



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA**



DAYSE SANTOS ALMEIDA CASSIANO

**ESTUDO MORFOANATÔMICO E QUÍMICO DE FOLHAS
E CAULE DE *Microlicia hatschbachii* WURDACK
(MELASTOMATACEAE)**

Feira de Santana, BA
2010

DAYSE SANTOS ALMEIDA CASSIANO

ESTUDO MORFOANATÔMICO E QUÍMICO DE *Microlicia hatschbachii* WURDACK (MELASTOMATACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Alexsandro Branco
Co-orientador: Prof^a Tânia Regina dos Santos Silva

Feira de Santana, BA
2010

Ao meu amado esposo
e ao meu amado Deus

AGRADECIMENTOS

À Deus por me ajudar a concluir mais uma etapa em minha vida, porque “nEle vivemos, nos movemos e existimos” e sem Ele nada posso fazer.

Aos meus pais, Nita e Nivaldo e as minhas irmãs Dayane e Daysyane pelo apoio e incentivo a sempre ir adiante.

Ao meu querido esposo Nadson pelo amor, compreensão, dedicação e por não me deixar desistir nunca.

Ao meu orientador, Prof. Alexsandro Branco por ter me aceitado em seu laboratório e ter acreditado em mim.

À Prof^a. Tânia Regina pela co-orientação e disponibilidade em me ajudar.

À Prof^a Carla Branco pelas palavras de incentivo que sempre me deram novo ânimo.

Aos amigos do laboratório de fitoquímica pelo convívio e amizade.

À Prof^a Cláudia Elena Carneiro (UEFS) por facilitar a utilização do laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) e pelo carinho com que me recebeu em seu laboratório.

Ao Prof. Ivo Curcino (UENF) que muito contribuiu com os resultados deste trabalho sendo muito prestativo em nos auxiliar com as análises espectroscópicas realizadas.

Aos amigos de Itabaiana, Aracaju, Feira de Santana e Itabuna, especialmente ao casal Heloísa e Wanderson que fizeram da casa deles um lar para mim e são mais que amigos, são meus irmãos.

À Ingrid por ceder um espaço em sua casa para me acolher em Feira de Santana.

A todos os professores do PPGBiotec os quais expandiram os meus conhecimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) pela oportunidade e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo.

A todos os amigos que fiz durante estes dois anos.

“Para alcançar êxito em um novo campo, fazer uma descoberta ou qualquer coisa nova na vida, é preciso estar disposto a errar”

(Autor desconhecido)

“Os homens podem estar sempre a pesquisar, sempre a aprender, e ainda há, para além, o infinito”

(Ellen G. White)

RESUMO

Microlicia hatschbachii Wurdack pertence à família Melastomataceae, tribo Microlicieae. Estudos sobre as características anatômicas e químicas de espécies do gênero *Microlicia* são escassos, assim, este trabalho teve como objetivo a descrição da morfoanatomia de folhas e caule, o estudo químico dos constituintes externos das folhas (cera e secreção glandular) e do extrato hexânico das partes aéreas de *M. hatschbachii*. A análise da cera e do material secretado pelas glândulas foi obtida por CGAR-EM e CLAE-DAD, respectivamente. O extrato hexânico foi fracionado em coluna cromatográfica utilizando-se gel de sílica e as substâncias obtidas foram analisadas por CGAR-EM. A espécie possui folhas elípticas a oval-elípticas, margem inteira, ápice agudo e base simétrica e arredondada. A lâmina foliar é anfistomática, com estômatos do tipo anisiocítico e anomocítico, a epiderme é uniestratificada, com células isodiamétricas e presença de inúmeros tricomas glandulares. O mesofilo é do tipo isobilateral com feixes vasculares bicolaterais envolvidos por algumas células esclerenquimáticas. O caule apresenta epiderme uniestratificada e organização vascular bicolateral. Substâncias fenólicas estão presentes principalmente nas células epidérmicas e muitos cristais de oxalato de cálcio foram encontrados nas folhas, pecíolo e caule. O cromatograma por CG-EM da cera indicou a presença de alcanos e diterpenos e a análise por CLAE-DAD do material glandular evidenciou a presença de um flavonóide e derivados benzênicos. A partir do extrato hexânico das partes aéreas de *M. hatschbachii* foram identificados alcanos alifáticos, ésteres metílicos de ácidos de cadeia longa e ácidos carboxílicos e foram isolados pela primeira vez em Melastomataceae os diterpenos ácido labd-8(17)-en-15-óico e ácido labd-8(17),13-dien-15-óico. Estes diterpenos foram identificados por RMN uni (^1H e ^{13}C) e bidimensional (COSY, HMQC, HMBC) e as demais substâncias foram caracterizadas por CG-EM.

Palavras-chave: Melastomataceae. *Microlicia hatschbachii*. Morfoanatomia. Diterpenos. Labdanos.

ABSTRACT

Microlicia hatschbachii Wurdack belongs to Melastomataceae family, Microlicieae trib. Studies about anatomical and chemical features of *Microlicia* genus are scarce. This work aimed to describe morpho-anatomy of leaves and stem and to study chemical composition of external constituents of leaf (wax and glandular exudates) and hexane extract of aerial parts of *M. hatschbachii*. The analysis of wax and glandular exudates was obtained by GC-MS and HPLC-DAD, respectively. The hexane extracts was fractionated by column chromatography using silica gel and the compounds obtained were analyzed by GC-MS. The species has elliptic to oval-elliptic leaves, entire margin, acute apex and rounded symmetrical base. The leaf blade is amphistomatal with anisocytic and anomocytic stomata, the epidermis is unisseriate with isodiametric cells and several glandular trichomes. The mesophyll is isobilateral with bicollateral vascular bundles surrounded by some sclerenchymatic cells. The stem has unisseriated epidermis and bicollateral vascular organization. There are phenolic compounds in epidermical cells and several prisms of calcium oxalate were found in leaves, peciole and stem. Gas chromatography-mass spectrometry of the wax shown presence of alkanes and diterpenoids and the analysis of glandular exudates by HPLC-DAD shown the presence of a flavonoid and benzene derivatives. From hexane extract of aerial parts of *M. hatschbachii* were identified aliphatic alkanes, methyl esters of long chain acids, carboxylic acids and it were isolated for the first time in Melastomataceae the diterpenoids labd-8(17)-en-15-oic acid and labd-8(17),13-dien-15-oic acid. These diterpenoids were identified by ^1H and ^{13}C NMR and 2D NMR (COSY, HMQC, HMBC) and other compounds were characterized by GC-MS.

Keywords: Melastomataceae. *Microlicia hatschbachii*. Morpho-anatomy. Diterpenoids. Labdanes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Campo rupestre em Morro do Chapéu, BA	17
Figura 2	Ácidos carboxílicos e ésteres de cadeia longa encontrados em Melastomataceae	21
Figura 3	Triterpenos isolados de Melastomataceae	22
Figura 4	Estruturas químicas dos esteróides presentes em Melastomataceae	23
Figura 5	Flavonóides encontrados em Melastomataceae	25
Figura 6	Derivados fenólicos presentes em Melastomataceae	26
Figura 7	Unidades monoméricas de oligômeros de taninos hidrolisáveis presentes em Melastomataceae	27
Figura 8	Glicosídeo cianogênico encontrado em Melastomataceae	28
Figura 9	<i>Microlicia hatschbachii</i> Wurdack	45
Figura 10	Aspecto geral morfológico de <i>Microlicia hatschbachii</i> . A – Ramo; B – Detalhe da folha; C – Aspecto da superfície foliar vista em estereomicroscópio; D – Tricoma glandular; E – Gineceu; F – Estame; G – Cálice; H – Flor inteira.	47
Figura 11	Microscopia óptica de folhas e pecíolo de <i>M. hatschbachii</i> . A- Epiderme adaxial (40x com optovar); B- Epiderme abaxial (20x com optovar); C- Mesofilo (20x); D- Bordo (10x); E- Nervura central (10x com optovar); F- Pecíolo (10x).	50
Figura 12	Microscopia óptica de caule e folhas de <i>M. hatschbachii</i> . A- Secção transversal do caule (10x com optovar); B- Tricoma glandular (40x com optovar); C- Secção transversal da folha corada com Sudam IV (40x com optovar); D- Secção transversal da folha corada com cloreto férrico (40x).	53
Figura 13	Cromatograma de íons totais da fração CEMH 1 e espectros de massas	55
Figura 14	Cromatograma de íons totais da fração CEMH 2	56
Figura 15	Espectros de massas dos picos 4e , 4a e 4d da fração CEMH 2	56
Figura 16	Principais fragmentos dos picos 4e , 4a e 4d da fração CEMH 2	57
Figura 17	Propostas das estruturas dos picos 4e , 4a e 4d da fração CEMH 2	57
Figura 18	Cromatograma do extrato glandular por CLAE-DAD	59
Figura 19	Espectros UV dos picos referentes ao cromatograma do extrato glandular por CLAE-DAD	60

Figura 20	Absorções UV de derivados do benzeno	60
Figura 21	Cromatograma de íon totais (CIT) das frações HEMH 2 (A), HEMH 3 (B), HEMH 4 (C) e precipitado de HEMH 5 (D).	64
Figura 22	Espectros de massas das substâncias 4a , 4b , 4c e 4d da fração HEMH 4	66
Figura 23	Principais fragmentos observados nos espectros de massas dos diterpenos labdanos 4a , 4b , 4c e 4d	67
Figura 24	Propostas das estruturas das substâncias 4a , 4b , 4c e 4d encontradas na fração HEMH 4	67
Figura 25	CIT das subfrações HEMH 6.A (A), HEMH 6.B (B) e HEMH 6.C (C)	68
Figura 26	CIT (acima) e espectro de massas (abaixo) da subfração HEMH 6.G1	69
Figura 27	Espectro de RMN de ^1H [(CDCl ₃ , δ (ppm))] da fração HEMH 6G.1 (substância 4a)	70
Figura 28	Espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl ₃ , δ (ppm))] da fração HEMH 6G.1 (substância 4a)	71
Figura 29	Mapa de contorno ^1H - ^1H -COSY da substância 4a [(CDCl ₃ , δ (ppm))] (acima) e sua ampliação (abaixo)	72
Figura 30	Mapa de correlação HMQC da substância 4a [(CDCl ₃ , δ (ppm))]	73
Figura 31	Ampliação do mapa de correlação HMQC da substância 4a [(CDCl ₃ , δ (ppm))]	74
Figura 32	Mapa de correlação HMBC da substância 4a [(CDCl ₃ , δ (ppm))]	76
Figura 33	Ampliação 1 do mapa de correlação HMBC da substância 4a [(CDCl ₃ , δ (ppm))]	77
Figura 34	Ampliação 2 do mapa de correlação HMBC da substância 4a [(CDCl ₃ , δ (ppm))]	78
Figura 35	Espectro de RMN de ^1H [(CDCl ₃ , δ (ppm))] da fração HEMH 6A (substância 4a em mistura com 4d)	80
Figura 36	Espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl ₃ , δ (ppm))] da fração HEMH 6A (mistura 4a e 4d)	81
Figura 37	Estruturas das substâncias 4a e 4d	82
Figura 38	Esqueleto básico dos labdanos	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Esteróides encontrados em espécies de Melastomataceae	23
Tabela 2	Espécies da família Melastomataceae utilizadas na medicina popular	30
Tabela 3	Fracionamento do Extrato hexânico de <i>Microlicia hatschbachii</i>	43
Tabela 4	Fracionamento de HEMH 6	44
Tabela 5	Fracionamento de HEMH 6G	44
Tabela 6	Hidrocarbonetos (1a-1p) caracterizados pelo espectro de massas dos picos presentes no CIT da fração HEMH 2 (intensidade relativa dos picos %).	61
Tabela 7	Principais picos observados no espectro de massas da fração HEMH 3, 4 e 5 (intensidade relativa dos picos %).	62
Tabela 8	Dados espectrais (δ_H e δ_C) de RMN 1H e ^{13}C para o diterpeno 4a ($CDCl_3$), incluindo os resultados dos experimentos heteronucleares 2D HMQC (1H - ^{13}C -COSY- $^1J_{CH}$) e HMBC (1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{CH}$, n=2 e 3)	75
Tabela 9	Dados dos espectros de RMN ^{13}C [400 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm) de 4d e valores da literatura	82

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Formação de terpenóides via condensação de unidades isoprênicas	85
Esquema 2	Formação de Difosfato de geranylgeranila a partir do Difosfato de farnesila	86
Esquema 3	Formação de intermediários na biossíntese de diterpenos	87

LISTA DE ANEXOS

Anexo I	Cromatograma de íon totais (CIT) da fração HEMH 2 (acima) e espectros de massas dos picos 1a-1p (abaixo)	102
Anexo II	Cromatograma de íon totais (CIT) da fração HEMH 3 (acima) e espectros de massas dos picos 2a-2c (abaixo)	107
Anexo III	Cromatograma de íon totais (CIT) do precipitado da fração HEMH 5 (acima) e espectros de massas dos picos 3a-3c (abaixo)	108
Anexo IV	Ampliações do Espectro de RMN de ^1H [(CDCl ₃ , δ (ppm)] da fração HEMH 6G.1 (substância 4a)	109
Anexo V	Expansões do espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl ₃ , δ (ppm)] da fração HEMH 6G.1 (substância 4a)	111
Anexo VI	Ampliações do Espectro de RMN de ^1H [(CDCl ₃ , δ (ppm)] da fração HEMH 6A (mistura 4a e 4d)	115

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CG-FID	Cromatografia gasosa com detector por ionização em chama
CIT	Cromatograma de íons totais
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	Correlation Spectroscopy
DAD	Detector de arranjo de diodo
EtOH	Etanol
FAA ₇₀	Formaldeído 40%, ácido acético glacial e álcool etílico (1:1:18)
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
MeOH	Metanol
nm	Nanômetros
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
Tr	Tempo de retenção
UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana
UENF	Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico em ppm
λ _{máx}	Comprimento de onda (nm) de absorção máxima

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE A FAMÍLIA MELASTOMATACEAE	18
2.2	A QUÍMICA DA FAMÍLIA MELASTOMATACEAE	20
2.3	ETNOFARMACOLOGIA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DA FAMÍLIA	28
2.4	O GÊNERO <i>Microlicia</i>	33
2.5	A ESPÉCIE <i>Microlicia hatschbachii</i>	35
3	OBJETIVOS	37
3.1	GERAIS	37
3.2	ESPECÍFICOS	37
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE	38
4.2	ESTUDOS MORFOLÓGICOS	38
4.3	ESTUDO ANATÔMICO	39
4.4	ESTUDO QUÍMICO	40
4.4.1	Procedimentos experimentais gerais	40
4.4.2	Extração dos constituintes cuticulares e glandulares	41
4.4.3	Fracionamento do extrato cuticular e análise por CG-EM	41
4.4.4	Análise do extrato glandular por CLAE-DAD	42
4.4.5	Obtenção do extrato hexânico e fracionamento	42

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA	45
5.2	DESCRIÇÃO ANATÔMICA	48
5.2.1	Folhas	48
5.2.2	Nervura principal das folhas	51
5.2.3	Testes histoquímicos	52
5.2.4	Pecíolo e Caule	53
5.3	ESTUDO QUÍMICO	54
5.3.1	Análise dos constituintes químicos da cera epicuticular por CG-EM	54
5.3.2	Análise do extrato glandular por CLAE-DAD	58
5.3.3	Análise das frações do extrato hexânico por CG-EM	61
5.3.4	Identificação da substância 4a	69
5.3.5	Identificação da substância 4d, em mistura com 4a	79
5.3.6	Diterpenos labdanos	83
5.3.7	Considerações sobre a biossíntese dos diterpenos labdanos	84
6	CONCLUSÕES	88
	REFERÊNCIAS	89
	ANEXOS	102

1 INTRODUÇÃO

Através do Programa de Biodiversidade e Bioprospecção do Instituto do Milênio do Semiárido (IMSEAR) foi realizado no período de 2002 a 2006 um estudo farmacológico e fitoquímico de espécies nativas ou endêmicas da região do semi-árido, as quais foram selecionadas de modo randômico. Neste estudo, de caráter exploratório, 87 espécies foram submetidas a análises fitoquímicas e testes biológicos, visando obter extratos e isolar substâncias puras a serem testadas na busca de novos fármacos para algumas endemias de grande ocorrência no semiárido. A partir de 435 extratos obtidos de 87 espécies foram isoladas 103 substâncias, das quais 14 foram consideradas novas para a ciência (GIULIETTI E QUEIROZ, 2006). Baseado nestes resultados, a biodiversidade encontrada no semiárido mostrou-se promissora com relação à composição química.

O semiárido corresponde à região do Nordeste do Brasil e Norte de Minas Gerais incluída em uma área delimitada pela precipitação pluvial média de 800 mm.ano^{-1} , coincidindo com a região do “polígono das secas”, adotado pelo governo brasileiro (QUEIROZ et al., 2006). Ocupa uma área de cerca de 955.000 Km^2 , que corresponde a mais de 10% do país, incluindo 1116 municípios (MOURA E RAMOS, 2004).

A região semiárida apresenta vegetação extremamente complexa e difícil de ser classificada dentre os grandes domínios morfoclimáticos brasileiros, por apresentar uma considerável variação fisionômica e florística, relacionada à grande heterogeneidade do clima, solo e relevo (QUEIROZ et al., 2006).

Dentre os principais tipos de vegetação presentes no semiárido estão a caatinga e os campos rupestres. Os campos rupestres (Figura 1, p.17) compreendem um conjunto de elevações geralmente acima de 900 metros de altitude, com alta irradiação solar, ventos fortes, déficit hídrico e um solo rochoso de arenito ou quartzito, com pequena profundidade e baixa fertilidade (GIULIETTI et al. 1987). Estes campos incluem diferentes fisionomias, variando desde campos limpos praticamente sem árvores ou arbustos, até formações

arbustivo-arbóreas densas. No entanto, suas fisionomias mais típicas apresentam predominância de um estrato herbáceo-subarbustivo extenso sobre solos arenosos rasos, e um estrato mais arbustivo relacionado à presença de afloramentos rochosos (QUEIROZ et al., 2006).



Figura 1: Campo rupestre em Morro do Chapéu, BA.

Os campos rupestres apresentam uma flora muito rica, com grupos taxonômicos e características biogeográficas muito particulares. Neste aspecto, destaca-se o grande número de espécies e os numerosos casos de endemismo muito restritos (QUEIROZ et al., 2006). Algumas famílias têm centros de diversidade nos campos rupestres, como Velloziaceae, Xyridaceae, Eriocaulaceae e Melastomataceae, sendo esta última representada por muitos gêneros (QUEIROZ et al., 2006; FUNCH et al., 2004), alguns deles ainda pouco estudados, o que torna a família Melastomataceae um bom alvo para o direcionamento de mais estudos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE A FAMÍLIA MELASTOMATACEAE

A família Melastomataceae agrupa cerca de 170 gêneros e aproximadamente 4600 espécies, distribuídas nas zonas tropicais e subtropicais do mundo (REIS et al., 2005). Representantes de Melastomataceae são especialmente abundantes no Brasil, correspondendo a sexta maior família de Angiospermas com 68 gêneros e mais de 1.500 espécies, que se distribuem desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, estando presente em praticamente todas as formações vegetacionais com um número variável de espécies (ROMERO E MARTINS, 2002).

As espécies de Melastomataceae apresentam grande diversidade de hábitos, desde herbáceas até arbustivas, e mais raramente trepadeiras e epífitas, que permitem a ocupação de ambientes distintos e diversificados (ROMERO E MARTINS, 2002). Espécies desta família são comumente encontradas em florestas, cerrados e campos rupestres, sendo alguns gêneros restritos a determinadas regiões (GARDONI et al. 2007).

A palavra Melastomataceae deriva do grego *melastoma* (*melas*: preto e *stoma*: boca) dando origem à expressão boca preta, característica de alguns frutos desta família que ao serem comidos deixam a boca com coloração escura, como *Miconia albicans* e *Clidemia hirta* (FUNCH et al., 2004).

Representantes desta família são prontamente reconhecidos, principalmente, pelas folhas simples, decussadas, freqüentemente revestidas por tricomas. Possuem normalmente uma nervação tipicamente acródoma, com duas ou mais nervuras secundárias, distinguindo-se a partir da base e percorrendo a periferia do limbo foliar até unirem-se à nervura central no ápice (CAMPOS, 2005).

Esta família é ornamentalmente atrativa devido à beleza de suas flores cuja coloração varia entre branco, amarelo, rosa e magenta (WOODGYER,

2005). As flores são actinomorfas, diclamídeas, hermafroditas, tetrâmeras ou pentâmeras, reunidas em inflorescências paniculadas, racemosas ou mesmo unifloras. O ovário é ínfero, e os estames, em número de até 10, possuem anteras poricidas, caracteristicamente curvadas, em forma de foice (falciformes). Em muitas espécies há especialização entre os estames, alguns produzindo pólen estéril que serve de alimento para insetos, enquanto outros estames produzem pólen fértil, que é depositado sobre o corpo do animal. Algumas flores alteram suas cores durante a antese. Os frutos em geral são capsulares, ou bagas em algumas espécies, com muitas sementes diminutas (MARTINS, 1989).

Outra característica interessante da família é o acúmulo de alumínio em suas folhas que está provavelmente relacionado à proteção contra herbivoria e tem contribuído com informações sistemáticas úteis em estudos filogenéticos de Angiospermas. Além disso, o uso tradicional de espécies de Melastomataceae como mordente no tingimento de tecidos, especialmente no sudeste da Ásia, têm sido associado ao acúmulo de alumínio em plantas (JANSEN et al., 2002).

Melastomataceae é subdividida em três subfamílias: Memecyloideae e Astronoideae, com apenas uma tribo cada, e Melastomoideae, composta por 11 tribos, sendo Melastomeae, Miconieae e Microlicieae consideradas as mais importantes para o Brasil (CLAUSING E RENNER, 2001; ROMERO, 2003; REIS et al., 2005).

Aspectos anatômicos e morfológicos da família Melastomataceae vêm sendo estudados desde o século XIX, quando se encontram trabalhos como o de Palézieux (1899) sobre a anatomia foliar e sistemática das tribos Microlicieae, Tibouchineieae e Miconieae. Palézieux (1899) cita ainda trabalhos anteriores como o de anatomia comparada entre Calycanthaceae, Melastomataceae e Myrtaceae realizado por Lignier (1886). Desde então, muitos aspectos interessantes vêm despertando e estimulando os pesquisadores no estudo das Melastomateceae ao longo do desenvolvimento da botânica (VALE, 1999).

O histórico dos primeiros trabalhos em anatomia na família foi feito por Costa (1977), que destacou a presença de muitas particularidades no grupo, as

quais vêm sendo exploradas e se tornando um imenso campo de pesquisa (VALE, 1999). Contudo, os estudos sobre as características anatômicas de espécies de Melastomataceae são escassos (REIS et al., 2005), destacando-se o trabalho de Vale (1999) que fez uma comparação morfo-anatômica entre populações de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. e o trabalho de Reis et al. (2005) sobre a anatomia foliar de Melastomataceae, onde apenas uma espécie do gênero *Microlicia* foi descrita, a *M. polystemma*.

Por apresentar elevado número de espécies na flora brasileira, e pela taxonomia complicada, a família Melastomataceae representa uma das que mais necessitam de estudos botânicos e morfoanatômicos, visando avaliar sua representatividade nas diversas formações vegetacionais brasileiras e melhor caracterizar os seus representantes (RODRIGUES, 2005). Para isto, uma das melhores formas de se conhecer suas espécies e avaliar sua distribuição neste território é através da realização de floras regionais, estudos anatômicos, revisões taxonômicas, estudos fitogeográficos, entre outros, que muito contribuem para o acréscimo de informações a respeito desta família.

2.2 A QUÍMICA DA FAMÍLIA MELASTOMATACEAE

Do ponto de vista químico a família Melastomataceae destaca-se pela presença de hidrocarbonetos, ácidos graxos, terpenóides, flavonóides, taninos hidrolisáveis e antocianinas (CUNHA et al. 2003a e b; CHATURVEDULA et al., 2004; YOSHIDA et al., 1991a, TERAHARA et al., 1993).

Um estudo quimiotaxonômico baseado na distribuição de alcanos presentes na cera epicuticular foi realizado com folhas de 8 espécies de *Huberia* (MIMURA et al., 1998). Neste estudo todas as espécies exibiram padrão de alcanos com predominância de homólogos com número ímpar de átomos de carbono, dentro da faixa C₂₇ a C₃₃, sendo que dois padrões de distribuição foram encontrados, um caracterizado por amostras com C₃₁ ou C₃₃ e outra com C₂₉ como principal homólogo (MIMURA et al., 1998). A partir da comparação do tempo de retenção de padrões de hidrocarbonetos por

Cromatografia Gasosa com detector por ionização em chama (CG-FID) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), foram identificadas séries homólogas de hidrocarbonetos (C_{16} , C_{18} , C_{20} , C_{22} a C_{31} e C_{33}) nas frações hexânicas dos extratos clorofórmicos de *Miconia cabucu*, *M. rubiginosa* e *M. stenostachya* (RODRIGUES et al. 2008).

A série homóloga dos ácidos graxos, ácido mirístico (**1**), ácido palmítico (**2**) e ácido esteárico (**3**), foi encontrada em *Cambedessia espora* (VILEGAS et al., 1998). Também foi verificada a presença do ácido palmítico (**2**) em *Henriettella fascicularis* (CALDERÓN et al., 2002) (Figura 2, p. 21).

Os ésteres alifáticos de cadeia longa, Hexadecanoato de hexadecanila (**4**) e Hexacosanoato de dotetracontanila (**5**), foram isolados das partes aéreas de *Lavoisiera pulcherrima* (JAMAL et al., 1999) (Figura 2, p. 21).

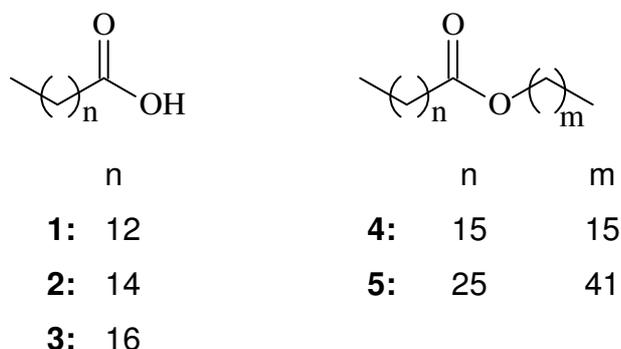
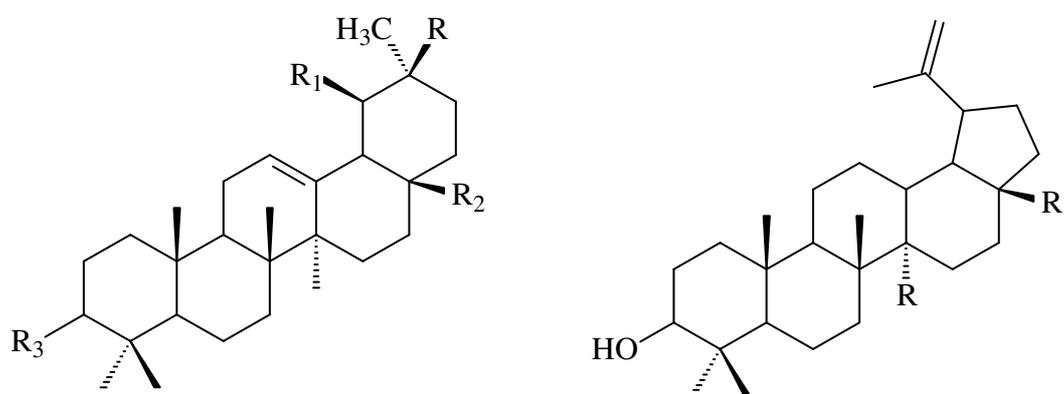


Figura 2: Ácidos carboxílicos e ésteres de cadeia longa encontrados em Melastomataceae

A análise do extrato hexânico de *Miconia ligustroides* por CG-FID através de comparação com padrões, revelou a presença dos triterpenos α -amirina (**6**) e β -amirina (**7**) (CREVELIN et al., 2006; CUNHA et al., 2003a). Estes mesmos triterpenos, além do lupeol (**8**), foram encontrados no extrato hexânico de *M. rubiginosa* (SPESSOTO et al., 2003; CREVELIN et al., 2006), *M. falax*, *M. sellowiana*, *M. albicans* e *M. pepericarpa* (CREVELIN et al., 2006). Em *Melastoma malabathricum* foram encontrados α -amirina (**6**) e uvaol (**9**) (NURESTI et al., 2003) (Figura 3, p. 22).

O fracionamento por cromatografia em coluna do extrato diclorometânico de *Miconia rubiginosa* resultou na obtenção de uma mistura contendo o ácido ursólico (**10**) e o ácido oleanólico (**11**) (SPESSOTO et al., 2003), os quais

também foram encontrados no extrato etanólico de *M. fallax* (CUNHA et al., 2008). Os ácidos ursólico (**10**) e oleanólico (**11**) são triterpenos distribuídos amplamente no reino vegetal, e frequentemente isolados como misturas isoméricas em espécies de *Miconia* (CUNHA et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2006). Das partes aéreas de *Lavoisiera pulcherrima* foram isolados 3 triterpenos pentacíclicos: ácido betulínico (**12**), betulina (**13**) e o ácido 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-27-óico (**14**) (JAMAL et al., 1999). A partir de *Marcetia formosa* foi isolado o triterpeno friedelina (**15**) (ROCHA et al., 2008) (Figura 3, p.22).



	R	R ₁	R ₂	R ₃		R	R ₁
6:	H	CH ₃	CH ₃	OH	8:	CH ₃	CH ₃
7:	CH ₃	H	CH ₃	OH	12:	CH ₃	COOH
9:	H	CH ₃	CH ₃ OH	CH ₃ OH	13:	CH ₃	CH ₂ OH
10:	H	CH ₃	CO ₂ H	OH	14:	COOH	CH ₃
11:	H	CH ₃	CO ₂ H	CO ₂ H			
15:	CH ₃	H	CH ₃	O			

Figura 3: Triterpenos isolados de Melastomataceae

Crevelin et al. (2006) utilizaram CG-FID e padrões autênticos para identificar esteróides em 6 espécies do gênero *Miconia*. Nas espécies estudadas foi evidenciada a presença de β -sitosterol (**16**), campesterol (**17**) e estigmasterol (**18**) (Figura 4, p. 23). Estes esteróides também foram encontrados em outros gêneros de Melastomataceae, conforme mostra a tabela 1 (p. 23), sendo que houve uma predominância da presença de estigmasterol na maioria das espécies, e β -sitosterol em praticamente todas as

espécies citadas. O esteóide estigmast-4-eno-3,6-dieno (**19**) foi isolado apenas em *Miconia trailii* (ZHANG et al, 2003).

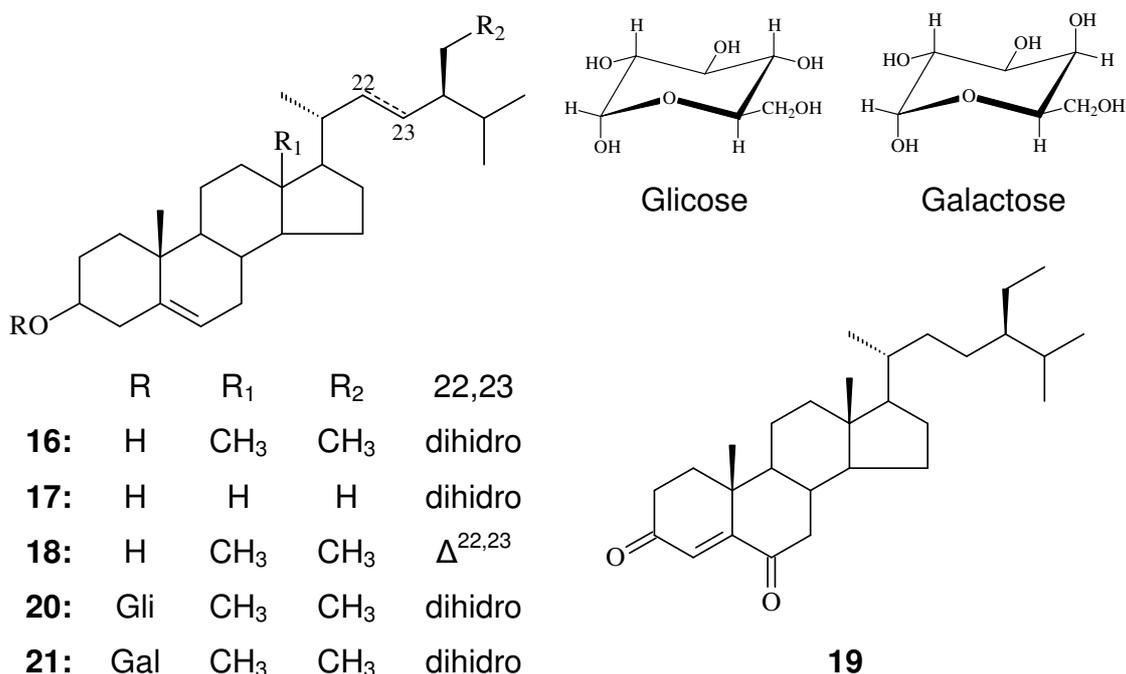


Figura 4: Estruturas químicas dos esteróides presentes em Melastomataceae

Tabela 1: Esteróides encontrados em espécies de Melastomataceae

Espécies	16	17	18	19	Referência
<i>Miconia sellowiana</i>	X	X	X	-	Crevelin et al., 2006
<i>M. albicans</i>	X	X	X	-	Crevelin et al., 2006
<i>M. pepericarpa</i>	X	X	X	-	Crevelin et al., 2006
<i>M. falax</i>	X	-	X	-	Crevelin et al., 2006
<i>Miconia ligustroides</i>	X	-	X	-	Crevelin et al., 2006; Cunha et al., 2003a
<i>M. rubiginosa</i>	X	-	-	-	Crevelin et al., 2006; Spessoto et al., 2003
<i>Cambedessia espora</i>	X	-	-	-	Vilegas et al., 1998
<i>Melastoma malabathricum</i>	X	-	-	-	Nuresti et al., 2003
<i>Henriettella fascicularis</i>	X	-	-	-	Calderón et al., 2002
<i>Trembleya laniflora</i>	X	-	X	-	Ventura et al., 2007
<i>Miconia trailii</i>	-	-	-	X	Zhang et al, 2003

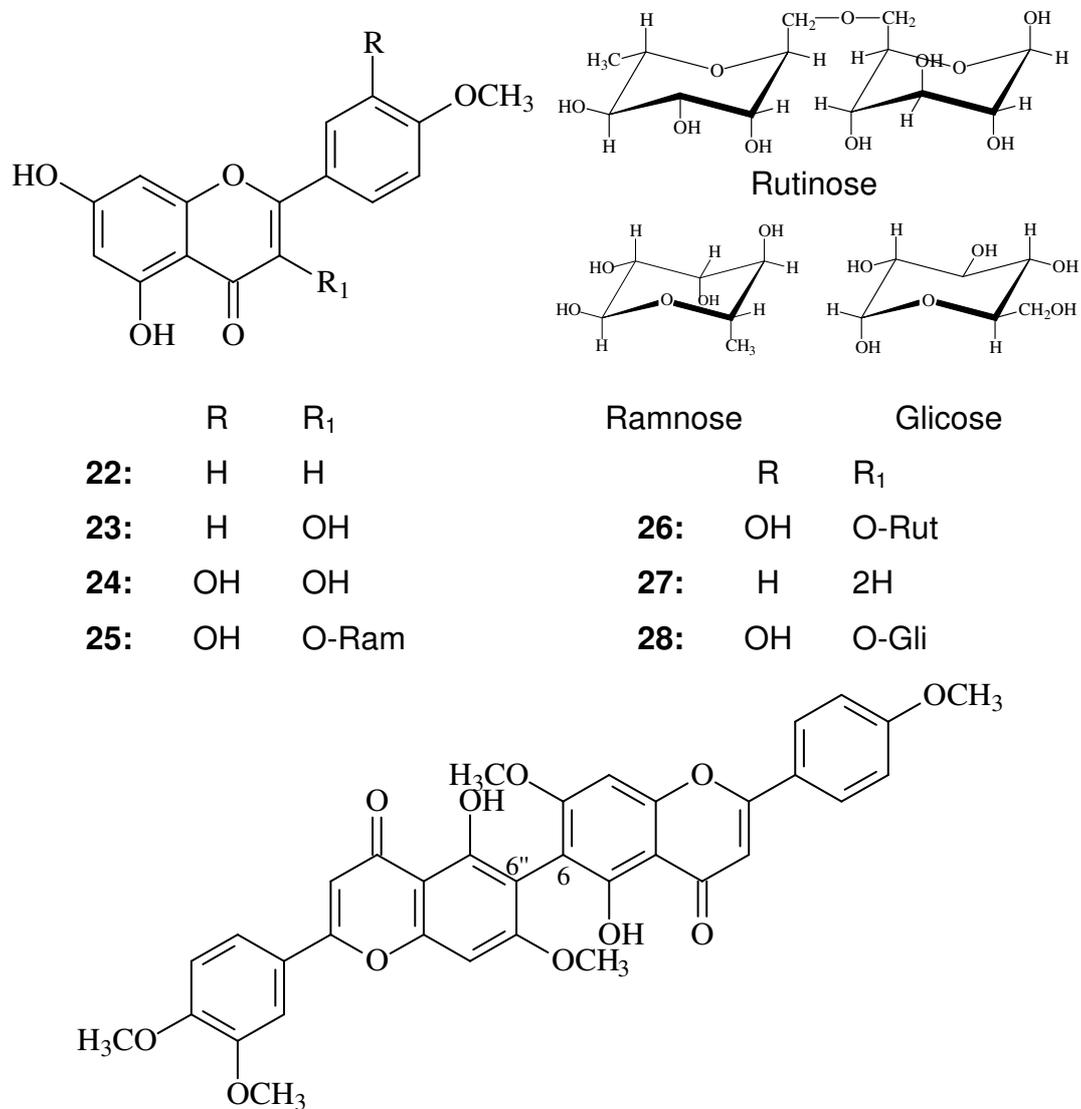
Alguns esteróides glicosilados foram encontrados em Melastomataceae como o β -sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo (**20**) isolado de *Miconia albicans* (MACARI et al., 1990) e *Melastoma malabathricum* (NURESTI et al., 2003) e o β -sitosterol-3-O- β -D-galactosídeo (**21**) encontrado em *Monochaetum vulcanicum* (CHATURVERDULA et al., 2004) (Figura 4, p. 23).

