CB e FCA como var. *sylvestris*. Através da morfologia foliar, largura significativamente menor das folhas, coloração verde claro e a curvatura adaxial classificaram os espécimens da população EEA como var. *lingua*. O menor grau de curvatura adaxial das folhas e a coloração verde claro na população FCA indicam que podem ser formas intermediárias entre as variedades.

O índice de refração, a densidade relativa e a espectroscopia no IV-FT podem ser utilizados em conjunto como parâmetros de autenticidade e pureza do OE de *C. sylvestris*. A população EEA apresentou valor da rotação óptica específica negativo (var. *lingua*), populações FCF e CB valores positivos (var. *sylvestris*) e a população FCA apresentou valores positivos e negativos (forma intermediária).

Os componentes majoritários do OE foram o  $\beta$ -elemeno,  $\alpha$ -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, espatulenol, óxido de cariofileno e epóxido de humuleno II; já o bulnesol,  $\gamma$ -gurjuneno e 10-*epi*- $\beta$ -acoradieno foram típicos da var. *sylvestris* e os teores de germacreno D,  $\alpha$ -muurolol e  $\alpha$ -cadinol foram maiores na var. *lingua*. Nas análises dos componentes voláteis das folhas *in natura* por dessorção térmica e do OE das folhas (frescas e secas) identificaram apenas sesquiterpenos e a secagem e extração favoreceram a oxidação dos sesquiterpenos aumentando o teor de sesquiterpenos oxigenados.

O teor de OE apresentou variabilidade intrapopulacional e sazonal nas populações FCF e EEA; já a população CB apresentou maior teor do que as populações EEA e FCA, mostrando que a var. *sylvestris* produz mais OE. As análises quimiométricas da composição do OE mostraram que há agrupamentos entre os espécimens da população EEA (var. *lingua*) e entre os espécimens da população CB (var. *sylvestris*), mostrando que há variabilidade química populacional. Ainda de acordo com as análises quimiométricas da composição do OE foram verificadas variabilidade química sazonal e circadiana nas populações FCF e EEA.

A pluviometria e temperatura influenciaram no teor de OE sazonal e circadiano (populações FCF e EEA) e juntamente com os ventos influenciaram na composição do OE populacional, sazonal e circadiano. Já os micronutrientes do solo P e K influenciaram no florescimento e morfologia foliar na população EEA.



*C. sylvestris* var. *sylvestris*, Cerrado – Araraquara-SP. Fonte: O Autor

### 3 REFERÊNCIAS

AMENI, A. Z. et al. Toxicity study about a medicinal plant *Casearia sylvestris*: A contribution to the Brazilian Unified Health System (SUS). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 175, p. 9-13, 2015.

BASILE, A. C. et al. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I: Preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, n. 2, p. 185-97, 1990.

BORCHARDT, J. K. The beginnings of drug therapy: Ancient mesopotamian medicine. **Drug News Perspect**, v. 15, n. 3, p. 187-92, 2002.

BOU, D. D. et al. Dinor Casearin X, a New Cytotoxic Clerodane Diterpene from *Casearia sylvestris*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1725-9, 2015.

BRASIL. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. Brasília: ANVISA: 126 p. 2011.

\_\_\_\_\_. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos**. 26., A. N. D. V. S. A. R. D. D. C.-R. N. 2014.

\_\_\_\_\_. **Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira**. ANVISA, B. 1ª edição 2018 Primeiro Suplemento 2018.

CAVALLARI, M. M. et al. Population genetic relationships between *Casearia sylvestris* (Salicaceae) varieties occurring sympatrically and allopatrically in different ecosystems in south-east Brazil. **Annals of Botany**, v. 106, n. 4, p. 627-36, 2010.

CLAUDINO, J. C. et al. Evaluation of morpho-anatomical and chemical differences between varieties of the medicinal plant *Casearia sylvestris* Swartz. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1253-65, 2013.

ESTEVES, I. et al. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1, p. 191-6, 2005.

FAPESP; USP; UNESP. **Processo de obtenção de extratos de *Casearia sylvestris*, processos de obtenção de frações ativas, extratos, frações ativas, uso de extratos e frações ativas, composição, unidade de dosagem, método para prevenir, tratar, combater ou suspender distúrbios gastrointestinais, medicamento e princípio ativo**. Brasil. P I 0306167-1, 2003.

FERREIRA, P. M. et al. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 4, p. 1373-84, 2011.

FERREIRA, P. M. P. et al. Morphological and biochemical alterations activated by antitumor clerodane diterpenes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 222, p. 112-125, 2014.

GROSSER, T.; SMYTH, E. M.; FITZGERALD, G. A. Anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic agents; pharmacotherapy of gout. In: BRUNTON, L.; CHABNER, B., et al (Ed.). **Goodman and Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics**.

12. ed. New York: McGraw-Hill, cap. 34, 2011.

KLEIN, R. M.; SLEUMER, H. O. **Flora ilustrada catarinense: flacourtiáceas**. 1984. p. 78-87.

LI, J. W. H.; VEDERAS, J. C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? **Science**, v. 325, n. 5937, p. 161-5, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum. 2002. p. 220-1.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil**. 2 ed., Plantarum, Nova Odessa - SP. 2008.

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and V79 cells by the comet assay. **Toxicology In Vitro**, v. 18, n. 3, p. 337-42, 2004.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-61, 2016.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. G. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P., et al (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 7 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Artmed., 2004.

PEREIRA, A. M. S. et al. **Formulário de Preparação Extemporânea - Farmácia da Natureza - Chás Medicinais**. 1. ed. São Paulo: Bertolucci. 2017.

PIERRI, E. G. et al. Anti-inflammatory action of ethanolic extract and clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 495-501, 2017.

SANTOS, A. G. et al. Casearin X, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumor human cells. **Chemistry & biodiversity**, v. 7, n. 1, p. 205-15, 2010.

SLEUMER, H. O. **Flacourtiaceae: Flora neotropica**. Monograph number 22. New York: The New York Botanic Garden 1980. p. 4, 281, 392-3, 400-1.

SPÓSITO, L. et al. In vitro and in vivo anti-*Helicobacter pylori* activity of *Casearia sylvestris* leaf derivatives. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, p. 1-12, 2019.

STEHMANN, R. S.; SOBRAL, M. Biodiversidade no Brasil. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P., et al (Ed.). **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 7 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Artmed. p., 2017.

TOMAZI, L. B. et al. Estudo etnobotânico das árvores medicinais do Parque Ecológico Municipal José Milanese, Criciúma, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 450-61, 2014.