Vários flavonóides não-glicosilados, glicosilados e glicosilados acilados foram encontrados em Melastomataceae. Bomfim-Patício et al. (2001) relataram a distribuição de flavonóides na folhas de aproximadamente 33 % das espécies conhecidas de *Lavoisiera* e *Trembleya* e 15 % de *Microlicia*, com o propósito de estabelecer relações de afinidade e contribuir na resolução de problemas na delimitação entre estes gêneros. Foram encontrados 116 flavonóides, compreendendo 69 flavonóis e 47 flavonas, sendo comum a ocorrência de flavonóides metoxilados nos gêneros estudados. Outro estudo sobre a composição e distribuição de flavonóides em Melastomataceae, com espécies do gênero *Huberia* possibilitou identificar 17 substâncias como sendo, as agliconas livres apigenina (**22**), canferol (**23**), e quercetina (**24**) e seus derivados glicosilados (MIMURA et al. 2004). A partir de *Melastoma malabathricum* foram isolados quercetina (**24**), quercitrina (**25**), rutina (**26**), naringenina (**27**) e canferol (**23**), além de derivados glicosilados do canferol (NURESTI et al., 2003; SUSANTI et al., 2007). Em *Melastoma candidum* também foram encontrados quercetina (**24**), quercitrina (**25**) e rutina (**26**), além de isoquercitrina (**28**) (LEE et al., 2001; CHENG et al., 1993) (Figura 5, p. 25).

No extrato metanólico de folhas de *Miconia cabucu* foi isolado o primeiro dímero de flavonas metoxiladas ligadas por C₆-C₆" encontrado na família, o 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6")-5"-hidroxy-3''',4''',7"-trimetoxiflavona (**29**) (RODRIGUES et al., 2007) (Figura 5, p. 25).

Segundo Lowry (1976) antocianinas aciladas também são abundantes em Melastomataceae. Isto explica a variedade de coloração encontrada nas flores de espécies desta família uma vez que esta classe de substâncias é, em grande parte, responsável pelas cores das pétalas de flores e frutos de vegetais superiores (SIMÕES et al., 2007). Baseado na abundância destes metabólitos secundários na família, Janna et al. (2007) avaliaram a estabilidade

de antocianinas totais extraídas de flores de *Tibouchina semidecandra* para sua utilização como corante natural em alimentos.



29

Figura 5: Flavonóides encontrados em Melastomataceae

A benzoquinona primina, 2-metoxi-6-*n*-pentil-*p*-benzoquinona (**30**), foi isolada, juntamente com miconidina, 2-metoxi-6-*n*-pentil-1,4-dihidroxibenzeno (**31**), seu derivado quinol, do extrato bruto metanólico de *Miconia eriodonta* (LIMA et al. 1970a; 1970b) (Figura 6, p. 26). Estas estruturas também foram citadas em outras espécies de Melastomataceae por Bernays et al. (2005).

Ácidos fenólicos (Figura 6, p. 26) como o ácido gálico (**32**) e o ácido elágico (**33**) foram isolados de *Miconia myriantha* (LI et al. 2001), *Osbeckia aspera* (GRAYER et al. 2008) e *O. chinensis* (SU et al., 1988). O ácido gálico também foi detectado em *Phyllagathis rotundifolia* (LING et al. 2002), *Miconia cabucu* (RODRIGUES et al., 2007; 2008), *M. rubiginosa* (RODRIGUES et al., 2008) e *Tibouchina grandifolia* (KUSTER et al. 2009). O galato de metila (**34**) foi isolado de *O. chinensis* (SU et al., 1988) e o ácido protocatecólico (**35**) foi encontrado em *T. grandifolia* (KUSTER et al. 2009) e *O. aspera* (GRAYER et al. 2008) (Figura 6, p. 26). Estes ácidos fenólicos são precursores para a formação de taninos hidrolisáveis que são muito comuns na família.

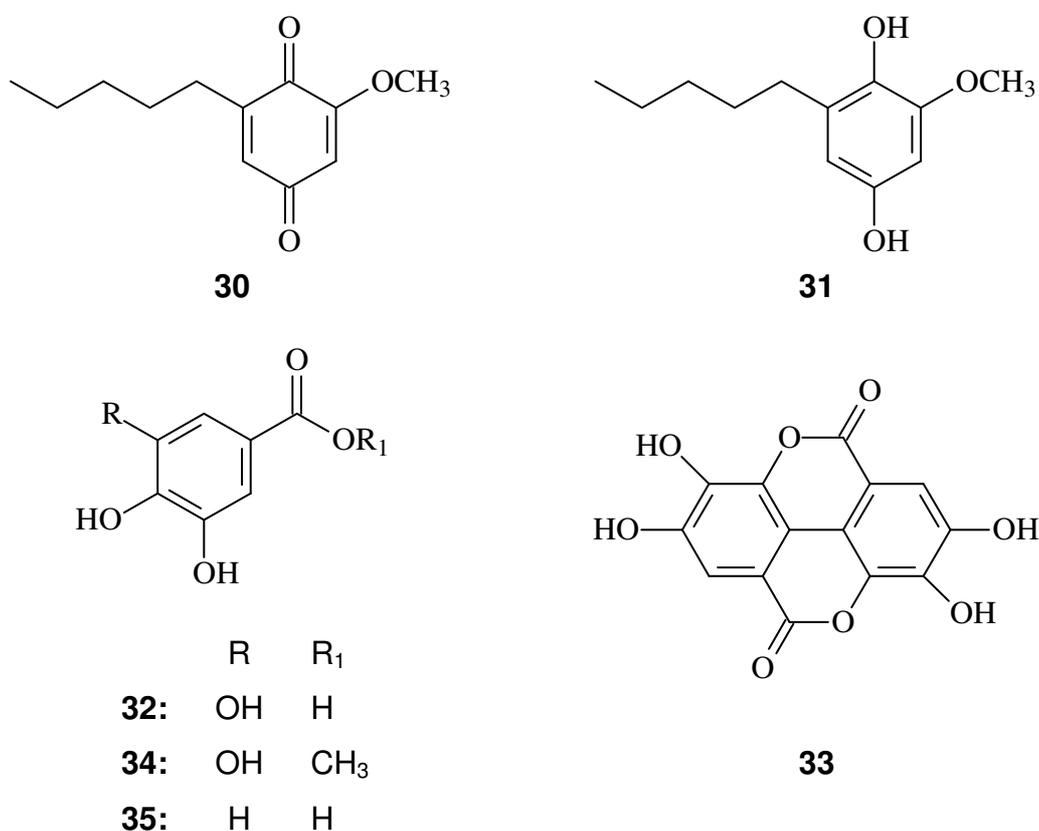


Figura 6: Derivados fenólicos presentes em Melastomataceae

A família Melastomataceae é caracterizada pela produção de oligômeros de taninos hidrolisáveis característicos (ISAZA et al., 2004). Os taninos desta família são distinguíveis das demais famílias de plantas por biossintetizar oligômeros a partir de dímeros, trímeros e tetrâmeros formados de duas

unidades monoméricas diferentes: a casuarictina (**36**) e a pterocaryanina C (**37**) (YOSHIDA et al., 2005) (Figura 7, p. 27). Estes oligômeros são metabólitos produzidos no acoplamento oxidativo C-O entre os seus monômeros formadores (galoila e/ou hexahidroxicidifenila).

Yoshida et al (2005) descrevem na literatura uma revisão sobre taninos hidrolizáveis em espécies de Melastomataceae e seu significado quimiotaxinômico, incluindo a descrição de novas substâncias isoladas de *Monochaetum multiflorum* e de outras espécies. O significado quimiotaxonômico do padrão de oligomerização nesta família contribuiu para a determinação estrutural de novos oligômeros. Nesta revisão também estão incluídos taninos monoméricos, diméricos, triméricos e tetraméricos encontrados aleatoriamente em *Monochaetum multiflorum*, *Melastoma malabathricum*, *M. normale*, *Tibouchina semidecantra*, *T. multiflora*, *Heterocentron roseum*, *Medinilla magnifica* e *Bredia tuberculata*.

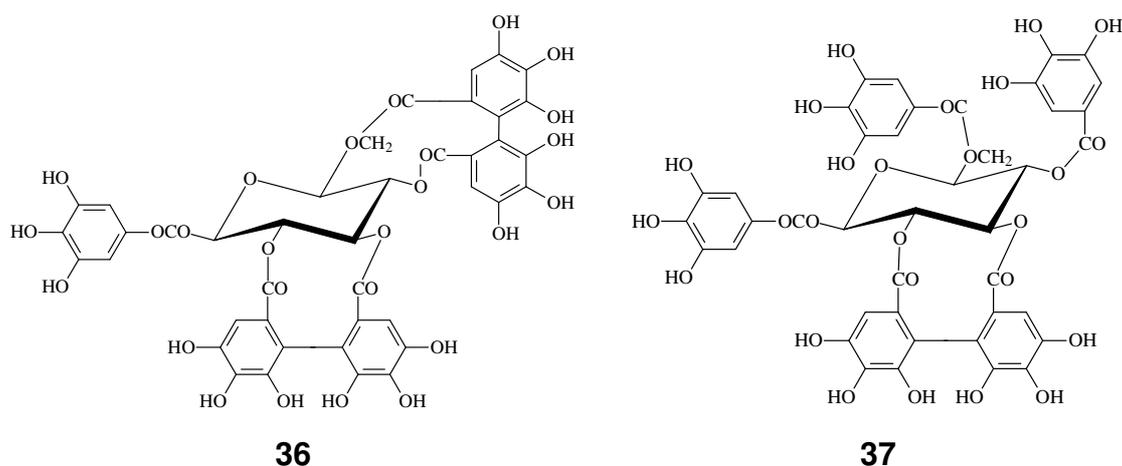
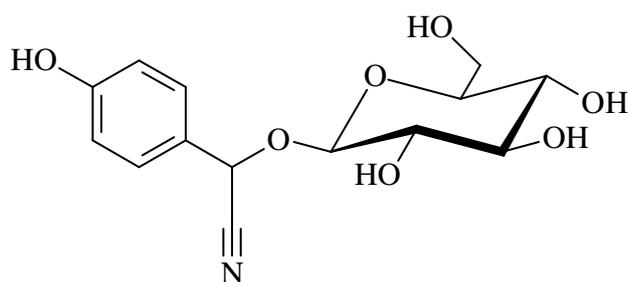


Figura 7: Unidades monoméricas de oligômeros de taninos hidrolisáveis presentes em Melastomataceae

Muitos taninos hidrolisáveis foram isolados das folhas de *Melastoma malabathricum* dentre eles os oligômeros nobotanino B, G, H e J, malabatrina B, C e D, além dos monômeros 1,4,6-tri-galoil- β -D-glicose, 1,2,4,6-tetra-O-galoil- β -D-glicose, strictinina, casuarictina, pedunculagina, nobotanino D, pterocarina (YOSHIDA et al., 1992c). Nobotanino B, C e E também foram isolados a partir de *Tibouchina semidecandra* (YOSHIDA et al., 1991b). Em *Melastoma candidum* foram encontrados a castalagina e a procianidina B-2,

que são, respectivamente, um tanino hidrolisável e um tanino condensado (CHENG et al., 1993).

Michelangeli e Rodriguez (2005) investigaram a presença de glicosídeos cianogênicos em Melastomataceae e constataram que a produção destas substâncias é rara na família, embora não completamente ausente. Entretanto, Calderón et al. (2003) isolaram pela primeira vez na família, a taxifilina (**38**) a partir do extrato metanólico de *Henriettella fascicularis* (Figura 8, p. 28).



38

Figura 8: Glicosídeo cianogênico encontrado em Melastomataceae

2.3 ETNOFARMACOLOGIA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DA FAMÍLIA

Tradicionalmente, o uso econômico da família no Brasil concentra-se na existência de espécies ornamentais, como a medilina (*Medinilla magnífica*), a quaresmeira-rasteira (*Schizocentron elegans*), a orelha de onça (*Tibouchina clavata*), espécie nativa das dunas litorâneas, e a quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) (SOUZA E LORENZI, 2005).

Segundo Moerman e Estabrook (2003), em seu estudo sobre o uso de plantas medicinais pelos nativos americanos, existe uma preferência por espécies medicinais de algumas famílias em relação a outras, independente do tamanho dessas famílias. Tal preferência pode estar correlacionada ao estado evolutivo dessas famílias e seus mecanismos de proteção contra herbivoria, patógenos e outras agressões. Por outro lado, esta preferência também está ligada a características culturais já que, se algumas plantas de uma família são

utilizadas como medicinais outras semelhantes a elas serão também reconhecidas como tais.

Um levantamento realizado por Cruz e Kaplan (2004) evidenciou que apesar da família Melastomataceae possuir um grande número de espécies com ampla presença em muitos biomas, relativamente poucas espécies são empregadas para fins medicinais no Brasil. A maioria destas espécies são usadas em tratamentos tópicos e as partes mais comumente utilizadas são as folhas. Das 14 espécies citadas, destaca-se o gênero *Tibouchina* com 4 espécies sendo utilizadas para o alívio de dores. Dentre as atividades biológicas encontram-se registros do uso popular com ação contra erisipela, vermes intestinais, leucorréia, ulcerações, palpitações, males dos rins e bexiga, escabiose, dermatoses, eupepsia, reumatismo, resfriado, febre, infecções vaginais, hematúria, dores de garganta, dores de cabeça (CRUZ E KAPLAN, 2004). Outros trabalhos relatam o uso de espécies de Melastomataceae nos tratamentos de dor de dente (KALA, 2005), insônia, dor gástrica e gastrite, dispepsia e hipertensão (SILVA et al., 2000). Algumas espécies são indicadas como cicatrizantes e antisépticas (FENNER et al., 2006).

Em outras regiões do mundo algumas espécies de Melastomataceae são muito utilizadas popularmente. *Dissotis rotundifolia* é utilizada em várias partes da África para o tratamento, principalmente, de reumatismo e inchaços dolorosos e a decoção de suas folhas é usada para aliviar dores de estômago, diarreia, disenteria, tosse, conjuntivite, problemas circulatórios e doenças venéreas (ABERE et al., 2009). Na Tailândia *Memecylon edule* é conhecida por seu uso como mordente em tingimento de seda. Suas folhas são tradicionalmente usadas em casos de queimadura e por seus efeitos antiinflamatórios. A decoção de suas raízes tem sido usada no alívio dos sintomas de febre proveniente de diversas doenças tais como resfriado, sarampo e varicela (NUALKAEW et al., 2009). Em Taiwan *Melastoma candidum* é utilizada popularmente para eliminar estase, limpar o sangue de toxinas, tratar lesões traumáticas e disenteria bacteriana (WANG et al., 2008).

A tabela 2 (p. 30) apresenta as espécies de Melastomataceae utilizadas popularmente e seus principais usos.

Tabela 2: Espécies da família Melastomataceae utilizadas na medicina popular

Espécies	Nome popular	Partes	Usos	Referências
<i>Aciotis longifolia</i>	“vinagre-do-mato”	Folhas	Eripsela	AMOROZO, 1997
<i>Belucia grossularioides</i>	“araçá-de-anta”, “miuba”	Folhas, Frutos	Leucorréia, vermes intestinais	MORS et al., 2000
<i>Clidemia blepharoides</i>	“anhangá-piri”	Folhas	Ulcerações	MORS et al., 2000
<i>C. hirta</i>	“pixirica”	Folhas, frutos	Palpitações, males dos rins, bexiga, leucorréia	PIVA, 2002
<i>Leandra lacunosa</i>	“aperta-ruão”	Folhas	Adstringente	MORS et al., 2000
<i>Macairea radula</i>	“capuchinha”	Folhas	Escabiose, dermatoses	MORS et al., 2000
<i>Melastoma malabathricum</i>	“sendudok putih” (Malásia) “Daun halendong” (Indonésia)	Folhas Raízes	Diarréia, disenteria, úlceras, tratamento de feridas Reumatismo, artrite, dor de dente, epilepsia	MAZURA <i>et al.</i> , 2007; DÉVÉHAT <i>et al.</i> , 2002
<i>Miconia albicans</i>	“canela-da-velha”, “Maria branca”, “lacre-branco”	Folhas	Eupéptico, reumatismo	MORS et al., 2000; STALCUP, 2000
<i>M. cinnmonifolia</i>	“mexerico”	Folhas	Resfriado, febre	BOSCOLO, 2003
<i>Mouriri guianensis</i>	“crioula”, “murta”, “muriri”	Folhas, cascas	Ulcerações, banhos pós-parto, infecções vaginais	MORS et al., 2000
<i>M. pusa</i>	“jaboticada do mato”, “manapuça”	Partes aéreas	Distúrbios gástricos, como úlcera e gastrite	ANDREO et al., 2006
<i>Nespera aquatica</i>	“barba-de-paca”	Folhas	Hematúria	MORS et al., 2000
<i>Tibouchina aspera</i>	“margarita”	Folhas, flores	Sedativa, béquica	MORS et al., 2000
<i>T. clavata</i>	“orelha-de-gato”, “orelha-da-onça”	Folhas	Dores de garganta	MORS et al., 2000
<i>T. grandifolia</i>	“orelha de onça”	Folhas	Cicatrização de feridas	KUSTER <i>et al.</i> , 2009
<i>T. semidecandra</i>	“quaresmeira”, “orelha-da-onça”	Folhas	Dor de cabeça, cicatrizante	PIVA, 2002
<i>T. urvilleana</i>	“buscopan”	Folhas	Dores em geral	MARODIN et al., 2001

*Adaptado de CRUZ E KAPLAN, 2004

Algumas espécies de Melastomataceae apresentaram atividades biológicas ao serem testadas *in vitro*. Os triterpenos pentacíclicos α -amirina (**6**) e ácido betulínico (**12**) (Figura 3, p. 22) e os flavonóides quercetina (**24**) e quercitrina (**25**) (Figura 5, p. 25), isolados de *Melastoma malabathricum*, apresentaram atividade anti-inflamatória por efeito inibitório do Fator de Ativação Plaquetária (PAF) (MAZURA et al., 2007). O extrato metanólico de *M. malabathricum* também exibiu atividade antiviral e citotóxica (DÉVÉHAT et al., 2002).

Extratos e substâncias isoladas de espécies de *Miconia* demonstraram atividades biológicas promissoras, tais como, antibiótica, antitumoral, analgésica e antimalárica (SPESSOTO et al., 2003). Os extratos hexânico, diclorometânico e etanólico obtido de partes aéreas de *Miconia ligustroides* apresentaram atividade analgésica utilizando-se o modelo de contorções abdominais, que avalia a dor de origem inflamatória (CUNHA et al., 2003a). A espécie *M. rubiginosa* também apresentou atividade analgésica no teste da placa quente para os extratos hexânico, diclorometânico e etanólico, além de atividade positiva no teste de contorções abdominais (SPESSOTO et al., 2003). Os extratos etanólico e clorofórmico dos ramos de *Lavoisiera pulcherrima* também produziram efeito antinociceptivo significativo, inibindo as contorções abdominais induzidas por ácido acético em ratos (JAMAL et al., 1999).

Os extratos metanólicos de *Miconia rubiginosa* e *M. stenostachya* e o extrato clorofórmico de *M. cabucu* mostraram boa atividade antimicrobiana, sendo que o extrato de *M. cabucu* foi muito ativo contra *Candida albicans* (RODRIGUES et al., 2008). Os extratos obtidos em etanol e acetona a partir de caule e raiz de *Melastoma candidum* exibiram boa atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (WANG et al., 2008).

A primina (**30**) e a miconidina (**31**) (Figura 6, p. 26), isoladas do extrato bruto de raízes de *Miconia eriodonta*, conhecida no Brasil como “Pau-Mondé”, demonstraram atividade contra vários microrganismos e ação antineoplásica a doses situadas no limiar da toxicidade (LIMA et al., 1970a; 1970b).

Em estudo realizado por Cunha et al (2008), o extrato etanólico de *Miconia fallax* foi avaliado em meio de cultura contendo linhagem de células de

adenocarcinoma cervical uterino humano (HeLa) e inibiu o crescimento das células tumorais. A atividade antitumoral de uma mistura binária de triterpenos (ácido ursólico e oleanólico) isolados desta espécie foi ainda mais acentuada.

Montenegro et al. (2007) realizaram estudo bioguiado com o extrato metanólico de *Cidemia sericea* e isolaram o 2",6"-*O*-digaloilvitexina e o 2"-*O*-galoilvitexina, dois flavonóides glicosilados ativos contra cepas de *Plamodium falciparum* resistentes a cloroquina. Através do método de bioautografia, dois flavonóides isolados de *Tibouchina grandifolia* mostraram atividade antifúngica contra *Cladosporium cucumerinum* (KUSTER et al., 2009).

O extrato etanólico de *Memecylon edule* apresentou atividade antiinflamatória, analgésica e antioxidante, confirmando seu uso potencial nas aplicações terapêuticas locais em casos de dor e inflamação e no tratamento de feridas (NUALKAEW et al., 2009). Foi evidenciada a atividade antioxidante dos flavonóides isolados dos extratos de acetato de etila e metanólico de *Melastoma matabathricum*, além disso, um dos flavonóides isolados apresentou boa atividade citotóxica contra células MCF7 (SUSANTI et al., 2007). Três taninos hidrolisáveis oligoméricos isolados de *M. matabathricum*, nobotanino G, H e J, exibiram potente atividade antiviral *in vitro* contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (YOSHIDA et al., 1992c). *Melastoma candidum* apresentou atividade anti-hipertensiva e inibitória sobre a enzima monoamina oxidase B (CHENG et al., 1993; LEE et al., 2001).

O extrato metanólico e a fração flavonoídica de *Mouriri pusa* neutralizaram o efeito hemorrágico do veneno de *Bothrops jararaca* (NISHIJIMA et al., 2009). Calderon et al. (2000) encontraram significativa atividade dos extratos de *Mouriri myrtilloides* contra o *Plasmodium falciparum*, bem como contra câncer e HIV. Frankel e Berenbaum (1999) também detectaram atividade antioxidante em *M. myrtilloides*.

Yoshida et al. (1991a, 1992a, b e c, 1995, 1999a e b) verificaram que a atividade antiúlcera dos extratos de *Tibouchina semidecandra*, *T. multiflora*, *Heterocentron roseum* e *Melastoma malabathricum* está relacionada à presença de vários taninos gálicos e elágicos. *Mouriri pusa* e *M. elliptica* apresentaram atividade mutagênica contra cepas de *Salmonella typhimurium* (SANTOS et al., 2008) e atividade antiulcerogênica (MOLEIRO et al., 2009).

Andreo et al. (2006) afirmaram que a atividade gastroprotetora produzida pelo extrato metanólico de *Mouriri pusa* pode estar relacionada a presença de taninos, catequinas e flavonóides.

2.4 O GÊNERO *Microlicia*

Dentre os gêneros que compõem a tribo Microlicieae, *Microlicia* D. Don é o maior em número de espécies, com aproximadamente 160 binômios, mas provavelmente compreenda cerca de 130 espécies (ROMERO, 2003). Este gênero neotropical apresenta limites nem sempre muito precisos, sendo freqüentemente confundido com outros gêneros da tribo, principalmente com *Trembleya*, *Lavoisiera* e *Chaetostoma* (RODRIGUES, 2005).

Microlicia apresenta limites muito tênues com *Trembleya*, tornando algumas vezes a distinção entre estes dois táxons difícil, pois, em ambos, as flores são pentâmeras, ovário 3-4 ou 5-locular, cápsulas com deiscência do ápice em direção à base. Em uma revisão taxonômica do gênero *Trembleya*, realizada por Martins (1997), foram delimitados os limites entre *Trembleya* e *Microlicia*, baseando-se principalmente na arquitetura vegetativa, no padrão da nervação e no padrão da inflorescência. *Microlicia* também mantém grande afinidade com *Lavoisiera*, sendo que o número de pétalas e o tipo de deiscência do fruto são os principais caracteres utilizados para separar estes dois gêneros (COGNIAUX, 1883-1885; 1891 apud ROMERO, 2003). No entanto, muitos autores tem comentado sobre as dificuldades para o estabelecimento dos limites entre os gêneros da tribo Microlicieae (BAUMGRATZ et al., 1997; MARTINS, 1997; KOSCHNITZKE, 1997), especialmente entre os três gêneros citados, cujos caracteres morfológicos são pouco precisos e se sobrepõem (MARTINS, 1997).

Segundo WURDACK (1973), o polimorfismo existente em espécies de *Microlicia* é muito comum, sendo esta a razão das espécies tornarem-se de difícil identificação. De acordo com Rodrigues (2005), isso pode ser comprovado quando são examinados exemplares depositados em diversos

herbários, que apresentam um grande número de espécies de *Microlicia* sem suas devidas identificações.

O gênero *Microlicia* (*micros* = pequeno, *elikia* = estatura) foi estabelecido por Don (1823), e circunscrito originalmente por apresentar hipanto globoso, cálice com cinco lacínias persistentes, cinco pétalas, dez estames, anteras oblongas, obliquamente deiscentes por poro simples, e conectivo longamente filiforme com base calcarada (ROMERO, 2003). Os representantes deste gênero são caracterizados pelo hábito geralmente subarborescente, delicado e folhas diminutas, geralmente revestidas por glândulas sésseis (ALMEDA E MARTINS, 2001). Muitas de suas espécies possuem flores na cor magenta, o que confere ao gênero o potencial ornamental.

Este gênero apresenta a quase totalidade de suas espécies em território brasileiro. Apenas *Microlicia benthamiana* Triana ex Cogn., *M. weddelli* Naudin, *M. guanayana* Wurdack, *M. peruviana* Cogn. e *M. sphagnicola* Gleason podem ser encontradas fora do território brasileiro, ocorrendo em países da América do Sul como Peru, Bolívia, Venezuela e Guiana Inglesa. Nestas localidades ocupam vegetações abertas, herbáceo-arbustivas, em solos arenosos e pedregosos, em altitude que chegam a 2.500 m (RODRIGUES, 2005).

No Brasil existem muitas espécies endêmicas de *Microlicia* que se distribuem principalmente em Minas Gerais, Bahia e Goiás e ocupam, preferencialmente, os campos rupestres e adjacências, onde atinge sua maior diversidade, além de campos de altitude e campos limpos associados a cerrado formando, na maioria das vezes, grandes populações (ROMERO, 2003). Algumas espécies podem ser encontradas em campos de altitude, cerrados e campos limpos de São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná e um menor número de espécies distribuídas em cerrados, campos limpos e adjacências nos estados do Rio de Janeiro, Piauí, Maranhão, Pará, Amazonas e Rondônia (ROMERO E MARTINS, 2002). Do total de espécies encontradas no Brasil existem atualmente 45 espécies de *Microlicia* listadas no estado da Bahia, dentre as quais, 3 espécies inicialmente identificadas como *Lavoisiera* foram posteriormente transferidas para o gênero *Microlicia* por Almeda e Martins (2001).

De acordo com Rodrigues (2005), espécies do gênero *Microlicia* são constituídas de subarbustos que não ultrapassam 1,5 m de altura, ramificados, com caules quadrangulares a subquadrangulares ou cilíndricos a subcilíndricos, geralmente cespitosos ou em touceiras copadas onde não é possível diferenciar um eixo principal. As folhas dispõem-se de maneira homogênea ao longo dos ramos. Durante a maturidade apresentam folhas apenas no terço superior, raramente desde a base. Segundo Menezes e Giullieti (2000), alguns gêneros de Melastomataceae, como *Chaetostoma*, *Microlicia* e *Lavoisiera*, que ocorrem em campos rupestres apresentam adaptações morfológicas como folhas decussadas, pequenas, imbricadas, revestidas por tricomas, que podem contribuir para minimizar a perda excessiva de água durante dias mais secos e de alta incidência solar, acumulando água da chuva ou da neblina que se forma durante noite.

2.5 A ESPÉCIE *Microlicia hatschbachii*

Numa investigação fitoquímica com o objetivo de se isolar os princípios ativos de uma planta, a escolha de uma espécie pode ser bastante difícil devido a grande quantidade de plantas existente no planeta, sendo que a maioria é desconhecida sob o ponto de vista científico (HOSTETTMANN et al., 2003). Várias abordagens para a seleção de espécies vegetais têm sido apresentadas na literatura, dentre elas, três tipos são alvo de maiores investigações: a) abordagem randômica – escolha da planta sem qualquer critério, tendo como fator determinante a sua disponibilidade; b) abordagem quimiotaxonômica – seleção da espécie correlacionada com a ocorrência de uma dada classe química de substância em um gênero ou família; c) abordagem etnofarmacológica – seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um determinado grupo étnico (MACIEL et al., 2002).

Entre os diferentes critérios de seleção, a quimiotaxonomia ou ciência da classificação das plantas em função de seus constituintes químicos pode

conduzir a informações importantes uma vez que algumas classes de substâncias são características de uma família botânica ou mesmo de um gênero (HOSTETTMANN et al., 2003). Segundo Giordani et al. (2008), ao considerar as informações botânicas e quimiotaxonômicas, a escolha das plantas a serem investigadas torna-se mais selecionada.

Um estudo quimiotaxonômico realizado por Bomfim-Patício et al. (2001), em folhas de 33 espécies de Melastomataceae pertencentes aos gêneros *Lavoisiera*, *Microlicia* e *Trembleya*, resultou na identificação de 116 flavonóides, entre eles 14 agliconas metiladas ou não e seus derivados glicosilados. Dentre as classes de flavonóides obtidos a partir dos três gêneros citados destacam-se 69 flavonóis e 47 flavonas. As 14 espécies de *Microlicia* estudadas foram divididas em dois grupos: espécies apenas com flavonóis (*M. crenulata*, *M. confertiflora* var. *confertiflora*, *M. confertiflora* var. *laxifolia*, *M. cuneata*, *M. damazioi*, *M. polystema* e *M. pulchella*) e espécies com flavonóis e flavonas (*M. avicularis*, *M. fulva*, *M. glandulifera*, *M. isophylla*, *M. macrophylla*, *M. martiana* e *Microlicia* sp.). Todas as espécies descritas deste gênero apresentaram, predominantemente, derivados da classe dos flavonóis, com ampla diversidade estrutural de derivados glicosilados da quercetina e do canferol.

A escassez de trabalhos com o gênero *Microlicia* chama a atenção uma vez que o gênero apresenta forte tendência ao endemismo na região do semiárido brasileiro. Além disso, problemas na caracterização de suas espécies ou confusão com outros gêneros, principalmente *Lavoisiera* e *Trembleya*, poderiam ser reduzidos a partir de estudos morfoanatômicos. Apesar de existirem estudos de floras regionais que incluem descrições morfológicas de algumas espécies de *Microlicia* (RODRIGUES, 2005; MARTINS, 1991), apenas a espécie *M. polystema* teve sua anatomia foliar estudada até o momento (REIS et al., 2005).

Desta forma, a ausência de informações sobre uso popular, atividade farmacológica e de seus constituintes químicos conduziram à escolha da espécie *Microlicia hatschbachii* que é endêmica dos campos rupestres do semiárido baiano e foi descrita por Wurdack em 1981.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAIS

- Analisar a morfoanatomia de *Microlicia hatschbachii* e realizar o estudo químico de seus extratos apolares.

3.2 ESPECÍFICOS

- Realizar morfodiagnoses macroscópicas e microscópicas em folhas e caule de *M. hatschbachii*;
- Contribuir para o conhecimento anatômico e apontar caracteres úteis na delimitação desta espécie;
- Analisar a composição química dos extratos apolares obtidos da cutícula foliar e material glandular secretado;
- Isolar e identificar os constituintes do extrato hexânico obtido das partes aéreas de *M. hatschbachii*;
- Descrever pela primeira vez na literatura o estudo morfoanatômico e químico da espécie.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE

Foram realizadas duas coletas nas proximidades da Cachoeira do Ferro Doido (11°37'39,9"S; 41°00'3,8"W), no município de Morro do Chapéu, estado da Bahia, Brasil, em maio de 2007 e setembro de 2008. O material da primeira coleta foi destinado à obtenção dos extratos para o estudo químico. Parte do material da segunda coleta foi fixada em FAA₇₀ (JOHANSEN, 1940) por 48 horas e conservada posteriormente em álcool etílico a 70% para os estudos morfológicos e anatômicos; a outra parte foi destinada a obtenção da cera epicuticular e exsudato glandular. A espécie foi identificada por especialista em Melastomataceae do Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), onde se encontram depositadas as exsiccatas da primeira (nº 119479) e segunda coleta (nº 146444).

4.2 ESTUDOS MORFOLÓGICOS

Foram feitas observações de campo no momento da coleta e analisados posteriormente caracteres da morfologia foliar relacionados à composição, tamanho, cor, consistência, contorno, ápice, base, margem, venação e superfície da lâmina foliar. Com relação ao pecíolo, foram observados os seguintes caracteres: inserção na lâmina, tamanho e secção transversal. As amostras foram analisadas com auxílio de estereomicroscópio binocular (Taimim).

4.3 ESTUDO ANATÔMICO

A descrição anatômica da espécie em estudo foi realizada em folhas adultas, provenientes da segunda coleta, a partir de secções transversais nas regiões de bordo, terço mediano e nervura central da lâmina foliar, efetuadas à mão livre, com auxílio de lâmina cortante, utilizando-se de isopor como suporte. Também foram realizados cortes transversais em pecíolo e caule. Os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio 50%, em seguida lavados com água destilada, corados com azul de astra 1% e safranina 1% (9:1) e montados, posteriormente, entre lâmina e lamínula com glicerina 50%, segundo técnica modificada de Kraus e Arduin (1997).

Para estudo da epiderme e seus anexos, foram efetuadas seções paradérmicas, à mão livre, nas duas superfícies da lâmina foliar, as quais foram posteriormente coradas com safranina 1%. As descrições e fotomicrografias foram realizadas ao microscópio óptico (Axioskop 2, Zeiss), com câmera fotográfica Olympus C-5060 acoplada. Testes histoquímicos foram realizados em material recém coletado, para determinação de compostos lipídicos pelo Sudam IV (GERLACH, 1984), compostos fenólicos pelo cloreto férrico (JOHANSEN, 1940), lignina pela floroglucina clorídrica (FOSTER, 1949), amido e lignina pelo cloreto de zinco iodado (JENSEN, 1962), mucilagem pelo azul de metileno (COSTA, 1996) e verificação da natureza química dos cristais com ácido sulfúrico (OLIVEIRA E AKISUE, 2000).

Os estudos morfológicos e anatômicos foram realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal (LAMIV) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

4.4 ESTUDO QUÍMICO

4.4.1 Procedimentos experimentais gerais

As colunas cromatográficas foram desenvolvidas em gel de sílica 60 (70-230 mesh, VETEC) e as análises cromatográficas em camada delgada foram desenvolvidas em cromatofolhas de alumínio (Merk), visualizadas em UV (254 e 360 nm) e H₂SO₄ em metanol (10 %) seguido de aquecimento.

As análises de Cromatografia Gasosa (CG) foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu (GC-2010) equipado com coluna capilar Rtx®-1 (fase:100% Dimetilpolisiloxano) de 30 metros, injetor a 270 °C e detector FID a 300 °C, vazão do gás de arraste (N₂) de 0,87 mL/min , razão de split 1:20 e volume de injeção de 1 µL, utilizando como programação uma temperatura inicial de 150 °C por 2 minutos, com rampa de aquecimento de 30 °C/min até 270 °C, permanecendo nesta temperatura por 20 minutos, seguida de nova rampa de aquecimento de 30 °C/min até 300 °C e isoterma de 13 minutos nesta temperatura. As análises de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) foram realizadas em espectrômetro Shimadzu (GCMS-QP5050) e impacto de elétrons a 70 eV como fonte de ionização. A temperatura do injetor foi de 280 °C e a programação da temperatura inicial foi de 100 °C com rampa de aquecimento de 15 °C/min até 280 °C com isoterma de 18 minutos nesta temperatura.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram obtidos em espectrômetro Jeol Eclipse (400 MHz). Os deslocamentos químicos foram registrados em δ, tomando-se como padrões de referência interna o CDCl₃ (δ 7,27 para ¹H e δ 77,00 para ¹³C). As análises de CG-EM e RMN ¹H e ¹³C foram realizadas no Laboratório de Análises Instrumentais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). A atividade ótica foi obtida em polarímetro Perkin Elmer 343 da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Os demais procedimentos foram realizados no Laboratório de Fitoquímica da UEFS.

4.4.2 Extração dos constituintes cuticulares e glandulares

Para remoção e análise dos constituintes cuticulares e glandulares foi utilizada metodologia conforme Marimoto et al. (2009), com algumas modificações. As folhas intactas provenientes da segunda coleta foram destacadas do caule e mergulhadas duas vezes em CH_2Cl_2 por aproximadamente 20 segundos para cada extração.

A primeira extração teve por objetivo extrair os constituintes mais apolares da camada externa da cera epicuticular (extrato cuticular), a segunda extração objetivou a remoção do material secretado pelos tricomas glandulares (extrato glandular) presentes nas folhas de *M. hatschbachii*. Após a filtração e evaporação do solvente, o extrato glandular foi re-dissolvido em Metanol e deixado em repouso por 24 horas para a remoção de partes insolúveis (graxas), sendo em seguida o sobrenadante separado com auxílio de pipeta de Pasteur e analisado por CLAE-DAD.

4.4.3 Fracionamento do extrato cuticular e análise por CG-EM

Para análise dos constituintes apolares da cera epicuticular extraída das folhas, o extrato cuticular (19,4g), obtido anteriormente, foi submetido a fracionamento por CC cromatografia em coluna (CC), eluída com misturas de solventes em ordem crescente de polaridade: hexano (Hex); Hex/AcOEt; AcOEt e AcOEt/MeOH. Foram obtidas 56 frações de aproximadamente 50 mL cada, as quais foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD). As frações 1 a 12 foram unidas e denominadas de CEMH 1, as frações 13 a 22 também foram unidas (CEMH 2) e submetidas a CG-EM.

4.4.4 Análise do extrato glandular por CLAE-DAD

O sobrenadante metanólico do extrato glandular obtido anteriormente foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector de fotodiodo (DAD). Para esta análise foi utilizado cromatógrafo VWR Hitachi equipado com coluna LiChrospher® 100 RP-18 (5µm) e como eluente foi utilizada uma mistura de solventes: 20% de A (água) + 80% de B (metanol 90%, água 5% e ácido acético 5%), com fluxo de 0,8 mL/min. Os espectros no UV foram adquiridos na faixa de 200 a 400 nm, sendo que para registro dos cromatogramas, os comprimentos de onda foram escolhidos após as análises.

4.4.5 Obtenção do extrato hexânico e fracionamento

Para obtenção do extrato hexânico total (HEMH), as partes aéreas, provenientes da primeira coleta (sem extração da cera), foram secas e moídas em moinho de facas e maceradas em *n*-hexano à temperatura ambiente por cinco dias em recipiente hermeticamente fechado e protegido da luz. Após a concentração do extrato, sob pressão reduzida, utilizando aparelho rotaevaporador (Quimis) obteve-se 45,6 g de extrato bruto. Cerca de 40,0 g do HEMH foi submetido à cromatografia em coluna (CC), eluída com misturas de solventes em ordem crescente de polaridade: hexano (Hex); Hex/AcOEt; AcOEt e AcOEt/MeOH. Foram obtidas 11 frações de aproximadamente 100 mL cada, as quais foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD).

A fração HEMH 1 apresentou aspecto visual resinoso e de difícil dissolução em solventes orgânicos. As frações HEMH 7 e 8 foram reservadas por apresentarem aspecto visual verde-escuro pastoso, e em CCD revelarem-se alaranjadas sob radiação UV (245 nm), típico de clorofila e derivados. As frações HEMH 2, 3, 4 e 5 foram submetidas à CG e CG-EM (Tabela 3, p. 43).

Tabela 3. Fracionamento do Extrato hexânico de *Microlicia hatschbachii*

Código	Frações reunidas	Sistema eluente (Hex:AcOEt)	Procedimento	Substâncias obtidas
HEMH 1	1	1:0	Reservada	-
HEMH 2	2	19:1	CG-EM	Alcanos
HEMH 3	3	9:1	CG-EM	Ésteres metílicos de ácidos de cadeia longa
HEMH 4	4	4:1	CG-EM	Diterpenos
HEMH 5	5	3:2	CG-EM	Ácidos carboxílicos
HEMH 6	6-7	1:1	Fracionada	-
HEMH 7	8	1:4	Reservada	-
HEMH 8	9-11	AcOEt - MeOH	Reservada	-

A fração HEMH 6, resultante da união das frações 6 e 7, foram submetidas a nova cromatografia em coluna a partir da qual foram obtidas 58 subfrações de 30 mL cada, as quais também foram reunidas a partir de CCD e as subfrações HEMH 6B, 6C e 6D foram submetidas a CG-EM (Tabela 4, p. 44). Após recristalização de HEMH 6A com AcEtO foi obtida uma mistura contendo as substâncias **4a** e **4d**, as quais foram analisadas por CG-EM e RMN ¹H e ¹³C.

Tabela 4. Fracionamento de HEMH 6

Código	Frações reunidas	Sistema eluente (Hex:AcOEt)	Procedimento	Substâncias obtidas
HEMH 6A	1-3	1:0 – 9:1	CG-EM	4a e 4d
HEMH 6B	4	17:3	CG-EM	4a e 4d
HEMH 6C	5-8	4:1	CG-EM	4a e 4d
HEMH 6D	9	15:5	Reservada	-
HEMH 6E	10-15	7:3	Reservada	-
HEMH 6F	16-19	3:2	Reservada	-
HEMH 6G	20-26	1:1	Fracionada	-
HEMH 6H	27-31	2:3	Reservada	-
HEMH 6I	32-40	3:7 – AcOEt	Reservada	-
HEMH 6J	41-50	AcOEt – MeOH	Reservada	-
HEMH 6L	52-58	MeOH	Reservada	-

A partir da subfração 6G, submetida a CC (Tabela 5, p. 44), foi obtida a substância pura **4a** analisada por CG-EM e RMN ¹H e ¹³C.

Tabela 5. Fracionamento de HEMH 6G

Código	Frações reunidas	Sistema eluente (Hex:AcOEt)	Procedimento	Substâncias obtidas
HEMH 6G.1	1-2	1:0 – 7:3	CG-EM; RMN ¹ H e ¹³ C	4a
HEMH 6G.2	3-4	4:2	Reservada	-
HEMH 6G.3	5-7	1:1	Reservada	-
HEMH 6G.4	8-12	2:3 – AcOEt - MeOH	Reservada	-

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA

O espécime coletado constitui-se de um arbusto bastante ramificado de cerca de 1,5 m de altura, com flores na cor magenta e folhas dispostas de maneira homogênea ao longo do terço superior dos ramos (Figura 9, p. 45). As folhas e ramos mostraram-se bastante viscosos.



Figura 9: *Microlicia hatschbachii* Wurdack

Microlicia hatschbachii possui folhas opostas cruzadas, simples, consistência cartácea, contorno elíptico a oval-elíptico, ápice agudo, base

simétrica e arredondada, margem inteira, lisa, discolor, verde-escuro, brilhante, com venação levemente proeminente na face adaxial, verde-claro, opaco, e fortemente proeminente na face abaxial. Lâmina foliar medindo de 0,7-1,8 x 0,4-1,2 cm. Apresenta nervação curvinérvea e superfície lisa, glabra e viscosa. Possui pecíolo muito curto (1-2 mm) inserido lateralmente de aspecto reto e elíptico e caule cilíndrico liso (Figura 10, p. 47).

As características morfológicas externas encontradas em *M. hatschbachii* estão de acordo com as informações referentes à família. Segundo Rodrigues (2005), a textura da lâmina foliar pode ser de consistência membranácea, coriácea ou cartácea; com superfície plana, glabra ou variadamente indumentada e algumas espécies podem apresentar folhas discolores (*Trembleya parviflora*, *Microlícia cabralensis*).

As folhas das Melastomataceae são, geralmente, pilosas, opostas ou opostas-cruzadas e pecioladas, com lâminas inteiras (METCALFE E CHALK, 1950). A forma da lâmina foliar é bastante variada, podendo ser lanceolada, oblonga, elíptica, oval ou oboval; margem inteira (lisa), crenulada, serrada, serrilhada, ciliada ou ciliado-glandulosa; ápice acuminado, agudo, obtuso, arredondado, curto ou longo apiculado, ou ainda, terminado por um único tricoma glandular; base cordada, obtusa, arredondada, atenuada ou semi-amplexicaule (RODRIGUES, 2005).

Quanto ao tipo de venação apresentam a típica nervação acródroma basal, sendo a nervura principal reta e de maior calibre, apresentando 1-2 ou 3 pares de nervuras secundárias que formam arcos convergentes partindo da base em direção ao ápice da lâmina, podendo ou não se unir no ápice (*Lavoisiera*, *Rhynchanthera*, *Trembleya* e a maioria das espécies de *Micolícia*) (RODRIGUES, 2005).

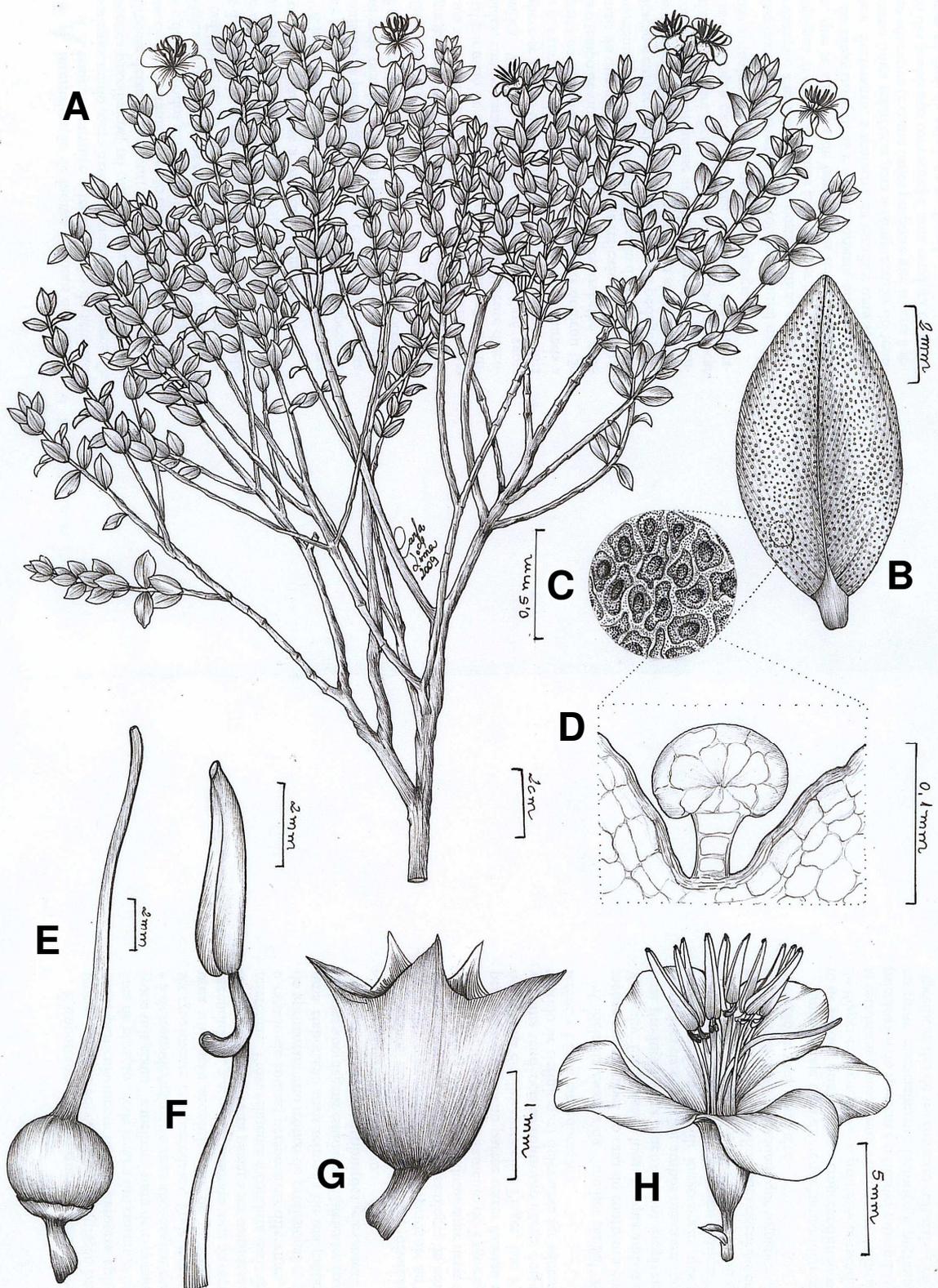


Figura 10: Aspecto geral morfológico de *Microlicia hatschbachii*. A – Ramo; B – Detalhe da folha; C – Aspecto da superfície foliar vista em estereomicroscópio; D – Tricoma glandular; E – Gineceu; F – Estame; G – Cálice; H – Flor inteira (Carla de Lima, 2009).

5.2 DESCRIÇÃO ANATÔMICA

5.2.1 Folhas

Em vista frontal, a espécie revela epiderme com células apresentando paredes anticlinais poligonais nas faces adaxial e abaxial. As folhas são anfistomáticas, com estômatos do tipo anisiocítico e anomocítico nas duas faces (Fig. 11A e B, p. 50). Segundo Metcalfe e Chalk (1950) os estômatos do tipo anomocítico e anisiocítico são característicos da família, embora os tipos diacítico e policítico, também estejam presentes em outros gêneros. Em Melastomataceae, as lâminas foliares são predominantemente hipostomáticas, conforme observado para *Miconia* por Costa (1977), Baumgratz e Ferreira (1980), Souza e Marquete (2000) e para *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. por Vecchi (1999). Em *Microlicia polystemma* Naudin foram verificadas folhas anfistomáticas (REIS et al., 2005) à semelhança de *M. hatschbachii*, descrita neste estudo. Keating (1984) afirma que os estômatos podem ocorrer somente na face abaxial ou em ambas as faces.

Em secção transversal, a lâmina foliar possui epiderme uniestratificada, revestida por cutícula espessada, com células de formato isodiamétrico nas faces adaxial e abaxial (Fig. 11C, p. 50). Segundo Keating (1984), as lâminas foliares, predominantemente dorsiventrais, são revestidas por células epidérmicas de tamanhos iguais, em ambas as faces, ou maiores na face adaxial. Reis et al. (2005) afirmam que células epidérmicas da face adaxial maiores que as da face abaxial predominam nas folhas das tribos Miconieae e Melastomeae; em Microlicieae elas possuem tamanhos semelhantes em ambas as faces. Este fato foi confirmado na espécie aqui estudada e a presença de epiderme uniestratificada também está de acordo com os resultados obtidos para outros gêneros da família (COSTA, 1977; SOUZA E MARQUETE, 2000; VECCHI, 1999). Segundo Keating (1984) a cutícula pode ser espessa ou delgada e ornamentada ou simples. No entanto, é comum as Melastomataceae a presença de folhas tomentosas e recobertas por cutícula

espessa. Também é freqüente, nas folhas da família, a presença de hipoderme conforme destacado por Costa (1977), Baumgratz e Ferreira (1980) e Souza e Marquete (2000). Contudo, em *M. hatschbachii* não foi verificada a presença de hipoderme.

Os estômatos de *M. hatschbachii* são levemente projetados em relação às demais células epidérmicas. Embora estômatos nivelados caracterizem as folhas de Melastomataceae e da maioria dos representantes de Myrtales (KEATING, 1984), em algumas espécies da tribo Miconieae e Melastomeae, eles ocupam posição ligeiramente superior (SOUZA E MARQUETE, 2000).

O mesofilo é do tipo isobilateral ou heterogêneo simétrico, apresentando parênquima paliçádico próximo às epidermes adaxial e abaxial, formado por duas séries, sendo a primeira composta por células mais alongadas. O parênquima lacunoso é constituído por 2-3 séries (Fig. 11D, p. 50).. Dispersos no mesofilo, observam-se drusas de oxalato de cálcio, de formato arredondado ou elíptico, com maior presença ao redor do feixe vascular da nervura central (Fig. 11E, p. 50). De acordo com Keating (1984), esclereídes podem ou não estar presentes e cristais de oxalato de cálcio sempre aparecem dispersos aleatoriamente no mesofilo, ocorrendo em regiões superficiais ou próximos aos feixes vasculares.

As funções determinadas para os cristais de oxalato de cálcio são variadas, dentre elas a osmorregulação e balanço iônico, armazenamento de cálcio ou oxalato, suporte mecânico e proteção contra herbivoria (DUARTE E LOPES, 2005). De acordo com Vale (1999), essa presença marcante de drusas de oxalato de cálcio, particularmente nas partes jovens, pode representar uma estratégia de defesa contra herbívoros ou, segundo Roth (1995), pode ser o sintoma de um metabolismo especial da família Melastomataceae.

O bordo da lâmina foliar encontra-se levemente fletido e exhibe a epiderme composta por células de tamanho e forma regulares, revestida por cutícula espessa (Fig. 11D, p. 50).

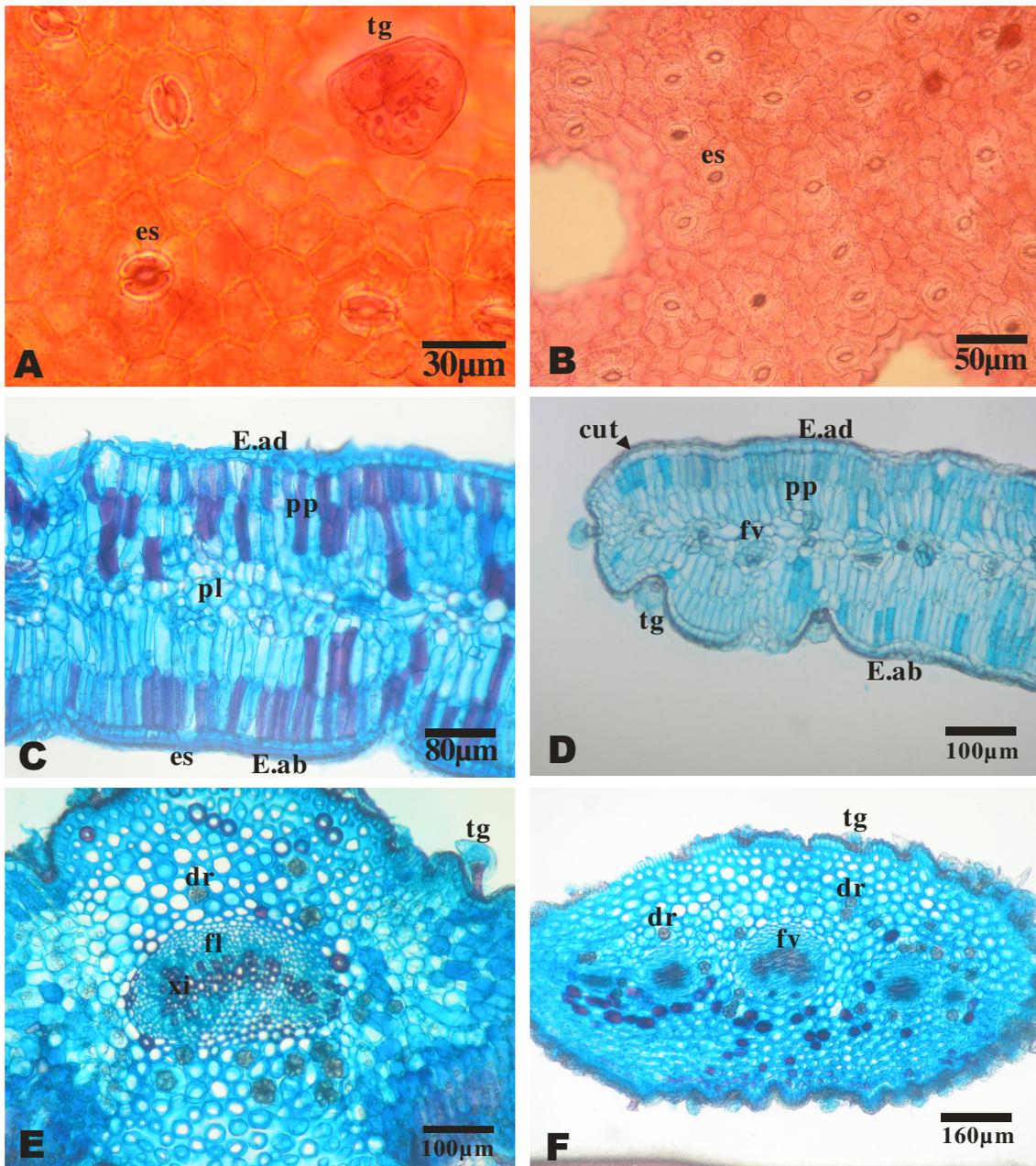


Figura 11: Microscopia óptica de folhas e pecíolo de *M. hatschbachii*. A- Epiderme adaxial (40x com optovar); B- Epiderme abaxial (20x com optovar); C- Mesofilo (20x); D- Bordo (10x); E- Nervura central (10x com optovar); F- Pecíolo (10x). E. ad=epiderme adaxial; E. ab=epiderme abaxial; es=estômato; pp=parênquima paliçádico; pl=parênquima lacunoso; cut=cutícula; xi=xilema; fl=floema; dr=drusa.

Tricomas glandulares (Figura 12B, p. 53) com pedicelo pluricelular unisseriado e cabeça pluricelular mostraram-se muito freqüentes nas duas faces da lâmina foliar de *M. hatschbachii*. Nas folhas de Melastomataceae, o tecido de revestimento mostra-se altamente especializado, sendo que a presença de tricomas, de formas variadas e complexas, constitui um importante auxílio na identificação dos gêneros e espécies (METCALFE E CHALK, 1950). A diversidade dos tricomas em Melastomataceae é relatada por diversos autores (METCALFE E CHALK, 1950; SOUZA, 1997; GUIMARÃES et al., 1999; JUDD et al., 1999) e Wurdack (1986) elaborou um atlas sobre os tipos encontrados nos representantes neotropicais. De acordo com REIS et al. (2005), tricomas tectores e glandulares podem ser encontrados em *Microlicia*, e Rodrigues (2005) verificou que a presença de dois ou mais tipos de tricomas em um mesmo indivíduo também pode ser observada, como por exemplo, em *Microlicia canastrensis*, *Microlicia fasciculata* e *Microlicia polystemma*, as quais apresentam associação de três tipos de tricomas. No entanto, em *M. hatschbachii* foram encontrados tricomas glandulares de apenas um tipo.

Rodrigues (2005) também relata que tanto as espécies de Melastomataceae que possuem tricomas glandulares ou simples, apresentam uma viscosidade bastante notória na superfície dos ramos, folhas, hipanto e lacínias, o que também pôde ser observado em *M. hatschbachii*.

5.2.2 Nervura principal das folhas

A nervura principal, em secção transversal apresenta formato convexo na face abaxial, com a epiderme uniestratificada, formada por células um pouco maiores em relação à lâmina foliar e revestida por cutícula espessada (Fig. 11E, p. 50). De acordo com KEATING (1984), na região da nervura central, a face adaxial pode ser sulcada, plana ou ter forma de cunha enquanto que a face abaxial pode ser convexa ou arredondada.

Junto à epiderme foram observadas células esclerenquimáticas seguidas do parênquima fundamental. Na região central há um único feixe vascular do tipo bicolateral em arco aberto formado por xilema e por floema nas posições adaxial e abaxial, sendo o floema adaxial mais desenvolvido que o abaxial. Segundo Keating (1984) os feixes vasculares podem aparecer imersos no mesofilo ou serem abruptamente diferenciados dele, podem ser colaterais ou bicolaterais, sendo que os últimos apresentam ocasionalmente o floema mais desenvolvido no lado adaxial como foi observado em *M. hatschbachii*.

Também foram encontradas células esclerificadas e algumas fibras distribuídas ao redor da nervura principal e feixes vasculares adjacentes foram encontrados inseridos no mesofilo (Figura 11E, p. 50).

5.2.3 Testes histoquímicos

Os testes histoquímicos realizados evidenciaram a presença de lipídios na cutícula (Figura 12C, p. 53), lignina ao redor do feixe vascular central e compostos fenólicos principalmente na região da epiderme e nervura central (Figura 12D, p. 53). A presença de substâncias fenólicas nas células vegetais é comum na família e vista como um fator protetor contra a intensa radiação UV nas regiões altas da Venezuela (ROTH, 1995) e também é citada como mais uma característica das plantas xeromorfas, enquanto Salatino (1993) discute a importância destes compostos e sua eficiência na defesa vegetal contra herbívoros. Vale (1999) constatou a grande quantidade de substâncias fenólicas em plantas do campo rupestre e associou o fato à maior altitude, ao nível de insolação ou ainda às observações de campo que apontam para uma forte pressão de herbivoria, concordando com as causas citadas pelos autores acima referidos.

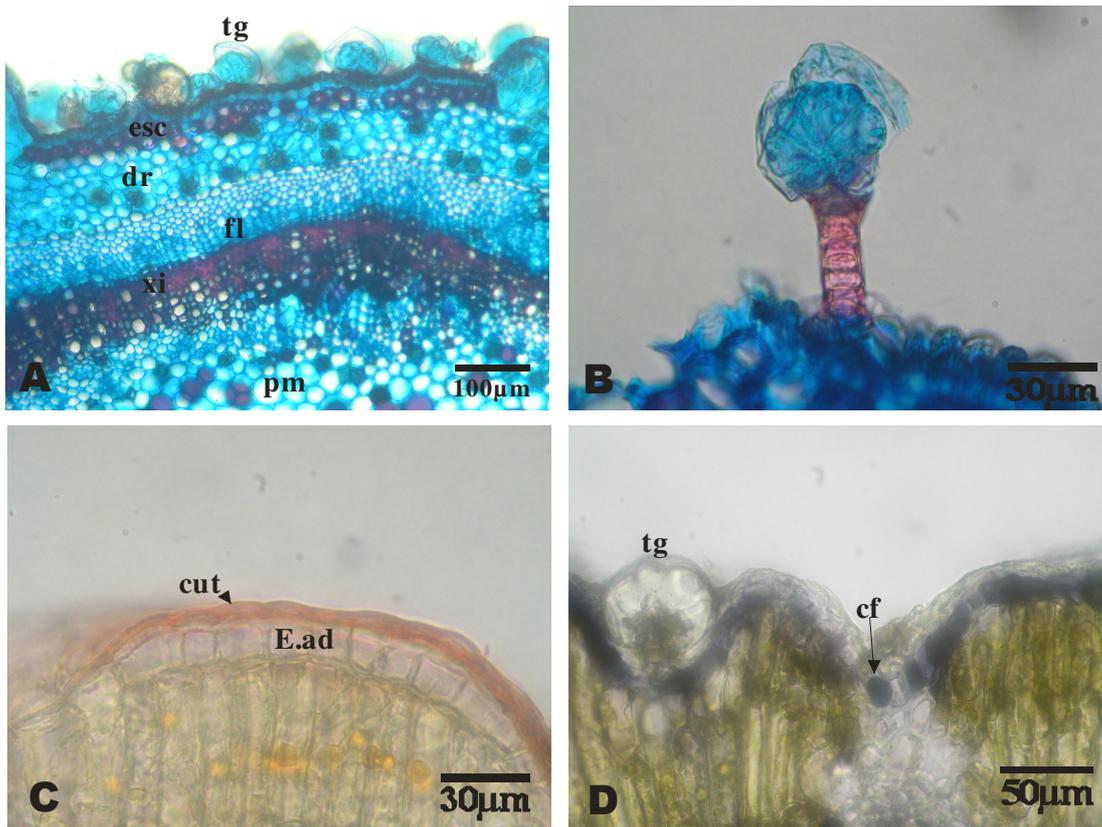


Figura 12: Microscopia óptica de caule e folhas de *M. hatschbachii*. A- Secção transversal do caule (10x com optovar); B- Tricoma glandular (40x com optovar); C- Secção transversal da folha corada com Sudam IV (40x com optovar); D- Secção transversal da folha corada com cloreto férrico (40x). E. ad=epiderme adaxial; ess=esclerênquima; pm=parênquima medular; cut=cutícula; xi=xilema; fl=floema; dr=drusa; tg=tricoma glandular; cf=compostos fenólicos.

5.2.4 Pecíolo e Caule

O pecíolo, em secção transversal, apresenta aspecto oval com contorno levemente irregular. A epiderme é uniestratificada, revestida por cutícula espessada, com tricomas glandulares com pedicelo unisseriado semelhantes aos encontrados nas folhas. Adjacente à epiderme encontram-se várias camadas de colênquima e no parênquima fundamental existem muitas drusas de oxalato de cálcio ao redor do feixe vascular central e dos dois outros feixes vasculares adjacentes (Figura 11F, p. 50).

O caule possui secção transversal quadrangular nos ramos jovens e oval ou circular nos ramos adultos. A epiderme uniestratificada apresentou cutícula espessa e inúmeros tricomas glandulares. Internamente à epiderme foram encontradas algumas células esclerificadas seguidas de parênquima contendo drusas de oxalato de cálcio. A região vascular apresentou estrutura sifonostélica anfiflóica contínua ou solenostélica (OLIVEIRA E AKISUE, 2000), na qual o floema localiza-se tanto externa como internamente. A região central do caule é preenchida por parênquima medular e também contém drusas de oxalato de cálcio (Figura 12A, p. 53).

5.3 ESTUDO QUÍMICO

5.3.1 Análise dos constituintes químicos da cera epicuticular por CG-EM

Devido a presença de cutícula espessa e tricomas glandulares presentes em ambas as superfícies das folhas de *M. hatschbachii*, a cera cuticular e os constituintes dos tricomas foram extraídos com CH_2Cl_2 para avaliar a composição química dos mesmos (Ver seção 4.4.2, p. 41). A primeira extração teve por objetivo remover os constituintes da cera epicuticular.

O fracionamento do extrato cuticular por CC forneceu 56 frações as quais foram unidas de acordo com o perfil da cromatografia em camada delgada. As frações de 1 a 12 reunidas e denominadas CEMH 1 e as frações de 13 a 22, chamadas de CEMH 2, foram submetidas à CG-EM. De acordo com o padrão de fragmentação, a fração CEMH 1 apresentou uma mistura de 3 alcanos (C_{27} a C_{29}) (Figura 13, p. 55), os quais foram identificados de acordo com o tempo de retenção conforme comparação com o cromatograma A da Figura 21 (p. 64) (Ver seção 5.3.3, p. 63).

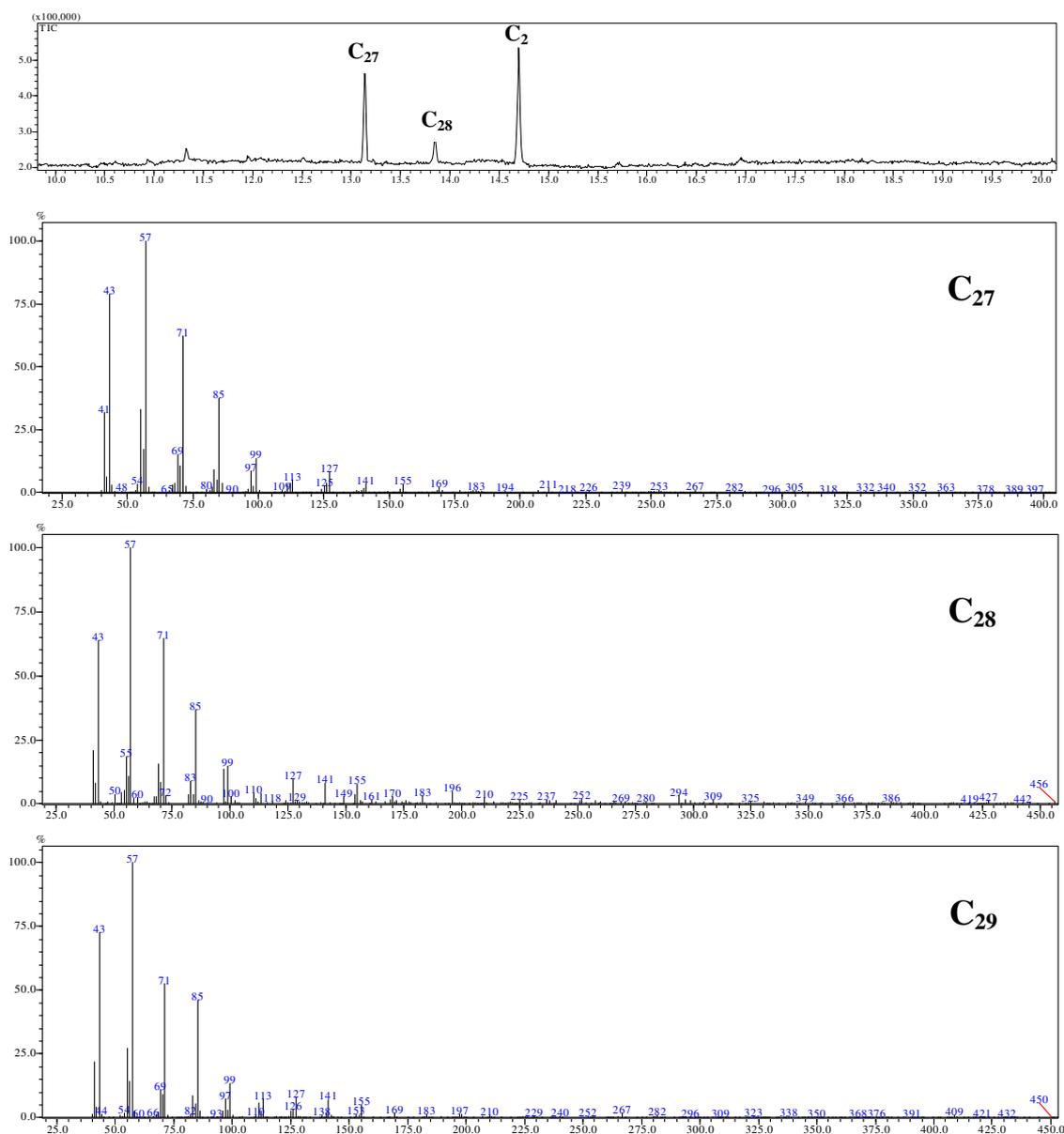


Figura 13: Cromatograma de íons totais da fração CEMH 1 e espectros de massas

O cromatograma de íons totais (CIT) da fração CEMH 2 (Figura 14, p. 56) apresentou uma mistura de substâncias na qual os picos denominados **4e**, **4a** e **4d** foram caracterizados como diterpenos do tipo labdano devido à presença dos fragmentos intensos em m/z 177 e 137 (Figura 15, p. 56 e Figura 16, p. 57) característicos desta classe de substâncias devido a perda da cadeia lateral e posterior abertura do anel. De acordo com o íon molecular, fragmento intenso indicando perda de metila $[M-15]^+$ e o padrão de fragmentação comparado com a literatura (CARMAN E DUFFIELD, 1995; BUDZIKIEWICZ et

al., 1967; PINTO et al., 2000) foram propostas as estruturas químicas dispostas na figura 17 (p. 57). As substâncias **4a** e **4d** serão novamente discutidas posteriormente (Ver seção 5.3.3, p. 65) .

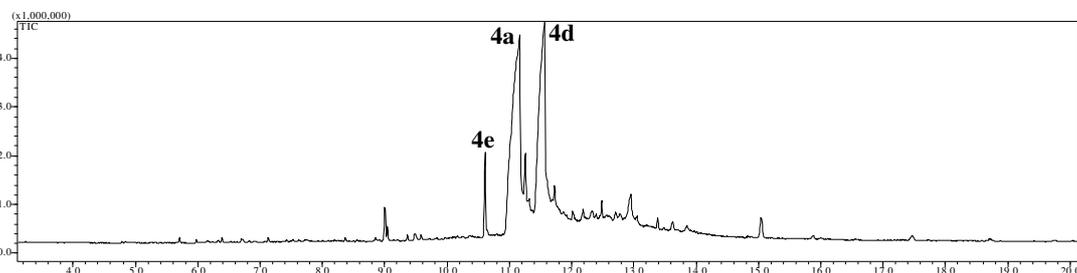


Figura 14: Cromatograma de íons totais da fração CEMH 2

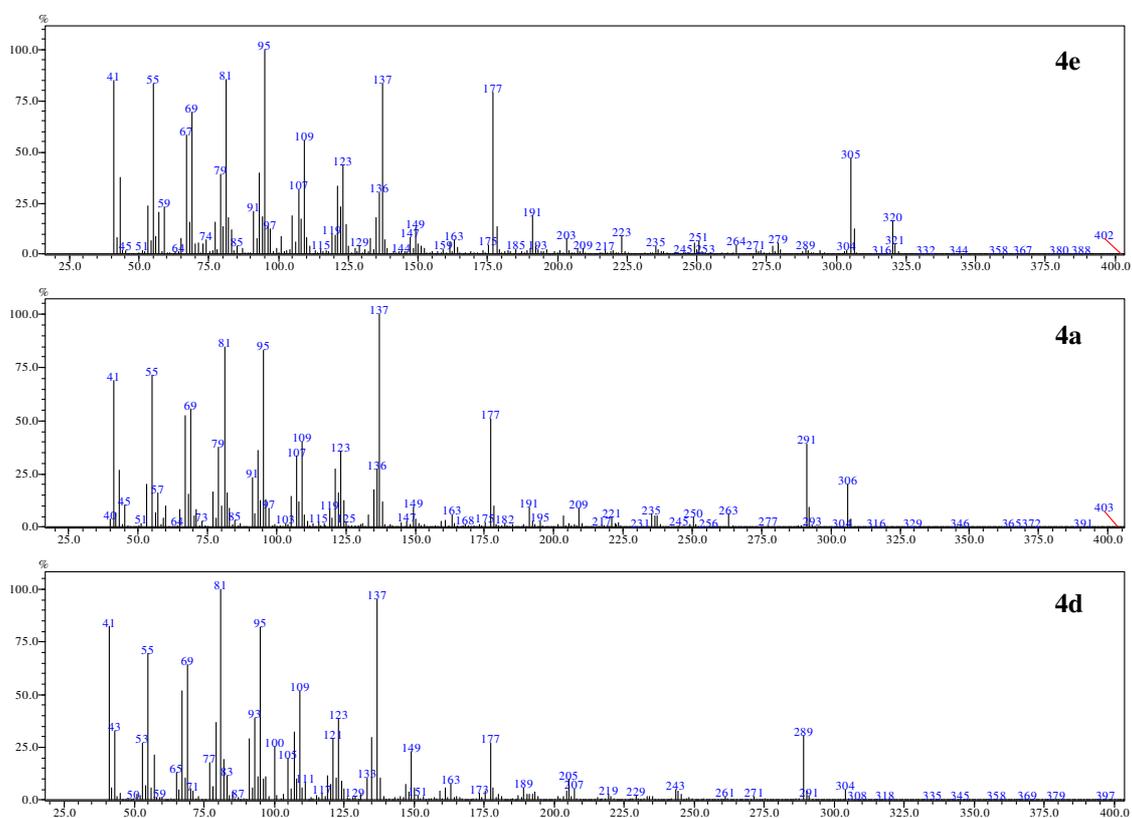
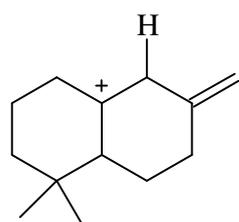
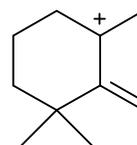


Figura 15: Espectros de massas dos picos **4e**, **4a** e **4d** da fração CEMH 2

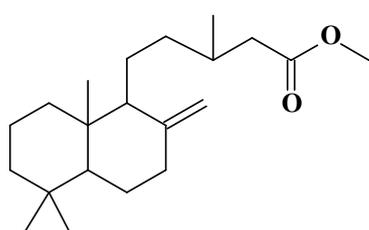


m/z 177



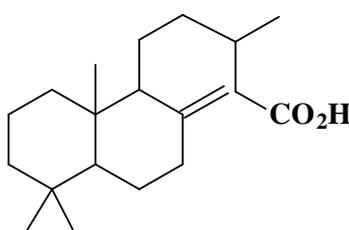
m/z 137

Figura 16: Principais fragmentos dos picos **4e**, **4a** e **4d** da fração CEMH 2



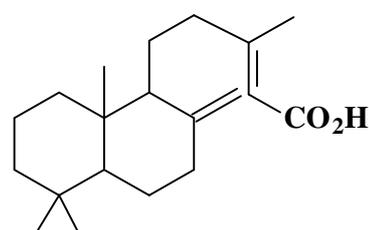
4e - $[M]^+$ 320

Labd-8(17)-en-15-oato de metila



4a - $[M]^+$ 306

Ácido labd-8(17)-en-15-óico



4d - $[M]^+$ 304

Ácido labd-8(17),13-dien-15-óico

Figura 17: Propostas das estruturas dos picos **4e**, **4a** e **4d** da fração CEMH 2

Devido às agressões sofridas pelas variações do meio ambiente, as plantas superiores produzem uma série de estruturas de natureza polimérica que as isolam e protegem contra as perdas de água por transpiração excessiva, a ação de patógenos, as radiações solares e a entrada de produtos químicos e contaminantes (HEREDIA et al., 1998). Essa função é assumida pela cutícula ou membrana cuticular que cobre as paredes periclinais externas das células epidérmicas, formando um revestimento constituído, principalmente, por substâncias lipídicas (PROCÓPIO et al., 2003).

A composição química do revestimento cuticular de plantas é variada, sendo a cutina e a cera seus principais componentes. A cutina é um biopoliéster insolúvel, de elevado grau de entrecruzamento entre os ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa que a compõem, enquanto a cera

apresenta-se embebida nesse polímero ou depositada no exterior da cutícula (cera epicuticular) (HEREDIA et al., 1998).

Segundo Bianchi e Bianchi (1990) a quantidade e a composição da cera epicuticular variam de acordo com a espécie e com a variedade, além de serem influenciadas pelas condições climáticas. A cera epicuticular é uma mistura complexa de diferentes compostos alifáticos geralmente contendo séries homólogas de alcanos, alcoóis (primários e secundários), aldeídos, cetonas, β -dicetonas e ésteres.

5.3.2 Análise do extrato glandular por CLAE-DAD

O sobrenadante metanólico obtido do extrato glandular foi analisado por CLAE-DAD para verificação da composição dos constituintes provenientes do material secretado pelas glândulas.

O cromatograma obtido, registrado em 254 nm, indicou a presença de 10 picos (Figura 18, p. 59). Os picos 1 a 5, 7 e 8 apresentaram espectros com $\lambda_{\text{máx}}$ entre 240 a 250, enquanto os picos 9 e 10 apresentaram absorções semelhantes em $\lambda_{\text{máx}}=260$ nm (Figura 19, p. 60). Estes dados revelam a presença de grupos cromóforos nas estruturas destas substâncias, tratando-se provavelmente de derivados do benzeno, os quais apresentam $\lambda_{\text{máx}}$ entre 246 a 253 nm dependendo do grupo substituinte, conforme mostra a figura 20 (p. 60) (SILVERSTEIN et al., 1994). Este resultado pode estar relacionado ao teste positivo para a presença de compostos fenólicos realizado anteriormente com as folhas de *M. hatschbachii* (Ver seção 5.2.3, p. 52).

Apenas o pico 6 ($T_r = 4,14$ min) apresentou absorções espectrais típicas de flavonóide onde foram observadas bandas atribuídas ao anel A (banda II do grupo benzoil) e ao anel B (banda I do grupo cinamoil), com $\lambda_{\text{máx}}$ em 260nm e 350nm, respectivamente (Figura 19, p. 60).

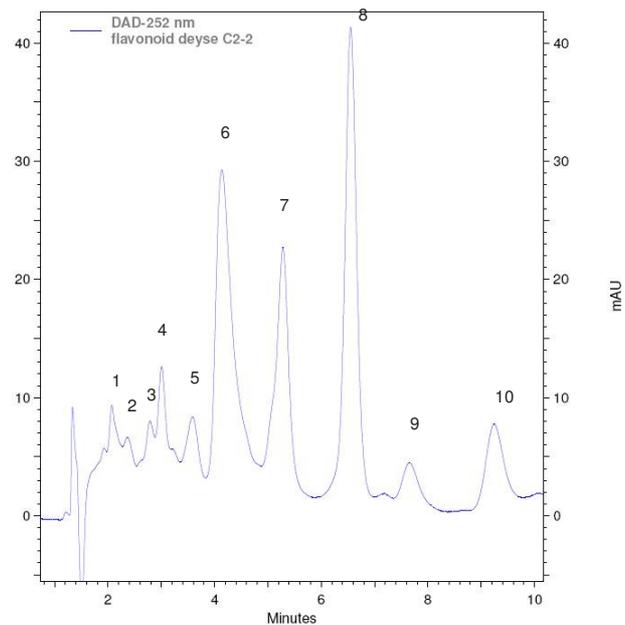


Figura 18: Cromatograma do extrato glandular por CLAE-DAD

A composição química dos tricomas glandulares também é bastante diversificada. Várias classes de metabólitos já foram identificadas nos exudatos glandulares entre eles monoterpenos, diterpenos, lactonas sesquiterpênicas e flavonóides (MARIMOTO et al., 2009; SPRING et al., 2003, URZUÁ et al., 2004). Alterações no número dos tricomas, composição e concentração dos seus exudatos ao longo do desenvolvimento das folhas podem ter conseqüências importantes para a adaptação da planta a fatores bióticos e abióticos (ROBLES-ZEPEDA et al., 2009).

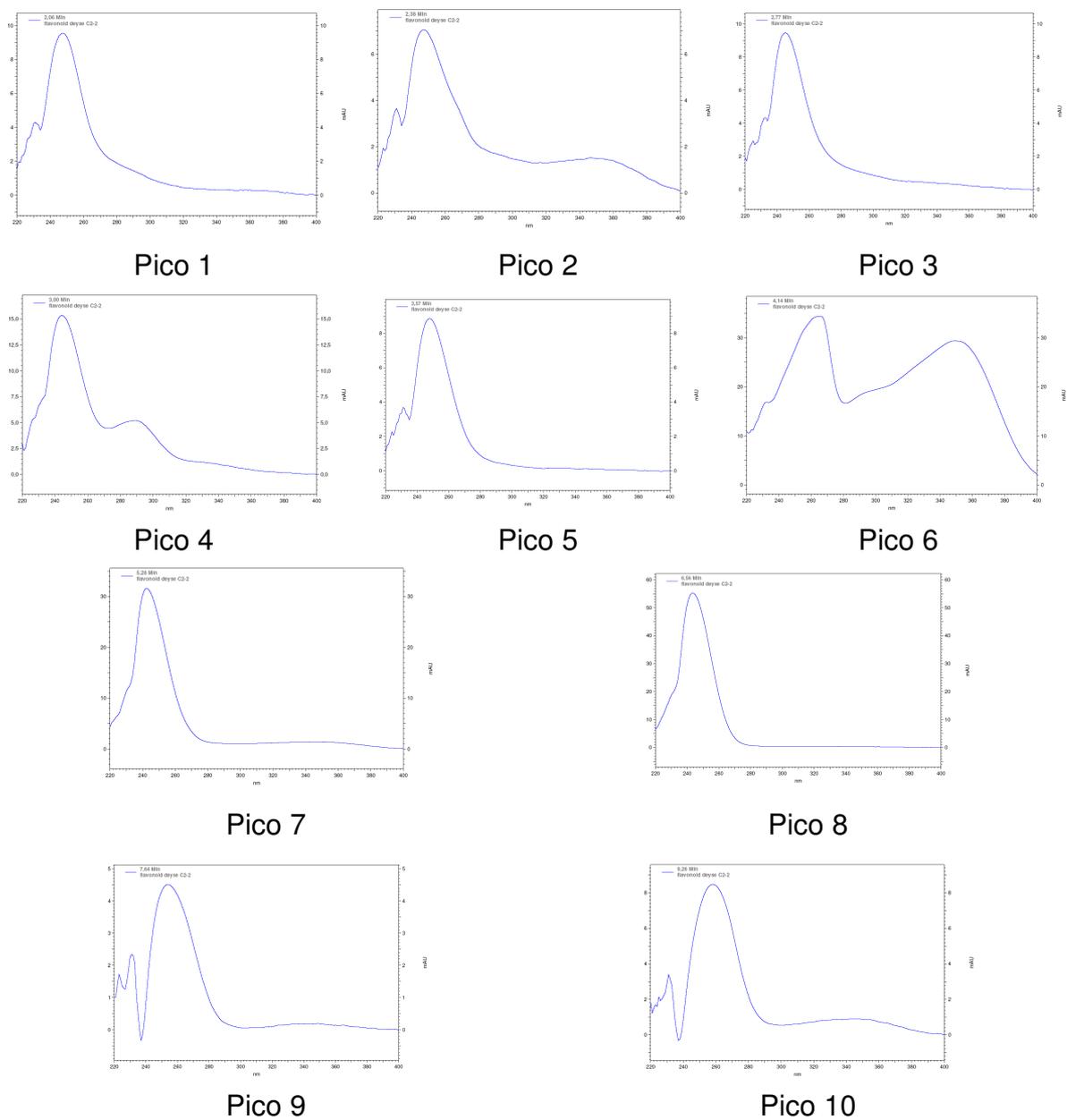
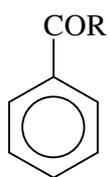


Figura 19: Espectros UV dos picos referentes ao cromatograma do extrato glandular por CLAE-DAD



R	$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$
Alquila	246
H	250
OH, OAlq	253

Figura 20: Absorções UV de derivados do benzeno

5.3.3 Análise das frações do extrato hexânico por CG-EM

O extrato hexânico total (HEMH) obtido das partes aéreas de *M. hatschbachii* por maceração foi fracionado por CC e forneceu 11 frações das quais quatro foram submetidas à CG e CG-EM.

A fração HEMH 2, eluída com Hex/AcOEt (19:1), foi analisada por CG e CG-EM (Figura 21A, p. 64) e revelou tratar-se de uma mistura de alcanos identificados na Tabela 6 (p. 61).

Tabela 6: Hidrocarbonetos (1a-1p) caracterizados pelo espectro de massas dos picos presentes no CIT da fração HEMH 2 (intensidade relativa dos picos %).

Pico	Tempo de Retenção (min)	Fórmula molecular	[M] ⁺	Estrutura	Nome comum
1a	6,30	C ₁₆ H ₃₄	226(5)	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CH ₃	Hexadecano
1b	7,05	C ₁₇ H ₃₆	240(5)	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ CH ₃	Heptadecano
1c	7,76	C ₁₈ H ₃₈	254(6)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CH ₃	Octadecano
1d	8,44	C ₁₉ H ₄₀	268(5)	CH ₃ (CH ₂) ₁₇ CH ₃	Nonadecano
1e	9,09	C ₂₀ H ₄₂	282(5)	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ CH ₃	Eicosano
1f	9,71	C ₂₁ H ₄₄	296(5)	CH ₃ (CH ₂) ₁₉ CH ₃	Heneicosano
1g	10,31	C ₂₂ H ₄₆	310(5)	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ CH ₃	Docosano
1h	10,89	C ₂₃ H ₄₈	324(2)	CH ₃ (CH ₂) ₂₁ CH ₃	Tricosano
1i	11,44	C ₂₄ H ₅₀	338(3)	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ CH ₃	Tetracosano
1j	11,97	C ₂₅ H ₅₂	352(3)	CH ₃ (CH ₂) ₂₃ CH ₃	Pentacosano
1k	12,52	C ₂₆ H ₅₄	366(1)	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ CH ₃	Hexacosano
1l	13,15	C ₂₇ H ₅₆	380(1)	CH ₃ (CH ₂) ₂₅ CH ₃	Heptacosano
1m	13,86	C ₂₈ H ₅₈	394(1)	CH ₃ (CH ₂) ₂₆ CH ₃	Octacosano
1n	14,75	C ₂₉ H ₆₀	408(1)	CH ₃ (CH ₂) ₂₇ CH ₃	Nonacosano
1o	15,73	C ₃₀ H ₆₂	422(?)	CH ₃ (CH ₂) ₂₈ CH ₃	Triacontano
1p	16,97	C ₃₁ H ₆₄	436(?)	CH ₃ (CH ₂) ₂₉ CH ₃	Hentriacontano

Tabela 7: Principais picos observados no espectro de massas da fração HEMH 3, 4 e 5 (intensidade relativa dos picos %).

Pico	Tr (min)	Fórmula molecular	[M] ⁺	Principais fragmentos m/z
Ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa (Fração HEMH 3)				
2a	13,36	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382(30)	43(72), 57(60), 69(49), 74(100), 87(68), 143(27)
2b	15,01	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	410(20)	43(80), 57(64), 69(32), 74(100), 87(80), 143(27)
2c	17,45	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	438(62)	43(55), 57(56), 69(30), 74(100), 87(64), 143(27)
Ácidos carboxílicos (Sobrenadante da Fração HEMH 5)				
3a	13,65	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368(20)	43(69), 57(100), 60(34), 69(43), 73(55), 97(32), 129(14)
3b	15,49	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	396(25)	43(93), 57(100), 60(39), 69(40), 73(52), 83(26), 97(21), 129(25), 207(13)
3c	18,15	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	424(36)	43(82), 57(100), 60(45), 73(80), 83(25), 129(25)
Diterpenos labdanos (Fração HEMH 4)				
4a	10,96	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306(22)	81(73), 95(68), 109(30), 123(31), 137(100), 177(40), 291(40)
4b	11,02	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306(10)	81(41), 95(100), 107(53), 123(47), 136(48), 177(15), 191(70), 263(25), 291(15)
4c	11,12	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304(9)	81(100), 95(92), 109(69), 123(45), 137(91), 177(35), 289(40)
4d	11,39	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304(10)	81(100), 95(80), 109(55), 123(44), 137(91), 177(30), 289(43)

A fração HEMH 3 eluída com Hex/AcOEt (9:1) apresentou composição majoritária de ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa. Da fração HEMH 4 foi obtida uma mistura de diterpenos labdanos e ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa. À fração HEMH 5 foi adicionado acetato de etila e tanto o

sobrenadante quanto o precipitado foram analisados por CG-EM. O sobrenadante obtido da fração HEMH 5 apresentou o mesmo perfil químico da fração HEMH 4, enquanto o precipitado mostrou composição majoritária de ácidos carboxílicos. Os principais picos e os cromatogramas de íons totais (CIT) das frações HEMH 2, 3, 4 e 5 estão dispostos nas tabelas 6 e 7 (p. 61 e 62) e figura 21 (p. 64).

A aplicação da CG-FID e CG-EM pode ser usada para distinguir substâncias apolares a partir do tempo de retenção e padrão de fragmentação, respectivamente (BRANCO et al, 2004). As estruturas químicas dos hidrocarbonetos, ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa e ácidos carboxílicos foram propostas com base no padrão de fragmentação observado no espectro de massas, através de fragmentos típicos e do íon molecular, bem como por comparação com o espectro de massas descrito na literatura.

Os alcanos foram detectados através de comparação do padrão de fragmentação com dados descritos na literatura. A figura 21A (p. 64) mostra a série homóloga de hidrocarbonetos com picos com tempos de retenção em intervalos próximos, concentrações distintas e espectros de massa cujos íons moleculares diferem entre si em 14 unidades de massa (Anexo I, p. 102 a 106). Os alcanos majoritários (C₂₇ a C₂₉) também foram encontrados anteriormente (Ver seção 5.3.1, p. 54) na cera epicuticular.

O pico do íon molecular de um hidrocarboneto linear saturado de cadeia longa é, geralmente, de baixa intensidade. Os picos mais intensos ocorrem em C₃ e C₄, e suas intensidades diminuem suavemente até [M – C₂H₅]⁺ (SILVERSTEIN et al, 2007). Como as substâncias com oito ou mais carbonos têm espectros muito semelhantes, a identificação da série homóloga de hidrocarbonetos de cadeia longa encontrados na fração HEMH 2 de *Microlicia hatschbaciai* foi realizada a partir do pico do íon molecular. Dentro da série homóloga de hidrocarbonetos encontrados, C₁₆-C₃₁, houve maior predominância de C₂₇ e C₂₉ como principais homólogos constituintes da espécie. Segundo Mimura et al. (1998) tal padrão de distribuição de alcanos é característico nas Angiospermas e o mesmo autor sugere que a distribuição de alcanos é um critério útil para o estabelecimento de relações de afinidade entre espécies de *Huberia* (Melastomataceae), podendo ser bons caracteres taxonômicos ao nível de espécie para alguns taxa.

O ésteres de metila foram identificados pela presença dos íons m/z 74 ($[\text{CH}_2=\text{C}(\text{OH})\text{OCH}_3]^+$), 87 ($[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_3]^+$) e 143 ($[(\text{CH}_2)_6\text{COOCH}_3]^+$) (Anexo II, p. 107). Os ácidos carboxílicos foram identificados através da presença do fragmento m/z 60, que corresponde ao rearranjo de McLafferty (SILVERSTEIN et al, 2007) (Anexo III, p. 108).

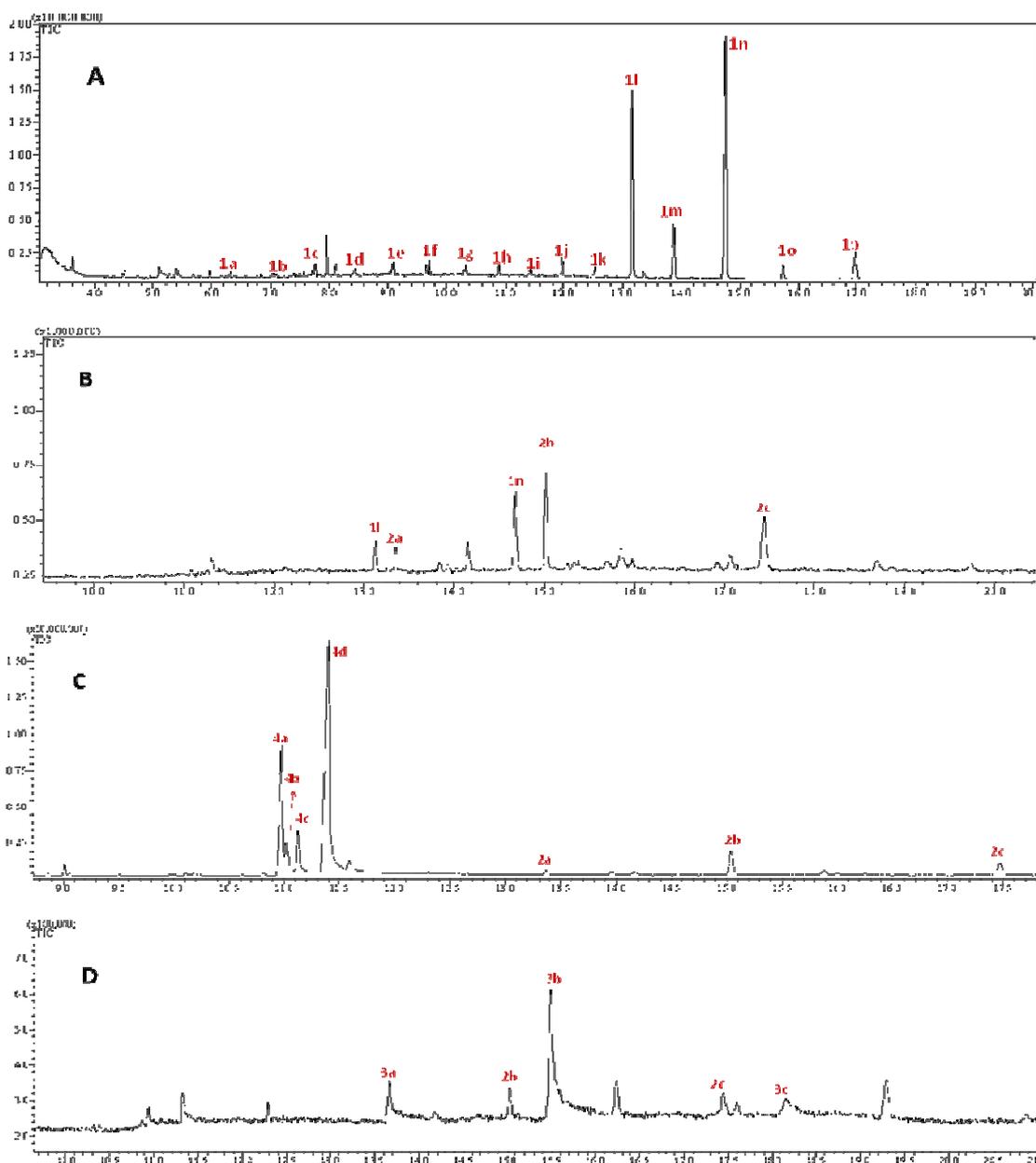


Figura 21: Cromatograma de íon totais (CIT) das frações HEMH 2 (A), HEMH 3 (B), HEMH 4 (C) e precipitado de HEMH 5 (D).

As substâncias de estrutura mais elaborada, como os diterpenos necessitaram de uma análise mais detalhada para a caracterização estrutural. Entretanto tais estruturas foram rapidamente detectadas através de seus fragmentos característicos e íons moleculares. A análise por CG-EM da fração 4 de HEMH mostrou tratar-se de uma mistura de diterpenos da classe dos labdanos. Os constituintes majoritários **4a** e **4d** e a substância **4c** apresentam espectro de massas típico desta classe dos diterpenos (Figura 22, p. 66) devido a presença dos fragmentos m/z 137 e 177 conforme discutidos anteriormente (seção 5.3.1, p. 55). Estes diterpenos foram encontrados também no extrato cuticular e provavelmente sejam produzidos nos tricomas glandulares e secretados na cera epicuticular.

O espectro de massas da substância **4b** apresentou um fragmento intenso em m/z 191 que caracteriza a perda de hidroxila e formação de ligação dupla no C-8 (BUDZIKIEWICZ et al., 1967). O fragmento em m/z 263 (M-43) indica a perda de $[\text{CH}_3\text{COH}]^\bullet$, característico da função aldeído (SILVERSTEIN et al, 2007). Desta forma, as propostas dos principais fragmentos observados nos espectros de massas das substâncias **4a**, **4b**, **4c** e **4d** e as propostas das estruturas destas substâncias estão dispostas na figura 23 e 24, respectivamente (p. 67). Devido à similaridade entre os espectros de massas das substâncias **4c** e **4d**, sugere-se que sejam diastereoisômeros (cis e trans).

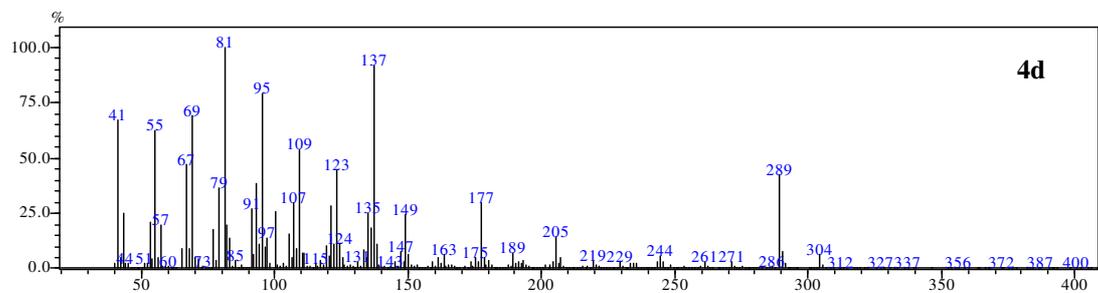
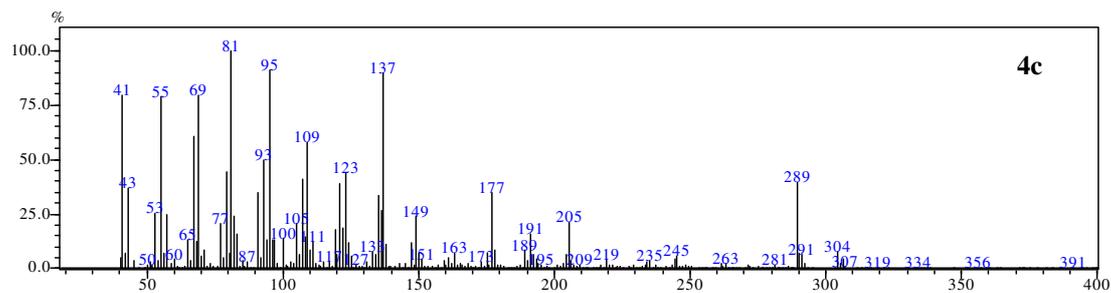
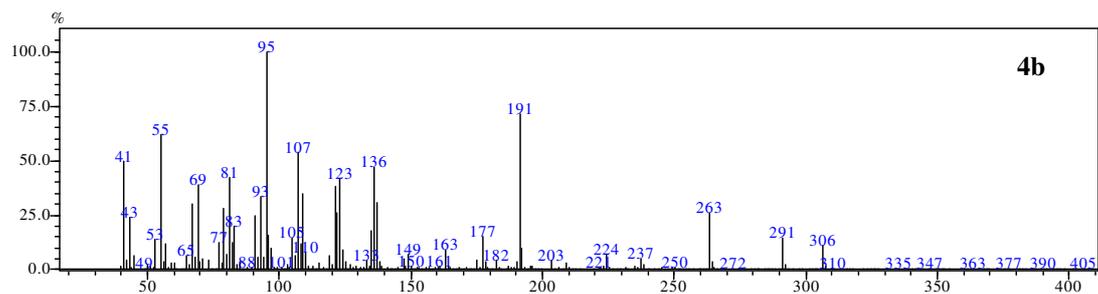
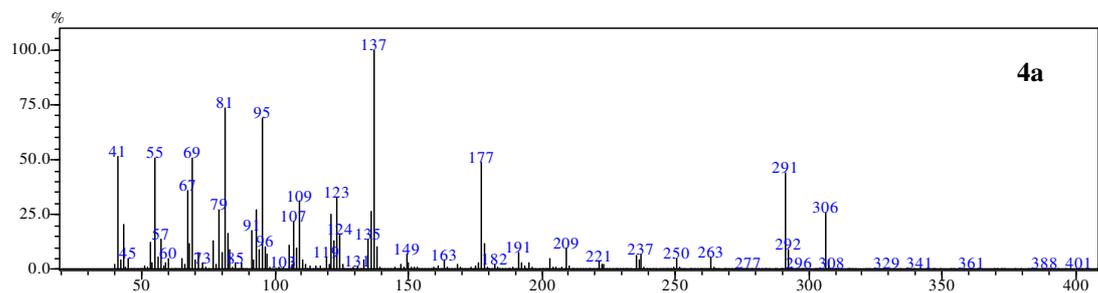
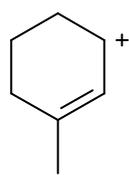
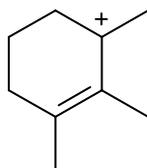


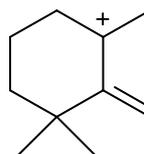
Figura 22: Espectros de massas das substâncias **4a**, **4b**, **4c** e **4d** da fração HEMH 4



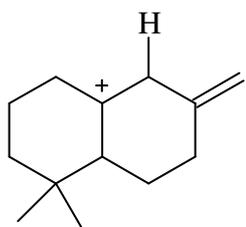
m/z 95



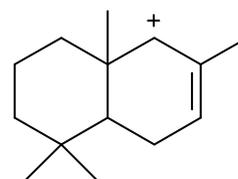
m/z 123



m/z 137

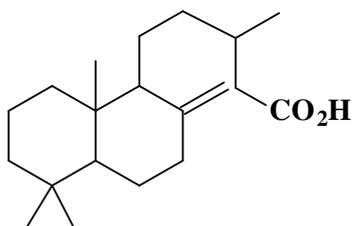


m/z 177



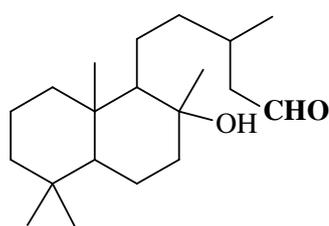
m/z 191

Figura 23: Principais fragmentos observados nos espectros de massas dos diterpenos labdanos **4a**, **4b**, **4c** e **4d**



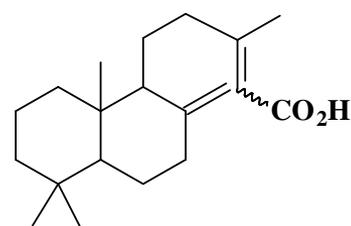
4a

Ácido labd-8(17)-en-15-óico



4b

8-hidroxilabdan-15-al



4c e 4d (cis/trans)

Ácido labd-8(17),13-dien-15-óico

Figura 24: Propostas das estruturas das substâncias **4a**, **4b**, **4c** e **4d** encontradas na fração HEMH 4

A análise por CG-EM das subfrações HEMH 6A, 6.B e 6.C (Figura 25, p. 68) evidenciou a presença dos diterpenos majoritários (**4a** e **4d**) contidos na fração HEMH 4 e notou-se que a proporção entre as duas substâncias nestas frações variou à medida que a polaridade da fração aumentou.

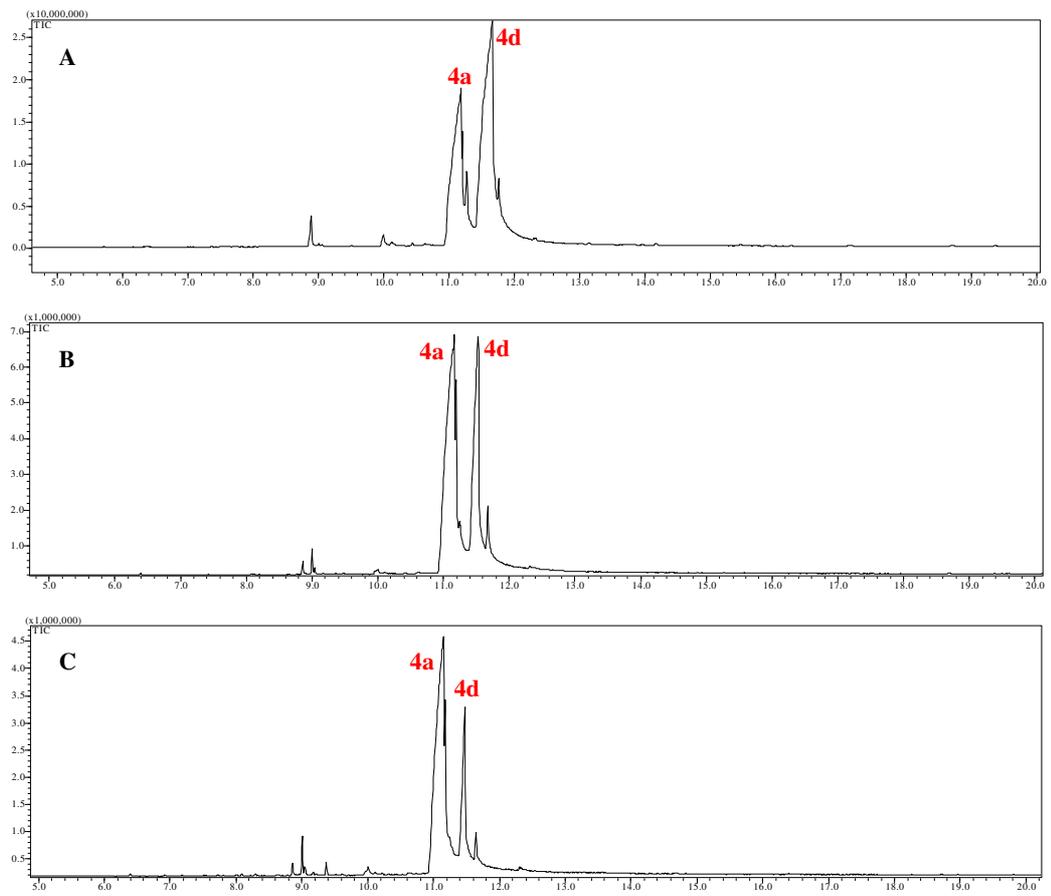


Figura 25: CIT das subfrações HEMH 6.A (A), HEMH 6.B (B) e HEMH 6.C (C)

5.3.4 Identificação da substância 4a

A partir do fracionamento da subfração 6G por CC foi possível isolar a substância pura **4a**, que foi analisada por CG-EM (Figura 26, p. 69) e RMN ^1H e ^{13}C .

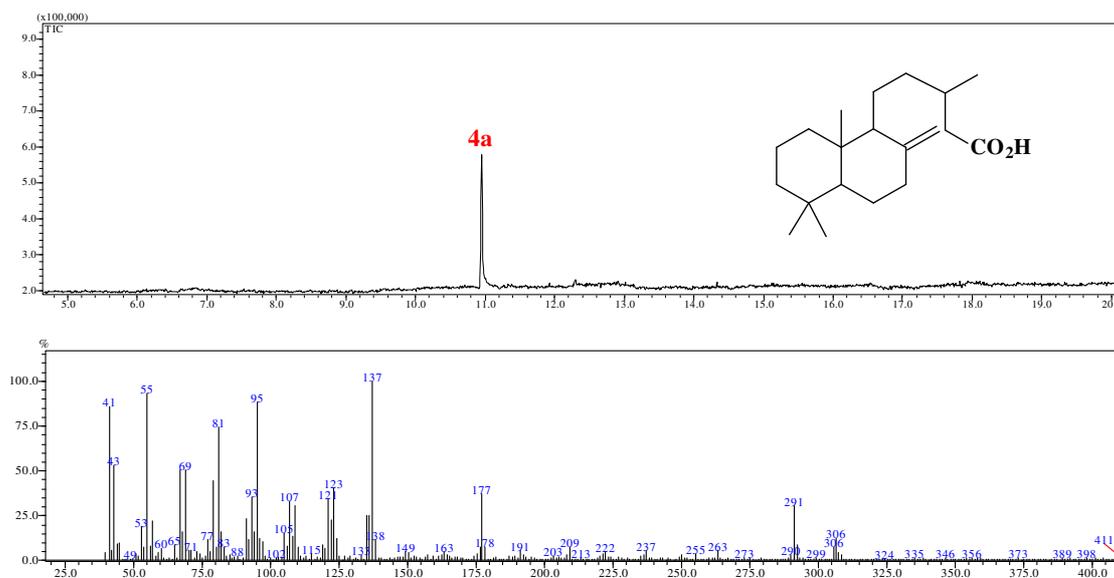


Figura 26: CIT (acima) e espectro de massas (abaixo) da subfração HEMH 6.G1

A análise dos espectros de massas da subfração HEMH 6.G1 sugeriu tratar-se de um diterpeno da classe dos labdanos, o que pôde ser confirmado pelos espectros de RMN ^1H e ^{13}C .

O espectro de RMN de ^1H (Figura 27, p. 70) apresentou três simpletos em δ_{H} 0,66, 0,79 e 0,86 e um duplete em δ_{H} 0,97 correspondentes aos hidrogênios metílicos em C-20, C-19, C-18 e C-16, respectivamente. Os simpletos largos em δ_{H} 4,46 e 4,79 foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos (H-17a e b) característicos de uma ligação dupla exocíclica em C-8 (ROMERO, 2007; PACHECO et al., 2009). As ampliações do espectro de RMN de ^1H estão disponíveis no anexo IV (p. 109 e 110).

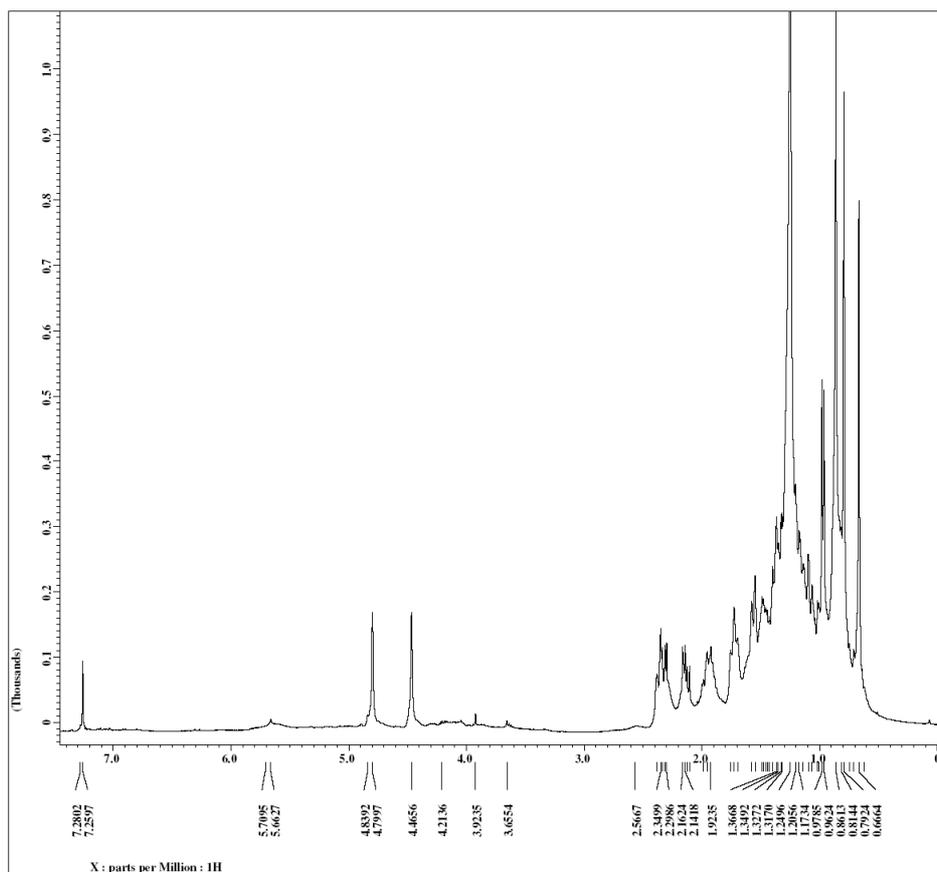


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H [(CDCl_3 , δ (ppm)] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)

No espectro de RMN de ^{13}C de **4a** (Figura 28, p. 71) foram observados 20 sinais, comprovando a natureza diterpênica da substância. Os deslocamentos químicos de carbono em δ_{C} 148,72 e 106,17 foram atribuídos à presença da ligação dupla entre C-8 e C-17. O sinal em δ_{C} 178,61 corresponde ao grupo carbonila em C-15. As ampliações do espectro de RMN de ^{13}C estão disponíveis no anexo V (p. 111 a 114).

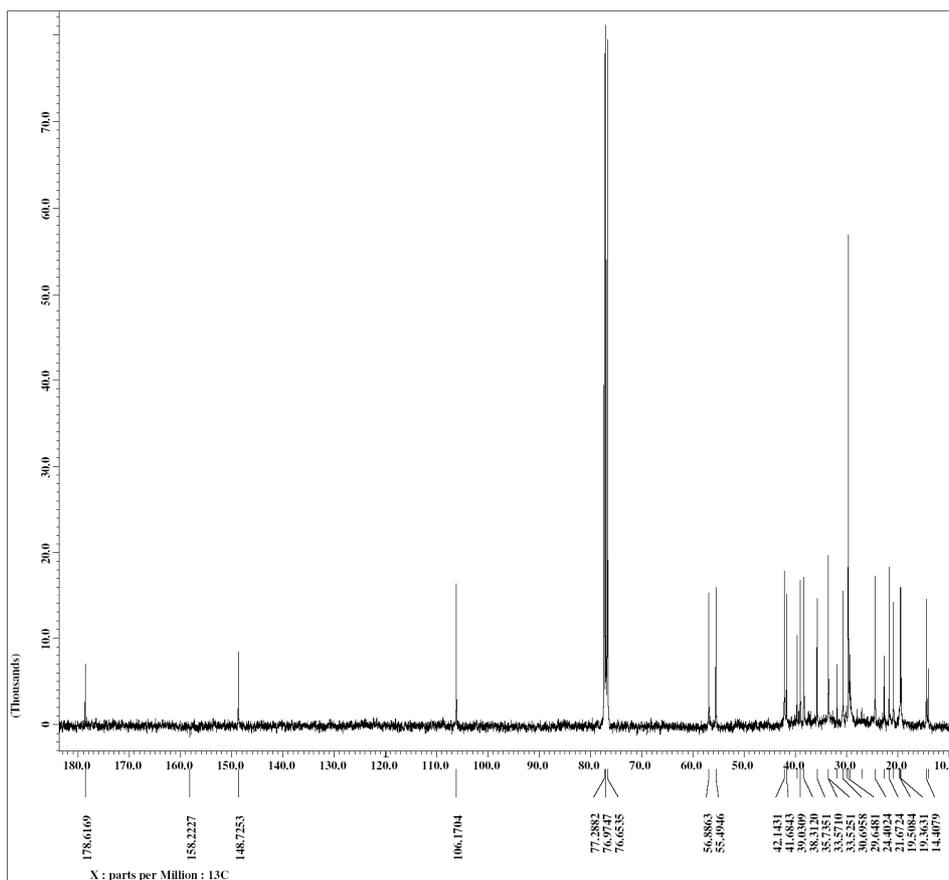


Figura 28: Espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl₃, δ (ppm)] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)

As atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono-13 desta substância foram confirmadas pela análise dos espectros de RMN 2D (COSY, HMQC e HMBC) e comparação com dados da literatura (ROMERO, 2007; BRANCO et al., 2004). Pelo mapa de contorno do espectro ^1H - ^1H -COSY (Figura 29, p. 72) pode-se observar as correlações entre os hidrogênios em δ_{H} 4,46 e 4,79 correspondentes aos hidrogênios olefínicos em C-17 e entre δ_{H} 1,9 (H-6a) e 2,34 (H-7a). Além disso, foram observadas correlações entre δ_{H} 1,72 (H-13) e δ_{H} 0,97 (3H-16) e entre δ_{H} 2,3 (H-14a) e δ_{H} 2,13 (H-14b).

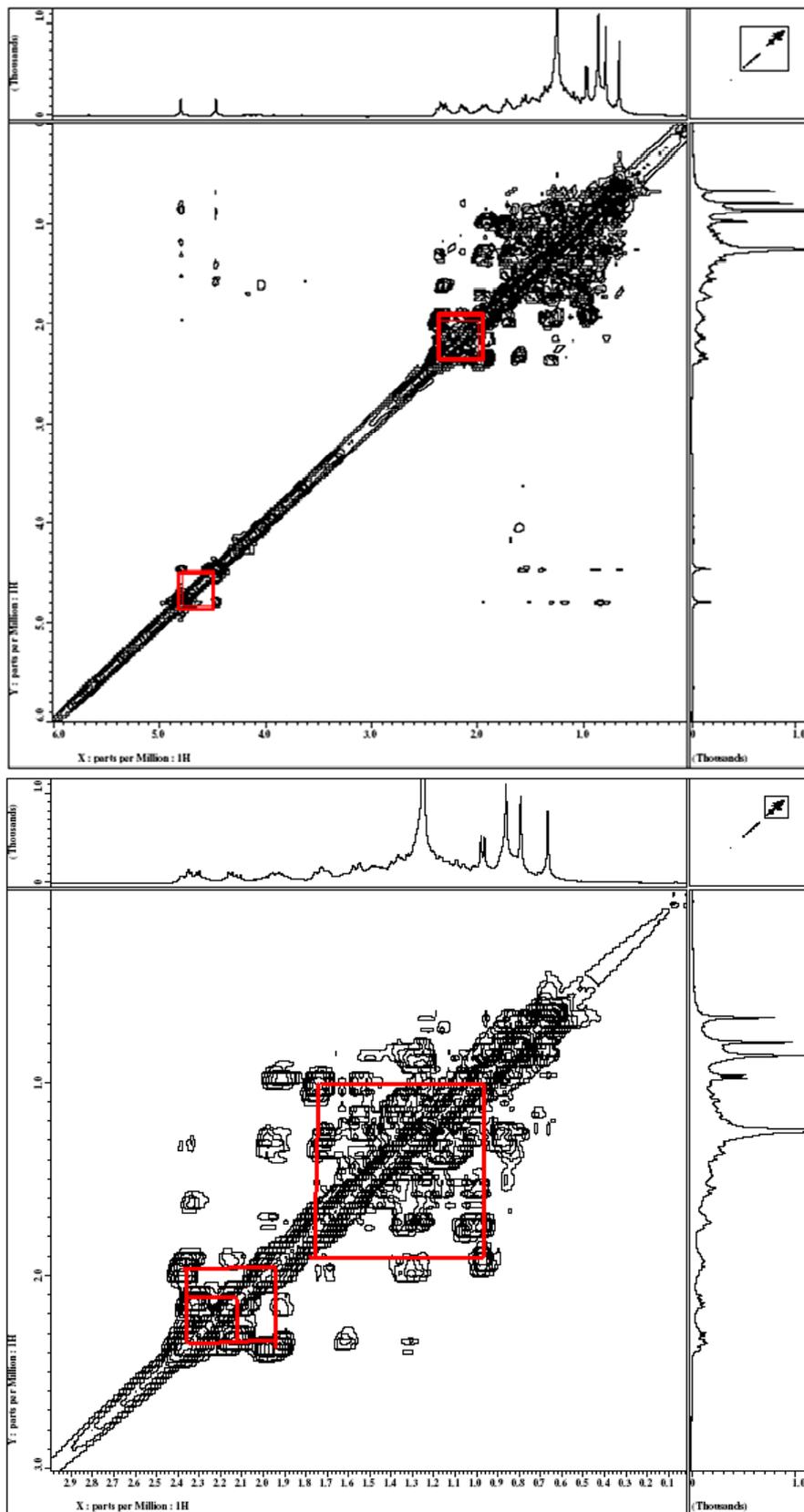


Figura 29: Mapa de contorno ^1H - ^1H -COSY da substância **4a** [(CDCl_3 , δ (ppm)] (acima) e sua ampliação (abaixo)

Através das correlações mostradas no espectro de HMQC (Figura 30 e 31, p. 73 e 74, respectivamente) foi possível assinalar os deslocamentos químicos de todos os átomos de carbono hidrogenados conforme mostra a tabela 8 (p. 75). Foram observadas correlações entre os simpletos em δ_H 0,66, 0,79 e 0,86 com os sinais de carbono em δ_C 14,4; 21,67 e 33,57, correspondentes aos hidrogênios metílicos ligados a C-20, C-19 e C18, respectivamente. Também houve correlação entre um dubleto em δ_H 0,97, atribuído a 3H-16 e o sinal δ_C 19,5 (referente ao carbono C-16) e entre os multipletos em δ_H 1,08 (H-5) e 1,54 (H-9) com os deslocamentos δ_C 55,49 (C-5) e 56,88 (C-9), respectivamente. A correlação observada entre os simpletos largos em δ_H 4,79 (H-17a) e 4,46 (H-17b) com o sinal δ_C 106,17 confirmou a presença de uma dupla ligação em C-17.

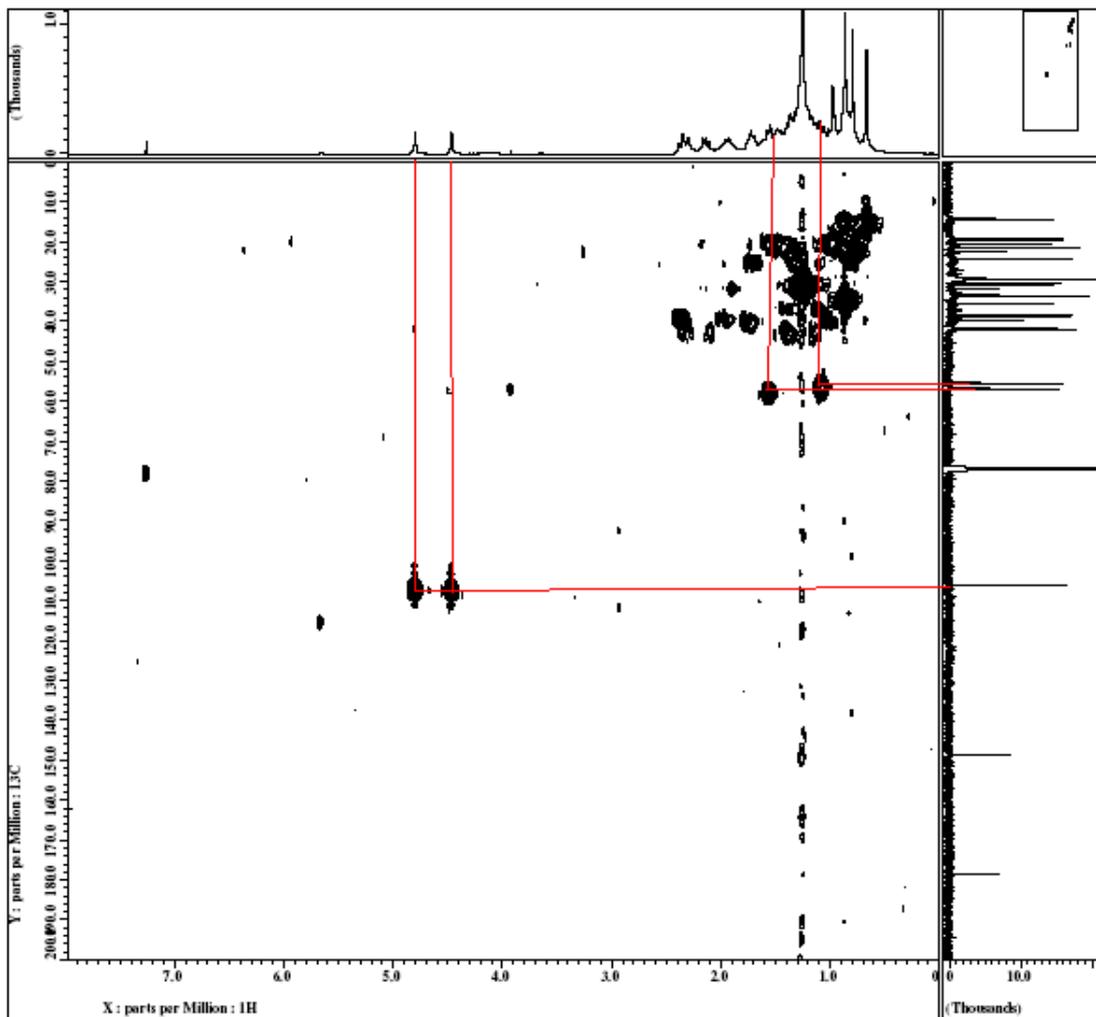


Figura 30: Mapa de correlação HMQC da substância **4a** [(CDCl₃, δ (ppm)]

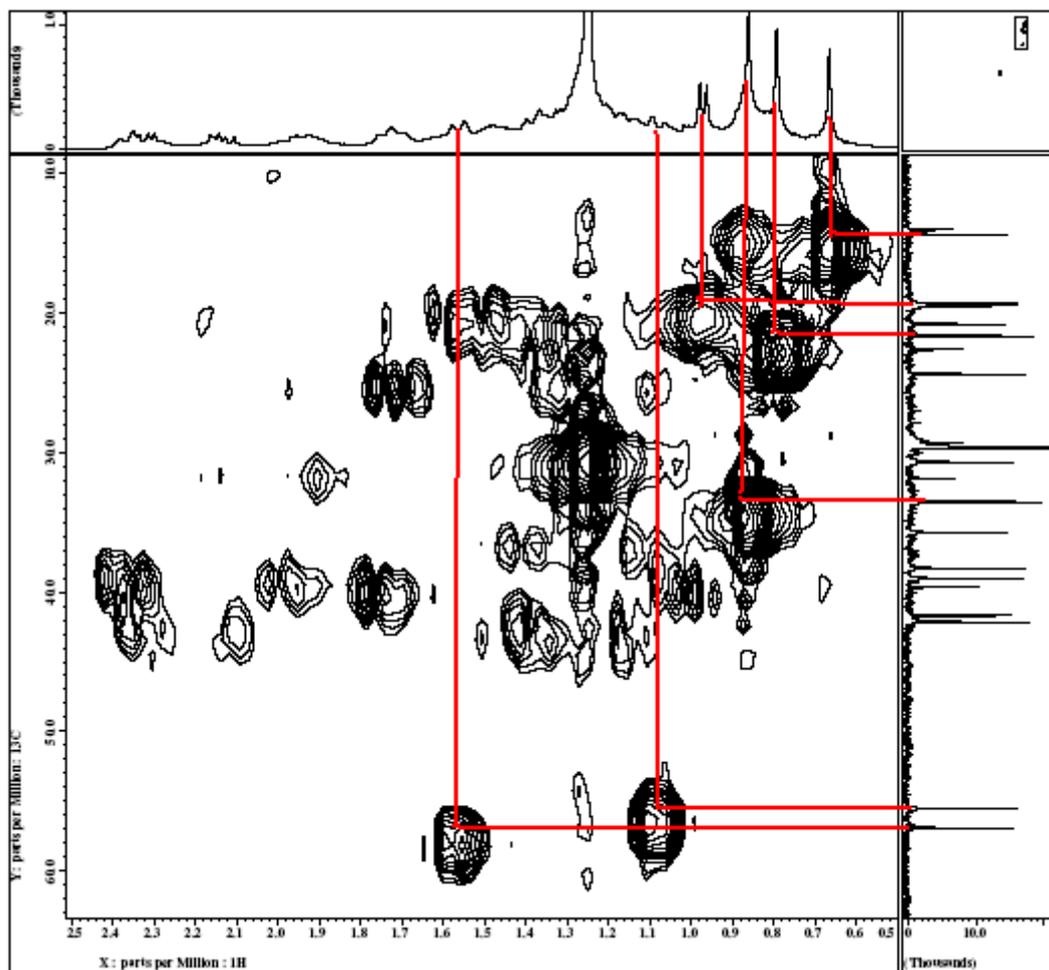


Figura 31: Ampliação do mapa de correlação HMQC da substância **4a** [(CDCl₃, δ(ppm))]

Tabela 8: Dados espectrais (δ_H e δ_C) de RMN 1H e ^{13}C para o diterpeno **4a** ($CDCl_3$), incluindo os resultados dos experimentos heteronucleares 2D HMQC ($^1Hx^{13}C$ -COSY- $^1J_{CH}$) e HMBC ($^1Hx^{13}C$ -COSY- $^nJ_{CH}$, $n=2$ e 3)

C	HMQC		HMBC	
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$
4	33,52	-	3H-18	
8	148,72	-		
10	39,65	-		
15	178,61	-	H-14a, H-14b	
CH				
5	55,49	1,08		3H-19, 3H-18
9	56,88	1,54		3H-20, H-17a, H-17b
13	30,69	1,72	H-14a, H-14b, 3H-16	
CH₂				
1	39,03			3H-20
2	19,36			
3	42,14			3H-19, 3H-18
6	24,4	1,91 (6a)		
7	38,3	2,34 (7a)		H-17a, H-17b
11	20,82			
12	35,73			3H-16, H-14b
14	41,68	2,3/2,13		3H-16
17	106,17	4,79 (s), 4,46 (s)		
CH₃				
16	19,50	0,97 (d)		H-14a, H-14b
18	33,57	0,86 (s)		3H-19
19	21,67	0,79 (s)		3H-18
20	14,4	0,66 (s)		

A partir da análise do mapa de contornos HMBC (Figura 32, 33 e 34, p. 76, 77 e 78, respectivamente) foi possível estabelecer correlação dos simpletos em δ_H 4,79 (H-17a) e 4,46 (H-17b) com os sinais dos carbonos em δ_C 56,88 (C-9) e 38,3 (C-7) e dos hidrogênios em δ_H 2,3 (H-14a) e 2,13 (H-14b) com os sinais em δ_C 179,61 (C-15), 30,69 (C-13) e 19,50 (C-16), além da correlação entre δ_H 2,13 (H-14b) com o sinal em δ_C 35,73 (C-12). Os hidrogênios em δ_H 0,66 (3H-20) correlacionaram-se com os carbonos δ_C 39,03 (C-1) e 56,88 (C-9) e houve correlação entre os hidrogênios em δ_H 0,79 (3H-19) com os sinais dos carbonos em δ_C 38,57 (C-18), 42,14 (C-3) e 55,49 (C-5). Também foram observadas correlações dos hidrogênios em δ_H 0,86 (3H-18) com C-19 (δ_C 21,67), C-4 (δ_C 33,52), C-3 (δ_C 42,14) e C-5 (δ_C 55,49) e dos hidrogênios em δ_H 0,97 (3H-16) com os carbonos C-13 (δ_C 30,69), C-12 (δ_C 35,73) e C-14 (δ_C 41,68). Todas estas correlações estão resumidas na tabela 8 (p. 75).

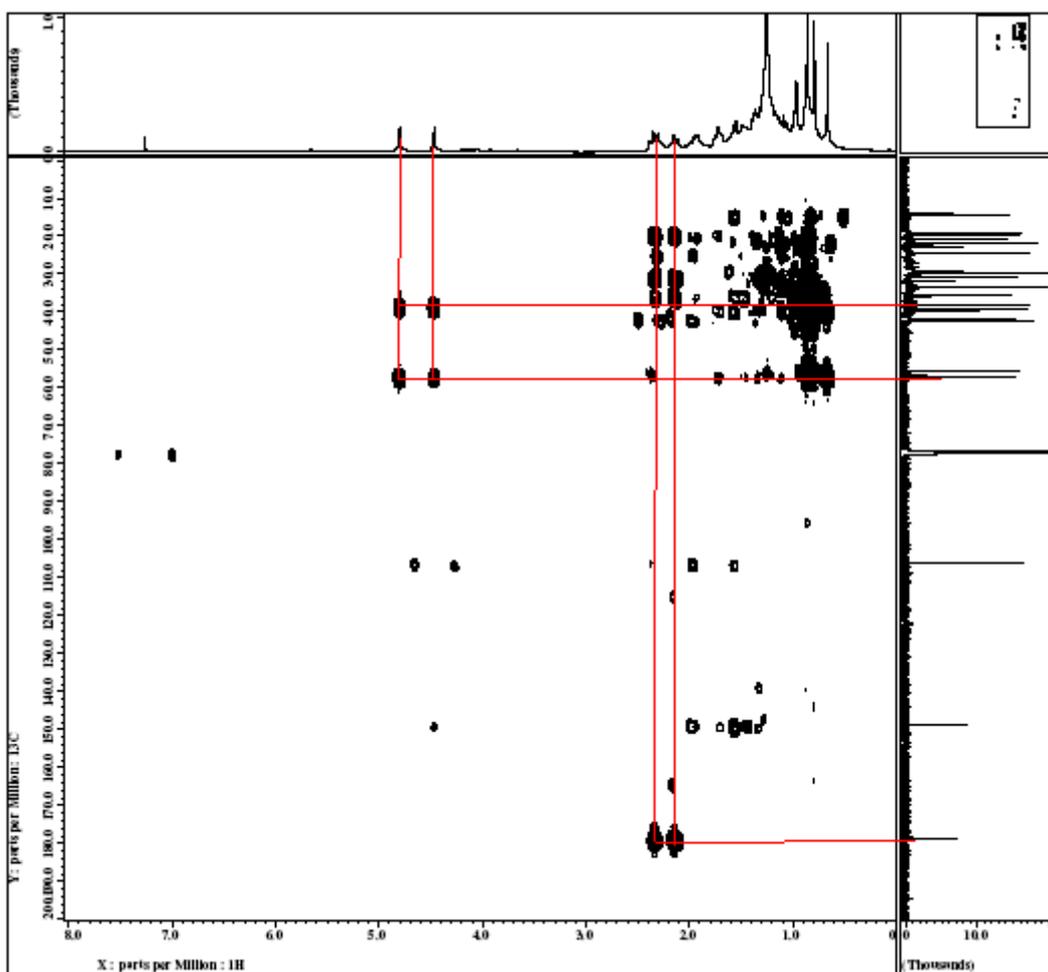


Figura 32: Mapa de correlação HMBC da substância **4a** [($CDCl_3$, δ (ppm))]

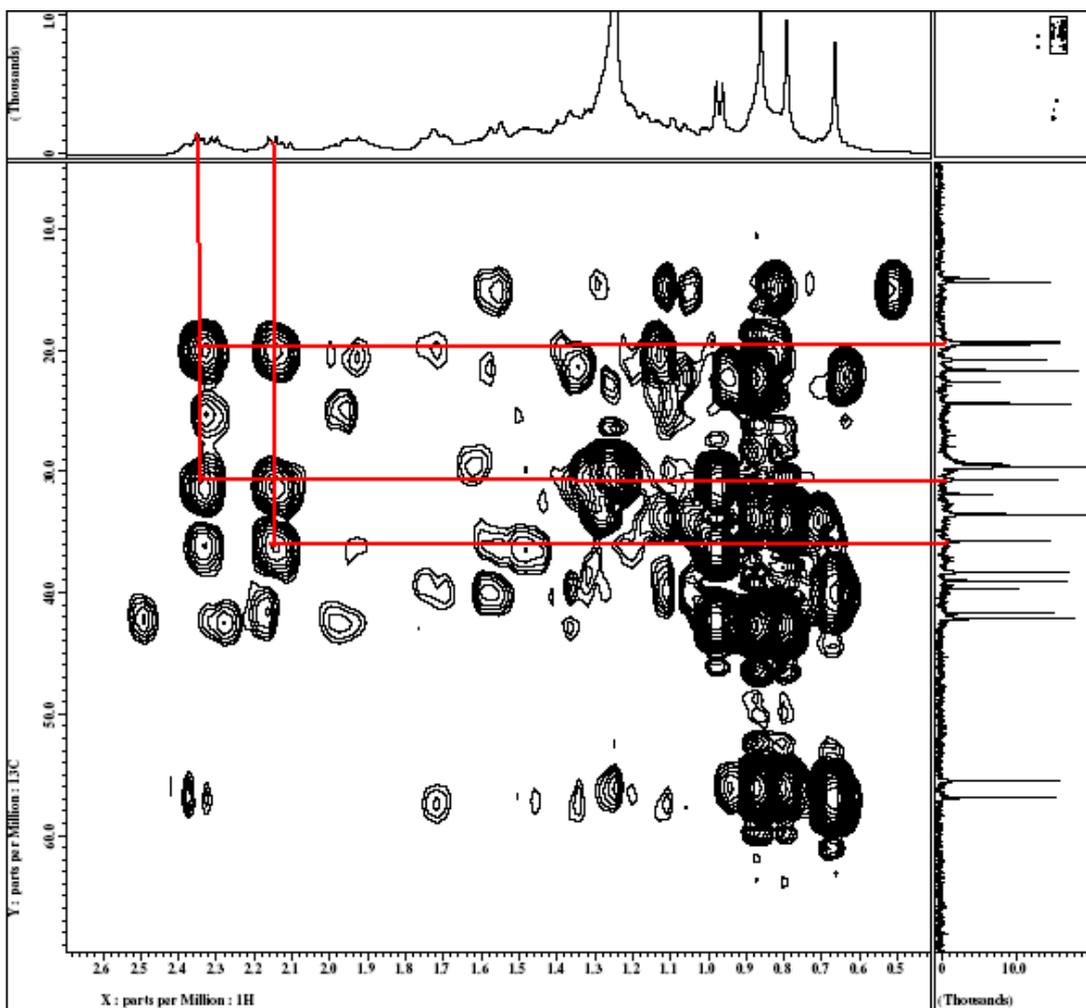


Figura 33: Ampliação 1 do mapa de correlação HMBC da substância **4a** [(CDCl₃, δ(ppm))]

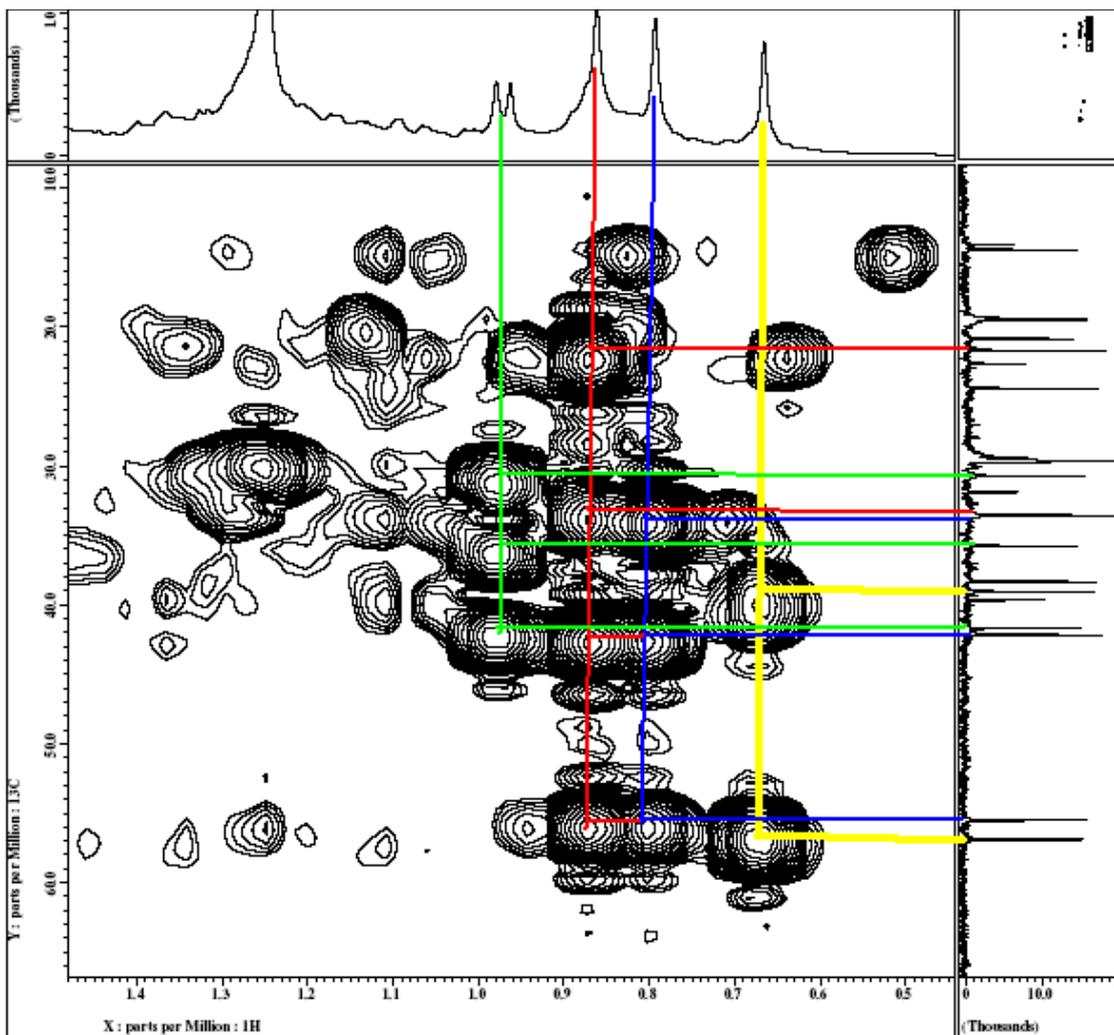


Figura 34: Ampliação 2 do mapa de correlação HMBC da substância **4a** [(CDCl₃, δ(ppm))]

De acordo com as correlações analisadas (Tabela 8, p. 75) entre sinais foi possível identificar a substância **4a** como sendo o diterpeno Ácido labd-8(17)-en-15-óico. O valor de rotação ótica obtido $\{[\alpha]_D^{20} = -11 (c 0,8; \text{CHCl}_3)\}$ indicou que este diterpeno provém da série enantiomérica, tratando-se possivelmente do Ácido *ent*-labd-8(17)-en-15-óico (Figura 37, p. 82), conhecido na literatura como Ácido eperúico (ROMERO, 2007).

5.3.5 Identificação da substância 4d, em mistura com 4a

A subfração HEMH 6.A foi lavada com AcEtO e o precipitado branco obtido (mistura de **4a** e **4d**) foi submetido a análises por RMN ^1H e ^{13}C .

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 36, p. 81) da fração HEMH 6A apresentou sinais característicos de substâncias com esqueleto labdano, indicando uma possível mistura de duas substâncias, **4a** e **4d**. Os sinais correspondentes a substância **4d** foram deduzidos a partir da eliminação dos sinais da substância **4a** nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da mistura (fração HEMH 6A).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 35, p. 80) apresentou três simpletos em δ_{H} 0,70, 0,82, 0,89 e 2,18, correspondentes as metilas H-20, H-19, H-18 e H-16, respectivamente. Os simpletos largos em δ_{H} 4,48 e 4,84 foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos da ligação dupla exocíclica H-17 e o sinal simples em δ_{H} 5,66, corresponde ao hidrogênio olefínico H-14 da cadeia lateral da substância **4d**. As ampliações do espectro de RMN de ^1H estão disponíveis no anexo VI (p. 115 e 116).

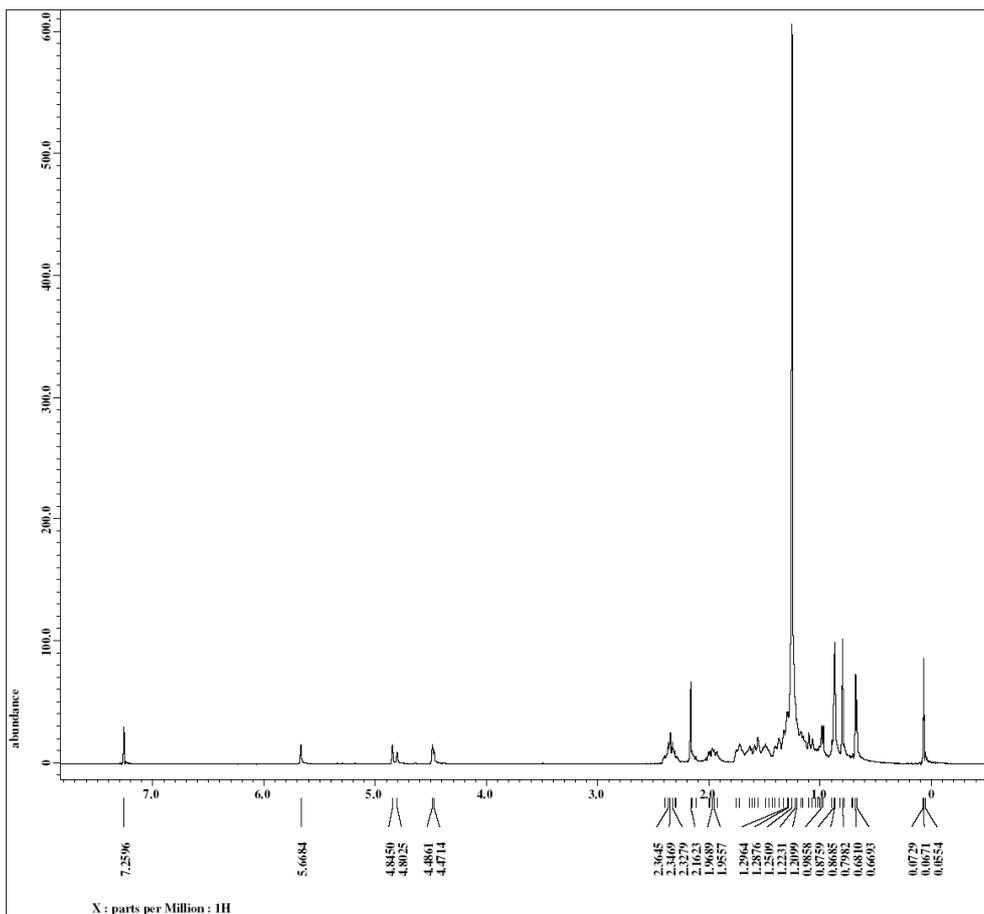


Figura 35: Espectro de RMN de ^1H [(CDCl_3 , $\delta(\text{ppm})$] da fração HEMH 6A (substância **4a** em mistura com **4d**)

Os deslocamentos de carbono em δ_{C} 148,3 e 106,37 foram atribuídos à presença da ligação dupla entre C-8 e C-17. O sinal em δ_{C} 171,7 corresponde ao grupo carbonila em C-15. O deslocamento em δ_{C} 164,3 refere-se à ligação dupla entre C-13 e C-14 do diterpeno **4d**. Os deslocamentos químicos de ^{13}C de **4d** em mistura foram concordantes com os dados reportados na literatura (CARMAN E DUFFIELD, 1995) para o ácido labd-8(17),13-dien-15-óico (Figura 37, p. 82), no entanto, os dados obtidos não foram conclusivos para verificação da isomeria (cis ou trans) uma vez que a substância estava em mistura (Tabela 9, p. 82). A identificação da substância **4a** contida na mistura já foi discutida anteriormente.

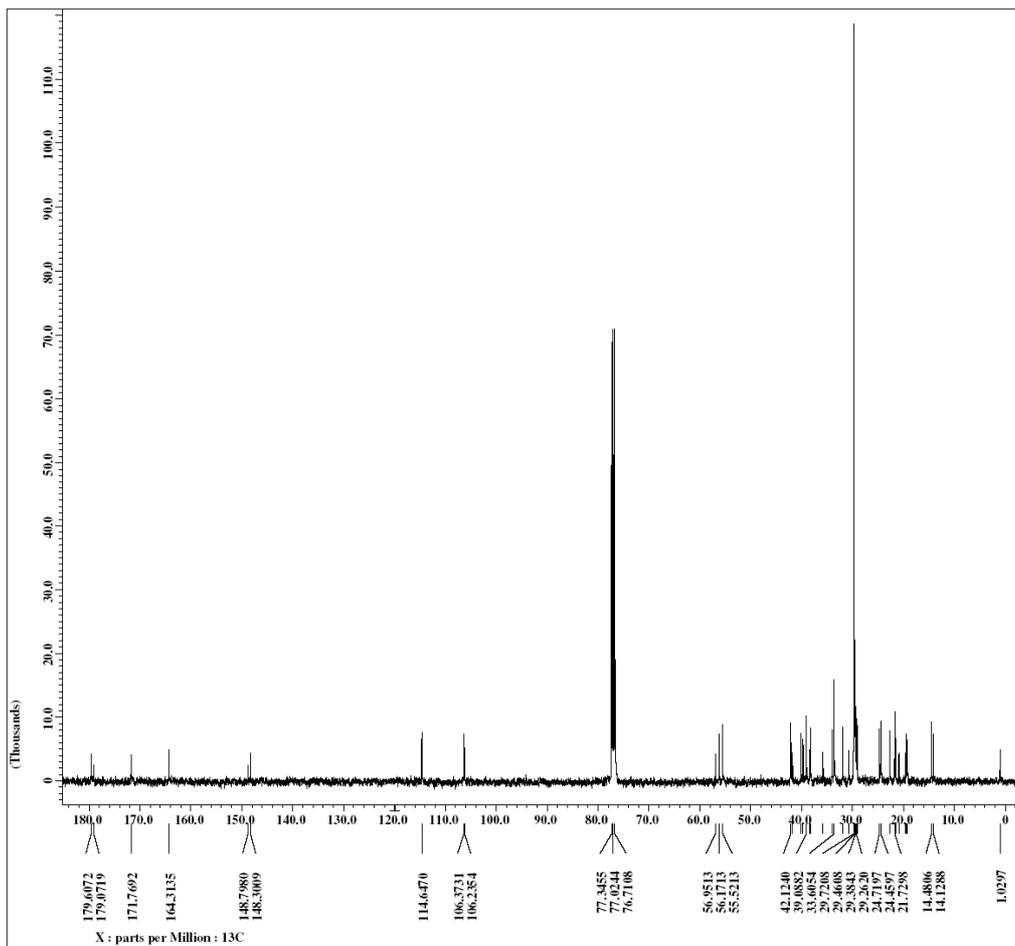


Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl₃, δ (ppm)] da fração HEMH 6A (mistura **4a** e **4d**)

Tabela 9: Dados dos espectros de RMN ^{13}C [400 MHz, CDCl_3 , δ (ppm) de **4d** e valores da literatura*

Posição do carbono	δ		
	4d	Ácido labd-8(17),13 <i>E</i> -dien-15-óico	Ácido labd-8(17),13 <i>Z</i> -dien-15-óico
1	39,08	39,0	38,9
2	19,38	19,3	19,4
3	42,12	42,1	42,1
4	34,01	33,6	33,6
5	55,52	55,5	55,5
6	24,45	24,4	21,7
7	38,37	38,3	38,3
8	148,30	148,3	148,3
9	56,17	56,1	56,1
10	39,72	39,7	40,1
11	21,72	21,7	21,5
12	40,12	40,1	34,1
13	164,31	164,2	164,1
14	114,64	114,6	114,8
15	171,76	171,7	172,1
16	19,24	19,2	24,4
17	106,37	106,3	106,4
18	33,6	33,6	33,6
19	21,51	21,5	19,2
20	14,48	14,5	14,5

PACHECO et al., 2009; CARMAN E DUFFIELD, 1995*.

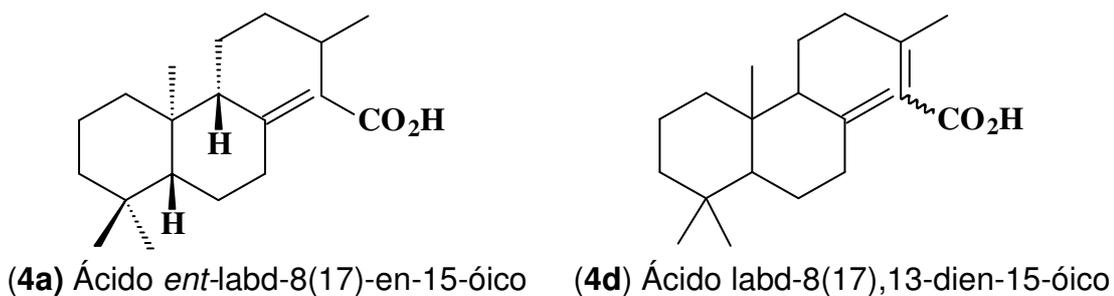


Figura 37: Estruturas das substâncias **4a** e **4d**.

5.3.6 Diterpenos labdanos

Os labdanos fazem parte dos diterpenos bicíclicos (Figura 38, p. 83) e são encontrados como metabólitos secundários em tecidos de fungos, insetos, organismos marinhos e, principalmente, em óleos essenciais, resinas e tecidos de plantas superiores (CHINOUI, 2005).

Esta classe de diterpenos já foi encontrada em várias famílias de plantas tais como: Acanthaceae, Alismaceae, Annonaceae, Apocynaceae, Aristolochiaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Cistaceae, Cupressaceae, Cyperaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae (Labiatae), Leguminosae, Lythraceae, Meliaceae, Mimosaceae, Nolanaceae, Pinaceae, Podocarpaceae, Polemoniaceae, Potamogetonaceae, Rosaceae, Rhizophoraceae, Sapindaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae, Taxodiaceae, Velloziaceae, Verbenaceae, e Zingiberaceae (CHINOUI, 2005).

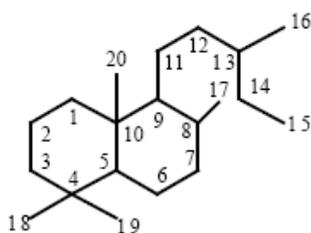


Figura 38: Esqueleto básico dos labdanos

Diterpenos labdanos são reguladores de crescimento de fungos e inibidores do crescimento de plantas, além disso, apresentam alta atividade antibacteriana. Comercialmente os labdanos são utilizados como fixadores naturais, modificadores e loções pela indústria de perfumes, e como agente aromatizante na indústria do tabaco (ROMERO, 2007).

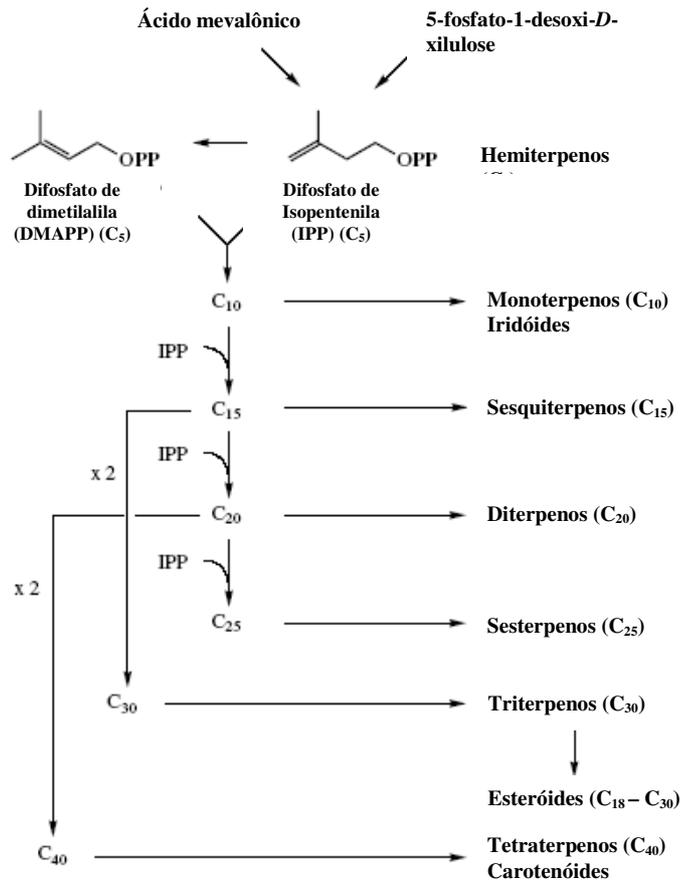
O ácido labd-8(17),13-dien-15-óico é um diterpeno característico do gênero *Copaifera*, encontrado em praticamente todas as amostras de óleo-resina de copaíba comerciais até então analisadas, desta forma muitos autores consideram este composto um biomarcador de óleos de copaíba provenientes de várias espécies de *Copaifera* (VEIGA et al., 1997). O ácido labd-8(17)-en-15-óico já foi

isolado de *Moldenhawera nutans* (Leguminosae) (DAVID et al., 1998), *Aristolochia ringens* (Aristolochiaceae) (LARRAHONDO E ACEVEDO, 1990), *Copaifera cearensis* (Leguminosae) (PINTO et al., 2000), entre outras espécies de famílias diversas.

Este é o primeiro relato da presença destes diterpenos com esqueleto labdano em uma espécie da família Melastomataceae.

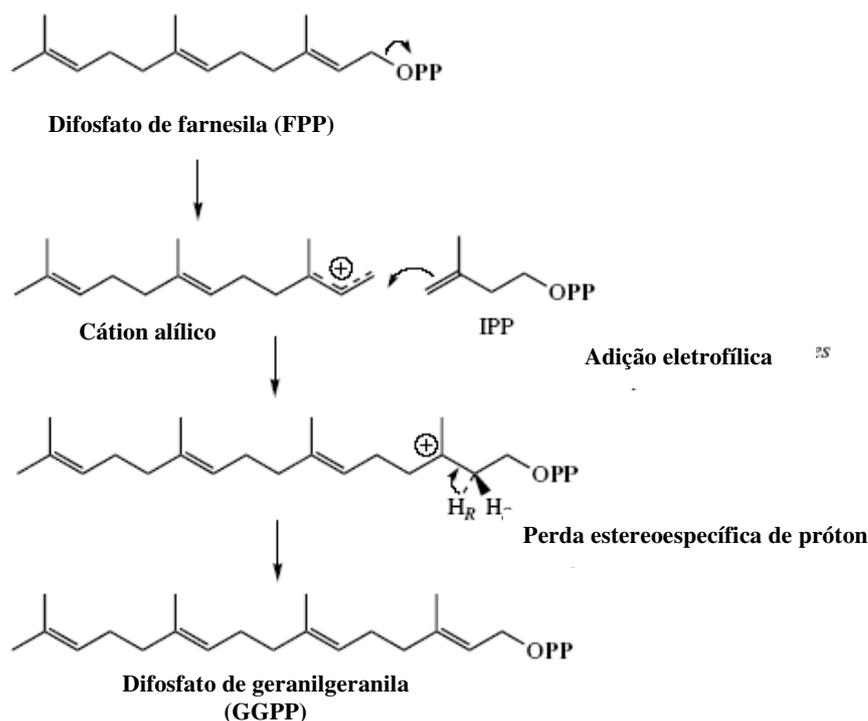
5.3.7 Considerações sobre a biossíntese dos diterpenos labdanos

Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo este termo empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades isoprênicas do difosfato de isopentila (IPP) (DEWICK, 2002). A unidade isoprênica, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico. Os esqueletos carbônicos dos terpenóides são formados pela condensação cabeça-cauda de um número variável de unidades isoprênicas (Esquema 1, p. 85).



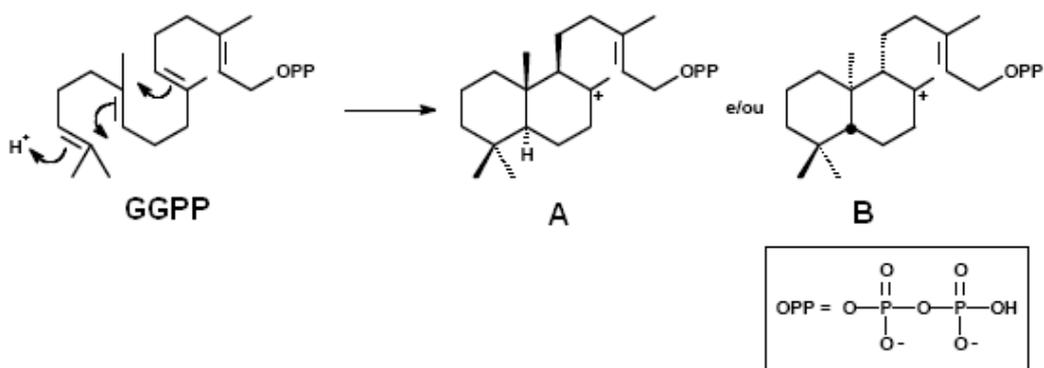
Esquema 1: Formação de terpenóides via condensação de unidades isoprênicas (Fonte: DEWICK, 2002)

Os diterpenos são produzidos pela condensação do difosfato de farnesila (FPP) com IPP dando origem ao difosfato de geranylgeranila (GGPP), precursor aciral e acíclico de uma grande variedade de diterpenos (Esquema 2, p. 86).



Esquema 2: Formação de Difosfato de geranylgeranila a partir do Difosfato de farnesila (Fonte: DEWICK, 2002)

O precursor GGPP pode ser convertido em carbocátions, tanto da série normal (A) como da série enantiomérica (B) uma vez que os passos iniciais da ciclização fornecem derivados com a configuração $5\alpha,10\beta$ ou $5\beta,10\alpha$ (Esquema 3, p. 87). Embora este modelo de condensação seja considerado possuir significado quimiosistemático e filogenético, algumas plantas contém diterpenos com ambas as configurações, como por exemplo, a *Agathis australis* (Araucariaceae). Em outros casos diferentes espécies do mesmo gênero possuem diterpenos com configurações opostas como *Podocarpus macrophyllus* e *P. ferrugineus* (Podocarpaceae) (SEIGLER, 1998).



Esquema 3: Formação de intermediários na biossíntese de diterpenos
(Fonte: ROMERO, 2007)

A ocorrência em uma mesma planta de substâncias da série normal e enantiomérica não foi observada até 1968 quando Eklong reportou pela primeira vez a co-ocorrência de ladanos da série normal e enantiomérica em *Oxystigma oxyphyllum*. Desde então já foram encontradas misturas enantioméricas em outras espécies. Segundo Carman e Duffield (1993), em suas revisões realizadas sobre labdanos isolados de plantas, praticamente, todas as substâncias pertencentes a esta classe são obtidos na forma racêmica ou com uma mistura das duas séries enantioméricas, um deles em excesso.

Os mecanismos biossintéticos que levam a planta produzir as duas séries, seja na forma de mistura racêmica e/ou com excesso enantiomérico, ainda é desconhecido (ROMERO, 2007).

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, os caracteres morfoanatômicos da folha e do caule de *M. hatschbachii*, considerados em conjunto, são úteis para a descrição desta espécie, fornecendo subsídios a sua caracterização e taxonomia. A presença de tricomas glandulares pediculados, drusas de oxalato de cálcio, cutícula espessa, a disposição dos estômatos e organização dos feixes vasculares podem servir de auxílio na caracterização da espécie. Desta forma foi possível preencher uma lacuna que existia com relação à morfo-anatomia de uma espécie endêmica do semi-árido baiano.

A análise por CG-MS do extrato cuticular extraído das folhas de *M. hatschbachii* indicou a presença de alcanos e diterpenos, enquanto a análise do extrato glandular por CLAE-DAD revelou a presença de flavonóide e derivados benzênicos.

A composição química do extrato hexânico total apresentou componentes contidos também na cera epicuticular, indicando que a origem dos diterpenos encontrados esteja, provavelmente, na superfície externa das folhas ao invés de fazer parte dos constituintes internos.

Através da obtenção do perfil cromatográfico por CG e posterior uso de CG-EM para determinação do perfil químico, baseado na análise de padrões de fragmentação e comparação com dados da literatura, foram detectados, no extrato hexânico de *Microlicia hatschbachii*, uma série homóloga de hidrocarbonetos, ésteres de metila e ácidos carboxílicos, além de 4 diterpenos com esqueleto do tipo labdano. O uso de métodos fitoquímicos levou ao isolamento de dois diterpenos, os quais foram identificados por espectrometria de massas e RMN uni (^1H e ^{13}C) e bidimensional (COSY, HMQC E HMBC) como sendo o ácido *ent*-labd-8(17)-en-15-óico e ácido labd-8(17),13-dien-15-óico (em mistura binária). Este é o primeiro relato da presença de diterpenos do tipo labdano na família Melastomataceae e o primeiro estudo fitoquímico realizado com a espécie *M. hatschbachii*.

REFERÊNCIAS

- ABERE, T. A.; ONWUKAEME, D. N.; EBOKA, C. J. Pharmacognostic evaluation of the leaves of *Dissotis rotundifolia* Triana (Melastomataceae). *African Journal of Biotechnology*, v. 8, n. 1, p. 113-115, 2009.
- ALMEDA, Frank; MARTINS, Angela B. New combinations and new names in some Brazilian Microlicieae (Melastomataceae), with notes on the delimitation of *Lavoisiera*, *Microlicia* and *Trembleya*. *Novon*, v. 11, p. 1-7, 2001.
- AMOROZO, M. C. M. Algumas notas adicionais sobre o emprego de plantas e produtos com fins terapêuticos pela população cabocla do município de Barcarena, PA, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série botânica*, v. 13, n. 2, p. 191-213, 1997.
- ANDREO, Márcio Adriano et al. Effect of *Mouriri pusa* extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. *Journal of Ethnopharmacology*, v.107, p. 431-441, 2006.
- BAUMGRATZ, J. F. A. et al. Polysporangiate anthers: described for the first time in Melastomataceae. *Kew Bulletin*, v. 51, p. 133-144, 1997.
- BAUMGRATZ, J. F. A.; FERREIRA, G. L. Estudo da nervação e epiderme foliar das Melastomataceae do município do Rio de Janeiro. Gênero *Miconia* Ruiz et Pavon. Seção *Miconia*. *Rodriguesia*, v.32, p.61-169, 1980.
- BERNAYS, E. et al. Antifeedant nature of the quinone primin and its quinol miconidin from *Miconia* spp. *Cellular and Molecular Life Science* 40: 1110-1111. 2005.
- BIANCHI, A.; BIANCHI, G. Surface lipid composition of C3 and C4 plants. *Biochemical Systematic and Ecology*, v. 18, p. 533-537, 1990.
- BOMFIM-PATRÍCIO, Márcia C. et al. Flavonoids of *Lavoisiera*, *Microlicia* and *Trembleya* (Melastomataceae) and their taxonomic meaning. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 29, p. 711-726, 2001.
- BOSCOLO, O. H. *Estudos etnobotânicos do município de Quissamã, RJ*. 2003. 206 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Botânica) – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

BRANCO, Alexsandro; PINTO, Angelo C.; BRAZ-FILHO Raimundo. Chemical constituents from *Vellozia graminifolia* (Velloziaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.76, n. 3, p. 505-518, 2004.

BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D. H. *Mass spectrometry of organic compounds*. Holden-Day, Inc. San Francisco, 690 p.,1967.

CALDERÓN, Angela I. et al. Forest plot as a tool to demonstrate the pharmaceutical potential of plants in tropical forest of Panama. *Economic Botany*, v. 54, p. 278-294, 2000.

CALDERÓN, Angela I. et al. Isolation and structure elucidation of an isoflavone and a sesterterpenoic acid from *Henriettella fascicularis*. *Journal of Natural Products*, v. 65, n. 12, p. 1749-53, 2002.

CALDERÓN, Angela I. et al. Occurrence of taxiphyllin and 3,3'-di-O-methylellagic acid 4'- β -D-glucoside in *Henriettella fascicularis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 31, p. 789-791, 2003.

CAMPOS, Berenice Chiavegatto. *A família Melastomataceae nos campos rupestres e cerrados de altitude do Parque Estadual do Ibitipoca, Lima Duarte, MG, Brasil*. 2005. 157p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ.

CARMAN, Raymond M., DUFFIELD, Alan R. The biosynthesis of labdanoids. The optical purity of naturally occurring manool and abienol. *Australian Journal of Chemistry*, v. 46, n. 7, p. 1105-1114, 1993.

CARMAN, Raymond M., DUFFIELD, Alan R. The optical rotation of some C 15-oxygenated labd-8(17),13-dienes. *Australian Journal of Chemistry*, v. 48, p. 1357-1366, 1995.

CHATURVEDULA, V. S. Prakash et al. A new ursane triterpene from *Monochaetum vulcanicum* that inhibits DNA polymerase β lyase. *Journal of Natural Products*, v. 67, p. 899-901, 2004.

CHENG, J. T.; HSU, F. L.; CHEN, H. F. Antihypertensive principles from the leaves of *Melastoma candidum*. *Planta Medica*, v. 59, p. 405-407, 1993.

CHINO, I.. Labdanes of natural origin-biological activities (1981-2004). *Current Medicinal Chemistry*, v. 12, p. 1295-1317, 2005.

- CLAUSING, G.; RENNER, S. S. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. *American Journal of Botany*, v. 88, p. 486-498, 2001.
- COGNIAUX, A. *Melastomataceae*. In: De Candolle, A. L. P. P. e De Candolle, A. C. P. (eds.). *Monographiae phanerogamarum*. G. Masson, Paris, v.7, p.1-1256, 1891 apud ROMERO, Rosana. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, n. 4, p. 429-435, 2003.
- COGNIAUX, A. *Melastomataceae*: Tribus Microlicieae et Tribouchineae. In: MARTIUS, C. F. P. e Eichler, A. G. (Eds.). *Flora brasiliensis*. F. Fleischer, Lipsiae, v. 14. pars 3, p. 1-510, tab. 1-108, 1883-1885 apud ROMERO, Rosana. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, n. 4, p. 429-435, 2003.
- COSTA, Aloisio Fernandes. *Farmacognosia*. Lisboa: Calouste Gulbernkian. v. 3, 1996.
- COSTA, C. G. *Miconia theaezans* (Bomp.) Cogn. (Melastomataceae) considerações anatômicas. *Rodriguesia*, v. 29, p. 7-92, 1977.
- CREVELIN, Eduardo J. et al. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. *Biological Chromatography*, v. 20, p. 827-830, 2006.
- CRUZ, Ana Valéria de M.; KAPLAN, Maria Auxiliadora C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. *Floresta e Ambiente*, v. 11, n. 1, p. 47-52, 2004.
- CUNHA, Wilson Roberto et al. A study of the trypanocidal activity of triterpenes acids isolated from *Miconia* species. *Phytotherapy Research*, v. 20, n. 6, p. 474-478, 2006.
- CUNHA, Wilson Roberto et al. Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 84, n. 2, p. 47-49, 2003a.
- CUNHA, Wilson Roberto et al. In vitro inhibition of tumor cell growth by *Miconia fallax*. *Pharmaceutical Biology*, v. 46, n. 4, p. 292-294, 2008.
- CUNHA, Wilson Roberto et al. In vitro trypanocidal activity of triterpenes from *Miconia* species. *Planta Medica*, v. 69, n. 5, p. 470-472, 2003b.
- DAVID, Juceni, P. et al., A bis-labidenic diterpene from *Moldenhawera nutans*. *Phytochemistry*, v. 50, p. 443-447, 1998.

- DÉVÉHAT, F. Lohézic-Le et al. Antiviral and cytotoxic activities of some Indonesian plants. *Fitoterapia*, v. 73, n. 5, p. 400-405, 2002.
- DEWICK, Paul M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. 2^a ed. England: John Willy e Sons, LTD, 2002, 507p.
- DON, D. An illustration of the natural family of plants called Melastomataceae. *Memoirs Wernerian Society*, v. 4, p. 276-329, 1823.
- DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Leaf and stem morphoanatomy of *Petiveria alliacea*. *Fitoterapia*, v. 76, p. 599-607, 2005.
- FENNER, Raquel et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 3, p. 369-394, 2006.
- FOSTER, A. S. *Practical plant anatomy*. Princeton: D van Nostrand Company Inc, 1949.
- FRANKEL, S.; BERENBAUM, M. Effects of light on antioxidant content of foliage in a tropical forest community. *Biotropica*, v. 31, p. 422-429, 1999.
- FUNCH, Ligia Silveira et al. *Plantas úteis – Chapada Diamantina*, 1 ed. São Carlos: RiMa, 2004, 206p.
- GARDONI, Livia C. de Paiva; ISAIAS, Rosy Mary dos S.; VALE, Fernando H. Aguiar. Morfologia e anatomia foliar de três morfotipos de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hill.) DC. (Melastomataceae) na Serra do Cipó, MG. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 30, n. 3, p. 487-500, 2007.
- GERLACH, D. *Botanische Mikrotechnik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1984.
- GIORDANI, R. B. et al. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 2042-46, 2008.
- GIULIETTI, Ana Maria et al. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, v. 96, p. 1-152, 1987.
- GIULIETTI, Ana Maria; QUEIROZ, Luciano Paganucci. Plantas da caatinga: perfil botânico, fitoquímica e atividade biológica. Volume IV, Recife, Associação de Plantas do Nordeste, 2006, 497 p.

GRAYER, Renée J. et al. Phenolic and terpenoid constituents from the Sri Lankan medicinal plant *Osbeckia aspera*. *Pharmaceutical Biology*, v. 46, n. 3, p. 154-16, 2008.

GUIMARÃES, Paulo José F.; RANGA, Neusa Taroda; MARTINS, Angela Borges. Morfologia dos tricomas em *Tibouchina* sect. Pleroma (D. Don) Cogn. (Melastomataceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 42, p. 485-493, 1999.

HEREDIA, A. et al. La cutícula vegetal: estructura y funciones. *Ecología*, v. 12, p. 293-305, 1998.

HOSTETTMAN, Kurt; QUEIROZ, Emerson F.; VIEIRA, Paulo C. *Princípios ativos de plantas superiores*. 1 ed. São Carlos: EdUFSCar, 2003. 152p.

ISAZA, J. H.; ITO, H.; Yoshida, T. Oligomeric hydrolyzable tannins from *Monochaetum multiflorum*. *Phytochemistry*, v. 65, p. 359-367, 2004.

JAMAL, C. M. et al. Isolation of constituents as analgesic agents from *Lavoisiera pulcherrima* DC (Melastomataceae). *Acta Horticulturae*, v. 501, p. 145-150, 1999.

JANNA, O. A.; KHAIRUL, A. K.; MAZIAH, M. Anthocyanin stability studies in *Thibouchina semidecandra* L. *Food Chemistry*, v. 101, p. 1640-1646, 2007.

JANSEN, Steven; WATANABE, Toshiro; SMETS, Erik. Aluminium accumulation in leaves of 127 species in Melastomataceae, with comments on the order Myrtales. *Annals of Botany*, v. 90, p. 53-64, 2002.

JENSEN, W. A. *Botanical histochemistry, principles and practice*. San Francisco: W. H. Freeman, 1962

JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book, 1940.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F. *Plant Systematics. A phylogenetic approach*. Massachusetts: Sinauer Associates. 1999.

KALA, C. P. Ethnomedicinal botany of the Apatani in the Eastern Himalayan region of India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 1, p. 213-229, 2005.

KEATING, R. C. Leaf histology and its contribution to relationships in the Myrtales. *Annals Missouri Botanical Garden*, v. 71, p. 801-823, 1984.

KOSCHNITZKE, C. Revisão taxonômica do gênero *Chaetostoma* DC. (Microlicieae – Melastomataceae). Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1997.

- KRAUS, J. E., ARDUIN, M. *Manual básico de métodos de morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR, 1997, 198p.
- KUSTER, Ricardo Machado; ARNOLD, Norbert; WESSJOHANN, Ludger. Anti-fungal flavonoids from *Tibouchina grandifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 37, p. 63-65, 2009.
- LARRAHONDO, J.E.; ACEVEDO, C. Terpenoides de *Aristolochia ringens*. *Anales de La Asociación Química Argentina*, v. 78, p. 355-358, 1990
- LEE, M. H. et al. Monoamine oxidase and free radical scavenging activities of natural flavonoids in *Melastoma candidum* D. Don. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 5551-5555, 2001.
- LI, Xing-Cong et al. Phenolic compounds from *Miconia myriantha* inhibiting *Candida* aspartic proteases. *Journal of Natural Products*, v. 64, p. 1282-85, 2001.
- LIGNIER, Recherches sur l'anatomie compare des Calycanthées, des Melastomacées et des Myrtacées. *Archives Botaniques du Nort de la France*, v. 4, p. 1-151, 1886.
- LIMA, O. G. et al. Atividade antimicrobiana e antineoplásica de produto identificado como 2-metóxi-6-n-pentil-p-benzoquinona (primina) isolado de *Miconia sp* (Melastomataceae). *Revista do Instuto de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco*, v. 10, p. 29-34, 1970a.
- LIMA, O. G. et al. Primeiras observações sobre a atividade antimicrobina e antineoplásica de produto identificado como 2-metóxi-6-n-pentil-1,4-dihidroxibenzeno (miconidina) isolada de extratos de raízes de *Miconia sp* (Melastomataceae). *Revista do Instuto de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco*, v. 10, p. 35-39, 1970b.
- LING, S. K.; TANAKA, T.; KOUNO, I. New cyanogenic and alkyl glycoside constituents from *Phyllagathis rotundifolia*. *Journal of Natural Products*, v. 65, p. 131-135, 2002.
- LOWRY, J. B. Anthocyanins of the Melastomataceae, Myrtaceae and some allied families. *Phytochemistry*, v. 15, n. 4, p. 513-516. 1976.
- MACARI, Patricia A. T.; EMERENCIANO, Vicente de P.; FERREIRA, Zenaide M. G. S. Identificação de triterpenos de *Miconia albicans triana* através de análise por microcomputador. *Química Nova*, v. 13, p. 260-262, 1990.

- MACIEL, Maria Aparecida M.; PINTO, Angelo C.; VEIGA Jr, Valdir F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MARIMOTO, Masanori et al. Phytotoxicity of constituents of glandular trichomes and the leaf surface of camphorweed, *Heterotheca subaxillaris*. *Phytochemistry*, v. 70, p. 69-74, 2009.
- MARODIN, S. M.; BAPTISTA, L. R. M. O uso de plantas com fins medicinais no município de Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, v. 4, n. 1, p. 57-68, 2001.
- MARTINS, A. B. *Revisão taxonômica do gênero Marcetia*. 1989. 288f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP.
- MARTINS, Eneida. *A tribo Microlicieae (Melastomataceae) no Estado de São Paulo*. 1991. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- MARTINS, Eneida. *Revisão taxonômica do gênero Trembleya DC. (Melastomataceae)*. 1997. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- MAZURA, M. P.; SUSANTI, D.; RASADAH, M. A. Anti-inflammatory action of components from *Melastoma malabathricum*. *Pharmaceutical Biology*, v. 45, n. 5, p. 372-375, 2007.
- MENEZES, N. L.; GIULIETTI, A. M. *Campos rupestres*. In: MENDONÇA, M. P.; LINS, L. V. Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte, 157p., 2000.
- METCALFE, C. R., CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledons*. Claredon Press, Oxford. 1950.
- MICHELANGELI, F. A.; RODRIGUEZ, E. Absence of cyanogenic glycosides in the tribe Miconiae (Melastomataceae). *Biochemical Systematic and Ecology*, v. 33, p. 335-339, 2005.

- MIMURA, M. R. M.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Distribution of flavonoids and the taxonomy of *Huberia* (Melastomataceae). *Biochemical Systematic and Ecology*, v. 32, p. 27-34, 2004.
- MIMURA, M. R. M.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A.; BAUMGRATZ, J. F. A. Alkanes from foliar epicuticular waxes of *Huberia* species: taxonomic implications. *Biochemical Systematic and Ecology*, v. 26, p. 581-588, 1998.
- MOERMAN, D. E.; ESTABROOK, G. F. Native Americans' choice of species for medicinal use is dependent on plant family: confirmation with meta-significance analysis. *Journal of ethnopharmacology*, v. 87, p. 51-59, 2003.
- MOLEIRO, Fábio Cruz et al. *Mouriri elliptica*: Validation of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* effects. *Journal of ethnopharmacology*, v.123, p. 359-368, 2009.
- MONTENEGRO, H.; GONZALEZ, J.; ORTEGA-BARRIA, E.; CUBILLA-RIOS, L. Antiprotozoal Activity of Flavonoid Glycosides Isolated from *Clidemia sericea* and *Mosquitoxylon jamaicense*. *Pharmaceutical Biology* v. 45, n. 5, p. 376-380, 2007.
- MORS, W. B.; RIZZINI, C. T. PEREIRA, N. A. *Medicinal plants of Brazil*, 1ª Ed. Michigan, USA: Reference Publications, 2000, 501p.
- MOURA, A. S.; RAMOS, G. C. C (coord.). *Cenários para o bioma caatinga*. Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Caatinga, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente de Pernambuco, Recife, 2004.
- NISHIJIMA, Catarina M. et al. Anti-hemorrhagic activity of four brazilian vegetable species against *Bothrops jararaca* venom. *Molecules*, v. 14, p. 1072-1080, 2009.
- NUALKAEW Somsak et al. Anti-inflammatory, analgesic and wound healing activities of the leaves of *Memecylon edule* Roxb. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 121, p. 278-281, 2009.
- NURESTI, S.; BAEK, S. H.; ASARI, A. Chemical components of *Melastoma malabathricum*. *ACGC Chemical Research Communications*, v. 16, p. 28-33, 2003.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. *Fundamentos de farmacobotânica*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2000, 178p.
- PACHECO, Alison Geraldo et al. ¹³C-NMR Data of Diterpenes Isolated from *Aristolochia* Species. *Molecules*, v. 14, p. 1245-1262, 2009.

- PALÉZIEUX, P. Anatomisch-systematisch untersuchung des blattes der Melastomaceen MIT ausschluss der triben Microlicieen, Tibouchineen, Miconieen. *Bulletin de l'Herbier Boissier*, vol 7, p. 1-86, 1899.
- PINTO, Angelo C. Separation of Acid Diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke by Flash Chromatography Using Potassium Hydroxide Impregnated Silica Gel. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 11, n. 4, p. 355-360, 2000.
- PIVA, M. G. *O caminho das plantas medicinais: Estudo etnobotânico*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Mondrian, 2002, 313p.
- PROCÓPIO, S. O. et al. *Anatomia foliar de plantas daninhas do Brasil*. v. 1. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 118 p.
- QUEIROZ, Luciano P; CONCEIÇÃO A. A.; GIULIETTI, Ana Maria. *Nordeste semi-árido: caracterização geral e lista das fanerógamas in: GIULIETTI, Ana Maria, ed. Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido brasileiro*, Recife, Associação Pantas do Nordeste, V.1. 2006.
- REIS, C., BIERAS, A. C., SAJO, M. G. Anatomia foliar de Melastomataceae do Cerrado do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 28, n. 3, p. 451-466, 2005.
- ROBLES-ZEPEDA, Ramón E. et al. *Montanoa tomentosa* glandular trichomes containing kaurenoic acids chemical profile and distribution. *Fitoterapia*, v. 80, n. 1, p. 12-17, 2009.
- ROCHA, Sarah F. et al. Isolamento e identificação do triterpeno friedelina de *Marcetia Formosa* (Melastomataceae). 30ª reunião anual da sociedade Brasileira de Química. São Pedro, Brasil. 2008.
- RODRIGUES, Juliana et al. Antimicrobial Activity of *Miconia* Species (Melastomataceae). *Journal of Medicinal Food*, v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.
- RODRIGUES, Juliana; RINALDO, Daniel; SANTOS, Lourdes C.; VILEGAS, Wagner. An unusual C₆-C₆" linked flavonoid from *Miconia cabucu* (Melastomataceae). *Phytochemistry*, v. 68, p. 1781-1784, 2007.
- RODRIGUES, Karina Fidanza. A tribo Microlicieae (Melastomataceae) na serra do Cabral, Minas Gerais. 142p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2005.

ROMERO, Adriano Lopes. *Contribuição ao conhecimento químico do óleo-resina de copaíba: configuração absoluta de terpenos*. Campinas, 204p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Química Orgânica, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

ROMERO, Rosana. Revisão de *Microlicia* sect. *Chaetostomoides* (Melastomataceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, n. 4, p. 429-435, 2003.

ROMERO, Rosana; MARTINS, Angela B. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 25, n. 1, p. 19-24, 2002.

ROTH, Igrid. Leaf structure: Montagne regions of Venezuela with an excursion into Argentina. *Encyclopedia of Plant Anatomy*, v. 14, n. 3, p. 1-249, 1995.

SALATINO, A. Chemical ecology and theory of oligotrophic scleromorphism. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 65, n. 1, p. 1-13, 1993.

SANTOS, F. V. et al. Mutagenicity of *Mouriri pusa* Gardner and *Mouriri elliptica* Martius. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p. 2721-2727, 2008.

SEIGLER, David S. Plant secondary metabolism. London: Kluwer academic publishers, 1998, 759p.

SILVA, E. M.; HIRUMA-LIMA, C. A.; LOLIS, S. F. Etnobotânica no município de Porto Nacional. *Symposium of Brazilian Medicinal Plants*, Cuiabá, Abstract, p. 106, 2000.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C, MORRIL, T. C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994, 387p.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X., KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 490p.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007, 1102p.

SOUZA, H. C. Estudo comparativo de adaptações anatômicas em órgãos vegetativos de espécies de *Lavoisiera* DC. (Melastomataceae) da Serra do Cipó, MG. 1997. 185f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

- SOUZA, R. S. O. C.; MARQUETE, O. *Miconia tristis* Spring e *Miconia Doriana* Cogn. (Melastomataceae): anatomia do eixo vegetativo das folhas. *Rodriguesia*, v. 51, p. 133-142, 2000.
- SOUZA, Vinicius Castro, LORENZZI, Harri. *Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP, p.269, 2005.
- SPESSOTO, M. A. et al. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). *Phytomedicine*, v. 10, p. 606-609, 2003.
- SPRING, Otmar et al. Sesquiterpene lactones from glandular trichomes of *Viguiera radula* (Heliantheae; Asteraceae). *Phytochemistry*, v. 62, p. 1185-1189, 2003.
- STALCUP, M. M. *plantas de uso medicinal ou ritual numa feira livre no Rio de Janeiro, Brasil*. 2000, 200f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Botânica) – Museu de Botânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- SU, Jeng-De et al. Tannin antioxidants from *Osbeckia chinensis*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 5, p. 1315-1319, 1988.
- SUSANTI, Deny et al. Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of *Melastoma malabathricum* L. *Food chemistry* v. 103, p. 710-716, 2007.
- TERAHARA, N. et al. A diacylated anthocyanin from *Tibouchina urvilleana* flowers. *Journal of Natural Products*, v. 56, p. 335-340, 1993.
- URZUÁ, Alejandro et al. Comparative chemical composition of the trichome secreted exudates and of the waxy coating from *Haplopappus velutinus*, *H. illinitus*, *H. shumanni* and *H. uncinatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 32, p. 215–218, 2004.
- VALE, Fernando Henrique A. Comparação morfo-anatômica entre populações de *Marcetia taxifolia* (St. Hill) DC. (Melastomataceae), localizadas na Terra do Cipó - MG e na Restinga de Maricá – RJ. 1999. 112p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- VASCONCELOS, Maria Anita L. et al. In vivo analgesic and antiinflammatory activities of ursolic acid and oleanoic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). *Zeitschrift Fur Naturforschung C - A Journal of Biosciences*, v. 61, p. 477-482, 2006.

- VECCHI, C. Galha foliar em *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. (Melastomataceae): morfo-anatomia e ontogenia. 1999. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- VEIGA Jr., Valdir F.; PATITUCCI, Maria Lucia; PINTO, Angelo C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. *Quimica Nova*, v., 20, n. 6, p. 612-615, 1997.
- VENTURA, Claiton P.; SOUZA FILHO, José D.; OLIVEIRA, Alaíde B.; BRAGA, Fernão C. A flavanone and other constituents of the Brazilian endemic species *Trembleya laniflora* (D. Don.) Cogn. (Melastomataceae). *Biochemical Systematic and Ecology*, v. 35, p. 40-41, 2007.
- VILEGAS, Wagner et al. Constituintes químicos de *Cambessedesia espora* DC - Melastomataceae. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, v. 19, n. 2, p. 235-241, 1998.
- WANG, Yuan-Chuen; HSU, Hsing-Wen; LIAO, Wen-Ling. Antibacterial activity of *Melastoma candidum* D. Don. *LWT-Food Science and Technology* v. 26, p. 01-06, 2008.
- WOODGYER, E. M. Multi-access key and checklist to the species of *Microlicia* (Melastomataceae) in Bahia, Brazil. *Kew Bulletin*, v. 60, p. 441-448, 2005.
- WURDACK, JJ. Atlas of hair for neotropical Melastomataceae. *Smithsonian Contributions to Botany*, v. 63, p. 1-80, 1986.
- WURDACK, JJ. Certamme Melastomataceis XXXIII. *Phytologia*, v. 49, n. 2, p. 147-158, 1981.
- WURDACK, JJ. Uma nova Melastomataceae de Minas Gerais. *Boletim do Museu Botânico Municipal*, v. 10, p. 1, 1973.
- YOSHIDA, T.; AMAKURA, Y.; YOKURA, N.; ITO, H.; ISAZA, J. H.; RAMIREZ, S.; PELAEZ, D. P.; RENNER, S. S. Oligomeric hydrolysable tannins from *Tibouchina multiflora*. *Phytochemistry*, v. 52, p. 1661-1666, 1999b.
- YOSHIDA, T.; HABA, K.; ARATA, R.; NAKATA, F.; SHINGU, T.; OKUDA, T. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants.VII. Nobotanin J and K, trimeric and tetrameric hydrolyzable tannins from *Heterocentron roseum*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 43, p. 824-827, 1995.
- YOSHIDA, T.; HABA, K.; NAKATA, F.; OKANO, Y.; SHINGU, T.; OKUDA, T. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants III. Nobotanin G, H and I,

dimeric hydrolyzable tannins from *Heterocentron roseum*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 40, n. 1, p. 66-71, 1992a.

YOSHIDA, T.; ITO, H.; ISAZA, J. H. Pentameric ellagitannin oligomers in melastomataceous plants-chemotaxonomic significance. *Phytochemistry*, v. 66, p. 1972-1983, 2005.

YOSHIDA, T.; NAKATA, F.; HOSOTANI, K.; NITTA, A.; OKUDA, T. Dimeric hydrolyzable tannins from *Melastoma malabathricum*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 8, p. 2829-2833. 1992c.

YOSHIDA, T.; NAKATA, F.; HOSOTANI, K.; NITTA, A.; OKUDA, T. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants V. Three new complex tannins from *Melastoma malabathricum*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 40, p. 1727-1732, 1992b.

YOSHIDA, T.; OHBAYASHI, H.; ISHIHARA, K.; OHWASHI, W.; HABA, K.; OKANO, Y.; SHINGU, T.; OKUDA, T. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants I. Hydrolyzable tannins from *Tibouchina semidecandra* Cogn. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 39, n. 9, p. 2233-2240, 1991a.

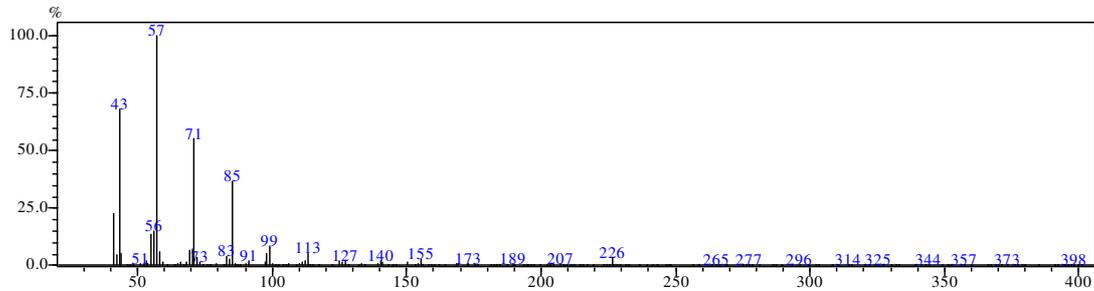
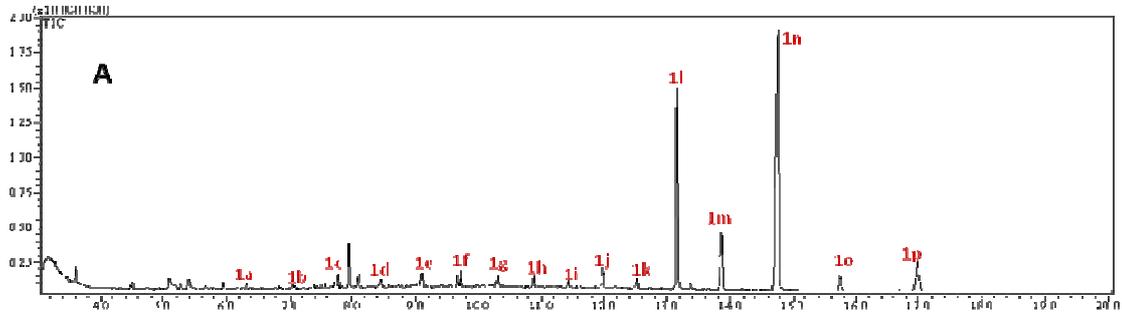
YOSHIDA, T.; OHWASHI, W.; HABA, K.; OHBAYASHI, H.; ISHIHARA, K.; OKANO, Y.; SHINGU, T.; OKUDA, T. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants II. Nobotanin B, C and E, hydrolyzable tannin dimer and trimers from *Tibouchina semidecandra* Cogn. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 39, n. 9, p. 2264-2270. 1991b.

YOSHIDA, Takashi; NAKATA, Fumihisa; OKUDA, Takuo. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants. VIII. Nobotanins L, M and N, trimeric hidrolizable tannins from *Tibouchina semidecandra*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 47, n. 6, p. 824-827, 1999a.

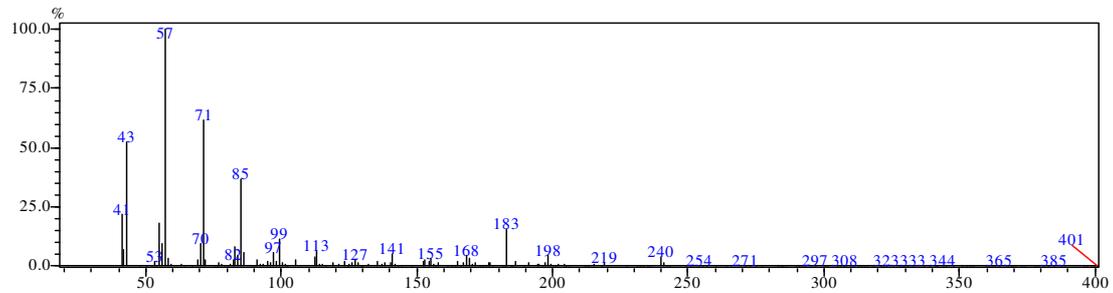
ZHANG, Zhizhen et al. Flavanone glycosides from *Miconia trailii*. *Journal of Natural Products*, v. 66, p. 39-41, 2003.

ANEXOS

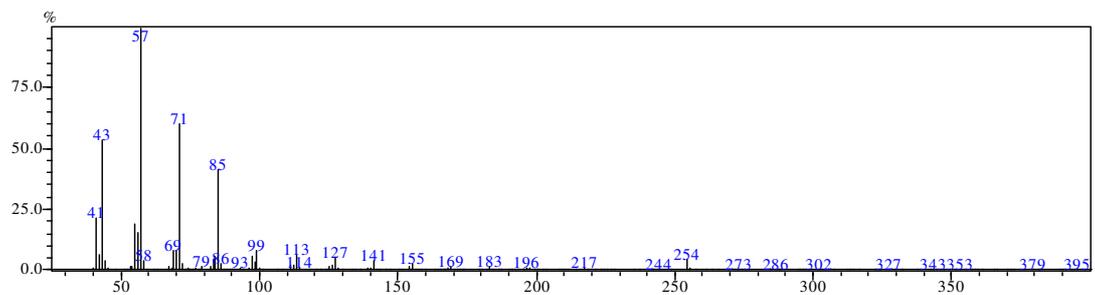
Anexo I: Cromatograma de íon totais (CIT) da fração HEMH 2 (acima) e espectros de massas dos picos 1a-1p (abaixo)



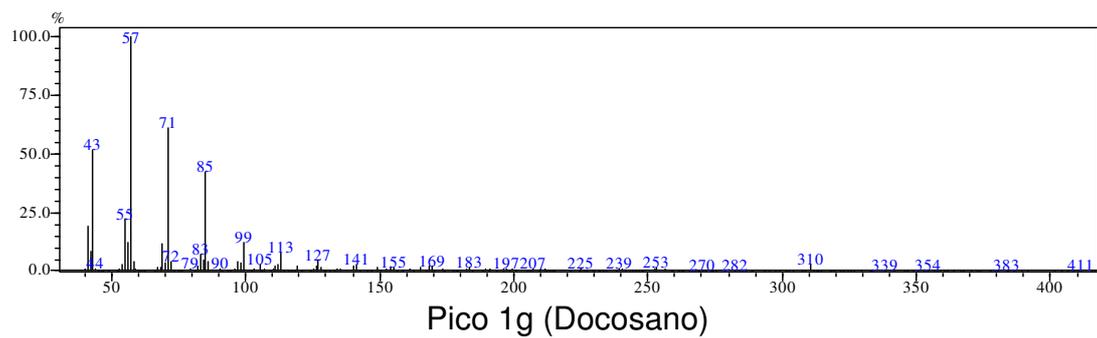
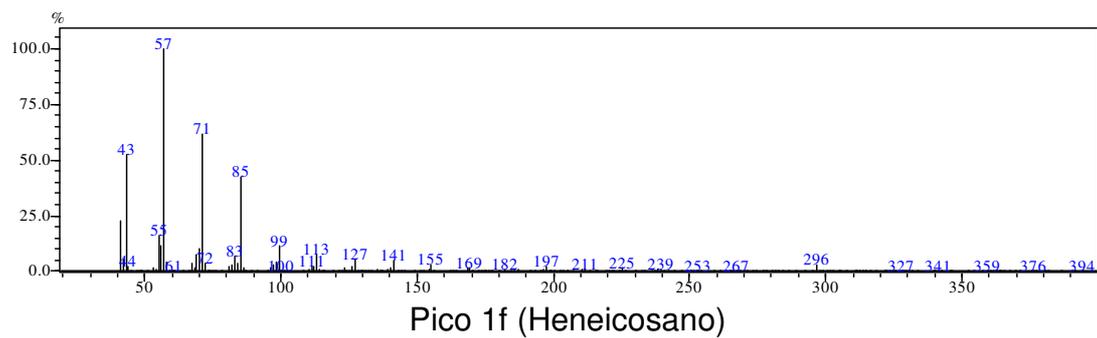
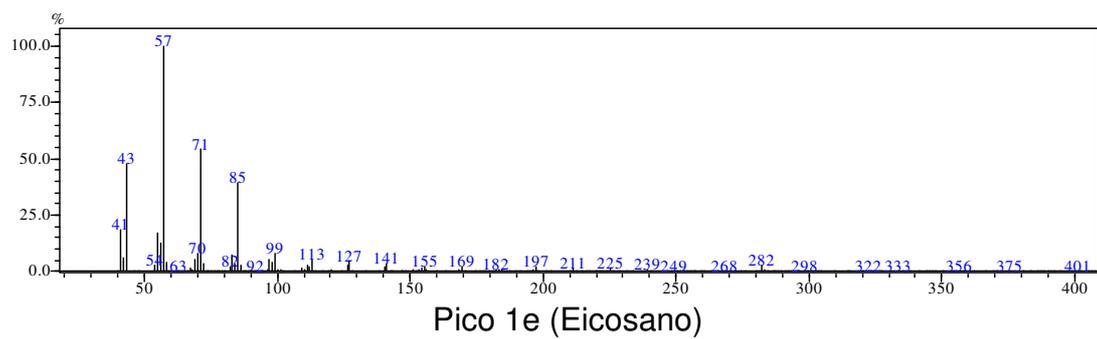
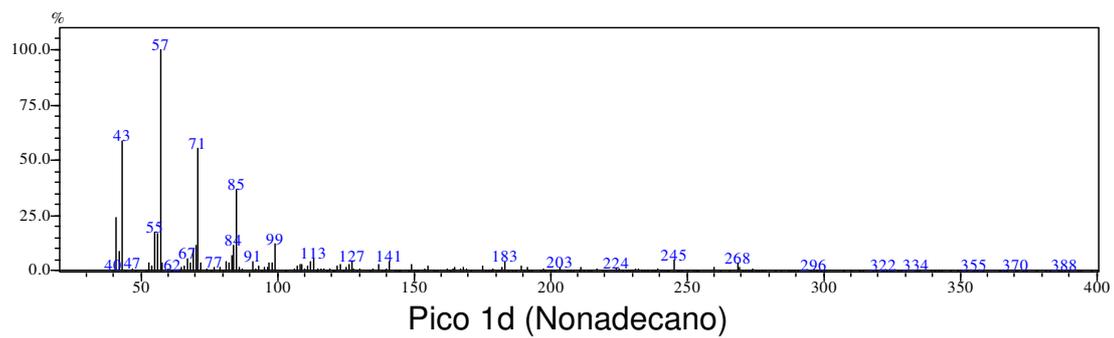
Pico 1a (Hexadecano)

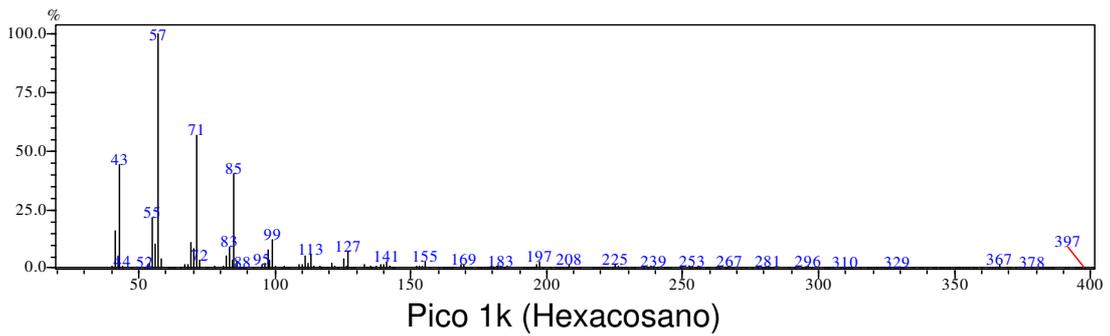
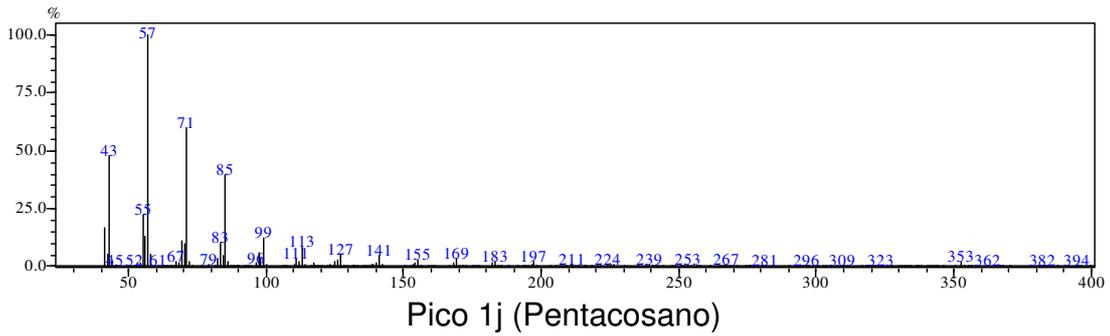
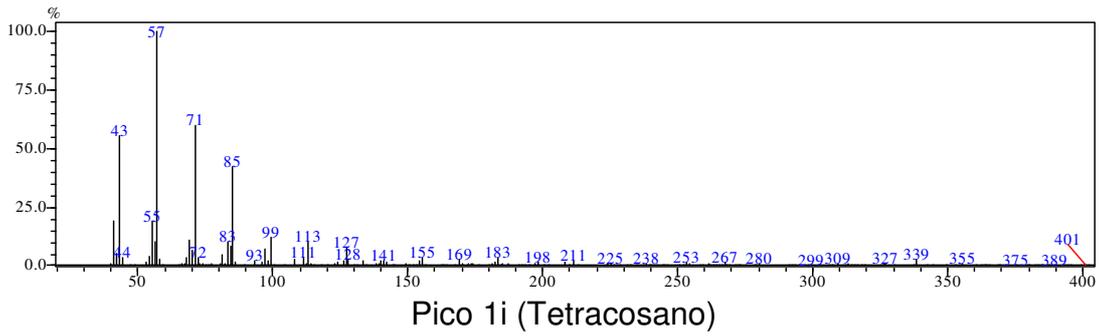
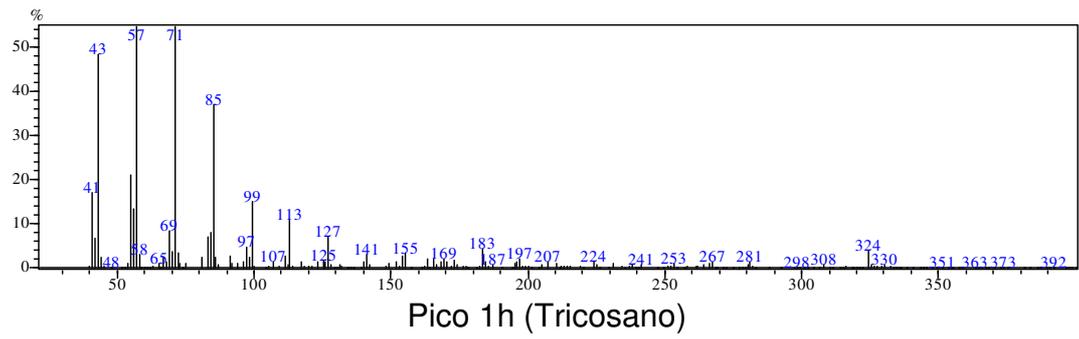


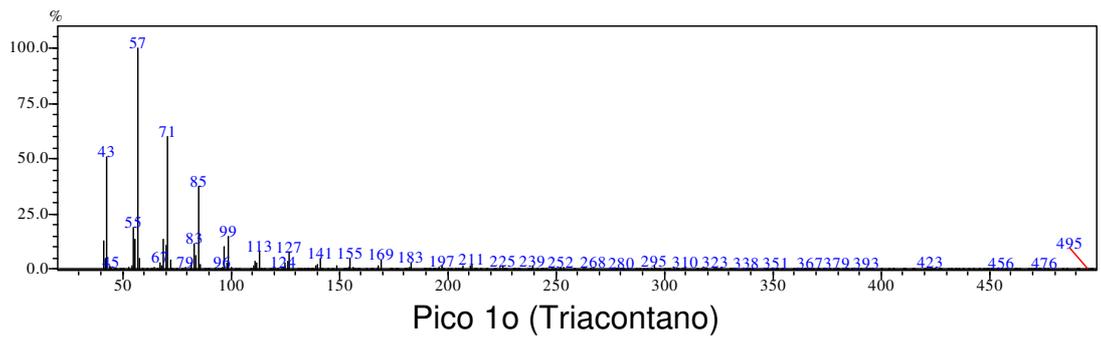
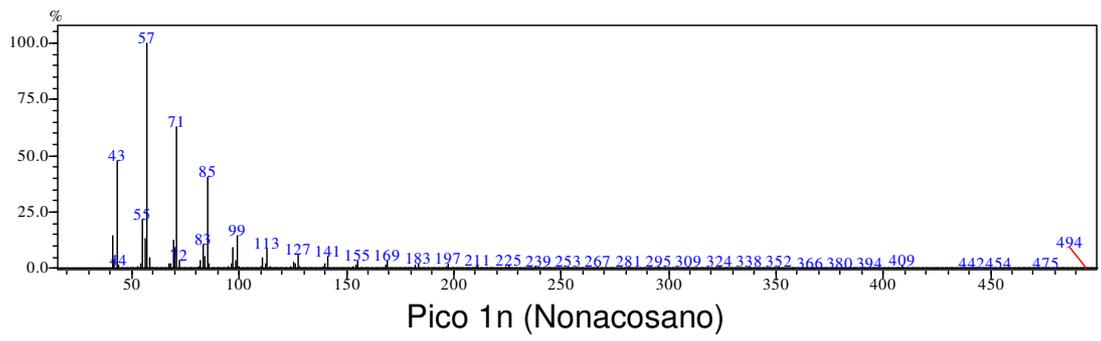
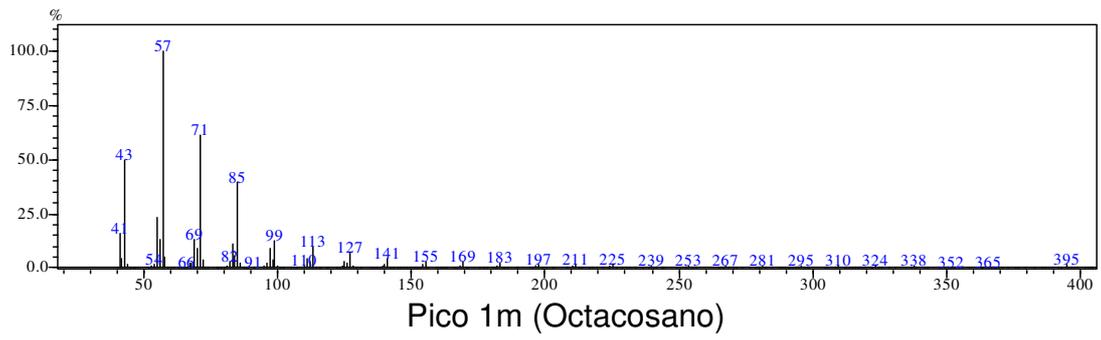
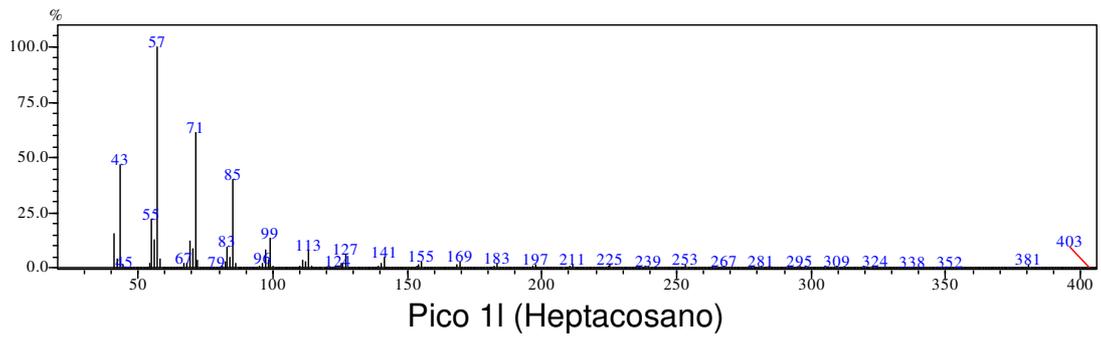
Pico 1b (Heptadecano)

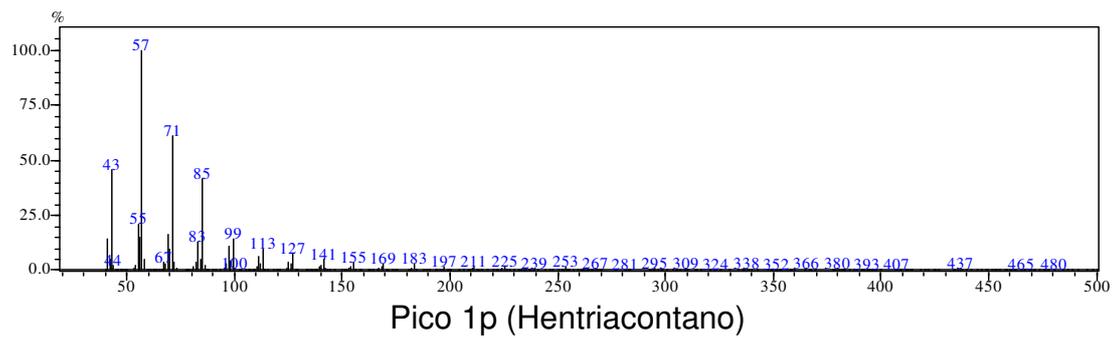


Pico 1c (Octadecano)

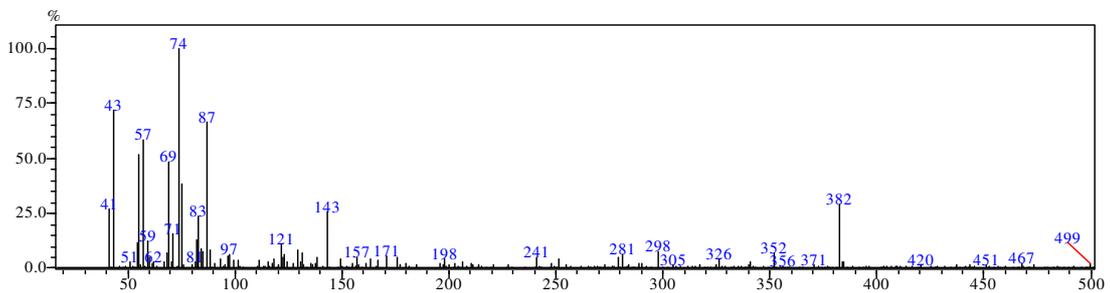
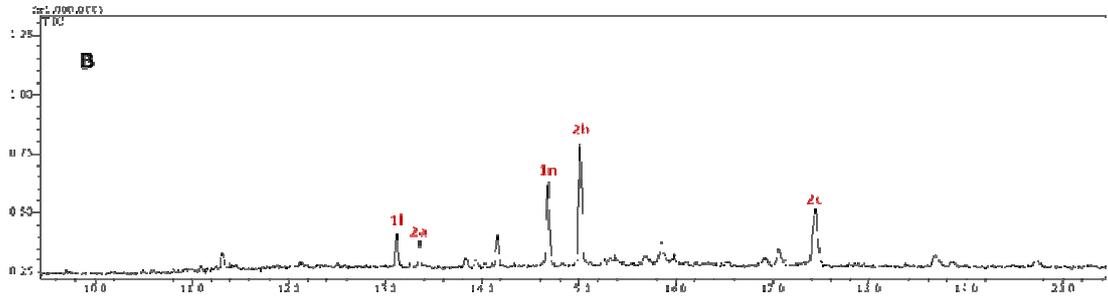




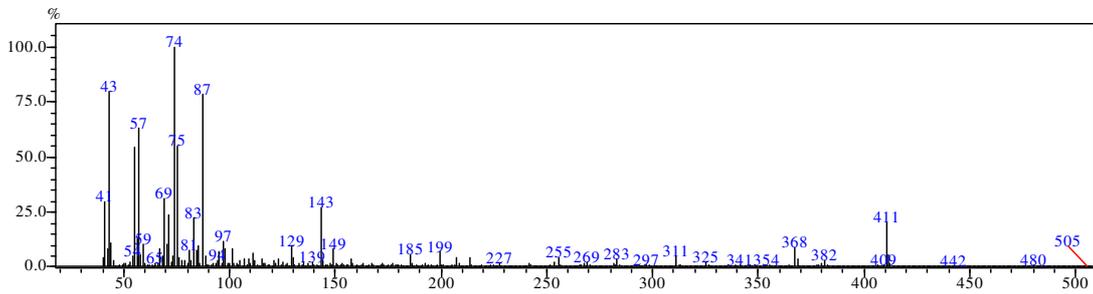




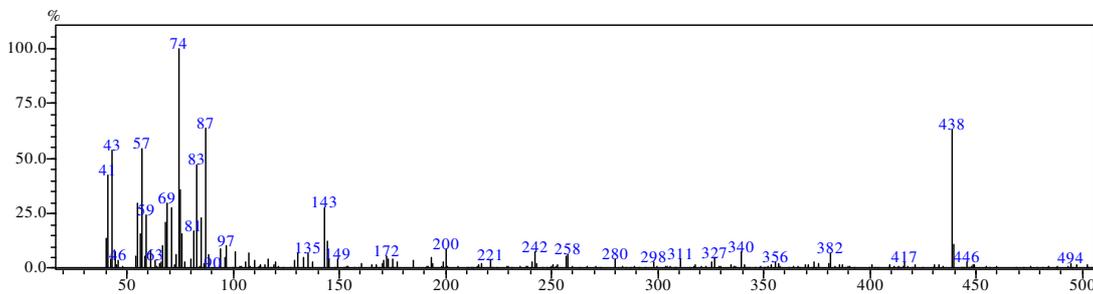
Anexo II: Cromatograma de íon totais (CIT) da fração HEMH 3 (acima) e espectros de massas dos picos 2a-2c (abaixo)



Pico 2a (Tetracosanoato de metila)

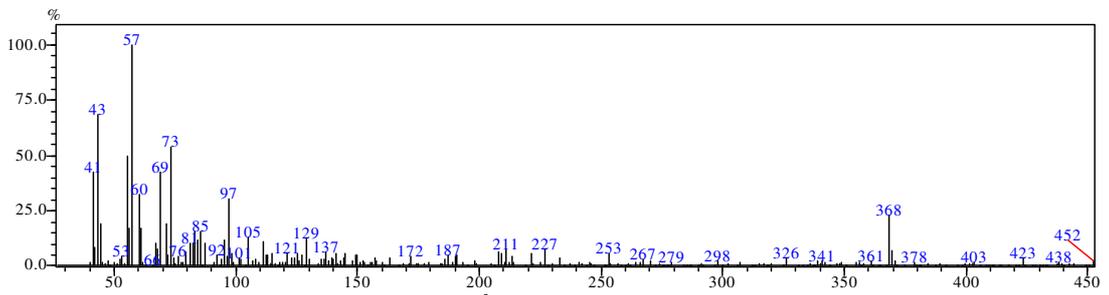
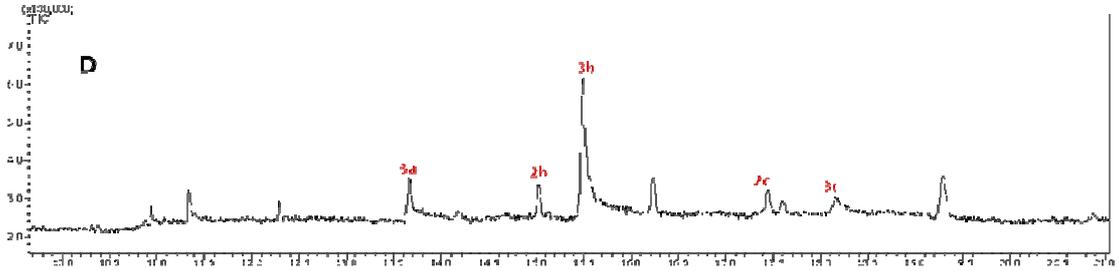


Pico 2b (Hexacosanoato de metila)

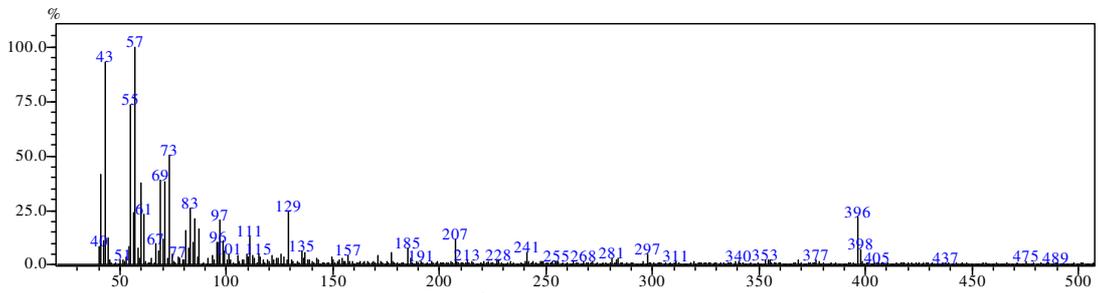


Pico 2c (Octacosanoato de metila)

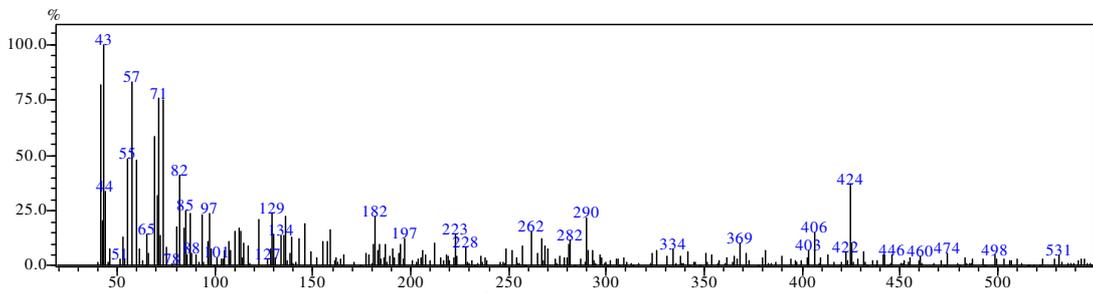
Anexo III: Cromatograma de íon totais (CIT) do precipitado da fração HEMH 5 (acima) e espectros de massas dos picos 3a-3c (abaixo)



Pico 3a (Ácido tetracosanóico)

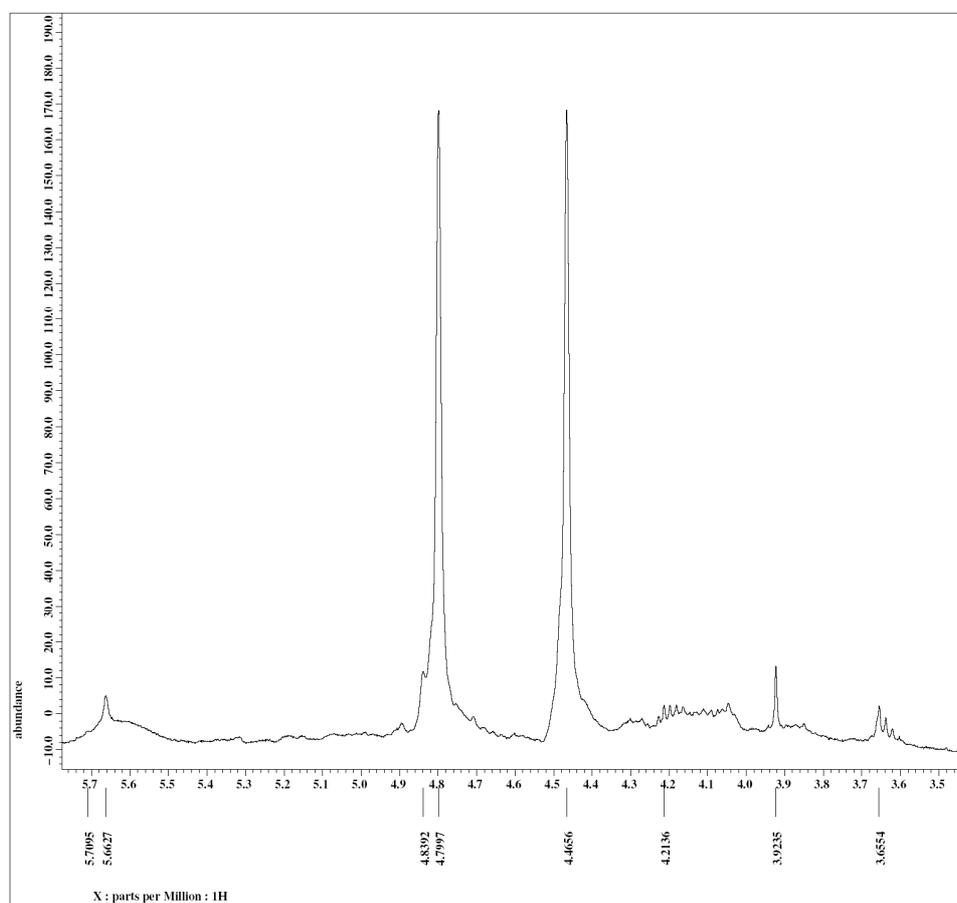


Pico 3b (Ácido hexacosanóico)

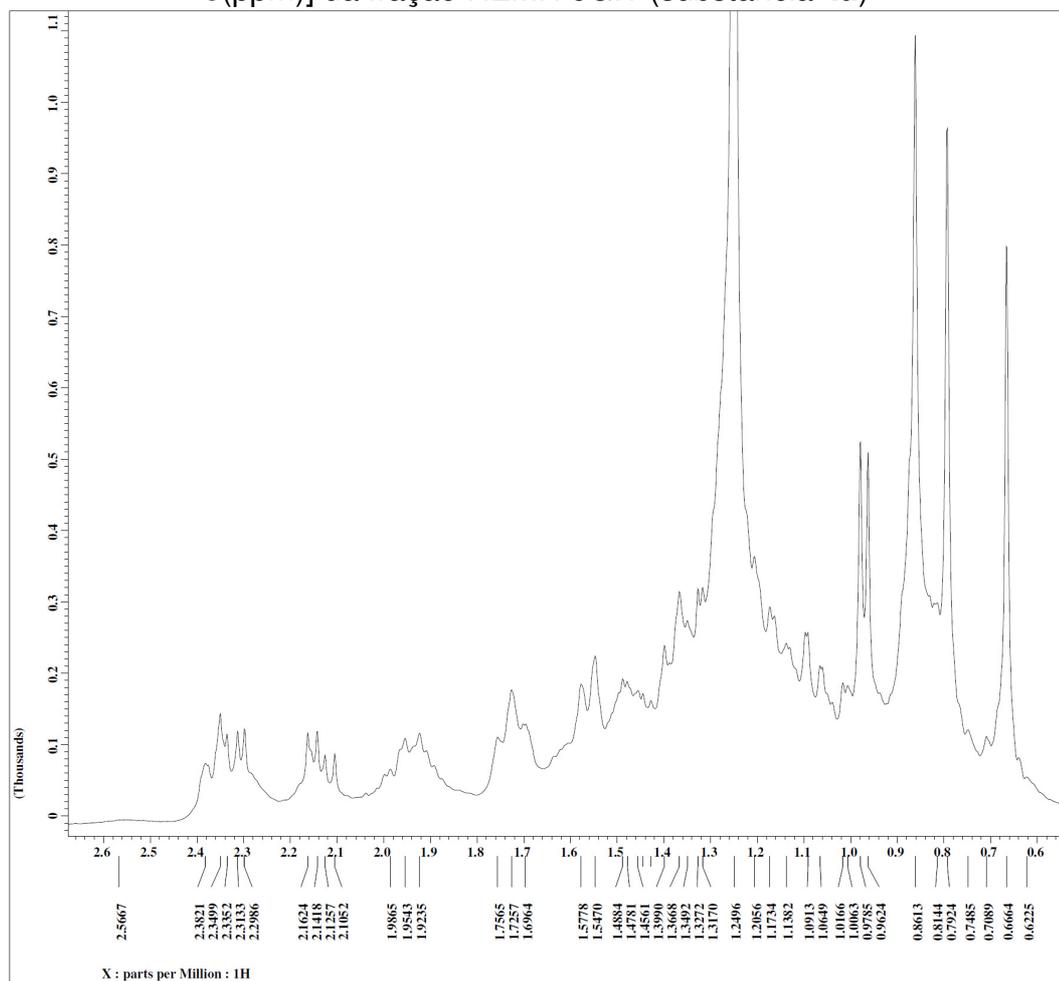


Pico 3c (Ácido octacosanóico)

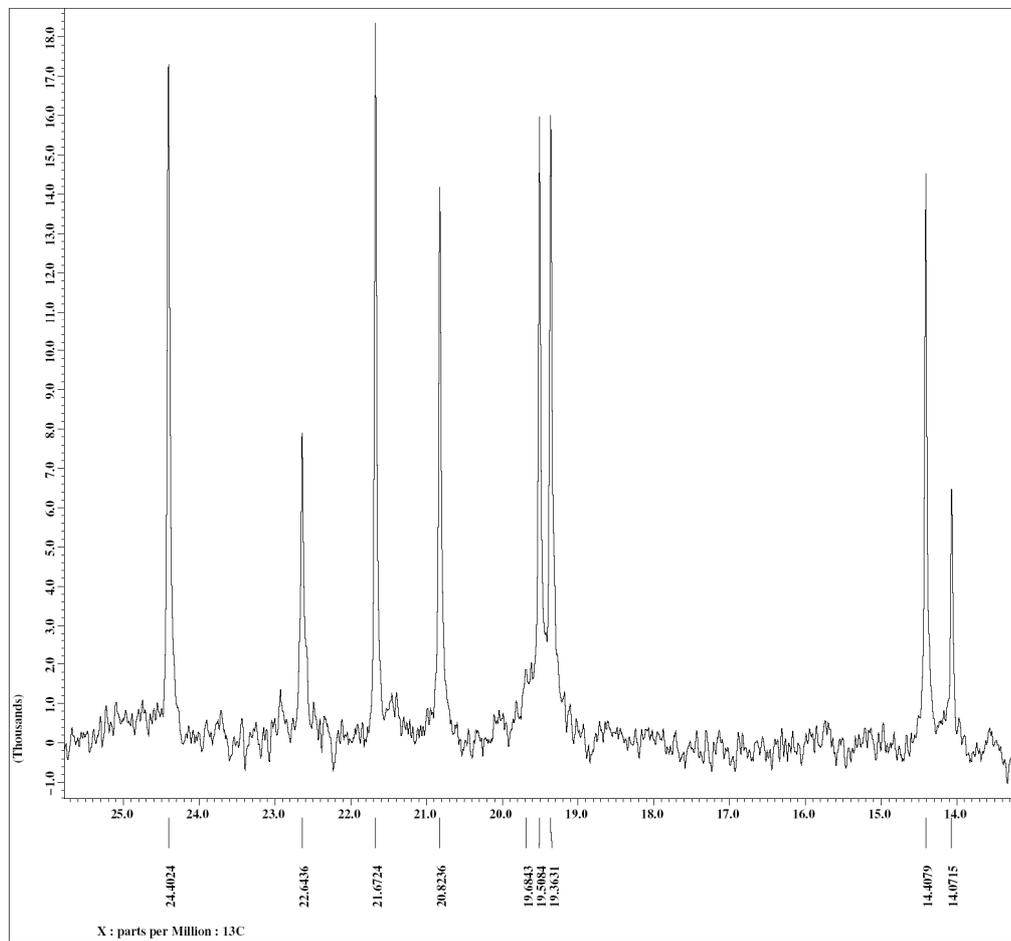
Anexo IV: Ampliações do Espectro de RMN de ^1H [(CDCl₃, δ (ppm))] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a)**



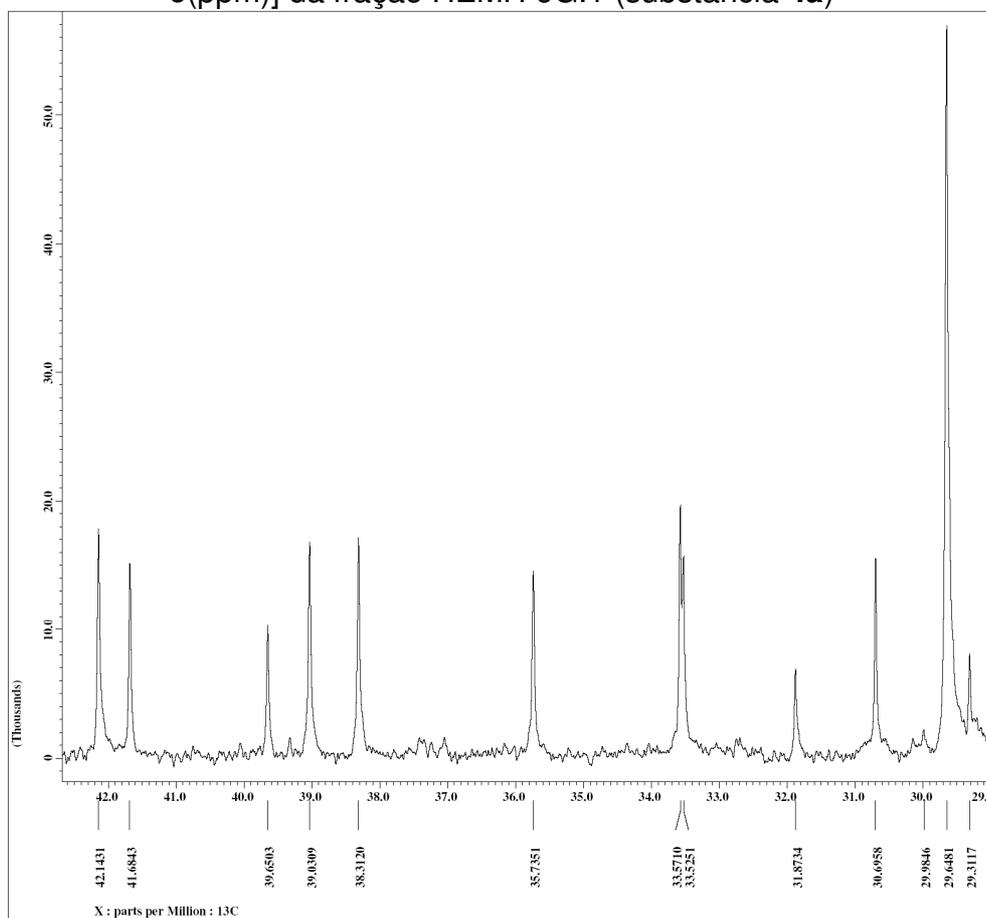
Anexo IV (continuação): Ampliações do Espectro de RMN de ^1H [(CDCl_3 , $\delta(\text{ppm})$] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)



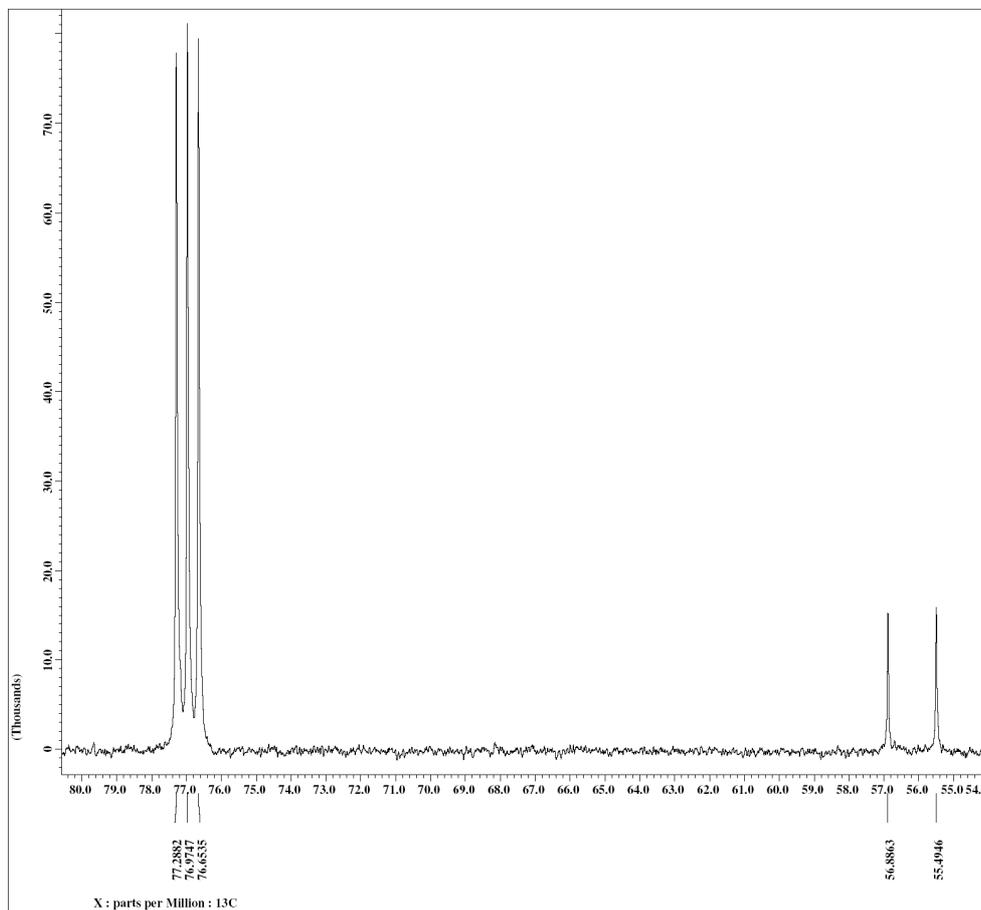
Anexo V: Expansões do espectro de RMN de ^{13}C [$(\text{CDCl}_3, \delta(\text{ppm}))$] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)



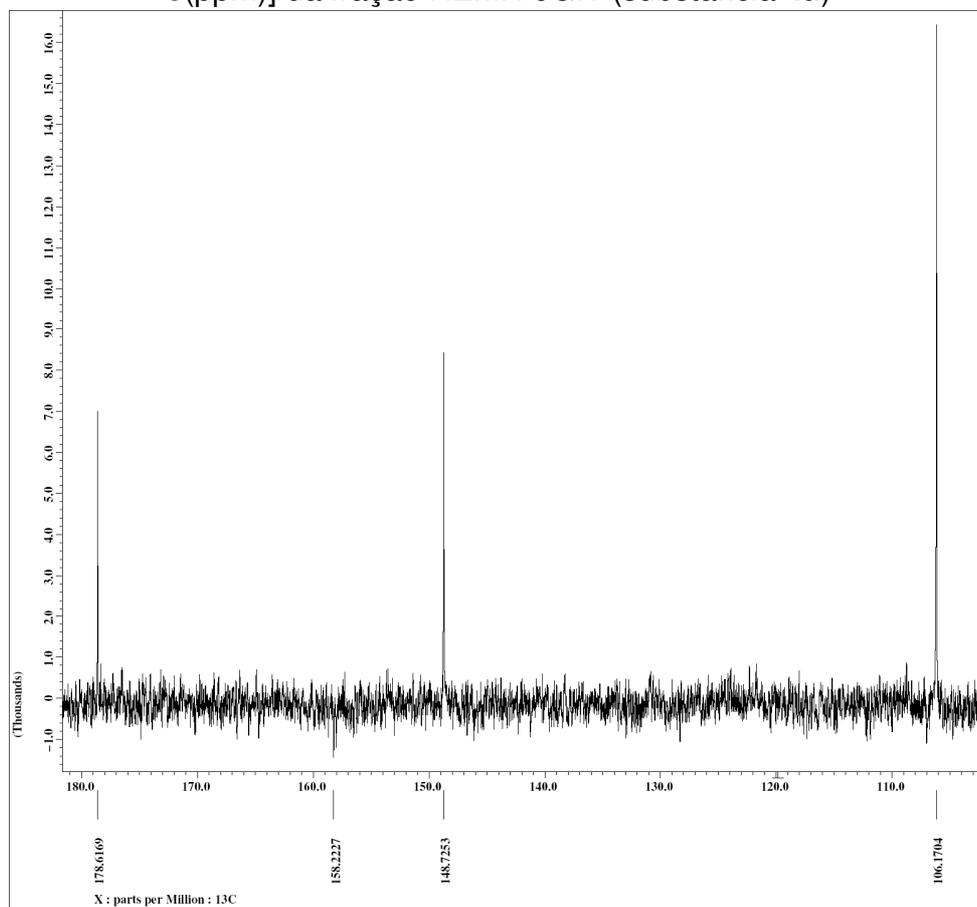
Anexo V (continuação): Expansões do espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl₃, δ (ppm)] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)



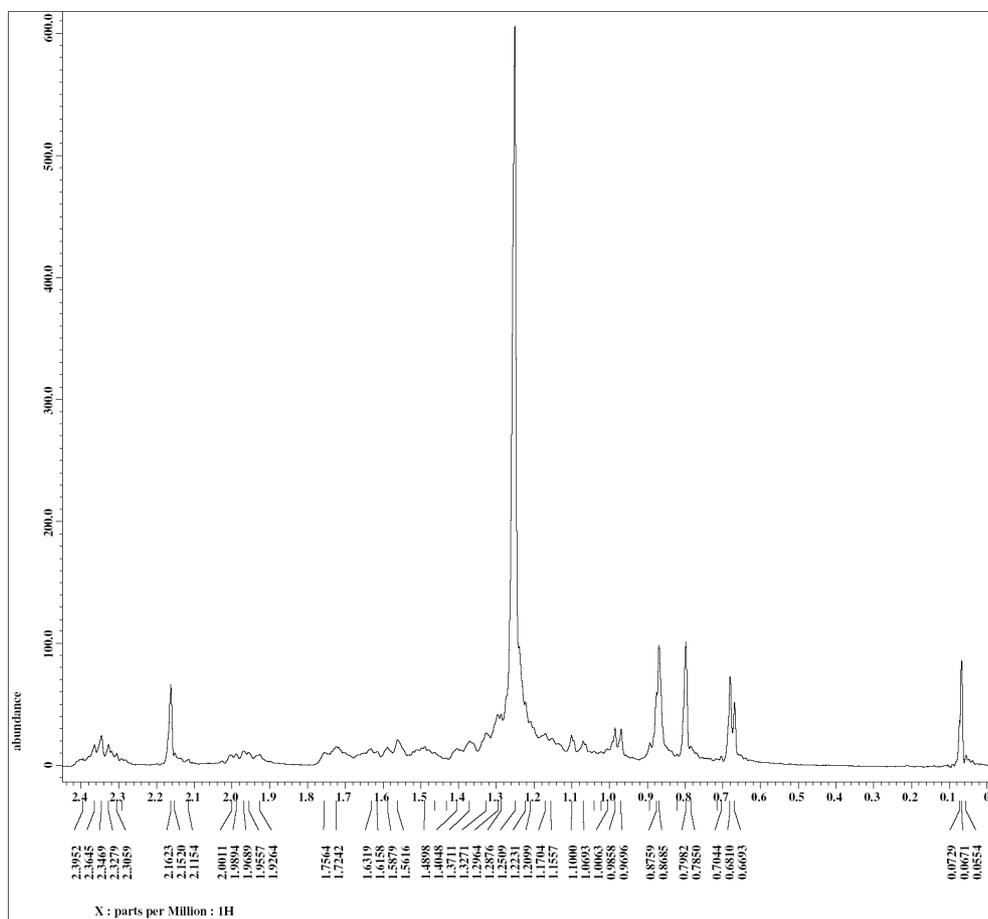
Anexo V (continuação): Expansões do espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl₃, δ(ppm))] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)



Anexo V (continuação): Expansões do espectro de RMN de ^{13}C [(CDCl₃, δ(ppm))] da fração HEMH 6G.1 (substância **4a**)



Anexo VI: Ampliações do Espectro de RMN de ^1H [(CDCl_3 , $\delta(\text{ppm})$)] da fração HEMH 6A (mistura **4a e **4d**)**



Anexo VI (continuação): Ampliações do Espectro de RMN de ^1H [CDCl_3 , $\delta(\text{ppm})$] da fração HEMH 6A (mistura **4a** e **4d**)

